



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL



Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

## CARTA PATENTE N.º PI 0413793-0

*Patente de Invenção*

O INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL concede a presente PATENTE, que outorga ao seu titular a propriedade da invenção caracterizada neste título, em todo o território nacional, garantindo os direitos dela decorrentes, previstos na legislação em vigor.

(21) Número do Depósito : PI 0413793-0

(22) Data do Depósito : 04/08/2004

(43) Data da Publicação do Pedido : 03/03/2005

(51) Classificação Internacional : G01N 35/00

(30) Prioridade Unionista : 21/08/2003 GB 0319671.4

(54) Título : Aparelho para processar uma amostra de fluido, uso de um aparelho, método para processar uma amostra de fluido, uso de um método, e, uso de um material aglutinante em um método

(73) Titular : THE SECRETARY OF STATE FOR DEFENCE. Endereço: DSTL, PORTON DOWN, SALISBURY, SP4 0JQ, WILTSHIRE, Reino Unido (GB).

(72) Inventor : David James Squirrell, Microbiologista. Endereço: a/c DSTL Porton Down, Salisbury, Wiltshire SP4 0JQ, Reino Unido.; Kevin John Bown, Microbiologista. Endereço: a/c DSTL Porton Down, Salisbury, Wiltshire Sp4 0JQ, Reino Unido.; PHILIP WALSH, Engenheiro(a) Projetista. Endereço: a/c Kinneir Dufort, 5 Host Street, Bristol, Avon BS1 5BU, Reino Unido. Cidadania: Britânica.

Prazo de Validade : 20 (vinte) anos contados a partir de 04/08/2004, observadas as condições legais.

Expedida em : 20 de Maio de 2014.

Assinado digitalmente por  
Júlio César Castelo Branco Reis Moreira  
Diretor de Patentes



“APARELHO PARA PROCESSAR UMA AMOSTRA DE FLUIDO, USO DE UM APARELHO, MÉTODO PARA PROCESSAR UMA AMOSTRA DE FLUIDO, USO DE UM MÉTODO, E, USO DE UM MATERIAL AGLUTINANTE EM UM MÉTODO”

5                    Esta invenção refere-se a um aparelho e método associado para processar uma amostra de fluido.

                    A análise de amostras de fluido, clínicas ou ambientais, por exemplo, pode ser conduzida por diversas razões. Uma área corrente de interesse é o desenvolvimento de um método para identificar positivamente  
10                   material biológico em uma amostra de fluido, uma amostra clínica ou ambiental, por exemplo. Esse método permitiria o diagnóstico precoce de estados de enfermidade, o que, por sua vez, capacitaria o rápido tratamento e controle de infecção, ou a identificação de contaminantes ambientais e equivalente. Embora a amplificação de ácido nucleico, por reação em cadeia  
15                   de polimerase (PCR, do inglês “polymerase chain reaction”), por exemplo, seja um método útil e amplamente usado para a identificação positiva de material biológico nessas amostras, existem diversos problemas quando se tenta desenvolvê-lo de modo bem sucedido para identificação rápida de material em amostras individuais em um ambiente não laboratorial para a dita  
20                   questão de diagnose de doença preocupante. Um dos problemas-chave reside no fato de que, anteriormente à submissão de uma amostra clínica ou ambiental típica à amplificação de ácido nucleico, a própria amostra, freqüentemente, necessita ser purificada e ou concentrada. Isso é executado por uma seqüência de etapas de processamento usando reagentes, algumas das  
25                   quais são perigosas. Entretanto, a amplificação de ácido nucleico é apenas um de muitos exemplos possíveis diferentes de uma técnica em que a manipulação de uma amostra, especialmente uma amostra de fluido, é exigida, o que envolve um número de etapas de processamento simultâneas ou seqüenciais. As próprias etapas de processamento podem ser muitas e

variadas e podem incluir, por exemplo, processamento, sensoriamento ou monitoramento químico, óptico, térmico, mecânico acústico, em adição às possíveis etapas de diluição e concentração.

Para marcar esse fluido complexo o processamento é  
5 conduzido, usualmente, em laboratórios onde as amostras são, igualmente, tratadas manualmente, uma a uma, ou tratadas com o uso de instalações robóticas especializadas onde muitas amostras diferentes podem ser processadas em paralelo. Entretanto, existem vários problemas associados com esses métodos. Isso inclui o fato de que eles são lentos, intensivos em  
10 recursos, caros, sujeitos a erro e a contaminação de amostras cruzada. Uma abordagem alternativa é usar sistemas de processamento de fluido convencionais que exigem que as amostras de fluido fluam seqüencialmente através de uma série de câmaras diferentes, onde cada câmara é utilizada para uma etapa única em uma seqüência. Entretanto, esses sistemas resultam em  
15 perda da amostra, o que é crítico quando se processam pequenos volumes, e a automação desses processos exige o uso de conjuntos fluídicos complexos e de algoritmos de processamento.

Desse modo, permanece uma necessidade de desenvolver um aparelho aperfeiçoado por meio do qual uma amostra de fluido,  
20 particularmente amostras de fluido de pequeno volume, possa ser processada usando-se uma série de etapas seqüenciais predeterminadas, para obter um produto final desejado. Esse aparelho deveria ser prontamente adaptado para o uso em um ambiente não-laboratorial e por um operador com pouco ou nenhum treinamento de laboratório, de modo que ele possa ser usado para  
25 manipular uma amostra de fluido, uma amostra clínica ou ambiental, por exemplo, anteriormente à análise, por exemplo, por amplificação de ácido nucleico. Esse aparelho asseguraria que esses resultados de análise pudessem ser rapidamente obtidos, livraria o trabalhador experiente de tarefas repetitivas e reduziria os custos. Além disso, esse aparelho poderia ter

consistência e acuidade suficientes para evitar a falha dos últimos testes, e deveria compreender, idealmente, componentes descartáveis para minimizar a probabilidade de contaminação cruzada e eliminar a necessidade de esterilização.

5                    Uma pesquisa de técnica anterior identificada na patente US 6.374.684, a qual revela um sistema de controle e processamento de fluido que compreende uma pluralidade de câmaras e um corpo de válvula móvel que podem ser usados para facilitar o processamento de uma amostra de fluido de acordo com um dado protocolo. Embora isso proveja um  
10 desenvolvimento no campo de um aparelho para processar uma amostra de fluido, permanecem vários problemas. Um desses problemas é o fato de que, a fim de expor a amostra de fluido seqüencialmente a diferentes soluções, é necessário girar o corpo de válvula para conectar, por sua vez, através de várias portas externas, uma câmara de processamento de amostra com um  
15 reservatório de cada solução de processamento. Esse aparelho não é bem adequado para o uso em um ambiente não-laboratorial por um laboratorista não-experiente na técnica, porque, entre outras razões, existe uma necessidade de conectar as portas externas aos reservatórios de solução, o que não é prático e, no caso de químicos perigosos, pode colocar um risco de segurança.  
20 Além disso, o aparelho utiliza uma câmara de deslocamento de fluido única para levar cada solução de processamento por vez à amostra, e para remover qualquer material perdido, o que pode resultar na mistura de material residual na câmara de deslocamento de fluido e na falha potencial das seqüências de processamento sensíveis. Mantém-se a necessidade de desenvolver um  
25 aparelho para processar uma amostra de fluido que supere os problemas acima.

É conhecido o uso de partículas magnéticas para manipular materiais alvo em uma solução de amostra. Um exemplo disso é revelado na patente WO 94/18565 que revela um método e aparelho associado para um

teste de aglutinação específico. O aparelho compreende dois ou mais vasos nos quais é conduzida uma imuno-determinação. O analito se aglutina a uma fase sólida, partículas magnéticas, por exemplo, e é, então, movido, usando-se um removedor, de um vaso para um outro em seqüência. Uma reação  
 5 separada e quaisquer outras reações exigidas são executadas uma por vez em cada um dos vasos e, finalmente, as partículas aglutinadas ao analito alvo são movidas para um vaso de medição. Novamente, embora isso proveja algum avanço no campo da manipulação de amostra, o aparelho é adequado somente para manipulação de amostra simples e, como tal, não é adequado para o  
 10 processamento de etapas múltiplas altamente complexo, por exemplo, aquele exigido para purificar e concentrar uma amostra anteriormente à amplificação de ácido nucleico. Permanece uma necessidade de desenvolver um tal aparelho.

Foram desenvolvidos agora um aparelho e um método  
 15 associado que superam os problemas acima. O aparelho compreende:

- (i) uma plataforma que compreende:
  - (a) uma câmara adequada para receber uma amostra; e
  - (b) um componente funcional;
- (ii) um braço capaz de ser levantado e abaixado e que inclui um meio  
 20 para se anexar de modo removível ao componente funcional, de modo que o mencionado componente possa ser levantado e abaixado com o braço; e
- (iii) um meio para mover a plataforma, de modo que qualquer câmara ou componente funcional possa ser alinhado com relação ao braço.

25 A amostra é introduzida na primeira câmara. A plataforma, então, é posicionada de modo que o braço fique diretamente sobre o componente funcional. O braço é abaixado, anexado ao componente funcional e, então, levantado. A plataforma, então, é movida de modo que, agora, a câmara esteja diretamente embaixo do braço, e o braço abaixado, desse modo,

abaixe o componente funcional para dentro da câmara. Enquanto está no local o componente funcional pode interagir com a câmara ou a amostra contida na mesma. Quando a interação estiver completa o braço pode, igualmente, ser levantado, removendo, desse modo, o componente funcional da câmara, a  
5 plataforma se move, e o componente funcional é, igualmente, substituído sobre a plataforma ou é abaixado adicionalmente para interagir com um componente adicional sobre a plataforma. Alternativamente, o braço pode se destacar do componente funcional e a plataforma se move, deixando, desse modo, o componente funcional anexado à câmara.

10 O aparelho pode ser adaptado de modo que o componente funcional possa interagir com a amostra para conduzir uma ampla esfera de processamento físico. Exemplos de processamento físico incluem técnicas de processamento, sensoreamento e monitoramento térmico, acústico, óptico, de sonicação, elétrico. Por exemplo, o componente funcional poderia ser um  
15 aquecedor ou sonificador que é manobrado como descrito e colocado dentro da câmara para submeter a amostra ao processamento físico. Alternativamente, o componente funcional poderia ser usado para remover um analito da amostra na câmara. Esse movimento do analito poderia, opcionalmente, compreender um material de aglutinação de fase sólida que é capaz de aglutinar um analito  
20 escolhido na amostra para formar um complexo que pode, então, ser movido de uma câmara sobre a plataforma com a ajuda do componente funcional e o movimento do braço e da plataforma e depositado em uma outra câmara. Além disso, o componente funcional poderia interagir com a própria câmara, poderia, por exemplo, compreender um cortador para perfurar uma vedação,  
25 introduzir uma membrana de filtro dentro da câmara, ou, simplesmente, atuar como uma tampa para vedar uma câmara, se exigido.

O aparelho também pode ser adaptado para o processamento químico de uma amostra de fluido em associação à interação com o componente funcional como apresentado acima. Em qualquer câmara o

analito pode, igualmente, interagir com um reagente funcional ou pode ser submetido ao processamento físico, ou ambos. Desse modo, é possível projetar o aparelho de modo que o analito possa ser submetido a uma série de etapas de processamento, como exigido pelo protocolo predeterminado. Como  
5 já descrito, o componente funcional pode ser utilizado para mover o analito de câmara a câmara sobre uma plataforma, permitindo-lhe, desse modo, reagir com um ou mais reagentes funcionais, por sua vez. Alternativamente, ele poderia ser usado para mover um ou mais reagentes e depositá-los dentro das câmaras de amostra, por sua vez, submetendo a amostra, desse modo, a uma  
10 série de manipulações químicas.

Pode-se ver, portanto, que o aparelho de acordo com a presente invenção é muito flexível e, como tal, pode ser projetado para desempenhar uma ampla série de diferentes manipulações de amostra de fluido. Entretanto, o aparelho é particularmente adequado para o  
15 processamento de uma amostra de fluido que compreende um analito biológico anteriormente à amplificação do analito por meio de uma reação de amplificação de ácido nucleico ou, alternativamente, um teste imunológico ou, alternativamente, um teste envolvendo bioluminescência ou, adicionalmente, um teste de seqüenciamento de DNA, especialmente  
20 piroseqüenciamento.

O aparelho pode ser realçado de várias maneiras. Estas incluem o fato de que a plataforma pode ser essencialmente circular e se mover por rotação; o aparelho pode compreender mais do que um componente funcional, aumentando, desse modo, a possível manipulação de  
25 amostra potencial; o aparelho pode compreender, adicionalmente, um ou mais meios de processamento físico adicionais que, ao invés de estarem localizados sobre a plataforma, estão localizados acima da plataforma e podem ser abaixados dentro de qualquer câmara dada quando exigido; uma ou mais das câmaras pode ser descartável, de modo que elas possam ser removidas e

substituídas para impedir contaminação de amostra cruzada; uma ou mais câmaras podem ser pré-carregadas com quaisquer reagentes funcionais para reduzir a complexidade; e que o aparelho está ligado a um meio de controle de modo que sua operação seja totalmente automatizada. Projetar o aparelho para ter uma ou mais câmaras removíveis tem a vantagem adicional de que várias câmaras de dimensões idênticas podem ser manufaturadas e cada uma, então, enchida separadamente com os reagentes necessários para um protocolo diferente. O usuário pode, então, selecionar e inserir a câmara desejada para o uso em cada instância, aumentando, desse modo, a utilidade do aparelho.

Esse aparelho tem diversas vantagens. Estas incluem o fato de que se projetando o aparelho de modo que a plataforma se mova, o próprio braço precisa se mover somente em uma única dimensão, reduzindo, desse modo, a complexidade. Uma vantagem adicional desse aparelho é que a plataforma pode compreender uma variedade de componentes funcionais, por exemplo, um aquecedor, um cortador de lâmina, um sonicador e, ainda, por meio do uso de um único braço, ser capaz de se anexar de modo removível a cada um destes, cada um, por sua vez, pode ser manipulado para se interfacear com uma ou mais câmaras também localizadas sobre a plataforma para operar um protocolo de processamento de amostra predeterminado. O aparelho é flexível, de modo que sua operação pode ser ajustada prontamente a uma variedade de diferentes protocolos, quando desejado. Além disso, uma sequência de processamento de amostra complexa pode ser estabelecida sem a necessidade de um aparelho que compreenda caminhos de fluido e bombas para mover a amostra através do aparelho. Isso também elimina a probabilidade de mistura de reagentes uns com os outros durante o protocolo. Outras vantagens incluem o fato de que o aparelho pode ser totalmente automatizado, reduzindo o erro de usuário, a contaminação de amostra e o risco para usuário. Além disso, o aparelho pode ser projetado para ser



totalmente portátil para o uso em campo.

É um objetivo da presente invenção desenvolver um aparelho e método associado para processar uma amostra de fluido. É um objetivo adicional desta invenção projetar esse aparelho que é capaz de submeter uma amostra de fluido a uma série de etapas de processamento químico ou físico 5 sequenciais em uma seqüência predeterminada, preferencialmente, para purificar e concentrar uma amostra de fluido anteriormente a uma reação de amplificação de ácido nucleico. É um outro objetivo desta invenção projetar esse aparelho para ser tão flexível quanto possível, para ser fácil de usar por um trabalhador com pouco ou nenhum treinamento laboratorial em um 10 ambiente não-laboratorial com reduzida exposição de usuário à amostra, aos químicos ou descarte. É ainda um outro objetivo desta invenção projetar os componentes de amostra do aparelho para serem baratos de manufaturar de modo que eles possam ser descartados após um único uso, reduzindo a contaminação cruzada das amostras e eliminando a necessidade de esterilizar 15 grandes quantidades de equipamento. Estes e outros objetivos desta invenção se tornarão visíveis sob a luz da revelação a seguir.

### **Sumário da Invenção**

De acordo com um primeiro aspecto, esta invenção se refere 20 ao aparelho para processar uma amostra de fluido que compreende:

- (i) uma plataforma que compreende:
  - (a) uma câmara adequada para receber uma amostra; e
  - (b) um componente funcional;
- (ii) um braço capaz de ser levantado e abaixado e que inclui um meio 25 para se anexar de modo removível ao componente funcional, de modo que o mencionado componente possa ser levantado e abaixado com o braço; e
- (iii) um meio para mover a plataforma, de modo que qualquer câmara ou componente funcional possa ser alinhado com relação ao braço.

De acordo com um segundo aspecto, esta invenção se refere ao uso de um aparelho de acordo com a presente invenção para o processamento de uma amostra anteriormente a uma reação de amplificação de ácido nucleico.

5 De acordo com um terceiro aspecto, esta invenção se refere ao processamento de uma amostra de fluido onde o método compreende:

- (i) colocar uma amostra que compreende um analito dentro de uma primeira câmara localizada sobre a plataforma de um aparelho;
- (ii) aglutinar o analito a um material aglutinante para formar um  
10 complexo de material analito-aglutinante;
- (iii) abaixar um meio para atrair de modo reversível o mencionado complexo para dentro da mencionada primeira câmara e permitir ao complexo ser atraído para o mencionado meio;
- (iv) levantar o mencionado meio da primeira câmara;
- 15 (v) mover a mencionada plataforma de modo que uma segunda câmara fique, agora, alinhada com o meio para atrair de modo reversível o mencionado complexo;
- (vi) abaixar o mencionado meio para atrair de modo reversível o mencionado complexo para dentro da segunda câmara e permitir ao  
20 complexo ser solto do mencionado meio;

caracterizado pelo fato de que o analito é submetido a uma etapa de processamento físico tanto na primeira câmara quanto na segunda câmara.

De acordo com um quarto aspecto, esta invenção refere-se ao uso de um método de acordo com a presente invenção para o processamento  
25 de uma amostra anteriormente a uma reação de amplificação de ácido nucleico.

De acordo com um quinto aspecto, esta invenção refere-se ao uso de um material aglutinante em um método de acordo com a presente invenção para o processamento de uma amostra anteriormente a uma reação

de amplificação de ácido nucleico.

De acordo com um sexto aspecto, esta invenção refere-se a uma tampa, adequada para o fechamento de um vaso, a mencionada tampa compreendendo uma membrana e caracterizada pelo fato de que a  
5 mencionada membrana fica posta em nicho dentro da tampa.

### **Descrição Detalhada da Invenção**

Todas as publicações citadas aqui são incorporadas pelo relatório a título de referência em sua inteireza, a não ser que indicado de outro modo.

10 Como usado aqui, o termo “amostra de fluido” significa qualquer amostra que exista como um gás, um líquido, uma solução compreendendo uma amostra dissolvida por um solvente, ou um sistema de fluido compreendendo uma ou mais fases, por exemplo, uma emulsão. Uma “amostra de fluido” também significa uma amostra que pode estar,  
15 inicialmente, dentro de um aparelho como um sólido ou um líquido viscoso, mas que é, depois, dispersa ou dissolvida pela adição de um volume de solvente. De modo semelhante, uma “amostra de fluido” também significa uma amostra de gás que é passada através de um ciclone durante o que a matéria particulada na amostra de gás é suspensa em um solvente adequado.  
20 Exemplos de amostras incluem, mas não estão limitadas de qualquer modo a, uma amostra de fluido colhida a partir do ambiente, tal como um rio, uma amostra de fluido colhida a partir de um paciente, tal como uma amostra de urina, uma amostra viscosa colhida a partir de um paciente, tal como uma mecha, uma amostra de fluido colhida quando o ar é passado através de um  
25 ciclone, de modo que a matéria particulada no ar seja arrastada para dentro de uma câmara coletora de fluido, tal como aquilo descrito na patente WO 02/29380 e o equivalente.

Como usado aqui, o termo “agente funcional” significa um agente químico, biológico ou físico sólido que é usado no aparelho ou método

da presente invenção. Ele pode compreender um ou mais reagentes químicos ou biológicos dosados como um pó sólido, glóbulo, cápsula, tablete prensado e o equivalente. Exemplos adequados de reagentes incluem, mas não estão limitados a, reagentes lise, por exemplo, sais caotróficos, controles sintéticos de ácido nucleico, bacteriófago, enzimas liofilizadas, corantes, detergentes, antibióticos, anticorpos e o equivalente. Esse reagente também pode ser processado de modo que ele compreenda um material aglutinante de fase sólida capaz de se aglutinar a um analito na amostra de fluido, por exemplo, uma partícula magnética opcionalmente coberta com um anticorpo ou semelhante. Entretanto, o termo agente funcional deveria ser entendido também para compreender meios físicos para interagir com a amostra de fluido. Estes podem incluir, mas não estão limitados a, um glóbulo agitador, um sonicador, um meio de aquecimento, e o equivalente.

Como usado aqui, o termo “componente funcional” deve ser tomado para significar um elemento do aparelho que foi projetado de modo que ele possa se anexar de modo reversível ao braço do aparelho. O componente funcional pode ser projetado para ter uma ampla variedade de usos como será visível a partir da revelação neste relatório. O uso específico de um ou mais componentes funcionais pode ser prontamente identificado por alguém experiente na técnica, dependendo do uso específico do aparelho. Por exemplo, o componente funcional pode compreender meios para interagir com a amostra de fluido. Esses meios podem prover algum processamento físico para a amostra, por exemplo, aquecimento, resfriamento, óptico, sonicação, e o equivalente. Alternativamente, o componente funcional pode compreender meios para interagir com a própria câmara, por exemplo, atuando como um cortador para furar uma vedação de lâmina, para cobrir a câmara, para introduzir um filtro e o equivalente. Além disso, o componente funcional pode atuar como um coletor para mover a amostra, ou um analito contido na mesma, para uma outra câmara do aparelho.

Os elementos do aparelho são descritos em maior detalhe abaixo.

Esta invenção refere-se a um aparelho para processar uma amostra de fluido que compreende:

- 5       (i) uma plataforma que compreende:
  - (a) uma câmara adequada para receber uma amostra; e
  - (b) um componente funcional;
- 10       (ii) um braço capaz de ser levantado e abaixado e que inclui um meio para se anexar de modo removível ao componente funcional, de modo que o mencionado componente possa ser levantado e abaixado com o braço; e
- (iii) um meio para mover a plataforma, de modo que qualquer câmara ou componente funcional possa ser alinhado com relação ao braço.

O aparelho é projetado de modo que ele seja adequado para  
15   submeter uma amostra a uma ou mais etapas de processamento. Essas etapas de processamento podem incluir etapas de processamento químico, desse modo, diluindo a amostra, purificando a amostra seqüencialmente com uma ou mais soluções compensadoras, reagindo a amostra com um ou mais reagentes químicos, mas também pode incluir etapas físicas, por exemplo,  
20   irradiando a amostra de fluido com radiação térmica, submetendo a amostra de fluido a processamento acústico e o equivalente.

O aparelho compreende uma plataforma que, por sua vez, compreende uma primeira câmara e um componente funcional. A câmara também pode ser conhecida como a câmara de amostra, visto que essa é a  
25   câmara dentro da câmara dentro da qual a amostra, preferencialmente, uma amostra de fluido e, mais preferencialmente, compreendendo um analito, é introduzida primeiro dentro do aparelho. A câmara de amostra pode, opcionalmente, ser integrada em uma plataforma do aparelho ou, alternativamente, pode ser removível da plataforma, de modo que ela possa

ser cheia com a amostra em qualquer lugar e então colocada dentro da plataforma.

O componente funcional é projetado de modo que ele possa ser anexado de modo removível ao braço do aparelho. É preferível que o  
5 braço e o componente funcional possam ser anexados um ao outro através da operação do aparelho sem a necessidade de qualquer interação de usuário, a fim de que a operação do aparelho possa ser totalmente automatizada. Também é preferível que o braço se anexe mecanicamente de modo removível ao componente funcional. Diversos projetos diferentes são  
10 possíveis. Uma solução simples é que qualquer componente funcional seja projetado para compreender um lábio sob o qual um componente em forma de garfo do braço entalhar. Uma vez que o braço esteja em posição, o movimento do braço em uma direção essencialmente vertical permite movimentar o componente funcional essencialmente na mesma direção. Uma  
15 vantagem desse projeto é que o movimento da plataforma pode ser usado para interfacear o garfo do braço com o lábio do componente funcional. Também é necessário que qualquer componente funcional não seja fixado permanentemente à plataforma do aparelho, mas, ao invés disso, mantenha-se no lugar sobre a plataforma do aparelho em um modo que lhe permita ser  
20 liberado quando exigido. Novamente, muitos projetos diferentes são possíveis. Um exemplo é que a plataforma compreenda simplesmente um furo para dentro do qual o componente funciona cai e que o componente funcional compreenda um lábio para evitar que ele caia através da plataforma.

O aparelho também compreende um braço capaz de ser  
25 levantado e abaixado e capaz de se anexar de modo removível ao componente funcional. O projeto do braço dependerá, em parte, do projeto dos meios para anexar o braço ao componente funcional. Somo apresentado acima, é preferível que o braço seja projetado de modo que ele seja capaz de se anexar mecanicamente ao componente funcional. Um exemplo de um projeto simples

é aquele que o braço compreende um garfo na base do braço que está em um plano a ângulos retos para aquele do próprio braço e que pode se ajustar ao redor do componente funcional. É preferível que os meios de entalhe e inserção sejam orientados de um modo essencialmente perpendicular ao movimento do braço, de modo que nenhum meio adicional de anexação ao braço e ao componente funcional seja exigido.

É preferível que o aparelho compreenda um meio para abaixar e levantar o braço, preferencialmente, em uma direção substancialmente vertical. O meio é, preferencialmente, um meio mecânico que é, preferencialmente, operado eletricamente. O caminho do movimento do braço deveria ser o mais simples possível. É preferível que o braço, simplesmente, se mova em uma dimensão única para cima e para baixo com relação à câmara. O projeto do aparelho, permitindo à própria plataforma se mover, assegura que não haja, usualmente, exigência adicional para o braço se mover, uma vez que ele tenha sido levantado ou abaixado, a fim de ajustar sua orientação com relação à plataforma ou qualquer componente funcional ou câmara da mesma.

O aparelho também compreende um meio capaz de mover a plataforma de modo que a posição de qualquer dado componente da plataforma possa ser alterado com relação à posição do braço. No caso da situação onde a plataforma é arranjada de modo que os componentes funcionais e as câmaras sejam alinhados linearmente sobre a plataforma, a própria plataforma se move em uma direção linear de lado a lado para alinhar apropriadamente os componentes funcionais ou câmaras. Alternativamente, se a plataforma for arranjada de modo que os componentes funcionais e câmaras sejam arranjados em uma ordem sobre a plataforma, os meios transladarão a plataforma para alinhar apropriadamente os componentes funcionais ou câmaras. Novamente, alternativamente, se a plataforma for projetada de modo que os componentes funcionais e as câmaras sejam arranjados em um modo

circular sobre a plataforma, a plataforma girará para alinhar apropriadamente os componentes funcionais ou câmaras. Isso não tem somente a vantagem de simplificar a mecânica para o movimento do braço, mas também permite que, em um aparelho projetado para o uso em uma reação de processamento de amostra em múltiplas etapas complexa, outros meios de processamento físico também possam ser posicionados acima da plataforma para serem abaixados para dentro das câmaras quando exigido. Se a própria plataforma não for capaz de se mover, então, o braço e quaisquer meios de processamento físico adicionais necessitarão ser programados usando-se mecânica tri-dimensional complexa para ambos se orientarem com o componente funcional ou câmara de plataforma desejado na seqüência correta e, então, serem abaixados ou levantados em direção à plataforma quando exigido.

A própria plataforma pode ter qualquer tamanho ou forma. Entretanto, é preferível que a plataforma seja, essencialmente, circular e capaz de se mover por rotação para alinhar as câmaras ou componentes funcionais com relação ao braço ou outros meios físicos. Isso também tem a vantagem de minimizar o tamanho do aparelho quando diversos componentes diferentes estão envolvidos. Opcionalmente, a plataforma pode ser ajustada com um mecanismo sensível para permitir o posicionamento correto do componente funcional ou câmara quando a plataforma se move sob o braço ou outros meios de processamento físicos localizados acima da plataforma.

Como apresentado acima, o componente funcional pode ter uma ampla variedade de usos diferentes. Por um lado ele pode compreender um componente que é projetado para interagir com a amostra. Por exemplo, ele pode compreender um sonicador, aquecedor, detector óptico, meios para prover um sinal óptico e o equivalente que são armazenados sobre a plataforma. Quando exigido, o componente funcional é levantado pelo braço do aparelho, abaixado para dentro da câmara desejada e operado como necessário. Nesses exemplos, pode ser útil se a conexão entre o componente



funcional e o braço do aparelho também provesse uma conexão elétrica suficiente para prover energia ao componente funcional durante o uso.

Alternativamente, o componente funcional pode ser projetado para interagir com uma câmara localizada sobre a plataforma. Novamente, há  
5 muitas interações diferentes que são possíveis, dependendo do uso desejado do aparelho. Os exemplos incluem aquele que o componente funcional pode ser projetado de modo que ele possa operar como um cortador para furar qualquer vedação ou membrana que esteja presente sobre qualquer câmara do aparelho. É preferível que quaisquer desses cortadores sejam projetados para  
10 incluir um talho nos meios de corte, de modo que, se eles forem usados para cortar uma vedação de uma câmara que compreende uma amostra de fluido, a amostra de fluido não seja sugada para dentro do próprio cortador e fique presa nele pela tensão superficial. Alternativamente, o componente funcional pode ser projetado para compreender um filtro que pode ser levantado para o  
15 lugar por meio do braço e ajustado por cima do topo da câmara quando exigido. Opcionalmente, ele pode ser projetado para compreender uma tampa que pode ser, novamente, ajustada por cima do topo de uma câmara se exigido. Além disso, uma posição dada sobre a plataforma pode compreender diversos desses componentes funcionais empilhados um no topo do outro em  
20 uma posição dada sobre a plataforma, onde cada um pode ser movido, por sua vez, pelo braço do aparelho.

Além disso, o componente funcional pode ser usado para mover tanto o analito quanto um reagente de uma câmara sobre a plataforma para uma outra câmara sobre a plataforma. Em um modo de realização, esse  
25 componente funcional é usado em conjunção com um agente aglutinante de fase sólida adequado para aglutinar o analito ou reagente, quando desejado, em um complexo. O agente aglutinante de fase sólida e o analito ou reagente químico são colocados em contato um com o outro de modo que um complexo possa ser formado. O componente funcional usado para mover o

complexo é, então, anexado ao braço do aparelho e abaixado para dentro da primeira câmara, como descrito. O complexo é atraído para o componente funcional, o componente funcional é levantado, a plataforma se move de modo que uma segunda câmara seja agora posicionada sob o braço, o  
5 componente funcional levantado e o complexo liberado, desse modo, movendo o material aglutinado de uma câmara para uma outra. Visto que é necessário para o componente funcional ser capaz de remover o complexo da primeira câmara, a natureza do componente funcional dependerá do material aglutinante que tiver sido usado. Além disso, é necessário que o componente  
10 funcional seja capaz de depositar o complexo dentro de uma segunda câmara do aparelho e, desse modo, a interação entre o componente funcional e o complexo aglutinado deve ser, necessariamente, reversível. É preferível que o componente funcional seja capaz de mover o agente aglutinante tanto quando ele está em um complexo com o analito quanto o agente aglutinante sozinho.  
15 Isso tem o resultado de que não somente o componente funcional pode ser usado para mover o complexo de uma câmara para uma outra, mas tem também a vantagem de que ele pode adicionar ou remover o agente aglutinante a ou de qualquer câmara dada, se exigido.

Uma ampla variedade de materiais aglutinantes de fase sólida  
20 diferentes pode ser usada, contanto que eles sejam capazes de aglutinar o analito alvo para formar um complexo. Materiais aglutinantes adequados podem ser prontamente determinados por alguém experiente na técnica e dependerão do analito e do protocolo. Os exemplos incluem glóbulos de sílica, sais, reagentes contendo antígenos capazes de aglutinar anticorpos ou  
25 DNA que aglutina proteínas e o equivalente. A aglutinação do analito ao material aglutinante pode ocorrer em um número de maneiras. O analito poderia ser adsorvido à superfície do material aglutinante, alternativamente, poderia ser absorvido pela superfície do material aglutinante, alternativamente, o analito poderia ser atraído para o material aglutinante por

cargas de Coulomb, alternativamente, ligações químicas formais podem se desenvolver entre o material aglutinante e o analito ou, alternativamente, o material aglutinante pode compreender locais de aglutinação bioquímica capazes de aglutinar o analito específico em questão. Qualquer mecanismo de aglutinação é adequado para a presente invenção, contanto que a aglutinação seja suficientemente forte, de modo que o material aglutinante seja movido de uma câmara para uma outra que o analito permaneça anexado ao material aglutinante. É preferível que a aglutinação do analito ao material aglutinante seja reversível, de modo que na câmara de reação o analito possa ser liberado do material aglutinante para processamento químico ou físico adicional. Qualquer meio adequado pode ser usado para remover o analito do material aglutinante, incluindo aquecimento, diluição, dissolução (solubilização) e o equivalente. O material aglutinante pode, opcionalmente, estar presente em uma câmara anteriormente à adição do material em questão, alternativamente, ele pode ser adicionado a uma câmara após a adição do material, ou, ainda mais no caso de um reagente, pode ser formulado de modo que ele já compreenda o agente de aglutinação.

É preferível que o material aglutinante compreenda glóbulos de sílica magnéticos. Glóbulos adequados incluem aqueles fornecidos pela Roche, Promega e Estapor. Assim como é preferível que o próprio componente funcional seja um magneto ao qual os glóbulos atraem. É preferível, portanto, que o componente funcional compreenda uma bainha que proveja uma interface entre os meios para atrair o complexo e o próprio complexo. Preferencialmente, a bainha fica localizada sobre a plataforma e é feita de um material de modo que quando o magneto está dentro da bainha, o complexo será atraído para a bainha. Em um tal modo de realização, é preferível que o aparelho compreenda um magneto co-localizado com o braço do aparelho que possa ser abaixado para dentro da bainha para aplicar um campo magnético e levantado para fora da bainha para remover o campo

magnético. A baihna é então colocada dentro de uma câmara do aparelho que compreende o complexo ligado. O magneto é abaixado para dentro da baihna e o complexo se aglutina à baihna. A baihna e o magneto são, então, levantados. A plataforma se move de modo que uma nova câmara seja alinhada, a baihna e o magneto sejam, então, abaixados e o magneto seja removido. Quando o magneto for removido o complexo cairá para longe da baihna dentro da segunda câmara. Pequenos movimentos da baihna para cima e para baixo pelo braço assegurarão que nenhum complexo permaneça ligado à baihna e também irão atuar para misturar o complexo com quaisquer reagentes ou soluções na nova câmara. Alternativamente, o analito pode ser eluído a partir dos glóbulos por quaisquer meios adequados. Se o aparelho for projetado para compreender esse modo de realização, é necessário que o magneto e o braço sejam projetados para interagir um com o outro sem afetar a operação do outro, de modo que a baihna possa ser levantada e abaixada independentemente, com ou sem o magneto no lugar. Essa operação pode ser repetida para remover tanto o complexo quanto os próprios glóbulos durante o protocolo.

É preferível que o aparelho seja projetado de modo que um ou mais componentes do aparelho possam ser destacados da plataforma e removidos do aparelho. Isso permite às câmaras serem prontamente substituídas tanto durante a operação do aparelho quanto antes ou depois do uso. Por exemplo, uma amostra de fluido poderia ser carregada remotamente em uma câmara de amostra e a câmara de amostra, então, carregada para dentro da plataforma do aparelho da presente invenção. Alternativamente, seguindo o processamento da amostra, pode ser útil se a câmara final, compreendendo o analito processado, puder ser prontamente removida do aparelho da presente invenção para manipulação ou processamento adicionais do material em qualquer outro lugar. De modo semelhante, pode ser útil se um ou mais componentes do aparelho puderem ser alternados, dependendo do

uso específico do aparelho. Por exemplo, uma das câmaras pode compreender um reagente pré-dispensado, o reagente exigido específico dependendo do procedimento de teste em questão. Se essa câmara puder ser prontamente trocada, o usuário poderia escolher a câmara exigida e carregá-la no aparelho  
5 anteriormente ao uso. Se a plataforma compreender essas câmaras trocáveis, é preferível que o aparelho compreenda meios de travamento para prender a câmara na posição durante o uso, de modo que as câmaras não se movam durante o movimento da plataforma. Além disso, é útil se essas câmaras trocáveis forem codificadas por cor ou marcadas com um código de barras e o  
10 equivalente, de modo que o usuário possa identificar qual câmara é exigida para qual uso. O aparelho pode, opcionalmente, compreender um código de barras ou leitor semelhante, o próprio aparelho pode identificar a câmara que está sendo usada e usar essa informação para selecionar um de diversos ciclos de processamento de amostra pré-programados.

15 É também preferido que o aparelho seja projetado de modo que toda a plataforma possa ser removida e prontamente substituída. Isto permite que após uma certa sequência de processamento de amostra a plataforma usada e potencialmente contaminada possa ser removida e substituída para permitir o uso do aparelho em um outro procedimento. Se o  
20 aparelho for projetado dessa forma, é preferido que a plataforma possa ser prontamente e seguramente montada no aparelho para facilidade de uso, por exemplo, usando um ajuste por torção com uma trava simples.

O aparelho da presente invenção também pode compreender, opcionalmente, uma ou mais câmaras adicionais. Dependendo do uso do  
25 aparelho, estas câmaras adicionais podem desempenhar diversos papéis. Um exemplo de uma tal câmara incluiria uma ou mais câmaras compreendendo uma solução compensadora ou água necessária no protocolo de processamento de amostra para diluir ou purificar a amostra ou, alternativamente, para purificar componente funcional antes ou depois de uso

para impedir contaminação passar de uma amostra para outra ou de uma câmara para outra. Alternativamente, o aparelho pode compreender uma câmara compreendendo alguns reagentes específicos necessários para o determinado processamento de amostra, por exemplo, um agente de dissolução de célula, como sais caotróficos. Essas câmaras podem ser pré-carregadas com as soluções ou reagentes necessários durante a fabricação para impedir erro de usuário, para minimizar equipamento necessário no campo, para impedir contaminação de amostra e para minimizar risco ao usuário provocado por materiais perigosos. O número de câmaras necessário e os reagentes necessários dependerão do protocolo de processamento de amostra predeterminado escolhido. Estas câmaras podem ser usadas movendo o analito de uma câmara para outra, como descrito. Alternativamente, os reagentes podem ser movidos de uma câmara para outra novamente, como descrito. Se ambos, analitos e reagentes, tiverem que ser movidos durante um dado protocolo, é preferido que o complexo aglutinante seja o mesmo em cada caso, de modo que um único componente funcional seja necessário para mover os materiais. Opcionalmente, o aparelho poderia ser projetado de modo que um ou mais reagentes seja secado, de preferência, preservado por congelamento e secagem, sobre o lado externo de um acessório removível adequado que possa ser movido pelo componente funcional. Desse modo, os reagentes podem ser introduzidos no protocolo de processamento de amostra pelo componente funcional ou pelo acessório removível adequado ser abaixo em uma câmara e os reagentes serem solubilizados a partir do lado externo do componente funcional. O acessório removível adequado pode ser, por exemplo, simplesmente um corpo de plástico com uma ponta metálica que pode ser movida pelo uso de um corpo magnético e para a qual os reagentes podem ser preservados por congelamento e secagem sobre a superfície externa. Um tal configuração ou acessório removível adequado pode ser preparado em lote e superar o problema de liberação de pequenos glóbulos

magnéticos que é por vezes prejudicada devido à tensão superficial criada. Um outro realce é o fato dos reagentes poderem ser preservados por congelamento e secagem a diferentes alturas sobre o componente funcional ou bainha, de modo que cada um possa ser solubilizado, por sua vez, pelo  
5 progressivo rebaixamento do material preservado por congelamento e secagem na câmara desejada. Isto permite que diferentes reagentes sejam solubilizados, por sua vez, de modo que possam ser efetivamente adicionados a uma mistura de reação com o tempo. Isto novamente realça a flexibilidade do projeto de um aparelho de acordo com a presente invenção para qualquer  
10 protocolo dado.

Opcionalmente, o aparelho pode, por conseguinte, compreender diversas populações diferentes de complexo aglutinante de fase sólida, onde um ou mais reagentes diferentes e ou analito é ligado a cada população. É útil se tais diferentes populações, enquanto mantendo  
15 essencialmente as mesmas características no material aglutinante de fase sólida, compreendam pequenas diferenças para permitir a pronta separação das populações diferentes. Por exemplo, as populações podem diferir em suas propriedades magnéticas, permitindo a separação daquelas com propriedades magnéticas mais intensas daquelas com propriedades mais fracas, uma da  
20 outra, usando o mesmo componente funcional projeto de aparelho, mas simplesmente variando a intensidade do campo magnético aplicada. Alternativamente, as populações podem diferir em seus tamanhos, carga elétrica, propriedades de fluorescência, ou propriedades quando um vórtice é aplicado de modo que cada uma destas possa ser usada para separar diferentes  
25 populações dentro de um aparelho de acordo com a presente invenção. Isto realça ainda mais as possibilidades do aparelho como unidade para efetuar um dado protocolo de processamento de amostra.

Reagentes adequados que podem ser usados em uma ou mais câmaras do aparelho incluem solução compensadora selecionada do grupo

consistindo de uma solução aquosa de acetato de potássio e Tris.hidroclorato, ou uma solução alcoólica aquosa de acetato de potássio e Tris.hidroclorato ou um solvente orgânico ou misturas dos mesmos; um reagente dissolvente, como sais caotróficos; um reagente compreendendo um ou mais reagentes de  
5 amplificação ácidos nucleicos, mais preferivelmente um reagente selecionado do grupo consistindo de iniciadores de ácido nucleico, sondas de ácido nucleico, tinturas fluorescentes, compensadores enzimáticos, nucleotídeos, sais de magnésio, album serum bovino, anticorpos e desnaturantes.

Câmaras adequadas para uso na presente invenção podem  
10 incluir aquelas que compreendem diversas áreas diferentes, separadas por uma membrana e interadas em uma única unidade para facilidade de seleção pelo usuário. Por exemplo, a câmara de amostra também pode ser interada a uma segunda câmara contendo os reagentes necessários para um dado protocolo. Alternativamente, uma câmara pode compreender duas áreas  
15 separadas por uma membrana que ser perfurada. Isto permite que uma primeira etapa de manipulação ocorra nesta primeira área, a membrana seja perfurada, o material sendo processado entrar na segunda área e, depois, uma segunda etapa de manipulação ocorrer em uma segunda área.

Além disso, uma ou mais câmaras do aparelho podem também  
20 ser projetadas de modo que possam ser fixadas removivelmente ao braço do aparelho. Isto permite que, se necessário, uma câmara seja mecanicamente removida do aparelho. Opcionalmente, a plataforma pode ser projetada para ter um recesso de modo que qualquer câmara removida da plataforma possa ser abaixada, por meio do braço, através do recesso, de modo que ela possa  
25 diretamente interfacear com um aparelho adicional ou ser removida do aparelho manualmente pelo usuário.

É preferido que qualquer das câmaras para uso no aparelho, especialmente aquelas compreendendo reagentes pré-dispensados, sejam vedadas no ponto de fabricação para impedir contaminação ou degradação



dos materiais antes do uso. E uma câmara compreender uma ou mais câmaras diferentes separadas por uma membrana, é preferido que cada uma seja vedada separadamente de modo que possam ser abertas individualmente. Um meio preferido de vedar essas câmaras é pelo uso de uma vedação de metal, de preferência, uma vedação de metal laminado. Alternativamente, a câmara de amostra pode compreender uma tampa que é vedada de modo que, após a coleta da amostra no campo, a tampa possa ser fechada para impedir contaminação antes da inserção da câmara de amostra no aparelho. É preferido que uma tal vedação seja em recesso na tampa do aparelho, de modo que, quando a tampa for fechada, o polegar ou dedo do usuário não fique em contato com a vedação enquanto tampa estiver sendo fechada. Isto impede contaminação do usuário inadvertidamente contamina a amostra que poderia, então, levar a um resultado de teste falso. Isto é particularmente importante onde o usuário tenha coletado uma variedade de amostras de diferentes locais ou as amostras envolvam material biológico que poderia estar presente na pele do usuário. Uma tal tampa poderia ter a vedação em recesso da lateral da tampa que fica em contato com o usuário enquanto a tampa estiver sendo fechada. De preferência, a vedação fica em recesso em relação a ambos os lados da tampa, de modo que a vedação não contate o usuário acidentalmente antes ou durante o fechamento da tampa. Desse modo, esta invenção refere-se a uma tampa adequada para fechamento de um vaso, a mencionada tampa compreendendo uma membrana e caracterizada pelo fato de a membrana ficar em recesso dentro da tampa. Qualquer vedação pode ser removida pelo operador antes do uso da câmara. Alternativamente, o aparelho pode compreender um cortador capaz de ser operado mecanicamente para perfurar qualquer vedação, conforme necessário, como descrito acima.

Uma ou mais das câmaras do aparelho pode, opcionalmente, compreender um membro de aprisionamento. Membros de aprisionamento adequados incluem um chip microfluídico, um material de fase sólida, um

filtro, e um empilhamento de filtro, uma matriz de afinidade, uma matriz de separação magnética, uma coluna de exclusão por tamanho, um tubo capilar e mistura dos mesmos. Estes podem ser usados para filtrar uma amostra quando ela for inicialmente introduzida no aparelho ou, alternativamente, para prover  
5 uma etapa de filtração durante protocolo de processamento de amostra, caso necessário.

Como já referido, o processamento da amostra pode incluir etapas de processamento físico. Estas etapas podem incluir processamento termal, acústico, óptico, sônico e elétrico, técnicas de sensoramento ou  
10 monitoramento etc. Estas etapas de processamento físico podem ser expressas por um número de modos diferentes. Como apresentado acima, estas podem ser despachadas para a amostra dentro de uma câmara usando um componente funcional que tenha sido armazenado sobre a plataforma e movido pelo braço do aparelho, como descrito. De preferência, o aparelho pode compreender um  
15 ou mais meios de processamento físico que são posicionados dentro do aparelho, acima da plataforma, de uma maneira similar ao braço do aparelho. Esses meios são idealmente projetados de modo que eles possam ser abaixos para uma certa câmara, localizada diretamente abaixo do meio, como necessário, e depois, removidos da câmara quando não mais necessários. Uma  
20 vez que a plataforma do aparelho é capaz de se mover, ela também pode se mover para posicionar qualquer câmara dada com respeito a um tal meio de processamento físico. Opcionalmente, o aparelho compreende um meio para assegurar que a plataforma seja corretamente posicionada com respeito a esses meios de processamento físico adicionais, caso necessário. Exemplos  
25 desses meios incluem, mas não de modo limitativo, meios para aquecer os conteúdos de uma câmara, um meio para afetar por som os conteúdos de uma câmara, um meio para introduzir um sinal óptico em uma câmara, um meio para detectar um sinal óptico em uma câmara, um meio para detectar um sinal óptico de uma câmara, um meio para introduzir um sinal elétrico em uma

câmara etc. É preferido que o aparelho compreenda um ou mais dos seguintes meios para aquecer ou um meio para afetar por som os conteúdos da câmara. Estes são particularmente úteis quando o aparelho é usado para processar uma amostra compreendendo material biológico antes da amplificação.

- 5                    Alternativamente, uma dada câmara do aparelho pode ser modificada para que o material que ela contenha poder sofrer o processamento físico diretamente no aparelho, ou quando o aparelho for modificado para incluir os necessários componentes adicionais ou se a câmara for projetada para ser usada em conjunto com uma peça de aparelho adicional.
- 10    Por exemplo, se a amostra precisar ser aquecida durante o processamento, as paredes da câmara podem compreender elementos de aquecimento que permitem seus componentes serem aquecidos ou, alternativamente, elementos podem ser revestidos com um polímero eletricamente condutor como o revelado em WO 98/24.258, de modo que a câmara possa ser aquecida pela
- 15    aplicação de uma corrente elétrica. Além disso, as paredes de uma ou mais câmaras podem ser flexíveis para permitir processamento acústico ou, alternativamente, elas podem ser transparentes a um ou mais comprimentos de onda de luz para permitir processamento, sensoramento ou monitoramento óptico. Se tal processamento físico for necessário, o aparelho deverá ser
- 20    projetado de modo que a câmara fique posicionada para acesso fácil e eficiente a qualquer meio necessário para o processamento físico. Quando o aparelho for usado para processar uma amostra compreendendo material biológico antes de uma reação de amplificação de ácido nucléico, é preferido que uma das câmaras seja tanto revestida com um polímero eletricamente
- 25    condutor, como tenha uma janela transparente de modo que esta câmara possa ser usada para a condução e monitoramento em tempo real da reação de amplificação.

Se o aparelho compreender uma câmara na qual um material será aquecido ou resfriado, é preferido que a câmara tenha uma grande

relação de área superficial e volume de modo que uma rápida troca de calor possa ocorrer. Um exemplo de uma tal câmara é um tubo capilar. Estes são ideais para o rápido aquecimento ou resfriamento de pequenos volumes de amostras de fluido. Entretanto, devido à tensão superficial de uma amostra de fluido, pode ser difícil carrear a amostra de fluido em um tubo capilar. Por conseguinte, é altamente preferido que a plataforma possa ser rapidamente irada para que a amostra de fluido possa ser introduzida no tubo capilar por força centrífuga. Isto provê uma vantagem adicional de ter uma plataforma essencialmente circular. Se o aparelho for usado desse modo, é preferido que todas as câmaras contendo fluido sejam projetadas com um recesso para que qualquer fluido dentro dessas câmaras não seja liberado durante a rotação da plataforma. É adicionalmente preferido que uma ou mais das câmaras seja montada sobre a plataforma usando um pivô, de modo que ela possa oscilar livremente enquanto a plataforma estiver girando, para que o fluido possa ser direcionado para o tubo capilar.

Por conseguinte, conforme referido acima, o aparelho da presente invenção pode, opcionalmente, ser projetado para compreender um componente funcional, incluindo um meio de processamento físico, assentado sobre a plataforma e que pode ser movido para operar o processamento da amostra pelo uso do braço. Alternativamente, ele pode compreender meios de processamento físico localizados acima da plataforma que pode interagir com uma dada câmara por ser mecanicamente abaixada para a câmara, como mencionado. É preferido que estes meios, que são dispendiosos e exigem força para operar, sejam localizados permanentemente dentro do aparelho, acima da plataforma, por exemplo, um meio para aquecer uma amostra, um meio para afetar sonicamente uma amostra etc. Para impedir contaminação da amostra entre o uso do aparelho, estes meios devem ser limpos. Alternativamente, a plataforma pode compreender câmaras compreendendo reagentes de limpeza nos quais os meios podem ser abaixados após o uso e esta

purificação pode ser interada na operação automatizada do aparelho. Similarmente, é preferido que estes componentes funcionais que podem ser prontamente projetados sejam descartáveis sejam localizados sobre a plataforma e sejam movidos com o braço do aparelho. Desse modo, ao final da  
5 operação do aparelho, toda a plataforma, incluindo seus componentes constituintes pode ser removida do aparelho e descartado. Isso minimiza contaminação de amostra. Exemplos desses componentes incluem cortadores, bainha para movimentação de um analito ligado a complexo de material aglutinante, filtros, tampas etc.

10 O aparelho pode, opcionalmente, se interado com outros meios para manipulação do analito em questão ou monitoramento do analito. Por exemplo, o aparelho pode compreender um sistema óptico capaz de detectar um ou mais materiais na câmara de reação. Se o aparelho compreender um detector óptico, ou se for usado em conjunto com um detector óptico, é  
15 preferido que o detector óptico possa ser vedado contra luz para assegurar que a detecção possa prosseguir sem interferência da luz incidente.

O próprio aparelho pode ter uma grande variedade de diferentes projetos, formas e pode ser feito de muitos materiais diferentes, dependendo do uso específico. De modo a minimizar o custo do aparelho e  
20 assegurar que ele seja economicamente viável, é preferido que as câmaras sejam fabricadas de um material barato, com material termoplástico, por exemplo, polietileno ou polipropileno, policarbonato, acrílico, nylon ou copolímero de butadieno-estireno ou misturas dos mesmos. O aparelho ou suas partes componentes pode ser transparente, translúcente ou opaco.  
25 Vantajosamente, qualquer das câmaras pode ser codificada por cores para ajudar a direcionar o usuário inexperiente quanto ao uso correto do aparelho.

É preferido que o aparelho seja portátil para que possa ser usado no campo. Desse modo, ele deve ser leve, ter projeto simples, exigir corrente mínima e deve, idealmente, ser projetado para ser usado em extremos

de temperatura. É preferido que o aparelho seja projetado para operar efetivamente em uma faixa de temperatura entre cerca de  $-30^{\circ}$  e  $+50^{\circ}$ .

É preferido também que a operação do aparelho seja totalmente automatizada. Isto tem diversas vantagens, incluindo facilidade de uso e reduzido erro de usuário. De modo a automatizar o aparelho, é provável que ele precise ser interfaceado com um computador interno ou externo ou outro meio de controle adequado que tenha sido apropriadamente programado. Opcionalmente, os meios de controle podem ser escolhidos de modo que possam ser programados com mais de um protocolo, e o usuário  
10 possa escolher o desejado protocolo de uma interface opcional adequada. Se o aparelho for assim automatizado, é preferido que ele compreenda um meio de controle para programar e controlar, por exemplo, a ciclagem termal da câmara de amostra e também controlar a óptica. De preferência, a seqüência da automação é projetada para minimizar o tempo necessário para processar  
15 uma amostra.

Modos de realização da invenção facilitam processamento de uma amostra de fluido de acordo com um protocolo predeterminado.

Esta invenção refere-se também ao uso de um aparelho de acordo com a presente invenção para o processamento de uma amostra antes  
20 de uma reação de amplificação de ácido nucléico.

De acordo com um outro aspecto, a invenção refere-se a um método para processar uma amostra de fluido, onde o método compreende:

- (i) colocar uma amostra compreendendo um analito em uma primeira câmara localizada sobre uma plataforma do aparelho;
- 25 (ii) aglutinar o analito a um material aglutinante para formar um complexo de material analito-aglutinante;
- (iii) baixar um meio para atrair inversamente o mencionado complexo para a mencionada primeira câmara e permitir que o complexo seja atraído para o mencionado meio;

- (iv) elevar o mencionado meio da primeira câmara;
- (v) mover a mencionada plataforma de modo que uma segunda câmara seja agora alinhada com o meio para atrair inversamente o mencionado complexo;
- 5      (vi) baixar o mencionado meio para atrair inversamente o mencionado complexo para a segunda câmara e permitir que o complexo se solte do mencionado meio;

caracterizado pelo fato do analito ser sujeito a uma etapa de processamento físico na primeira câmara ou na segunda câmara.

- 10                      É preferido que a etapa de processamento físico seja uma etapa de sonicação ou, alternativamente, que seja uma etapa de aquecimento. Além disso, é preferido que o método e qualquer aparelho relacionado também sejam projetados de modo que a amostra possa ser adicionalmente sujeita aa etapa de processamento químico. Desse modo, isto assegura que o método
- 15      possa ser adaptado flexivelmente para acomodar uma larga gama de diferentes protocolos de processamento de amostra.

- De acordo com um outro aspecto ainda, a invenção refere-se ao uso de um método de acordo com a presente invenção para o processamento de uma amostra antes de uma reação de amplificação de ácido
- 20      nucléico. Como uma primeira etapa, é normal necessitar dissolver qualquer material celular dentro da amostra para liberar o material de ácido nucléico. A dissolução pode, opcionalmente ser efetuada por uma etapa de dissolução química, por exemplo, usando reagente caotrófico como hidrócloro de guanidina ou, alternativamente, uma etapa de dissolução física, por exemplo,
- 25      usando um sonificador ou ambos. A sonicação de uma amostra é particularmente útil para o rompimento inicial de esporos que possam estar presentes. É preferido, então, que o analito seja movido através de duas câmaras diferentes, cada uma compreendendo um compensador para purificar o analito, o compensador compreendendo etanol, opcionalmente com

detergente e outros reagentes opcionais, por exemplo, tris. hidrocloreto. Diversos reagentes PCR são, então, adicionados à amostra, por exemplo, iniciadores, sondas, tinturas fluorescentes, enzimas, nucleotídeos etc. O material de ácido nucléico é, opcionalmente, eluído do material aglutinante pelo uso de um pequeno volume de água pré-aquecida no qual os outros reagentes de reação de amplificação são solubilizados. Finalmente, a mistura de reação é sujeita a ciclagem termal com análise óptica em tempo real opcional para monitorar a reação de amplificação e identificar positivamente o alvo.

De acordo com ainda com outro aspecto, esta invenção refere-se também ao uso de um material aglutinante em um aparelho de acordo com a presente invenção para o processamento de uma amostra antes de uma reação de amplificação de ácido nucléico.

### **Figuras**

A Fig. 1 mostra uma vista em perspectiva do aparelho.

A Fig. 2 mostra uma seção transversal do aparelho completo pela lateral.

A Fig. 3 mostra uma vista aérea da plataforma.

A Fig. 4 mostra uma seção transversal da operação de um componente funcional, neste caso um cortador, perfurando uma membrana laminada sobre uma câmara do aparelho.

A Fig. 5 mostra uma vista para ilustrar o detalhe do acessório de um componente funcional, neste caso, um cortador, para o garfo do braço.

A Fig. 6 mostra uma vista em seção transversal da operação de um componente funcional, neste caso, uma bainha, com um magneto para retirar analito ligado da câmara de amostra.

A Fig. 7 mostra uma vista em seção transversal da operação de um meio de processamento físico, neste caso, um meio de aquecimento, para aquecer um volume de solução em uma das câmaras do aparelho.



A Fig. 8 mostra uma vista em seção transversal da operação de um componente funcional, neste caso, uma bainha, com um magneto para liberar o analito ligado na câmara de reação.

5 A Fig. 9 mostra uma vista em seção transversal da câmara de reação, neste caso, com um componente funcional, neste caso o cortador, em posição para vedar a câmara de reação.

A Fig. 10 mostra uma seção transversal de uma tampa da presente invenção com uma vedação em recesso.

10 A Fig. 1 mostra uma vista em perspectiva do aparelho 1. O aparelho compreende uma plataforma 2 mantida em posição por uma trava de torção 4. A plataforma compreende diversas câmaras e componentes funcionais (detalhados na Fig. 3). A plataforma gira, acionada por um motor escalonador 6 e uma correia de transmissão (não mostrada). A posição da plataforma é monitorada pelo uso de um sensor de índice (não mostrado) e  
15 também pelo monitoramento da movimentação do motor escalonador 6. Sobre a plataforma 2, fica localizado o braço 10 que compreende um garfo 12 para removivelmente se acoplar aos componentes funcionais (não detalhado) sobre a plataforma 2. O braço 10 está mostrado em uma posição elevada suportando uma câmara 68 acima da plataforma 2. O aparelho compreende também um  
20 magneto 14 que fica localizado diretamente acima do garfo do braço 12. O magneto 14 está mostrado na posição elevada. O aparelho também compreende um meio de aquecimento 16. Este fica localizado também acima da plataforma 2 e mostrado na posição elevada. Além disso, o aparelho compreende um meio para sonicar uma amostra 18 novamente localizado  
25 acima da plataforma 2 e mostrado em uma posição elevada. A movimentação linear do braço 10 e do magneto 14 é acionada por um motor 20 acoplado a uma correia de transmissão 22 e controlado por um atuador linear 224. A movimentação linear do meio de aquecimento 16 e do meio para sonicar uma amostra 18 é similarmente acionada pelo motor 20 acoplado à correia de

transmissão 22 e individualmente controlado pelos atuadores lineares 26 e 28, respectivamente,. O aparelho compreende também um painel de controle 30 e uma fonte de energia 32.

A Fig. 2 mostra uma seção transversal do aparelho da presente invenção. Os componentes mostrados são os mesmos mostrados na Fig. 1, exceto pelo fato do atuador linear 24 não poder ser visto por esta vista. Esta vista mostra adicionalmente a correia de transmissão 40 ligada ao motor 6 para girar a plataforma e sensor 42 para sensorar a posição da plataforma.

A Fig. 3 mostra uma vista aérea da plataforma 2 do aparelho que foi projetada para processar uma amostra de fluido antes de uma amplificação de ácido nucléico. A plataforma está montada sobre o aparelho pelo uso de um mecanismo de tava de torção 4. A plataforma compreende dois componentes funcionais, um cortador 50 e uma bainha 52. Cada componente funcional compreende um lábio 54 sobre qualquer lado que permite que o componente funcional interaja com o braço do aparelho (não mostrado). O lábio é orientado de modo que a plataforma gire, o componente em garfo do braço sendo capaz de deslizar sob o lábio do componente funcional. O aparelho compreende também diversas câmaras 56, 58, 60, 62, 64, 66 e 68. cada uma dessas câmaras tem um papel diferente como mostrado abaixo. As câmaras 56, 58, 60, 64, 66 são ovais em seção transversal e compreendem um recesso de poço circular no fundo da câmara 560, 580, 600 e 640, respectivamente,. A câmara 62 tem seção transversal circular. A câmara 68 tem seção transversal circular, estreitando-se para um tubo capilar na base da câmara indicada por 680. A câmara 68 compreende adicionalmente um lábio 70 que permite a câmara interagir com o braço do aparelho (não mostrado). A câmara 68 é montada no aparelho com uso de fusos 72 montados em soquetes 74. As câmaras 60 e 62 são montadas juntas em um único recipiente 76. Este recipiente 76 é destacável da plataforma. A plataforma compreende também uma seção recortada 78.

O uso do aparelho e da plataforma para processa amostra de fluido antes da amplificação de ácido nucléico é apresentada abaixo com referência às figuras acima e, adicionalmente, às Figs. 4 a 9.

Um recipiente 76 compreendendo uma câmara de amostra 60 é  
5 selecionado com base no ensaio escolhido. A câmara 62 é pré-carregada com diversos reagentes necessários para o mencionado ensaio. Uma amostra de fluido compreendendo um analito de DNA é coletada e colocada na câmara de amostra 60. A câmara de amostra é pré-carregada com um reagente dissolvente químico de hidrocloreto de guanidina. Contas aglutinantes  
10 magnéticas 100 são, então, adicionadas à amostra e a tampa do recipiente de amostra fechada. O recipiente 76 compreende câmara de amostra 60, câmara de amostra e reagente 62 é carregada sobre a plataforma 2. A plataforma 2 é, então, areada no aparelho 1 e travada no lugar usando a tava de torção 4. O braço 10 é abaixo e a plataforma girada de modo que o arfo 12 se encaixe sob  
15 o lábio 52 do cortador 50. O braço 12 é, então, elevado e a plataforma 12 encaixada sob o lábio 52 do cortador 50. O braço 12 é, então, elevado e a plataforma 2, então, gira de modo que a câmara 56 fique localizada sob o cortador 50. O braço é abaixo e o cortador 50 perfura a membrana de metal laminado (não mostrada) cobrindo a câmara 56. Isto é repetido de modo que o  
20 cortador 50 perfure seqüencialmente as membranas cobrindo as câmaras 58, 60, 62, 64, 66 e 68.

A Fig. 4 mostra uma vista em seção transversal da operação de um componente funcional, neste caso, um cortador 50, perfurando uma membrana laminada (não mostrada) sobre o topo de uma câmara, por  
25 exemplo, 56, do aparelho. A câmara 56 é acoplada à plataforma 2. A figura ilustra o lábio do componente funcional 52 que é usado para encaixar-se com o garfo do braço (não mostrado).

A Fig. 5 mostra uma vista ilustrando o detalhe do acoplamento de um componente funcional, neste caso, um cortador 50, ao garfo 12 do

braço 10. O arfo 12 do braço 10 se encaixa com o cortador sob o lábio 52.

Uma vez que todas as membranas laminadas do aparelho tenham sido perfuradas, o cortador 50 é retornado para sua posição original sobre a plataforma 2 pela rotação da plataforma 2, abaixando o braço 10 e rotação da plataforma na direção oposta de modo que o grafo do braço 12 e o

5      lábio do cortador 52 se desencaixem.

A plataforma é, então, girada de modo que a câmara de amostra 60 fique agora localizada sob o meio para sonicar a amostra 18. O meio para sonicar a amostra 18 é abaixo na câmara de amostra 60 e a

10      sonicação da amostra é iniciada. Isto provê uma etapa de dissolução física para dissolver qualquer esporo que esteja presente na amostra para liberar qualquer DNA. Ao mesmo tempo, o hidrocloreto de guanidina de reagente químico também atua para prover dissolução química de qualquer célula na amostra. Quando o DNA é liberado, ele se liga ao material aglutinante

15      magnético para formar um complexo. Quando a sonicação está completada, o meio para sonicar a amostra 18 é removido da câmara de amostra 60. Antes de ser armazenado, o meio para sonicar a amostra 18 é, primeiro, purificada em duas câmaras de lavagem, câmaras 56 e 58. Estas câmaras são pré-carregadas com um compensador adequado, por exemplo, uma solução

20      etanólica aquosa a 50% 80. O meio para sonicar a amostra 18 é elevado da câmara de amostra 60, a plataforma 2 ira de modo que a câmara de compensação 56 fique agora localizada sob o meio para sonicar a amostra 18, o meio para sonicar a amostra é abaixo para a câmara de compensação 56, ativado rapidamente e elevado. O procedimento é repetido para a câmara 58.

25      Após a segunda purificação, o meio para sonicar a amostra 18 é elevado e armazenado.

O braço 10 é, então, abaixo e a plataforma 2 é girada de modo que 12 se encaixe sob o lábio 52 da bainha 54. O braço 10 é, então, elevado, elevando, desse modo, a bainha 54 acima da plataforma 2. A plataforma 2 é,

então, girada, de modo que a câmara de amostra 60 fique diretamente sob a  
 baihha 54. O braço 10 é abaixado, desse modo abaixando a baihha 54 na câmara  
 de amostra 60. O magneto 14 é, então, abaixado na baihha 54 e os glóbulos  
 magnéticos 100 aos quais o DNA está ligado, são atraídos para a baihha 54. O  
 5 braço 10 é, então, elevado, elevando, desse modo, a baihha 54 para fora da  
 câmara de amostra 60. O magneto 14 é elevado simultaneamente com o braço  
 10, de modo que ele permaneça no interior da baihha 54.

A Fig. 6 mostra uma vista em seção transversal da operação de  
 um componente funcional, neste caso, uma baihha 54, com um magneto 14  
 10 para remover o analito ligado da câmara de amostra 60. A câmara 60 é  
 acoplada à plataforma 2. A baihha é abaixada via o braço (não mostrado) para  
 a amostra 102 contida na câmara de amostra 60. O magneto 14 é inserido na  
 baihha 54 e os glóbulos magnéticos 100 aos quais o DNA está complexado  
 são atraídos para a baihha 54.

15 O DNA ligado aos glóbulos magnéticos 100 é, então,  
 purificado em dois compensadores. A plataforma 2 é girada de modo que a  
 primeira câmara de compensação 64 contendo uma solução compensadora de  
 tris.hidroclorato fica diretamente sob a baihha 54 à qual os glóbulos  
 magnéticos 100 são atraídos. O braço 10 é abaixado, desse modo, a  
 20 baihha 54 para a câmara de compensação 64. O magneto 14, porém, não é  
 abaixado. Isto significa que os glóbulos 100 não são mais atraídos para a baihha  
 54, mas, em vez disso, são atraídos e caem na solução compensadora. A  
 rápida elevação e abaixamento do braço 10 e, desse modo, da baihha 54, em  
 pequenas movimentações verticais, assegura que todos os glóbulos 100 sejam  
 25 liberados da baihha 54 e bem misturados com a solução compensadora. A  
 baihha 54 é, então, abaixada de volta na primeira câmara de compensação 64,  
 o magneto 14 é abaixado para a baihha 54 e os glóbulos magnéticos 100 com o  
 DNA ainda ligado reacoplados à baihha 54. O processo é repetido para  
 purificar os glóbulos 100 em um segundo compensador compreendendo

solução etanólica aquosa a 50% contida em uma segunda câmara de compensação 66. Após purificar os glóbulos magnéticos 100 com o DNA ligado na segunda câmara de compensação 66, o braço 10 é elevado, elevando, desse modo, a bainha 54 e deixando os glóbulos magnéticos 100 na  
 5 câmara de compensação 66. A bainha 54, entretanto, não é retornada para a plataforma 2, mas, em vez disso, é retida acoplada ao braço 10.

A plataforma é agora girada de modo que a câmara de reação 68 fique, agora, diretamente sob o meio para aquecer 16. A câmara de reação 68 compreende uma área inferior 90 compreendendo um tubo capilar 680 e  
 10 uma área superior 92. A área inferior 90 é separada da área superior 92 por uma membrana laminada táctil 94. A área superior compreende um pequeno volume, aproximadamente, 100µl de água 96. O meio para aquecimento 16 é, agora, abaixo para a área superior 92 da câmara de reação 68 e é ativado para aquecer a água 96 até uma temperatura de, aproximadamente, 90°C. Uma vez  
 15 que a água 96 esteja aquecida, o meio de aquecimento 16 é elevado e removido da câmara de reação 68. O meio de aquecimento 16 é armazenado, então, sobre o aparelho 1 para uso futuro.

A Fig. 7 mostra uma vista em seção transversal da operação de um meio de processamento físico, neste caso, um meio para aquecimento 16,  
 20 para aquecer um volume de solução 96 em uma das câmaras, neste caso, a câmara de reação 68 do aparelho 1. A câmara de reação é acoplada à plataforma 2. O meio para aquecimento aquece a água 96 que está contida na seção superior 92 da câmara de reação 68. A seção superior 92 e a seção inferior 90 da câmara de reação 68 são separadas por uma membrana táctil 94.

25 A plataforma é novamente girada de modo que a segunda câmara de compensação 66 compreendendo os glóbulos magnéticos 100 aos quais o DNA permanece ligado fique diretamente sob a bainha 54. O braço 10 é abaixado, abaixando desse modo a bainha 54 para a segunda câmara de compensação 66. O magneto 14 é novamente abaixado para a bainha e novamente os glóbulos 100

são atraídos para a bacia 54. A bacia 54 e o magneto 14 são, ambos, elevados, a plataforma é girada de modo que agora a câmara de reação 68 fique diretamente sob a bacia 54. O braço 10 é abaixado para abaixar a bacia 54 para a seção superior 92 da câmara de reação 68. Como antes, o magneto 14 é agora  
5 abaixado de modo que os glóbulos 100 não são mais atraídos pela bacia 54. Os glóbulos 100 são liberados para a seção superior 92 da câmara de reação 68. Como previamente, a pequena elevação e abaixamento do braço 10 e bacia 54 asseguram que todos os glóbulos sejam liberados da bacia 54. O DNA é, então, eluído dos glóbulos 100 pela água morna 96. O braço 10 é elevado de modo que  
10 a bacia 54 seja removida da câmara de reação 68.

A figura 8 mostra uma vista em seção transversal da operação e um componente funcional, neste caso, uma bacia 54, com um magneto 14 para liberar o analito ligado 100 na câmara de reação 68. Os glóbulos magnéticos 100 são liberados na seção superior 92 da câmara de reação 68  
15 onde a água aquecida 96 elui o DNA dos glóbulos magnéticos 100.

A plataforma é novamente girada de modo que agora a câmara de reagente 62, na qual foram pré-carregados os reagentes necessários para uma reação de amplificação de ácido nucléico, fique diretamente sob a bacia 54. O braço 10 é abaixado, abaixando, desse modo, a bacia 54 para a câmara de reagente 62. Os reagentes (não mostrados) foram pré-formulados de modo  
20 que eles também fiquem ligados aos glóbulos magnéticos (não mostrado). Uma vez que a bacia 54 esteja na posição na câmara de reagente 62, o magneto 14 é abaixado para a bacia 54 e os glóbulos magnéticos aos quais os reagentes estão ligados são atraídos para a bacia 54. A bacia 54 e o  
25 magneto 14, juntos, são elevados para remover os reagentes (não mostrado) da câmara de reagente 62. A plataforma 2 é, então, girada de modo que a câmara de reação 68 fique agora diretamente sob a bacia 54. O braço 10 é, então, abaixado, abaixando desse modo, a bacia 54 para a seção superior da câmara de reação 92. Novamente, o magneto 14 não é abaixado, de modo que os

glóbulos magnéticos aos quais os reagentes estão ligados são liberados da  
bainha 54 para a seção superior 92 da câmara de reação 68. Os reagentes são  
eluídos dos glóbulos magnéticos pela água morna 96. Após a eluição estar  
completa, o braço 10 é novamente abaixado com a bainha 54 na posição. O  
5 magneto 14 é abaixado para a bainha 54 e todos os glóbulos magnéticos na  
seção superior 92 da câmara de reação 68, ou seja, aqueles do analito e para o  
reagente, são atraídos para a bainha 54. A bainha 54 e o magneto 14 são,  
ambos, elevados para a remoção dos glóbulos e a plataforma 2 é girada. Os  
glóbulos são, então, depositados como rejeito em uma das câmaras de  
10 compensação usadas. Após os glóbulos terem sido liberados da bainha 54, a  
bainha é retornada para sua posição inicial sobre a plataforma 2 pelo uso  
novamente da movimentação do braço 10 e rotação da plataforma 2.

A seção superior 92 da câmara de reação 68 compreende agora  
uma amostra de ácido nucléico purificada e todos os reagentes necessários  
15 para uma reação de amplificação. O braço 10 é agora usado para recolher o  
cortador 50. A plataforma 2 gira novamente de modo que a câmara de reação  
68 fique agora diretamente sob o cortador 50. O braço 10 é abaixado, abaixando,  
desse modo, o cortador 50 para a câmara de reação 68. O cortador 50 perfura  
a membrana 94 e a água 96 contendo o DNA e o reagente cai para a seção  
20 inferior 90 da câmara de reação 68. Em vez de usar o braço para remover o  
cortador 50, o cortador é, em vez disso, deixado na posição na câmara de  
reação 68 onde ele agora atua como batente para vedar a câmara de reação 68.

A Fig. 9 mostra uma vista em seção transversal da câmara de  
reação 68, neste caso, com um componente funcional, neste caso, o cortador  
25 50, na posição para vedar a câmara de reação 68. O cortador 50 também foi  
usado para perfurar a membrana 94 separando a seção superior 92 e a seção  
inferior 90 da câmara de reação 68, de modo que a água 96 contendo o analito  
de DNA e os reagentes para uma reação de amplificação nucléica possam  
entrar no tubo capilar 680. O cortador 50 permanece no lugar para vedar a



câmara de reação 68, de modo que nenhum solvente pode evaporar da câmara durante a reação de amplificação.

De modo a conduzir a água 96 contendo o DNA e os reagentes para o tubo capilar 680 da câmara de reação 68, a plataforma 2 é girada a alta  
5 velocidade. A força centrífuga conduz o fluido 90 para o tubo capilar 680. Isto é auxiliado pelo fato de, durante a rotação, a câmara de reação 68 ser capaz de pivotar sobre a plataforma por meio de fusos 72 montados em soquetes 74. Além disso, de modo a impedir o vazamento de líquido contido nas câmaras 56, 58, 60, 64 e 66 durante esta rotação a alta velocidade, estas câmaras são projetadas com  
10 uma seção transversal oval e um recesso circular na base, conforme mostrado na Fig. 3. Este desenho interno impede qualquer vazamento.

Após a água 96 contendo o DNA e a amplificação nucléica ter entrado no tubo capilar 680, a amostra está pronta para sofrer uma reação de amplificação de ácido nucléico. Neste estágio, a câmara de reação 68 pode ser  
15 manualmente removida do aparelho 1 para uso em um outro aparelho onde a amplificação de ácido nucléico é conduzida. Neste exemplo, entretanto, o aparelho único foi adaptado para conduzir adicionalmente a amplificação de ácido nucléico e sua detecção óptica. Estas operações são efetuadas na metade inferior do aparelho 1 (não mostrada). De modo a automatizar totalmente o  
20 processo, a câmara de reação 68 foi adaptada com um lábio 98 de modo que ele possa ser manipulada pelo braço de aparelho 10 da mesma maneira que outros componentes funcionais 50 e 54. O braço 10 é abaixo e a plataforma 2 girada de modo que o lábio 98 da câmara de reação 68 se encaixe como garfo 12 do braço 10. O braço 10 é, então, elevado, elevando, desse modo, a câmara  
25 de reação 68. A câmara de reação elevada 68 está mostrada nas Figs. 1 e 2. A plataforma ira, então, de modo que a seção recortada 78 fique agora alinhada sob a câmara de reação elevada 68. O braço é, então, abaixo, abaixando, desse modo, a câmara de reação através da seção recortada 78 e para a parte inferior do aparelho 1. Quando localizada na parte inferior do aparelho 1, a

amplificação de ácido nucléico é realizada usando um ciclador termal para aquecer e esfriar a mistura de reação no tubo capilar 680 e um detector óptico para detectar os produtos finais. Isto é auxiliado pelo fato do tubo capilar ser revestido com um polímero eletricamente condutor que permite rápido aquecimento e esfriamento do tubo capilar 680.

Após o término da amplificação de ácido nucléico, a plataforma 2 contendo o cortador 50, a bainha 54 e câmaras 56, 58, 60, 62, 64 e 66 e a câmara de reação 68 são todas removidas do aparelho e descartadas. Uma nova plataforma contendo os elementos necessários pode, então, ser introduzida no aparelho, de modo que ele possa ser usado novamente em uma outra manipulação de amostra.

A Fig. 10 mostra uma seção transversal de uma tampa 200 da presente invenção com uma membrana em recesso 206 acoplada a um vaso de amostra 212. A amostra 210 é introduzida em uma câmara 212. De modo a vedar a câmara 212 para assegurar que a amostra 210 não seja contaminada, uma tampa tem que ser usada. A tampa 200 da presente invenção compreende uma membrana 206, por exemplo, uma membrana laminada, que pode ser perfurada de modo a acessar a amostra para processamento adicional posteriormente. De modo a impedir contaminação cruzada da amostra 210 pela membrana 206, a membrana 206 fica em recesso dentro da tampa 200. Isto resulta em que, se um usuário tocar a tampa 200 para fechar a mesma, tanto pelo lado superior como pelo lado inferior, haja um vão 202 ou 204, respectivamente, entre o usuário e a membrana 206. Desse modo, o usuário não contamina a membrana 206. Neste caso, a tampa 200 é acoplada à câmara de amostra 212 via um flange articulado 208. Entretanto, não é uma exigência que a tampa seja acoplada a uma câmara, a tampa sozinha poderia ser fabricada para uso com uma grande variedade de diferentes vasos de amostra.

## REIVINDICAÇÕES

1. Aparelho para processar uma amostra de fluido, caracterizado pelo fato de compreender:

(i) uma plataforma compreendendo:

- 5           (a) uma câmara adequada para receber uma amostra; e  
            (b) um componente funcional;

            (ii) um braço capaz de ser elevado e abaixado e incluindo um meio para  
                acoplar-se de modo removível ao componente funcional, de modo  
                que o mencionado componente possa ser elevado e abaixado com o  
10           braço; e

            (iii) um meio para moer a plataforma de modo que qualquer câmara ou  
                componente funcional possa ser alinhado com respeito ao braço.

2. Aparelho de acordo com a reivindicação 1, caracterizado  
pelo fato da plataforma ser circular.

15           3. Aparelho de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 2,  
caracterizado pelo fato do braço se acoplar removível e mecanicamente ao  
componente funcional.

            4. Aparelho de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 3,  
caracterizado pelo fato do aparelho compreender um meio para elevar e  
20           abaixar o braço em uma direção substancialmente vertical.

            5. Aparelho de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 4,  
caracterizado pelo fato do componente funcional ser usado para remover um  
analito da amostra na câmara.

            6. Aparelho de acordo com a reivindicação 5, caracterizado  
25           pelo fato da câmara do aparelho compreender um material aglutinante de fase  
sólida capaz de formar um complexo com o analito.

            7. Aparelho de acordo com a reivindicação 6, caracterizado  
pelo fato do mencionado material aglutinante de fase sólida ser sílica.

            8. Aparelho de acordo com qualquer das reivindicações 5 a 7,

caracterizado pelo fato do aparelho compreender um meio para atrair o mencionado complexo.

9. Aparelho de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato do mencionado meio ser um magneto.

5 10. Aparelho de acordo com as reivindicações 8 a 9, caracterizado pelo fato do mencionado componente funcional ser uma bainha que provê uma interface entre os meios para atrair o complexo e o próprio complexo.

10 11. Aparelho de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 10, caracterizado pelo fato do aparelho compreender adicionalmente um meio de processamento físico.

12. Aparelho de acordo com a reivindicação 11, caracterizado pelo fato do meio de processamento físico ser um meio para aquecer os conteúdos de uma câmara do aparelho.

15 13. Aparelho de acordo com a reivindicação 11, caracterizado pelo fato do meio de processamento físico ser um meio para sonicar os conteúdos de uma câmara do aparelho.

20 14. Aparelho de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 13, caracterizado pelo fato da câmara do aparelho ser revestida, pelo menos em parte, com um polímero eletricamente condutor.

15. Aparelho de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 14, caracterizado pelo fato do aparelho compreender uma câmara compreendendo reagentes pré-dispensados.

25 16. Aparelho de acordo com a reivindicação 15, caracterizado pelo fato dos reagentes serem ligados a outro material aglutinante de fase sólida.

17. Uso de um aparelho como definido na reivindicação 1, caracterizado pelo fato de ser usado para processar uma amostra antes de uma reação de amplificação de ácido nucléico.

18. Método para processar uma amostra de fluido em um aparelho como definido na reivindicação 1, em que o método compreende:

- 5 (i) colocar uma amostra compreendendo um analito em uma primeira câmara localizada sobre uma plataforma de um aparelho como definido na reivindicação 1;
- (ii) ligar o analito a um material aglutinante para formar um complexo de material analito-aglutinante;
- 10 (iii) baixar um componente funcional para atrair inversamente o mencionado complexo para a mencionada primeira câmara e permitir que o complexo seja atraído para o mencionado meio;
- (iv) elevar o mencionado componente funcional a partir da primeira câmara;
- 15 (v) mover a mencionada plataforma de modo que uma segunda câmara fique agora alinhada com os meios para atrair inversamente o mencionado complexo;
- (vi) baixar o mencionado componente funcional para atrair inversamente o mencionado complexo para a segunda câmara e permitir que o complexo se detraia do mencionado meio;

20 caracterizado pelo fato de que o analito é sujeito a uma etapa de processamento físico na primeira câmara ou na segunda câmara.

19. Método de acordo com a reivindicação 17, caracterizado pelo fato da etapa de processamento físico ser uma etapa de sonicação.

20. Método de acordo com a reivindicação 17, caracterizado pelo fato da etapa de processamento físico ser uma etapa de aquecimento.

25 21. Método de acordo com qualquer das reivindicações 17 a 20, caracterizado pelo fato da amostra ser também sujeita a uma etapa de processamento químico.

22. Uso de um método como definido na reivindicação 18, caracterizado pelo fato de servir para o processamento de uma amostra antes

de uma reação de amplificação de ácido nucléico.

23. Uso de um material aglutinante em um método como definido na reivindicação 17, caracterizado pelo fato de servir para o processamento de uma amostra antes de uma reação de amplificação de ácido nucléico.

24. Aparelho de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 16, em que a câmara compreende uma tampa adequada para fechamento de um vaso, mencionada tampa compreendendo uma membrana, caracterizada pelo fato de a mencionada membrana ficar em recesso dentro da tampa.

Fig.1.

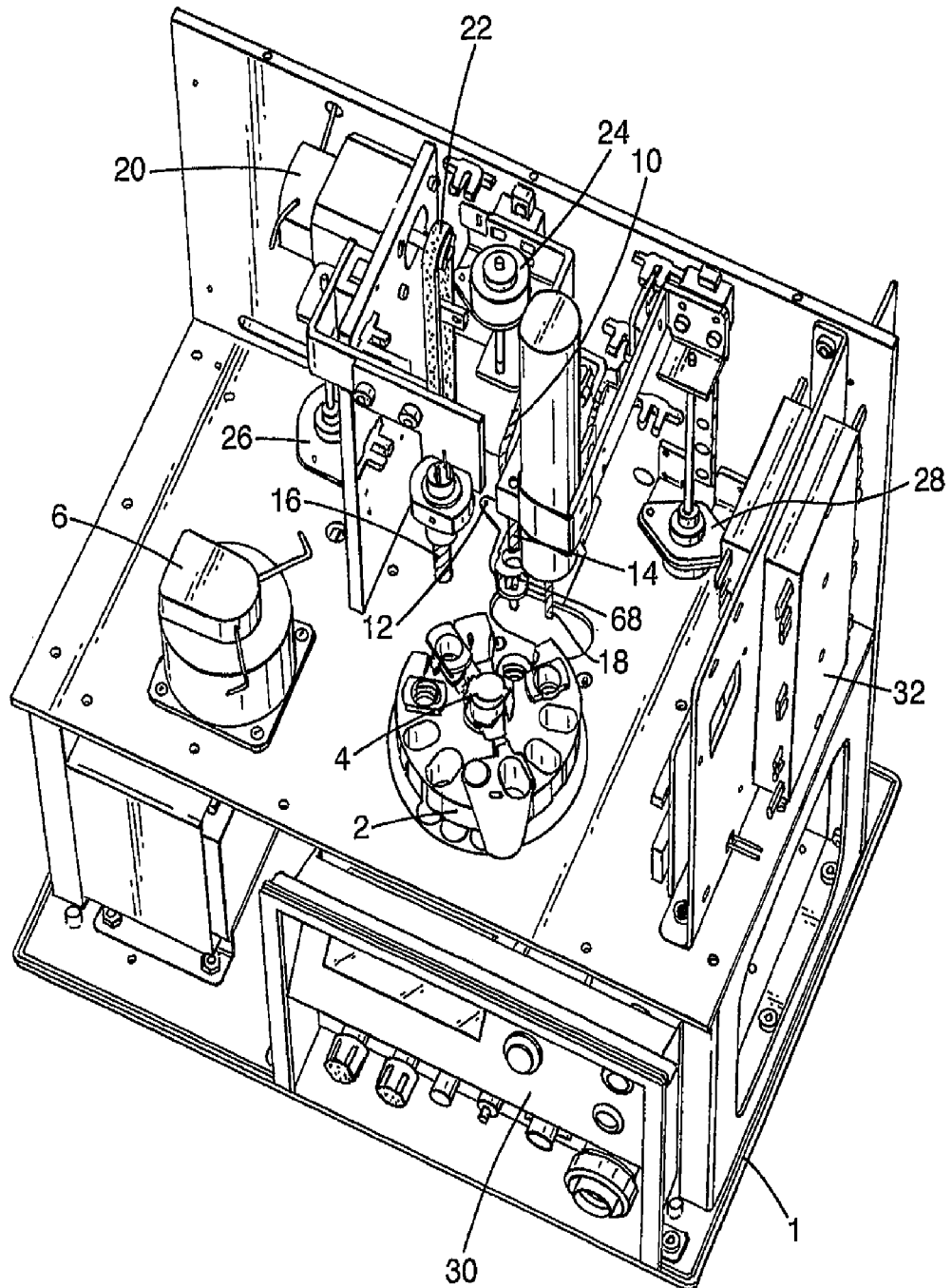


Fig.2.

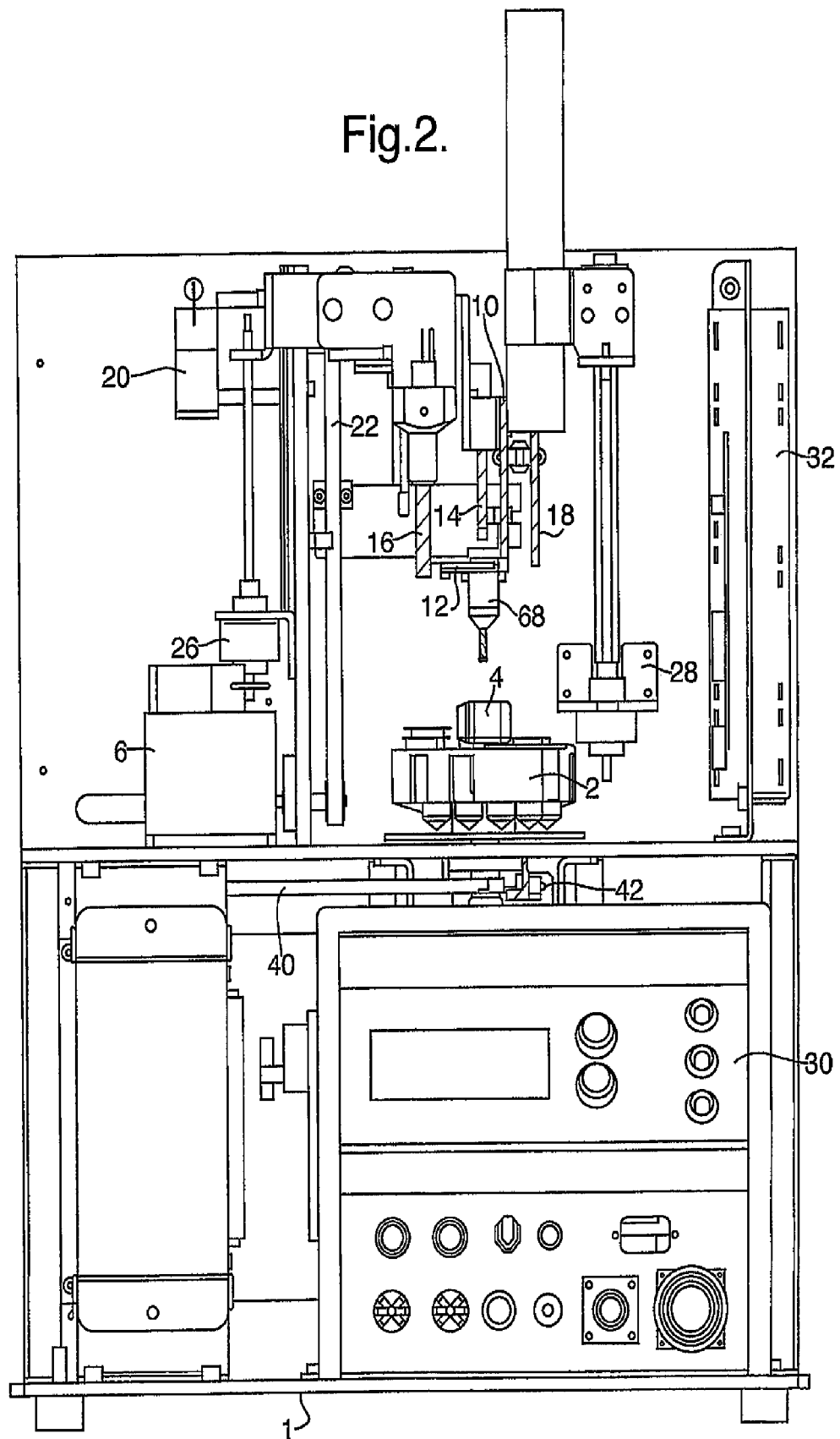




Fig.3.

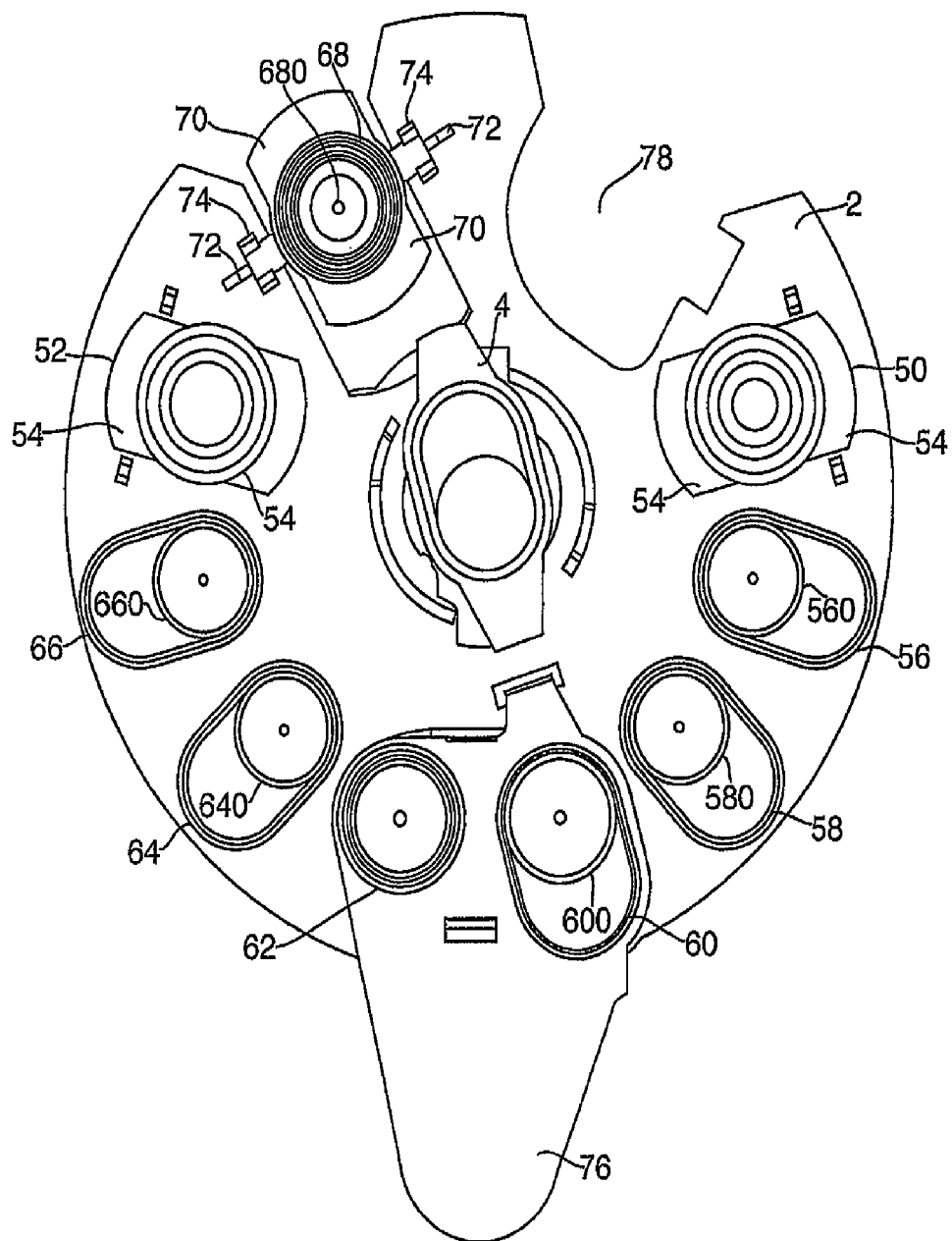


Fig.4.

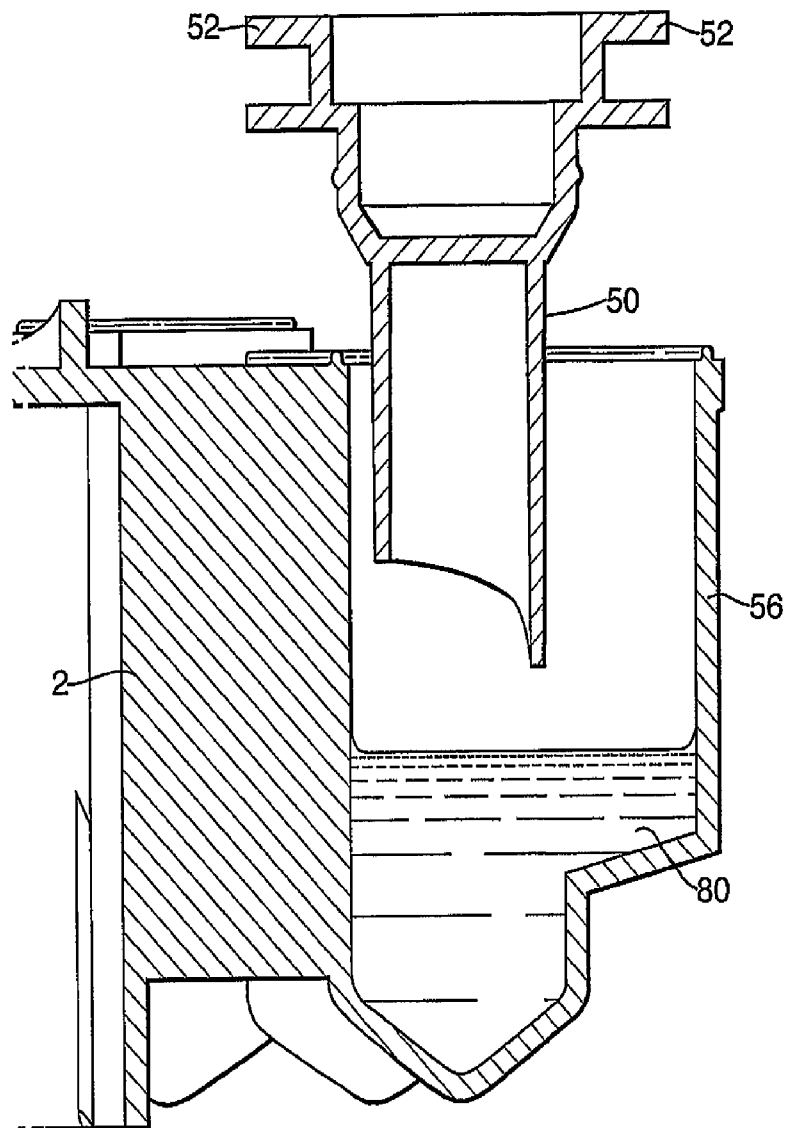


Fig.5.

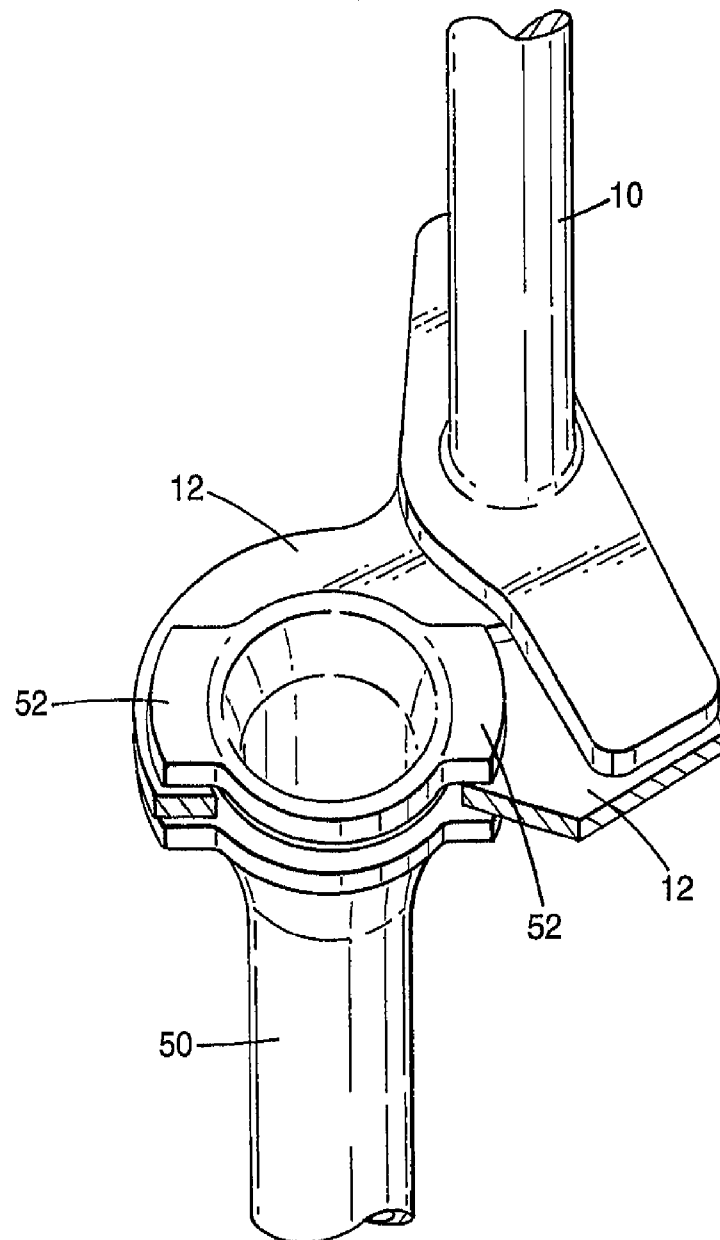


Fig.6.

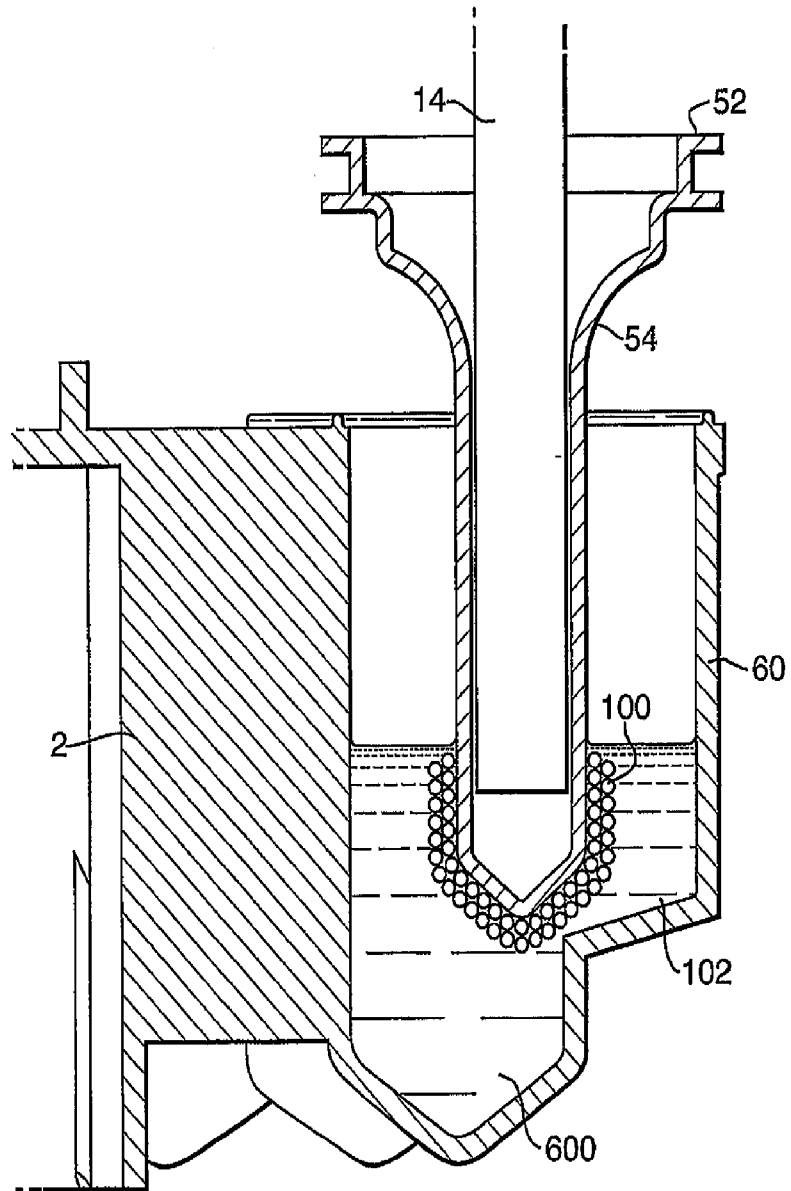


Fig.7.

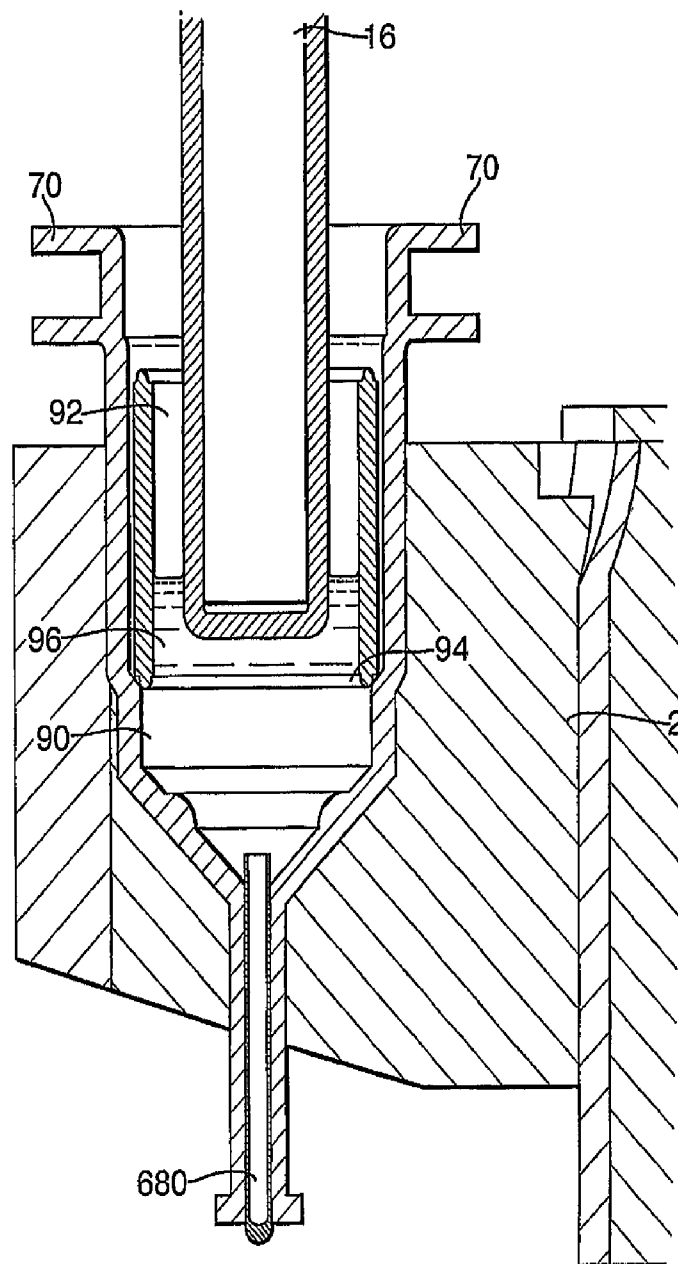


Fig.8.

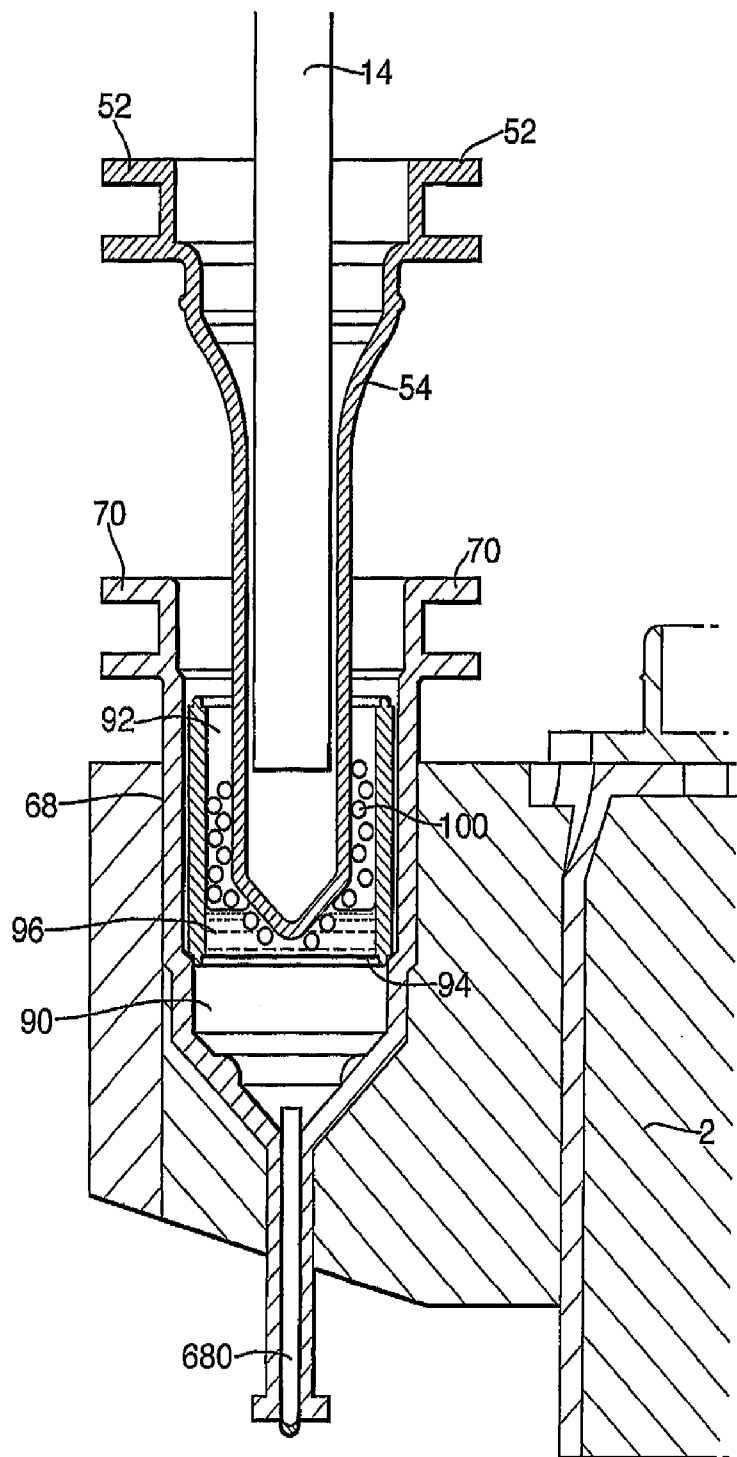


Fig.9.

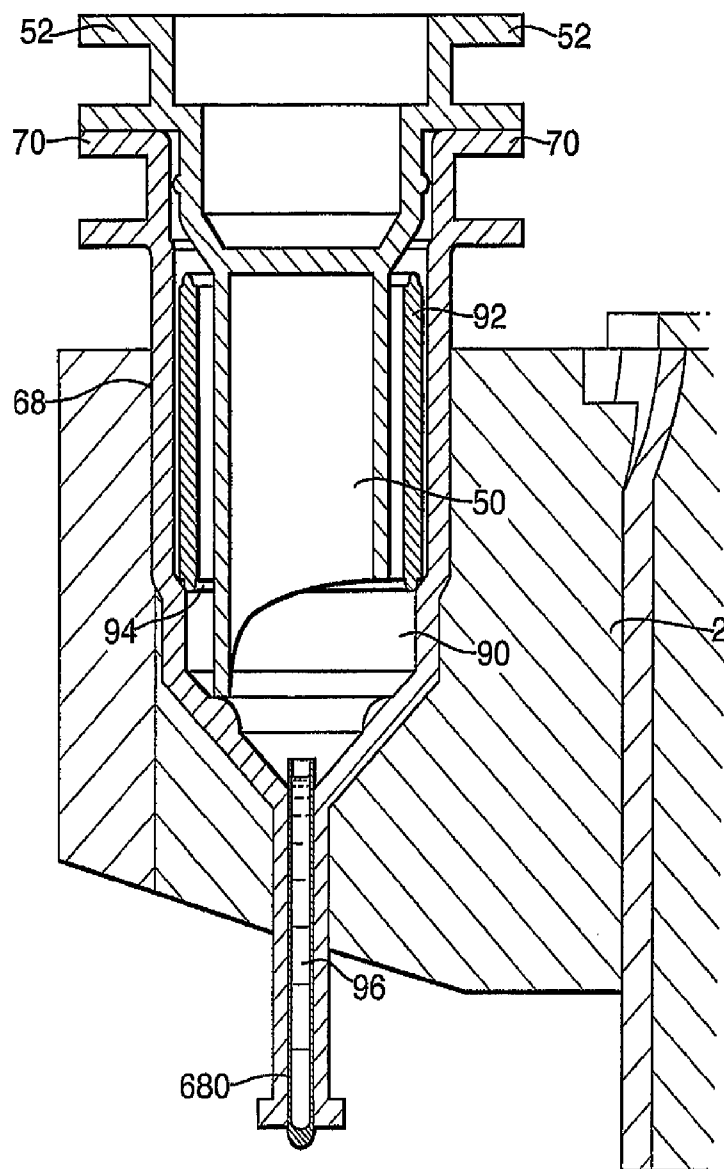
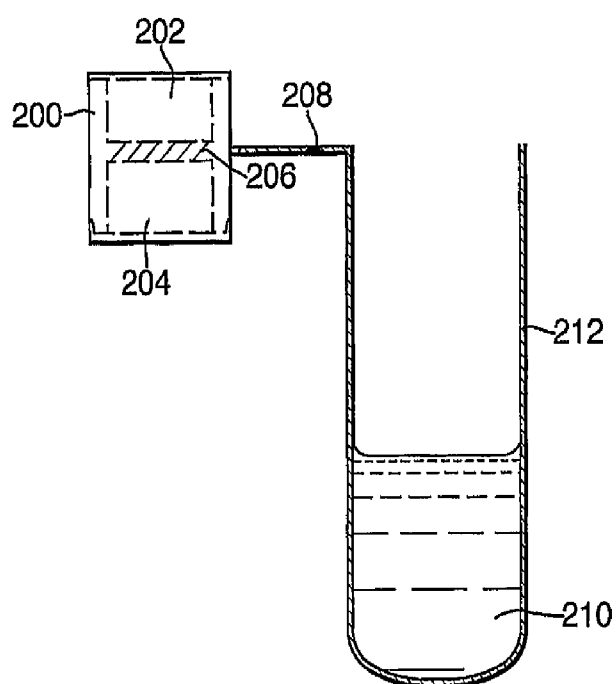


Fig.10.





RESUMO

“APARELHO PARA PROCESSAR UMA AMOSTRA DE FLUIDO, USO  
DE UM APARELHO, MÉTODO PARA PROCESSAR UMA AMOSTRA  
DE FLUIDO, USO DE UM MÉTODO, E, USO DE UM MATERIAL  
5 AGLUTINANTE EM UM MÉTODO”

Esta invenção refere-se a um aparelho para processar uma amostra de fluido compreendendo: (i) uma plataforma que compreende: (a) uma câmara adequada para receber uma amostra; e (b) um componente funcional; (ii) um braço capaz de ser levantado e abaixado e que inclui um  
10 meio para se anexar de modo removível ao componente funcional, de modo que o mencionado componente possa ser levantado e abaixado com o braço; e (iii) um meio para mover a plataforma, de modo que qualquer câmara ou componente funcional possa ser alinhado com relação ao braço. Esta invenção refere-se também a um método de processar uma amostra de fluido  
15 e uso do mencionado aparelho e mencionado método para processar uma amostra antes de uma reação de amplificação de ácido nucléico.