

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 827 293**

51 Int. Cl.:

G01N 21/07 (2006.01)

G01N 35/00 (2006.01)

B01L 3/00 (2006.01)

B01F 15/02 (2006.01)

B01L 9/00 (2006.01)

C12Q 1/68 (2008.01)

G01N 21/03 (2006.01)

G01N 21/64 (2006.01)

G01N 35/04 (2006.01)

B01F 13/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.03.2012** **E 17187723 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.05.2020** **EP 3270141**

54 Título: **Dispositivo centrípeto fluídico**

30 Prioridad:

08.03.2011 US 201161450373 P

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

20.05.2021

73 Titular/es:

UNIVERSITÉ LAVAL (50.0%)
2325 rue de l'Université
Québec, Québec G1V 0A6, CA y
MERIDIAN BIOSCIENCE, INC. (50.0%)

72 Inventor/es:

PEYTAVI, RÉGIS y
CHAPDELAINE, SÉBASTIEN

74 Agente/Representante:

PONTI & PARTNERS, S.L.P.

ES 2 827 293 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

Dispositivo centrípeto fluídico

5 REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

[0001] La presente solicitud reivindica la prioridad de la solicitud provisional estadounidense n.º 61/450.373 presentada el 8 de marzo de 2011.

10 CAMPO TÉCNICO

[0002] La invención se refiere a dispositivos centrípetos fluídicos.

ANTECEDENTES DE LA TÉCNICA

15

[0003] El diagnóstico molecular comprende la detección de compuestos moleculares útiles para identificar enfermedades, especies, individuos, etc. Estos compuestos moleculares pueden ser, por ejemplo, iones, azúcares, metabolitos, ácidos grasos, aminoácidos, ácidos nucleicos, proteínas o lípidos. Las pruebas de ácidos nucleicos (NAT) comprenden la identificación de ácidos nucleicos específicos de patógenos, o la identificación de secuencias específicas de ácido nucleico relacionadas con enfermedades tales como cáncer, enfermedades genéticas, firma genética de especies o individuos o marcadores para medicamentos personalizados. Los protocolos NAT a menudo comienzan con una etapa de preparación de la muestra donde se lisan las células para liberar sus ácidos nucleicos. A continuación, los ácidos nucleicos se preparan específicamente para estar listos para un procedimiento de amplificación de la diana tal como, por ejemplo, reacción en cadena de la polimerasa (PCR) o amplificación isotérmica por polimerasa y recombinasa (RPA) u otros procedimientos de amplificación de ácidos nucleicos. La amplificación de la diana produce amplicones que se pueden analizar en tiempo real, es decir, durante la amplificación, o al final de la amplificación en un gel de agarosa o en una micromatriz, por ejemplo. También existen procedimientos de amplificación para amplificar una señal generada por la detección del analito y estos planteamientos de amplificación de la señal también se pueden asociar con procedimientos de amplificación de la diana. Estas tecnologías requieren protocolos complejos llevados a cabo por personal altamente cualificado en instalaciones especializadas. Por estas razones, no todos los laboratorios, hospitales o centros de salud pueden realizar diagnósticos moleculares.

20

25

30

[0004] Es necesario automatizar los complejos protocolos de diagnóstico molecular. Algunos planteamientos se basan en unidades robóticas de alto rendimiento que suelen ser muy caras y pueden requerir mucho espacio. Existe una creciente necesidad de desarrollar instrumentos más compactos e instrumentos móviles, tales como diagnóstico inmediato (POC), y para miniaturizar e integrar las etapas de un ensayo —desde la preparación de la muestra hasta el resultado— en un único dispositivo desechable (por ejemplo, dispositivos de laboratorio en un chip o microsistemas de análisis total: μ TAS).

35

40

[0005] Una de las principales etapas difíciles de integrar en un sistema microfluídico desechable es la preparación de la muestra. La preparación de la muestra comienza normalmente con una etapa de lisis celular que puede ser química y/o mecánica. A continuación, para eliminar o al menos controlar los posibles inhibidores del procedimiento de análisis, se pueden purificar los ácidos nucleicos. Las técnicas más comunes usadas para purificar ácidos nucleicos se basan en la adsorción en fase sólida de los ácidos nucleicos en condiciones específicas de pH y sal. Los inhibidores de reacciones enzimáticas tales como proteínas, metales y otras moléculas se eliminan mediante lavado de los ácidos nucleicos adsorbidos en la fase sólida. Los ácidos nucleicos se recuperan a continuación de la fase sólida usando una solución de elución adecuada. Todo el procedimiento requiere diferentes soluciones, que necesitan ser almacenadas y liberadas, una matriz en fase sólida y diferentes cámaras de reacción. Esto complica el procedimiento de integración en un cartucho microfluídico desechable compacto.

45

50

[0006] En el desarrollo de dispositivos fluídicos, hay una necesidad de desplazar fluidos dentro y fuera de las diferentes áreas de procesamiento de una manera controlada. Normalmente, se usan componentes de bombeo y valvulería.

55

[0007] Algunos han desarrollado unidades fluídicas que permiten la automatización del diagnóstico molecular. Por ejemplo, existe un cartucho de preparación de muestras con una válvula rotativa y una bomba de émbolo para mover los fluidos en los diferentes depósitos. También existe la lisis mecánica usando ultrasonidos y partículas duras. Otros dispositivos usan un conjunto de plástico flexible para lisar las células y transferir los fluidos entre sectores del recipiente comprimiendo el material flexible en una ubicación específica. Estas unidades fluídicas requieren diversos accionadores para poder llevar a cabo las tareas.

60

[0008] El uso de plataformas centrípetas proporciona un formato simple y eficaz para la implementación de opciones de bombeo y valvulería. Al girar, la presión de fluido inducida centrífugamente provoca el flujo de fluido dentro del dispositivo fluídico.

65

[0009] El bombeo centrípeto proporciona muchas ventajas sobre otros procedimientos de bombeo alternativos tales como bombeo con una jeringa, émbolo, peristáltico o electro-osmótico. El bombeo centrípeto tiene una demanda menor de energía eléctrica (el único accionamiento activo es el necesario para la rotación), es independiente del pH del fluido o de la fuerza iónica y no necesita interconexiones fluidicas externas o tubos. En consecuencia, se pueden

5 combinar diferentes etapas de ensayo que requieren diferentes propiedades de muestra y tampón (por ejemplo, energía superficial, pH) en un único dispositivo centrípeto fluido.

[0010] Otra ventaja del bombeo centrípeto es que se puede implementar una válvula mediante el diseño geométrico de los microcanales fluidicos de tal manera que las fuerzas capilares equilibren la fuerza centrípeta debido

10 a la rotación del disco. Mediante el diseño de estructuras microfluidicas con válvulas capilares de diferentes formas y en diferentes posiciones con respecto al centro de rotación del dispositivo centrípeto fluido, el flujo de líquido se puede interrumpir y reanudarse mediante el control de la velocidad de rotación.

[0011] Dado que la mayoría de los procedimientos analíticos para el material biológico requieren diversas

15 etapas, las válvulas pasivas pueden ser difíciles de implementar de forma sólida. Para una mayor solidez, es necesario implementar válvulas activas en un dispositivo centrípeto. Por ejemplo, es posible bloquear un canal microfluidico usando un material de cambio de fase tal como un tapón de cera de parafina. Este tipo de válvula es independiente de la velocidad de rotación y se puede accionar por calor. Por ejemplo, también se puede usar un tapón de partículas generadoras de calor y materiales de cambio de fase. Las partículas absorben las ondas electromagnéticas de un

20 dispositivo externo (por ejemplo, láser, lámpara de IR) y el material de cambio de fase se funde con el calor generado por las partículas. Se han descrito válvulas de material de cambio de fase para bloquear un canal fluido (patente estadounidense n.º 7.837.948) y se usa en un dispositivo centrípeto de prueba de ácidos nucleicos (publicación EP 2375256).

[0012] Algunos planteamientos de válvulas activas para dispositivos centrípetos se basan en el accionamiento mediante una onda electromagnética. Por ejemplo, un cierre por válvula en una ubicación deseada se puede abrir sin

25 contacto a través de ablación láser y sin perforar la capa externa del dispositivo microfluidico (véase, por ejemplo, la publicación EP 1930635, la publicación de solicitud de patente PCT n.º WO2004/050242, la publicación de solicitud de patente estadounidense US 2009/0189089, la patente estadounidense n.º 7.709.249, la patente estadounidense

30 n.º 7.323.660). El documento US 2010/290955 A1 describe un dispositivo microfluidico basado en fuerza centrífuga usado, por ejemplo, para el análisis químico de sangre. El dispositivo comprende una plataforma giratoria en forma de un disco con estructuras que proporcionan espacios para alojar fluidos y canales de flujo. El movimiento, la separación centrífuga y la mezcla de los fluidos se llevan a cabo mediante la rotación de la plataforma de discos.

[0013] El accionamiento de una válvula de material de cambio de fase se puede hacer mediante el uso de

35 electrodos que forman un calentador resistivo sobre el propio sustrato. Los electrodos generan calor en una región específica de interés en la red microfluidica para fundir el material de cambio de fase.

[0014] Todavía existe la necesidad de un dispositivo centrípeto fluido mejorado con control del flujo de la

40 muestra.

RESUMEN

[0015] El dispositivo centrípeto fluido descrito en esta solicitud podría permitir combinar estructuras

45 simplificadas y accionadores que garantizan la preparación de la muestra, la medición de volumen, el desplazamiento controlado de volúmenes en un mínimo de cámaras y canales, a la vez que permite el almacenamiento de reactivos secos y húmedos necesarios para la amplificación múltiple y la detección de ácidos nucleicos.

[0016] El dispositivo centrípeto fluido descrito es adecuado para implementarse en sistemas inmediatos o de

50 sobremesa para procesar simultáneamente múltiples muestras y producir resultados rápidos. La invención se define de acuerdo con las reivindicaciones adjuntas. Se considerará que todas las realizaciones y aspectos que no se encuentran dentro del alcance de las reivindicaciones representan ejemplos que no forman parte de la invención.

[0017] Según un aspecto de la invención, se proporciona un dispositivo centrípeto fluido en el que las

55 macroestructuras y microestructuras combinadas garantizan un procedimiento de preparación de la muestra simplificado. Los fluidos se pueden mover usando fuerza centrípeta aplicada a un rotor que proporciona fuerza centrípeta. El procedimiento se simplifica para minimizar el uso de líquidos y usar válvulas simples de forma sólida.

[0018] Según un aspecto de la descripción, se proporciona un procedimiento para extraer y preparar ácidos

60 nucleicos para controlar los posibles inhibidores presentes en una muestra que pueden interferir con la amplificación y/o detección. Además, el circuito fluido puede proporcionar medición previa y posterior a la lisis del volumen de la muestra. Esto permite definir el volumen. La definición de volumen se puede lograr restando un volumen de líquido definido por la diferencia entre 2 meniscos. Esto permite el uso de un dispositivo de recolección simple en lugar del micropipetor de alta precisión habitual necesario para medir con precisión los pequeños volúmenes introducidos en el

65 dispositivo centrípeto fluido, lo que facilita en gran medida la manipulación por parte del operador.

[0019] Según un aspecto de la descripción, se proporciona un dispositivo centrípeto fluídico que combina la preparación de la muestra y la detección de amplificación de ácidos nucleicos múltiple en tiempo real. El dispositivo centrípeto fluídico incluye un receptáculo de admisión en comunicación fluida con una cámara que se puede llenar por la parte inferior (que se puede usar para homogeneización, lisis celular, control de inhibidores y concentración de microbios) en comunicación fluídica con una cámara de retención en comunicación fluídica con un área de detección que puede usar un canal de distribución para dividir la muestra en dos o más cámaras de detección, si es necesario, para amplificación y detección. Los canales y cámaras del dispositivo centrípeto fluídico pueden autoventilarse mediante un sistema cíclico cerrado que proporciona desplazamiento de aire mientras mantiene el sistema cerrado, ayudando así a evitar la contaminación.

[0020] Según un aspecto de la descripción, se proporciona un instrumento para controlar las funciones del dispositivo centrípeto fluídico. El sistema comprende componentes mecánicos tales como un motor para rotar el dispositivo centrípeto fluídico, imanes para mover el miembro translocable en el dispositivo centrípeto fluídico, elementos térmicos para controlar la temperatura del dispositivo fluídico, componentes ópticos para medir señales de fluorescencia y una interfaz electrónica y humana con la máquina, por ejemplo, con un dispositivo de pantalla táctil.

[0021] En una realización, el instrumento proporciona un control de temperatura del aire en múltiples zonas del dispositivo centrípeto fluídico.

[0022] En una realización, el instrumento proporciona un control de temperatura en múltiples zonas en un dispositivo centrípeto colocando elementos térmicos en contacto con el dispositivo centrípeto fluídico giratorio.

[0023] Según un aspecto amplio, se proporciona un dispositivo centrípeto fluídico para someter a prueba los componentes de un material biológico en una muestra de fluido, el aparato comprende una capa de componente fluídico con un lado trasero sustancialmente plano, la capa de componente fluídico tiene una forma adaptada para ser recibida dentro de un soporte giratorio, el soporte giratorio tiene un centro de rotación y un borde exterior, la capa de componente fluídico se extiende radialmente entre el centro de rotación y el borde exterior, un lado interior de la capa de componente fluídico se ubica hacia el centro de rotación y un lado exterior de la capa de componente fluídico se ubica hacia el borde externo, la capa de componente fluídico se conforma para incluir: un receptáculo de admisión de muestra para recibir la muestra, el receptáculo de admisión de muestra se extiende hacia afuera desde la capa de componente fluídico y se ubica cerca del lado interior, el receptáculo de admisión de muestra termina en una salida de muestra; un canal de entrada para hacer circular la muestra de fluido, el canal de entrada se acopla a la salida de muestra en un extremo y a una entrada de cámara en otro extremo; una cámara que se puede llenar por la parte inferior acoplada al canal de entrada en la entrada de cámara para recibir la muestra de fluido, la entrada de la cámara se proporciona en un lado exterior de la cámara que se puede llenar por la parte inferior.

[0024] En una realización, el aparato comprende además un tapón para el receptáculo de admisión de muestra para cerrar el acceso al receptáculo de admisión de muestra.

[0025] En una realización, la cámara que se puede llenar por la parte inferior tiene forma oblonga y se extiende radialmente entre el lado interior y el lado exterior.

[0026] En una realización, la cámara que se puede llenar por la parte inferior incluye al menos un miembro translocable que se transloca dentro de la cámara que se puede llenar por la parte inferior en respuesta a un campo magnético fluctuante externo.

[0027] En una realización, el miembro translocable que se transloca en respuesta a un campo magnético fluctuante está compuesto de material paramagnético.

[0028] En una realización, el miembro translocable que se transloca en respuesta a un campo magnético fluctuante es un disco o una esfera.

[0029] En una realización, el miembro translocable es ferromagnético.

[0030] En una realización, la cámara que se puede llenar por la parte inferior comprende además al menos un objeto que no reacciona en respuesta a un campo magnético fluctuante.

[0031] En una realización, el objeto es al menos uno de una microesfera, una microesfera de vidrio, una microesfera de circonio, una resina y una suspensión de microesfera y resina.

[0032] En una realización, el objeto se recubre con un material quelante adaptado para interactuar con los componentes de la muestra.

[0033] En una realización, cada objeto y el miembro translocable tienen un tamaño mayor que un tamaño de

la entrada de la cámara.

[0034] En una realización, la cámara que se puede llenar por la parte inferior es una cámara de homogeneización.

5

[0035] En una realización, la cámara que se puede llenar por la parte inferior es una cámara de lisis.

[0036] En una realización, la cámara que se puede llenar por la parte inferior es una cámara de clarificación.

10 **[0037]** En una realización, la cámara que se puede llenar por la parte inferior es una cámara de concentración de diana.

[0038] En una realización, el aparato comprende además una cámara de desbordamiento acoplada a una salida de excedente para la cámara que se puede llenar por la parte inferior, la salida de excedente permite la salida
15 de parte de la muestra de fluido de la cámara que se puede llenar por la parte inferior a la cámara de desbordamiento.

[0039] En una realización, la salida de excedente se proporciona cerca del lado interior de la cámara que se puede llenar por la parte inferior.

20 **[0040]** En una realización, la salida de excedente se proporciona en un lado longitudinal de la cámara que se puede llenar por la parte inferior.

[0041] En una realización, el aparato comprende además una salida para la cámara que se puede llenar por la parte inferior, la salida permite la salida de la muestra de la cámara que se puede llenar por la parte inferior.

25

[0042] En una realización, la salida está ubicada en un lado longitudinal de la cámara que se puede llenar por la parte inferior.

30 **[0043]** En una realización, cada objeto y el miembro translocable tienen un tamaño mayor que un tamaño de la salida.

[0044] En una realización, la salida de excedente está ubicada más cerca del lado interior que la salida.

35 **[0045]** En una realización, el aparato comprende además una cámara de retención, la cámara de retención se acopla a la salida en un lado interior de la cámara de retención, la cámara de retención se ubica más cerca del lado exterior de la capa de componente fluídico que la cámara que se puede llenar por la parte inferior.

[0046] En una realización, la cámara de retención se acopla a la salida a través de un canal de transferencia, el canal de transferencia es para hacer circular al menos una porción de la muestra de fluido de la cámara que se
40 puede llenar por la parte inferior a la cámara de retención.

[0047] En una realización, el aparato comprende además un recipiente proporcionado exclusivamente en la cámara de retención y que contiene un reactivo líquido, el recipiente se adapta para mantener el reactivo líquido en el recipiente y liberar el reactivo líquido en la cámara de retención tras aplicar una fuerza externa a la cámara de
45 retención.

[0048] Según un aspecto amplio, se proporciona un dispositivo centrípeto fluídico para mezclar un reactivo líquido con una muestra de fluido, el aparato comprende una capa de componente fluídico con un lado trasero sustancialmente plano, la capa de componente fluídico tiene una forma adaptada para ser recibida dentro de un
50 soporte giratorio, el soporte giratorio tiene un centro de rotación y un borde exterior, la capa de componente fluídico se extiende radialmente entre el centro de rotación y el borde exterior, un lado interior de la capa de componente fluídico se ubica hacia el centro de rotación y un lado exterior de la capa de componente fluídico se ubica hacia el borde externo, la capa de componente fluídico se moldea para incluir: un receptáculo de admisión de muestra para recibir la muestra, el receptáculo de entrada de muestra se extiende hacia afuera desde la capa de componente fluídico
55 y se ubica cerca del lado interior, el receptáculo de admisión de muestra termina en una salida de muestra; una cámara de retención acoplada al receptáculo de admisión de muestra para recibir la muestra de fluido en la cámara de retención; un recipiente proporcionado exclusivamente en la cámara de retención y que contiene un reactivo líquido, el recipiente se adapta para mantener el reactivo líquido en el recipiente y liberar el reactivo líquido en la cámara de retención tras aplicar una fuerza externa a la cámara de retención.

60

[0049] En una realización, el aparato comprende además un canal de entrada para hacer circular la muestra de fluido desde la salida de muestra a una entrada de cámara de retención de la cámara de retención.

[0050] En una realización, la cámara de retención tiene un receptáculo para recibir la muestra de fluido.

65

- [0051]** En una realización, el receptáculo se ubica en el lado exterior de la cámara de retención.
- [0052]** En una realización, un volumen de capacidad del recipiente es al menos igual a un volumen de capacidad de la muestra transferida a la cámara de retención.
- 5 **[0053]** En una realización, el recipiente incluye un reactivo seco.
- [0054]** En una realización, el reactivo seco es un reactivo de control de inhibidor.
- 10 **[0055]** En una realización, la cámara de retención es una cámara de dilución.
- [0056]** En una realización, el receptáculo de la cámara de retención se vacía tras la liberación del diluyente.
- [0057]** En una realización, el recipiente se fabrica con uno de vidrio, vidrio capilar, material termoplástico
15 polimérico y/o sensible al calor.
- [0058]** En una realización, el reactivo líquido es un agente de dilución.
- [0059]** En una realización, el reactivo líquido es uno de agua, tampón, ion, polímero, proteína, azúcar, ácido
20 nucleico y/o una parte secable de una solución.
- [0060]** En una realización, el recipiente tiene un tapón fabricado con un material sensible al calor adaptado para fundirse a una temperatura de fusión, lo que permite que el reactivo líquido viaje desde el interior del recipiente al exterior del recipiente en la cámara de retención.
- 25 **[0061]** En una realización, el recipiente se fabrica con material sensible al calor.
- [0062]** En una realización, la fuerza externa es una de fuerza mecánica, eléctrica, electromagnética, de calor, de descarga y acústica.
- 30 **[0063]** En una realización, el recipiente tiene una abertura liberable.
- [0064]** En una realización, la cámara de retención tiene una salida de distribución para la cámara de retención, la salida de distribución se ubica en un lado exterior de la cámara de retención, la salida de distribución se acopla a
35 un canal de distribución transversal en un lado interior del canal de distribución transversal en un primer extremo transversal del canal de distribución, el canal de distribución transversal tiene una serie de al menos una cubeta proporcionada en un lado exterior del canal de distribución transversal.
- [0065]** En una realización, la salida de distribución se acopla al canal de distribución a través de un canal de
40 transferencia.
- [0066]** En una realización, las cubetas incluyen un reactivo seco.
- [0067]** En una realización, el reactivo seco es para amplificación y puede incluir una enzima.
- 45 **[0068]** En una realización, las cubetas incluyen un conjunto de cebadores.
- [0069]** En una realización, el reactivo seco en la cubeta se cubre con una película de material sensible al calor o de cambio de fase que tiene una densidad menor que el agua.
- 50 **[0070]** En una realización, el material sensible al calor es una cera.
- [0071]** En una realización, la cubeta se adapta para ser consultarla ópticamente para al menos un parámetro.
- 55 **[0072]** En una realización, la cubeta tiene un cuerpo de cubeta con al menos una ventana ópticamente transparente en el cuerpo de cubeta, las ventanas ópticamente transparentes se alinean con una trayectoria de luz de una fuente de luz adaptada para proyectar luz de una longitud de onda predeterminada a lo largo de la trayectoria de luz.
- 60 **[0073]** En una realización, el parámetro es uno de fluorescencia, absorbancia y colorimetría.
- [0074]** En una realización, el parámetro es fluorescencia y donde la cubeta incluye una de una solución fluorescente en la cubeta, partículas cubiertas de fluoróforo en una solución en la cubeta, partículas de fluoróforo en una pared interior de la cubeta.
- 65

- [0075]** En una realización, la cubeta es una cámara de detección.
- [0076]** En una realización, la cubeta es una cámara de amplificación.
- 5 **[0077]** En una realización, la cubeta es una cámara de amplificación de ácidos nucleicos.
- [0078]** En una realización, el canal de distribución transversal incluye una cámara de residuos en un segundo extremo transversal del canal de distribución.
- 10 **[0079]** En una realización, la cámara de residuos incluye un sello activado por calor adaptado para sellar la entrada de la cubeta acoplada al canal de distribución.
- [0080]** En una realización, el sello activado por calor es una cera.
- 15 **[0081]** En una realización, al menos una de la entrada de la cámara, la salida de excedente, la salida, la salida de distribución incluye una válvula antirreflujo.
- [0082]** En una realización, al menos una de la entrada de la cámara, la salida de excedente, la salida, la salida de distribución incluye una válvula de ruptura, la válvula de ruptura se abre a una fuerza centrípeta determinada aplicada en el aparato.
- 20 **[0083]** En una realización, la válvula antirreflujo y la válvula de ruptura se proporcionan en una única válvula de ruptura antirreflujo.
- 25 **[0084]** En una realización, la capa de componente fluídico se fabrica con un material plástico.
- [0085]** En una realización, el material plástico es uno de policarbonato, polipropileno, PDMS, COC, material SU-8.
- 30 **[0086]** En una realización, la capa de componente fluídico se sella en la parte posterior sustancialmente plana con una lámina de material plástico.
- [0087]** En una realización, la lámina de material plástico es una de policarbonato, polipropileno, PDMS, COC, material SU-8.
- 35 **[0088]** En una realización, la capa de componente fluídico se sella con la lámina de material plástico a través de procedimientos de unión tales como adhesivo, material adhesivo sensible a la presión, transferencia de calor, unión por solvente, adhesivo curable con UV, soldadura por ultrasonidos, soldadura láser, soldadura por RF.
- 40 **[0089]** En una realización, la característica de ruptura de las válvulas de ruptura es una combinación de su distancia desde el centro de rotación, el material plástico que constituye la placa de soporte, el material que constituye el sellado y la geometría de la propia válvula moldeada en el material plástico.
- [0090]** En una realización, el canal de distribución, las cubetas y la cámara de residuos se proporcionan en una porción de la placa de miembro de soporte que se extiende más allá del borde exterior del soporte giratorio.
- 45 **[0091]** En una realización, la capa de componente fluídico es rectangular.
- [0092]** En una realización, el soporte es un disco.
- 50 **[0093]** En una realización, la forma de la capa de componente fluídico es una sección cónica de un anillo.
- [0094]** En una realización, la sección cónica de un anillo es una fracción de un anillo.
- 55 **[0095]** En una realización, la sección cónica de un anillo es una octava parte de un anillo.
- [0096]** En una realización, el aparato comprende además salidas de ventilación para al menos una de la cámara de desbordamiento, la cámara de retención y el canal de distribución, las salidas de ventilación se conectan a un canal de autoventilación.
- 60 **[0097]** En una realización, el canal de autoventilación se acopla al receptáculo de admisión de muestra en un lado interior del receptáculo de admisión de muestra.
- [0098]** En una realización, la capa de componente fluídico se adapta para calentarse al menos parcialmente.
- 65

- [0099]** En una realización, la capa de componente fluídico se adapta para controlarla por temperatura.
- [0100]** En una realización, la capa de componente fluídico se adapta para dividirse en al menos dos secciones distintas controlables por temperatura.
- 5 **[0101]** En una realización, una primera de las dos secciones controlables por temperatura distintas incluye la cámara que se puede llenar por la parte inferior y la cámara de retención.
- [0102]** En una realización, una primera de las dos secciones controlables por temperatura distintas incluye al
10 menos la cámara de retención.
- [0103]** En una realización, la primera sección incluye el receptáculo de admisión de muestra, el canal de entrada, la cámara de desbordamiento y el canal de medición.
- 15 **[0104]** En una realización, una segunda de las dos secciones controlables por temperatura distintas incluye al menos el canal de distribución y las cubetas.
- [0105]** En una realización, la segunda de las dos secciones incluye la cámara de desbordamiento y una porción del canal de transferencia.
- 20 **[0106]** En una realización, la muestra de fluido es al menos una de sangre, aspiración nasal faríngea, líquido oral, líquido de frotis oral resuspendido, líquido de frotis nasal resuspendido, líquido resuspendido de frotis anal, líquido resuspendido de frotis vaginal, saliva, orina (pura o diluida).
- 25 **[0107]** Según un aspecto amplio, se proporciona un aparato de prueba que usa un dispositivo centrípeto fluídico para someter a prueba los componentes de un material biológico en una muestra de fluido, el aparato comprende al menos uno del dispositivo centrípeto fluídico; un conjunto de rotor; un soporte para recibir el al menos uno del dispositivo centrípeto fluídico usando la capa de componente fluídico, donde el soporte se acopla al rotor; un motor para rotar el conjunto de rotor; un controlador de velocidad para el motor para controlar al menos uno de una duración,
30 aceleración y una velocidad de rotación del conjunto de rotor; un subsistema de acondicionamiento de temperatura para controlar una temperatura de al menos una porción del dispositivo centrípeto microfluídico; un subsistema de excitación para excitar la muestra del dispositivo centrípeto fluídico y obtener un resultado de prueba; una interfaz de usuario para recibir un comando de usuario y para enviar un comando a al menos uno del controlador de velocidad, el subsistema de acondicionamiento de temperatura y el subsistema de excitación.
- 35 **[0108]** En una realización, el soporte es un conjunto de rotor que comprende una parte inferior de un rotor que recibe el dispositivo centrípeto fluídico y un anillo de retención para fijar el dispositivo centrípeto fluídico.
- [0109]** En una realización, el aparato de prueba comprende además una carcasa para el aparato de prueba
40 que tiene una base, paredes y una tapa abisagrada, la carcasa que encierra el conjunto de rotor, el soporte, el motor, el subsistema de acondicionamiento de temperatura y el subsistema de excitación.
- [0110]** En una realización, el aparato de prueba comprende además imanes permanentes proporcionados debajo del rotor.
- 45 **[0111]** En una realización, el subsistema de acondicionamiento de temperatura controla una temperatura de dos zonas del dispositivo centrípeto fluídico.
- [0112]** En una realización, el aparato de prueba comprende además compartimentos creados por al menos
50 uno de la carcasa, pared de separación de carcasa, conjunto de rotor, pared de aislamiento de rotor, soporte, aislamiento de tapa y pared de aislamiento de tapa.
- [0113]** En una realización, el aparato de prueba comprende además materiales aislantes que se pueden usar para controlar la transferencia de calor entre compartimentos.
- 55 **[0114]** En una realización, el subsistema de acondicionamiento de temperatura comprende un elemento térmico ubicado uno de por arriba y por debajo de una zona de calentamiento.
- [0115]** En una realización, el elemento térmico es una bobina de calentamiento resistiva.
- 60 **[0116]** En una realización, el aparato de prueba comprende además un termopar dentro de cada zona de calentamiento para medir la temperatura individual de cada zona.
- [0117]** En una realización, el aparato de prueba comprende además un ventilador que fuerza al aire a
65 temperatura ambiente a entrar en la zona de calentamiento.

[0118] En una realización, el aparato de prueba comprende además una compuerta de salida para expulsar aire caliente fuera de la zona de calentamiento.

5 **[0119]** En una realización, el subsistema de excitación incluye una fuente de luz y elementos ópticos para dar forma a un haz de excitación.

[0120] En una realización, el subsistema de excitación incluye un módulo de detección para recoger luz emitida por especies de interés dentro del dispositivo centrípeto fluídico.

10

[0121] Según un aspecto amplio, se proporciona un procedimiento de prueba que usa un dispositivo centrípeto fluídico para someter a prueba los componentes de un material biológico en una muestra de fluido, el procedimiento comprende al menos uno del dispositivo centrípeto fluídico; proporcionar un aparato de prueba; proporcionar una muestra de fluido con material biológico; cargar la muestra de fluido en el receptáculo de admisión de muestra del dispositivo centrípeto fluídico; colocar el dispositivo centrípeto fluídico en el soporte del aparato de prueba; proporcionar un comando de usuario para comenzar una secuencia de prueba; rotar el conjunto de rotor a una primera velocidad para transferir la muestra de fluido desde el receptáculo de admisión de muestra a la cámara que se puede llenar por la parte inferior.

15

20 **[0122]** En una realización, la rotación incluye además evacuar parte de la muestra a la cámara de desbordamiento.

[0123] En una realización, el procedimiento de prueba comprende además rotar el conjunto de rotor a una segunda velocidad para activar el movimiento del miembro de translocación dentro de la cámara que se puede llenar por la parte inferior.

25

[0124] En una realización, el procedimiento de prueba comprende además rotar el conjunto de rotor a una tercera velocidad para aclarar la muestra y romper la salida de medición, donde un volumen medido de la muestra se transfiere a la cámara de retención.

30

[0125] En una realización, el volumen medido se transfiere al receptáculo de la cámara de retención.

[0126] En una realización, el procedimiento de prueba comprende además rotar el conjunto de rotor a una cuarta velocidad.

35

[0127] En una realización, el procedimiento de prueba comprende además calentar la cámara de retención, liberando así el reactivo líquido del recipiente.

[0128] En una realización, el procedimiento de prueba comprende además rotar el conjunto de rotor a una quinta velocidad para romper la salida de la cámara de retención.

40

[0129] En una realización, el procedimiento de prueba comprende además mantener las cubetas a una temperatura inferior a 65 °C.

45 **[0130]** En una realización de ejemplo, el procedimiento de prueba comprende además mantener las cubetas a una temperatura inferior a 35 °C.

[0131] En una realización, el procedimiento de prueba comprende además calentar las cubetas a una primera temperatura.

50

[0132] En una realización, el procedimiento de prueba comprende además calentar las cubetas a una segunda temperatura.

[0133] En una realización, el procedimiento de prueba comprende además hacer ciclos de temperatura de las cubetas entre una temperatura de prueba alta, baja y media.

55

[0134] En una realización, el procedimiento de prueba comprende además tomar medidas de fluorescencia a al menos una longitud de onda de excitación al final de cada ciclo de temperatura.

60 **[0135]** En una realización, el procedimiento de prueba comprende además registrar mediciones de fluorescencia.

[0136] Según un aspecto amplio, se proporciona un procedimiento de prueba que usa un dispositivo centrípeto fluídico para someter a prueba los componentes de un material biológico en una muestra de fluido, el procedimiento comprende al menos uno del dispositivo centrípeto fluídico; proporcionar un aparato de prueba; proporcionar una

65

muestra de fluido con material biológico; cargar la muestra de fluido en el receptáculo de admisión de muestra del dispositivo centrípeto fluídico; colocar el dispositivo centrípeto fluídico en el soporte del aparato de prueba; proporcionar un comando de usuario para comenzar una secuencia de prueba; rotar el conjunto de rotor a una primera velocidad para transferir la muestra de fluido desde el receptáculo de admisión de muestra a la cámara de retención; 5 calentar la cámara de retención, liberando así el reactivo líquido del recipiente.

[0137] En una realización, el procedimiento comprende rotar el conjunto de rotor a una quinta velocidad para romper la salida de la cámara de retención.

10 **[0138]** En una realización, la muestra se transfiere al receptáculo de la cámara de retención.

[0139] Según otro aspecto amplio de la presente descripción, se proporciona un aparato centrípeto fluídico para someter a prueba los componentes de un material biológico en un fluido. El dispositivo centrípeto fluídico se adapta para recibirla dentro de un soporte giratorio. El aparato comprende una capa de componente fluídico que tiene 15 características fluídicas en al menos una cara frontal y una capa de componente inferior unida a una parte trasera de la capa de componente fluídico, creando así una red fluídica a través de la cual el fluido fluye bajo fuerza centrípeta. También se proporcionan un aparato de prueba y un procedimiento de prueba que usa un dispositivo centrípeto fluídico para someter a prueba los componentes de un material biológico en un fluido.

20 **[0140]** En una realización, la característica fluídica puede ser una cámara que se puede llenar por la parte inferior acoplada a un canal de entrada para recibir el fluido, la entrada de cámara se proporciona en un lado exterior de la cámara que se puede llenar por la parte inferior.

[0141] En otra realización, la característica fluídica puede ser una cámara de retención acoplada a un canal de 25 entrada para recibir el fluido, un recipiente proporcionado exclusivamente en la cámara de retención y que contiene un diluyente líquido, el recipiente mantiene el diluyente líquido en el recipiente hasta que lo libera en la cámara de retención tras aplicar una fuerza externa al recipiente, restaurando así la conexión fluídica entre el diluyente líquido y el fluido en la cámara de retención.

30 **[0142]** Adicionalmente, la cámara de retención puede tener un receptáculo de desacoplamiento de flujo para recibir el fluido, ubicado en el lado exterior de la cámara de retención y para interrumpir una conexión fluídica entre la entrada y salida de la cámara de retención.

[0143] Según otro aspecto amplio de la presente descripción, se proporciona un aparato centrípeto fluídico 35 para someter a prueba los componentes de un material biológico en un fluido, el dispositivo centrípeto fluídico tiene una forma adaptada para recibirla dentro de un soporte giratorio, el soporte giratorio tiene un centro de rotación y un borde exterior, el dispositivo centrípeto fluídico se extiende radialmente entre el centro de rotación y el borde exterior, un lado interior del dispositivo centrípeto fluídico se ubica hacia el centro de rotación y un lado exterior del dispositivo centrípeto fluídico se ubica hacia el borde exterior, el aparato comprende: una capa de componente fluídico que tiene 40 características fluídicas en al menos una cara frontal, las características fluídicas incluyen un canal de entrada para hacer circular el fluido, el canal de entrada se acopla a una entrada de cámara; una cámara que se puede llenar por la parte inferior acoplada al canal de entrada en la entrada de cámara para recibir el fluido, la entrada de cámara se proporciona en un lado exterior de la cámara que se puede llenar por la parte inferior; y una capa de componente inferior unida a una parte trasera de la capa de componente fluídico, creando así una red fluídica a través de la cual 45 el fluido fluye bajo fuerza centrípeta.

[0144] En una realización, el aparato centrípeto fluídico comprende además un receptáculo de admisión para recibir el fluido, el receptáculo de admisión se extiende hacia afuera desde la capa del componente fluídico en una cara frontal de la capa del componente fluídico y se ubica cerca del lado interior, el receptáculo de admisión termina 50 en una salida del receptáculo de admisión, el canal de entrada se acopla a la salida del receptáculo de admisión en un extremo opuesto a la entrada de la cámara.

[0145] En una realización, la cámara que se puede llenar por la parte inferior incluye al menos un miembro translocable que se transloca dentro de la cámara que se puede llenar por la parte inferior en respuesta a un campo 55 magnético fluctuante externo.

[0146] En una realización, la cámara que se puede llenar por la parte inferior comprende al menos un objeto que no responde a un campo magnético fluctuante y donde el objeto es al menos uno de una microesfera, una zeolita, una partícula, una partícula de filtración, una microesfera de vidrio, una microesfera de circonio, una resina, una 60 suspensión de microesfera y resina.

[0147] En una realización, al menos uno del objeto y el miembro translocable se recubre con al menos uno de un material quelante y un material ligante adaptado para interactuar con los componentes del fluido.

65 **[0148]** En una realización, el aparato centrípeto fluídico comprende además una cámara de desbordamiento

acoplada a una salida de excedente para la cámara que se puede llenar por la parte inferior, la salida de excedente permite la salida de parte del fluido de la cámara que se puede llenar por la parte inferior a la cámara de desbordamiento, donde la salida de excedente se proporciona cerca del lado interior de la cámara que se puede llenar por la parte inferior en un lado longitudinal de la cámara que se puede llenar por la parte inferior.

[0149] En una realización, el aparato centrípeto fluídico comprende además una salida para la cámara que se puede llenar por la parte inferior, la salida permite la salida del fluido desde la cámara que se puede llenar por la parte inferior, donde la salida se ubica en el lado longitudinal de la cámara que se puede llenar por la parte inferior, la salida se ubica más cerca del lado exterior de la cámara que se puede llenar por la parte inferior que la salida de excedente, un volumen de medición de la cámara que se puede llenar por la parte inferior se define entre la salida y la salida de excedente.

[0150] En una realización, el aparato centrípeto fluídico comprende además una salida para la cámara que se puede rellenar por la parte inferior, la salida permite la salida del fluido desde la cámara que se puede rellenar por la parte inferior, donde la salida se ubica en un lado longitudinal de la cámara que se puede rellenar por la parte inferior.

[0151] En una realización, el aparato centrípeto fluídico comprende además una válvula de ruptura en la salida, la válvula de ruptura se abre a una fuerza centrípeta predeterminada aplicada sobre el aparato, la válvula de ruptura evita que el fluido salga de la cámara que se puede rellenar por la parte inferior hasta la apertura.

[0152] En una realización, el aparato centrípeto fluídico comprende además una cámara de retención, la cámara de retención se acopla a la salida en un lado interior de la cámara de retención, la cámara de retención se ubica más cerca del lado exterior de la capa de componente fluídico que la cámara que se puede llenar por la parte inferior, donde la cámara de retención se acopla a la salida a través de un canal de medición, el canal de medición es para hacer circular al menos una porción del fluido desde la cámara que se puede llenar por la parte inferior a la cámara de retención.

[0153] En una realización, el aparato centrípeto fluídico comprende además un recipiente proporcionado exclusivamente en la cámara de retención y que contiene un diluyente líquido, el recipiente se adapta para mantener el diluyente líquido en el recipiente y liberar el diluyente líquido en la cámara de retención tras aplicar una fuerza externa al recipiente, donde la fuerza externa es una fuerza mecánica, eléctrica, electromagnética, de calor, de choque, acústica, restaurando así la conexión fluídica entre el diluyente líquido y el fluido en la cámara de retención.

[0154] Un aparato centrípeto fluídico para someter a prueba los componentes de un material biológico en un fluido, el dispositivo centrípeto fluídico tiene una forma adaptada para recibirla dentro de un soporte giratorio, el soporte giratorio tiene un centro de rotación y un borde exterior, el dispositivo centrípeto fluídico se extiende radialmente entre el centro de rotación y el borde exterior, un lado interior del dispositivo centrípeto fluídico se ubica hacia el centro de rotación y un lado exterior del dispositivo centrípeto fluídico se ubica hacia el borde exterior, el aparato comprende: una capa de componente fluídico que tiene características fluídicas en al menos una cara frontal, las características fluídicas incluyen un canal de entrada para hacer circular el fluido, el canal de entrada se acopla a una salida del receptáculo de admisión; una cámara de retención, la cámara de retención se acopla al canal de entrada a través de la salida del receptáculo de admisión para recibir el fluido en la cámara de retención; un recipiente proporcionado exclusivamente en la cámara de retención y que contiene un diluyente líquido, el recipiente se adapta para mantener el diluyente líquido en el recipiente y liberar el diluyente líquido en la cámara de retención tras aplicar una fuerza externa al recipiente, donde la fuerza externa es una fuerza mecánica, eléctrica, electromagnética, de calor, de choque, acústica, restaurando así la conexión fluídica entre el diluyente líquido y el fluido en la cámara de retención; y una capa de componente inferior unida a una parte trasera de la capa de componente fluídico, creando así una red fluídica a través de la cual el fluido fluye bajo fuerza centrípeta.

[0155] En una realización, la cámara de retención tiene un receptáculo de desacoplamiento de flujo para recibir el fluido, donde el receptáculo de desacoplamiento de flujo se ubica en el lado exterior de la cámara de retención, el receptáculo de desacoplamiento de flujo interrumpe una conexión fluídica entre la salida del receptáculo de admisión y una salida de distribución de la cámara de retención.

[0156] En una realización, el receptáculo de desacoplamiento de flujo incluye un reactivo seco.

[0157] En una realización, la cámara de retención tiene una salida de distribución para la cámara de retención, la salida de distribución se ubica en un lado exterior de la cámara de retención, la salida de distribución se acopla a un canal de distribución transversal en un lado interior del canal de distribución transversal en un primer extremo transversal del canal de distribución, el canal de distribución transversal tiene una serie de al menos una cubeta proporcionada en un lado exterior del canal de distribución transversal.

[0158] En una realización, al menos una de las cubetas incluye al menos uno de un reactivo seco y un material de cambio de fase.

[0159] En una realización, la cubeta se adapta para ser consultarla ópticamente para al menos un parámetro; el parámetro es uno de fluorescencia, absorbancia y colorimetría.

[0160] En una realización, el canal de distribución transversal incluye una cámara de residuos en un segundo extremo transversal del canal de distribución.

[0161] En una realización, la cámara de residuos incluye un material de cambio de fase.

[0162] En una realización, el canal de distribución, las cubetas y la cámara de residuos se proporcionan en una porción de la capa de componente fluido que se extiende más allá del borde exterior del soporte giratorio.

[0163] En una realización, la capa de componente fluido se adapta para dividirse en al menos dos secciones distintas controlables por temperatura, donde una primera de las dos secciones distintas controlables por temperatura incluye al menos la cámara de retención y una segunda de las dos secciones distintas controlables por temperatura incluye al menos el canal de distribución y las cubetas.

[0164] Un aparato centrípeto fluido para someter a prueba los componentes de un material biológico en un fluido, el dispositivo centrípeto fluido tiene una forma adaptada para recibirla dentro de un soporte giratorio, el soporte giratorio tiene un centro de rotación y un borde exterior, el dispositivo centrípeto fluido se extiende radialmente entre el centro de rotación y el borde exterior, un lado interior del dispositivo centrípeto fluido se ubica hacia el centro de rotación y un lado exterior del dispositivo centrípeto fluido se ubica hacia el borde exterior, el aparato comprende: una capa de componente fluido que tiene características fluidas en al menos una cara frontal, las características fluidas incluyen un receptáculo de admisión para recibir el fluido, el receptáculo de admisión se extiende hacia afuera desde la capa de componente fluido en una cara frontal de la capa de componente fluido y se ubica cerca del lado interior, el receptáculo de admisión termina en una salida del receptáculo de admisión; un canal de entrada para hacer circular el fluido, el canal de entrada se acopla a la salida del receptáculo de admisión en un extremo y a una entrada de cámara en otro extremo; una cámara que se puede llenar por la parte inferior acoplada al canal de entrada en la entrada de cámara para recibir el fluido, la entrada de cámara se proporciona en un lado exterior de la cámara que se puede llenar por la parte inferior; y una cámara de retención, la cámara de retención se acopla a la cámara que se puede llenar por la parte inferior para recibir el fluido en la cámara de retención; una salida de distribución para la cámara de retención, la salida de distribución se ubica en un lado exterior de la cámara de retención; un canal de distribución transversal que tiene una serie de al menos una cubeta proporcionada en un lado exterior del canal de distribución transversal, la salida de distribución se acopla al canal de distribución transversal en un lado interior del canal de distribución transversal en un primer extremo transversal del canal de distribución, una cámara de residuos en un segundo extremo transversal del canal de distribución; y una capa de componente inferior unida a una parte trasera de la capa de componente fluido, creando así una red fluida a través de la cual el fluido fluye bajo fuerza centrípeta.

[0165] Un aparato de prueba que usa un dispositivo centrípeto fluido para someter a prueba los componentes de un material biológico en un fluido, el aparato comprende al menos uno del dispositivo centrípeto fluido; un conjunto de rotor; un soporte para recibir el al menos uno del dispositivo centrípeto fluido usando la capa de componente fluido, donde el soporte se acopla al rotor; un motor para rotar el conjunto de rotor; un controlador de velocidad para el motor para controlar al menos uno de una duración y una velocidad de rotación del conjunto de rotor; un subsistema de acondicionamiento de temperatura para controlar una temperatura de al menos una porción del dispositivo centrípeto microfluido; un subsistema de detección para detectar una característica del fluido; una interfaz de usuario para recibir un comando de usuario y para enviar un comando a al menos uno del controlador de velocidad, el subsistema de acondicionamiento de temperatura, el subsistema de excitación y el subsistema de detección.

[0166] En una realización, el subsistema de acondicionamiento de temperatura controla una temperatura de al menos dos zonas del dispositivo centrípeto fluido.

[0167] Un procedimiento de prueba que usa un dispositivo centrípeto fluido para someter a prueba los componentes de un material biológico en un fluido, el procedimiento comprende al menos uno del dispositivo centrípeto fluido; proporcionar un aparato de prueba; proporcionar un fluido con material biológico; cargar el fluido en el receptáculo de admisión del dispositivo centrípeto fluido; colocar el dispositivo centrípeto fluido en el soporte del aparato de prueba; proporcionar un comando de usuario para comenzar una secuencia de prueba; rotar el conjunto de rotor a una primera velocidad para transferir el fluido desde el receptáculo de admisión de muestra a la cámara que se puede llenar por la parte inferior.

60 **Definiciones**

[0168] En esta memoria descriptiva, se pretende que el término "dispositivo centrípeto fluido" signifique una red fluida con fluido motivado por la acción de la rotación.

[0169] En esta memoria descriptiva, se pretende que el término "macro" en las expresiones "macroestructura"

y "macrogeometría" signifique una característica de dispositivo centrípeto fluídico mayor que 1 mm. En particular, las dimensiones de "macroestructura" son, por ejemplo, de aproximadamente 1 mm a aproximadamente 10 mm.

[0170] En esta memoria descriptiva, se pretende que el término "micro" en las expresiones "microestructura" y "microgeometría" signifique una característica de dispositivo centrípeto fluídico menor que 1 mm. En particular, las dimensiones de "microestructura" son, por ejemplo, de aproximadamente 1 µm a aproximadamente 1 mm.

[0171] En esta memoria descriptiva, se pretende que el término "muestra" signifique cualquier solución o suspensión de mezcla que se va a analizar. En particular, "muestra" puede ser una muestra "biológica" o "muestra biológica en bruto" y se pretende que signifique cualquier especie biológica de interés de sangre, componente sanguíneo, fluido corporal nasal y/o faríngeo y/o bucal, líquido de frotis nasal y/o bucal y/o faríngeo resuspendido, líquido resuspendido de frotis anal/vaginal, saliva, exudado de herida, heces y orina.

[0172] En esta memoria descriptiva, se pretende que el término "diluyente" signifique una cantidad determinada de fluido que puede servir para diluir una muestra.

[0173] En esta memoria descriptiva, se pretende que el término "receptáculo" signifique una característica del dispositivo centrípeto fluídico diseñada para recibir una determinada cantidad de fluido.

[0174] En esta memoria descriptiva, se pretende que el término "canal" signifique una trayectoria de microestructura o macroestructura de un dispositivo centrípeto fluídico que permite el flujo de fluido entre cámaras, receptáculos y receptáculos de muestra del dispositivo centrípeto fluídico.

[0175] En esta memoria descriptiva, se pretende que el término "entrada" signifique una abertura a una cámara de dispositivo centrípeto fluídico que permite la entrada de fluido.

[0176] En esta memoria descriptiva, se pretende que el término "salida" signifique una abertura a una cámara de dispositivo centrípeto fluídico que permite que el fluido salga.

[0177] En esta memoria descriptiva, el término "válvula de ruptura" o "válvula fluídica" se usan indistintamente y pretenden significar una microestructura en un dispositivo centrípeto fluídico que tiene la función principal de ayudar a evitar que el líquido fluya por debajo de una determinada cantidad de presión aplicada sobre el líquido, típicamente por fuerza centrípeta creada por rotación del dispositivo centrípeto fluídico. El fluido fluye a través de la "válvula de ruptura" cuando la presión supera la fuerza producida por la tensión superficial del líquido.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0178] Habiendo descrito así en general la naturaleza de la invención, se hará referencia a los dibujos adjuntos, que muestran a modo ilustrativo ejemplos de realizaciones de los mismos y en los que:

La figura 1A es una vista en perspectiva de un conjunto de rotor que sostiene un dispositivo centrípeto fluídico; la figura 1B representa una vista oblicua en despiece de un dispositivo centrípeto fluídico en una parte inferior de un rotor; la figura 1C representa una vista oblicua de un dispositivo centrípeto fluídico; la figura 1D es una vista en sección de un dispositivo centrípeto fluídico;

La figura 2A ilustra un respiradero fluídico conectado al receptáculo de admisión; la figura 2B ilustra un tapón para el recipiente de admisión descrito en la figura 2A;

La figura 3A ilustra la construcción fluídica de una cámara que se puede llenar por la parte inferior; la figura 3B ilustra una construcción alternativa de la cámara que se puede llenar por la parte inferior con una conexión de puerto;

La figura 4A ilustra una construcción alternativa de la cámara que se puede llenar por la parte inferior que incluye un miembro translocable; la figura 4B ilustra una construcción alternativa de la cámara que se puede llenar por la parte inferior que incluye un miembro translocable y reactivos secos;

La figura 5 ilustra una construcción alternativa de la cámara que se puede llenar por la parte inferior que incluye una cámara de desbordamiento;

La figura 6 ilustra una construcción alternativa de la cámara que se puede llenar por la parte inferior que incluye una salida de medición;

La figura 7a ilustra una construcción alternativa de la cámara que se puede llenar por la parte inferior que incluye un miembro translocable, reactivos secos, cámara de desbordamiento y una salida de medición; la figura 7a ilustra una construcción alternativa de la cámara que se puede llenar por la parte inferior que incluye un miembro

translocable, reactivos secos, filtro, cámara de desbordamiento y una salida de medición; la figura 7c ilustra la construcción alternativa de la figura 7b después de la disociación del filtro por un miembro translocable;

La figura 8a ilustra el llenado de la cámara que se puede llenar por la parte inferior que se muestra en la figura 7a; la figura 8b ilustra la translocación del desbordamiento de líquido hacia el elemento 309; la figura 8c ilustra la etapa de definición del volumen; la figura 8d ilustra la translocación del elemento translocable; la figura 8e ilustra la sedimentación en la parte inferior de la cámara que se puede llenar por la parte inferior de los elementos 308 y 307; la figura 8f ilustra la translocación del volumen medido de la cámara inferior a la cámara 313;

La figura 9a ilustra una vista en sección de la geometría de entrada y salida para ayudar a evitar que el objeto translocable y/o las microesferas ubicadas en el material en fase sólida salgan de la cámara que se puede llenar por la parte inferior; la figura 9b ilustra una vista superior de la geometría de entrada y salida para ayudar a evitar que el objeto translocable y/o las microesferas ubicadas en el material en fase sólida salgan de la cámara que se puede llenar por la parte inferior;

La figura 10a ilustra una estructura fluidica para mezclar o diluir la muestra; la figura 10b ilustra fluido contenido en un receptáculo de una cámara de retención; la figura 10c ilustra reactivos secos en el receptáculo de una cámara de retención; la figura 10d ilustra un recipiente de líquido dentro de una cámara de retención;

La figura 11a ilustra un recipiente de líquido en un receptáculo de cámara de retención antes del calentamiento; la figura 11b ilustra fluido contenido en un receptáculo de una cámara de retención durante el inicio del procedimiento de calentamiento; la figura 11c ilustra la liberación del líquido del recipiente de fluido dentro de la cámara de retención; la figura 11d ilustra la mezcla del lisado con el fluido liberado del recipiente de líquido; la figura 11e ilustra la translocación del lisado diluido de la cámara de retención hacia la cámara 513;

La figura 12 ilustra una construcción alternativa del recipiente de líquido;

La figura 13 representa una construcción fluidica que incluye una cámara que se puede rellenar por la parte inferior con cámara de desbordamiento y una salida de medición conectada de forma fluida a una cámara de retención;

La figura 14a representa la construcción fluidica de cubetas de detección de un dispositivo centrípeto fluidico; la figura 14b ilustra una construcción alternativa de la cubeta de detección con reactivos secos almacenados previamente; la figura 14c ilustra una construcción alternativa de la cubeta de detección con reactivos secos almacenados previamente en las cubetas y cera de cubeta almacenada previamente en las propias cubetas; la figura 14d ilustra una construcción alternativa de la cubeta de detección con reactivos secos almacenados previamente en las cubetas y cera de cubeta almacenada previamente en una cámara de residuos;

La figura 15 ilustra la construcción fluidica descrita en la figura 14d cuando las cubetas se calientan y llenan con una muestra;

La figura 16 representa una construcción fluidica que incluye cámara de retención y cubetas de detección;

La figura 17 representa una construcción fluidica para la preparación y detección de la muestra;

La figura 18 ilustra una vista en perspectiva de un instrumento que se puede usar para llevar a cabo un número de dispositivos centrípetos fluidicos simultáneos;

La figura 19 ilustra una vista oblicua de la arquitectura interior del instrumento ilustrada en la figura 18;

La figura 20 muestra un diagrama de diversos módulos de un instrumento;

La figura 21 ilustra regiones de control de temperatura de múltiples zonas en un dispositivo centrípeto fluidico;

La figura 22 ilustra una realización alternativa de las regiones de control de temperatura de múltiples zonas en un dispositivo centrípeto fluidico;

La figura 23 es una vista en sección transversal del sistema de control de temperatura del aire de zona doble del instrumento ilustrado en la figura 18;

La figura 24 muestra una vista de sección esquemática de un módulo de excitación de longitud de onda múltiple;

La figura 25 ilustra perfiles espectrales de led, filtro de excitación y divisores de haz dicróico adaptados para excitar tintes fluorescentes fam y texas red;

La figura 26 ilustra una vista de sección esquemática de un módulo de detección;

La figura 27 ilustra perfiles espectrales de un filtro interferencial de paso de doble banda adaptado para la detección de tintes fluorescentes FAM y Texas Red;

- 5 La figura 28 ilustra perfiles espectrales de filtro interferencial de paso de pentabanda adaptado para la detección de tintes fluorescentes comunes;

La figura 29 es un diagrama de flujo de las etapas implicadas para procesar un ensayo PCR usando el instrumento ilustrado en la figura 21;

10

Las figuras 30A, 30B, 30C ilustran la velocidad del rotor y las temperaturas del dispositivo centrípeto fluido con el paso del tiempo para procesar una PCR, usando el instrumento ilustrado en la figura 18;

- [0179] Se observará que, a lo largo de los dibujos adjuntos, las características similares se identifican mediante
15 números de referencia similares.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Conjunto de la estructura del dispositivo centrípeto fluido

20

[0180] Las figuras 1A y 1B muestran un ejemplo de conjunto de rotor 1003. Una parte inferior de ejemplo del rotor 2 con forma para recibir hasta ocho dispositivos centrípetos fluidicos 1. El conjunto de rotor incluye un rotor de parte inferior 2 y un anillo de retención 7 para retener el dispositivo centrípeto fluido 1 insertado entre los mismos. La parte de cuerpo de conjunto de rotor de la parte superior del anillo de retención se retiró en la figura 1B.

25

[0181] El dispositivo centrípeto fluido 1 se compone de al menos dos capas de componentes. Como se muestra en las figuras 1C y 1D, una capa fluidica tiene características en la cara inferior y/o la cara superior del dispositivo centrípeto fluido 1. La capa fluidica 3 se compone del receptáculo de admisión 5, cámaras 6a, 6b, 6c, canales y válvulas fluidicas. Se entenderá que la capa fluidica 3 se puede fabricar mediante el uso de diversas capas
30 unidas entre sí. La capa inferior delgada 4 se une a la capa fluidica 3. La superficie inferior de la capa fluidica 3, cuando se acopla a la capa inferior delgada 4, forma una red fluidica de depósitos, canales y válvulas cerrados a través de los cuales fluye fluido bajo la fuerza centrípeta.

[0182] La capa fluidica 3 y la capa inferior delgada 4 se pueden fabricar con material termoplástico. El material
35 termoplástico puede ser al menos uno de copolímero de olefina cíclica (COC), policarbonato (PC), poliestireno (PS), polioximetileno (POM), perfluoralkoxi (PFA), policloruro de vinilo (PVC), polipropileno (PP), polimetilmetacrilato (PMMA), copolímero de olefina cíclica (COC), poliamida (PA), polisulfona (PSU), polivinilideno (PVDF), así como otros materiales conocidos por los expertos en la técnica. Se pueden usar con superficie no modificada o superficie modificada. La modificación de la superficie se puede aplicar a una o a ambas caras o en una región específica de
40 interés en una o en ambas caras.

[0183] Hay disponibles diversas técnicas de acoplamiento para ensamblar la capa fluidica 3 del dispositivo centrípeto fluido con la capa inferior plana 4, tales como unión térmica, soldadura por radiofrecuencia, soldadura por láser, soldadura por ultrasonidos, adhesión o adhesión sensible a la presión y otras técnicas conocidas por los expertos
45 en la técnica.

[0184] En una realización de ejemplo, la técnica de acoplamiento permite incorporar reactivo seco o líquido dentro del dispositivo centrípeto fluido antes del ensamblaje.

50 [0185] En otra realización de ejemplo, la técnica de acoplamiento es a una temperatura de aproximadamente 4 °C a aproximadamente 80 °C.

[0186] En una realización de ejemplo, la rotación del dispositivo centrípeto fluido se crea colocando el dispositivo centrípeto fluido en un rotor dedicado 2, que rota alrededor de un centro de rotación. El rotor 2 tiene un
55 centro de rotación y un borde exterior, en este caso, una circunferencia. El dispositivo centrípeto fluido 1 se extiende radialmente entre el centro de rotación y el borde exterior. Incluso se extiende más allá del borde exterior en el ejemplo mostrado. Un lado interior del dispositivo centrípeto fluido 1 se ubica hacia el centro de rotación y un lado exterior del dispositivo centrípeto fluido 1 se ubica hacia el borde exterior.

60 [0187] El dispositivo centrípeto fluido puede ser una porción de un disco que tiene un diámetro interior de aproximadamente 5 mm y un diámetro exterior de aproximadamente 20 mm a aproximadamente 50 mm. La porción de un disco puede ser un 1/8 de un disco. No hay limitaciones con respecto a la forma del dispositivo centrípeto fluido y al número de dispositivos centrípetos fluidicos que un rotor puede recibir.

65 [0188] En una realización alternativa, el dispositivo centrípeto fluido tiene forma de disco y el rotor se adapta

para recibir un único dispositivo centrípeto fluídico.

[0189] En otra realización alternativa, la forma del dispositivo centrípeto fluídico corresponde a un portaobjetos de microscopio estándar de 25 mm x 75 mm. El rotor se puede adaptar para recibir entre 2 y 12 portaobjetos de microscopio.

Capa fluídica

[0190] La figura 1C ilustra la estructura de la cara superior de la capa fluídica 3 que incluye el receptáculo de admisión 5 para recibir una muestra y diversos depósitos 6a, 6b, 6c. La forma de cada depósito se adapta a los requisitos y funciones implementadas en el dispositivo centrípeto fluídico 1.

[0191] La figura 1D ilustra una vista en sección de la capa fluídica 3 con la capa inferior delgada 4. En una realización de ejemplo, el diseño de la capa fluídica 3 se puede adaptar al procedimiento de moldeo por inyección. Puede ser ventajoso, para algunas aplicaciones, respetar un espesor de pared uniforme. Por ejemplo, un espesor de pared podría ser de aproximadamente 0,7 a 1,2 mm. Puede ser ventajoso, para algunas aplicaciones, asegurar un ángulo de tracción constante. Las caras verticales pueden tener un ángulo de tracción de aproximadamente 0,5° a 5°.

Receptáculo de admisión, canales ventilados y tapón de entrada de la muestra del dispositivo centrípeto fluídico

[0192] Las figuras 2A y 2B ilustran una realización de ejemplo de un receptáculo de admisión. El receptáculo de admisión 5 se conecta de forma fluida a una cámara 901. La salida ventilada 816 se conecta al canal de salida y a la cámara ventilada 905.

[0193] En una realización, la cámara ventilada 905 se conecta al receptáculo de admisión 5 con la conexión de ventilación de entrada 906 en la cara superior del dispositivo centrípeto fluídico cerca de la porción interior del receptáculo de admisión 5.

[0194] En una realización de ejemplo, una cubierta 907 incluye una pieza base 908 en contacto directo con el receptáculo de admisión 5, un brazo de conexión flexible 909 y un tapón 910 unido a la pieza base 908 mediante el brazo de conexión 909. La cubierta 907 se puede colocar en una configuración cerrada con el tapón 910 sujeto a la pieza base 908 o se puede colocar en una configuración abierta como se muestra en la figura 2B. En esta realización particular, la pieza base 908 se diseña para permitir la comunicación entre la cámara ventilada 905 y la cámara 901 a través de la conexión de ventilación de entrada 906 incluso cuando la cubierta 907 está en una configuración cerrada.

[0195] En una realización alternativa (no ilustrada), la cámara ventilada 905 se desconecta de la cámara 901 (falta la conexión de ventilación de entrada 906). La ventilación de aire es proporcionada por un orificio proporcionado en la pieza base 908 de la cubierta 907 que permite la comunicación de aire entre la cámara 901 y la cámara ventilada 905 a través de la cavidad libre formada entre la pieza base 908 y el tapón 910 cuando la cubierta 907 está en la configuración cerrada.

Cámara que se puede llenar por la parte inferior

[0196] Las figuras 3A y 3B ilustran la cámara que se puede llenar por la parte inferior de la red fluídica. En este ejemplo, el receptáculo de admisión 5 se conecta de forma fluida a la cámara que se puede llenar por la parte inferior 315 con el canal de entrada 302. La conexión entre el receptáculo de admisión y el canal de entrada se puede hacer opcionalmente a través de una conexión de puerto 303 o la salida del receptáculo de admisión se puede conectar directamente al canal de entrada.

[0197] En una realización, el material de cromatografía en fase sólida específico (tal como material de intercambio iónico) se puede colocar en el receptáculo 5. Durante la centrifugación para llenar la cámara que se puede llenar por la parte inferior, el material de cromatografía en fase sólida llenará el canal 302, lo que permite la formación de una columna de exclusión capaz de adsorber algún inhibidor de amplificación de ácidos nucleicos de la muestra en bruto.

[0198] La entrada inferior 304 de la cámara que se puede llenar por la parte inferior 315 se ubica en el lado exterior de la cámara que se puede llenar por la parte inferior 315. Dado que el flujo de la muestra será desde el receptáculo de admisión 5 hacia el lado exterior de la cámara que se puede llenar por la parte inferior, el lado exterior de la cámara que se puede llenar por la parte inferior se denomina parte inferior de la cámara que se puede llenar por la parte inferior. Un canal de ventilación 305a se conecta a la salida de la cámara 306 en el lado interior de la cámara que se puede llenar por la parte inferior.

[0199] La dimensión de la cámara se compone de varios centímetros de ancho, varios centímetros de alto y varios milímetros de profundidad. En una realización de ejemplo, la dimensión de la cámara 315 comprende entre

1 cm de ancho, 2 cm de alto y 2 mm de profundidad. En otra realización de ejemplo, las dimensiones son 0,5 cm de ancho, 1,5 cm de alto y 1,3 mm de profundidad.

Reactivos y miembro translocable

5

[0200] Con referencia ahora a las figuras 4A y 4B, la cámara que se puede llenar por la parte inferior puede contener opcionalmente un objeto de miembro translocable 307. El miembro translocable puede ser ferromagnético y se puede mover en la cámara en respuesta a un campo magnético fluctuante. En una realización de ejemplo, el campo magnético de fluctuación se genera por la rotación del dispositivo centrípeto fluídico por encima de imanes fijos colocados de forma alternativa en una posición radial correspondiente a los bordes interior y exterior de la cámara que se puede llenar por la parte inferior. En otra realización, el campo magnético de fluctuación se genera por la rotación de imanes por encima de un dispositivo centrípeto fluídico fijo.

10

[0201] En una realización de ejemplo, los imanes fijos son imanes permanentes fabricados con material magnético de tierras raras. En otra realización, son electroimanes.

15

[0202] La cámara también puede contener opcionalmente material sólido 308 que no responde a un campo magnético. El material sólido se puede usar para proporcionar una reacción química o bioquímica y puede incluir sal, tampón o enzima. El material sólido se puede usar para purificar la muestra mediante la adsorción de inhibidores enzimáticos y puede incluir una matriz de cromatografía, un soporte sólido para la unión por afinidad, una extracción en fase sólida, un material quelante, resinas aniónicas y catiónicas y diferentes tipos de zeolita. El material sólido se puede usar para la rotura celular y puede incluir matriz dura. El material sólido se puede usar para el control del procedimiento y puede incluir células bacterianas o esporas. El material sólido se puede usar para concentrar el lisado usando la matriz higrométrica para absorber líquidos. El material sólido se puede funcionalizar con ligandos tales como anticuerpos específicos y se puede usar para capturar dianas dentro de la cámara que se puede llenar por la parte inferior. El material sólido puede ser un filtro capaz de detener o atrapar microbios diana dentro de la cámara que se puede llenar por la parte inferior. El material sólido se puede funcionalizar con restos de intercambio iónico capaces de adsorber microbios diana en su superficie, inmovilizándolos dentro de la cámara que se puede llenar por la parte inferior. Estos diferentes materiales sólidos se pueden usar solos o en combinación.

20

[0203] Cuando los materiales sólidos son una matriz dura para la alteración de la pared celular y la membrana, el material se puede fabricar con microesferas de sílice o circonio con diámetros de aproximadamente 50 µm a aproximadamente 200 µm. Las microesferas se pueden recubrir opcionalmente con agente quelante para la absorción de los inhibidores enzimáticos.

25

[0204] En una realización de ejemplo, el objeto translocable es un disco metálico y el material sólido se compone de microesferas duras mezcladas con resina aniónica y catiónica y esporas.

30

Desbordamiento

35

[0205] La figura 5 ilustra otra interconexión fluídica de la cámara que se puede llenar por la parte inferior que incluye una cámara de desbordamiento 309 conectada de forma fluida a la salida de desbordamiento 310 de la cámara que se puede llenar por la parte inferior por el canal de desbordamiento 311. El canal de desbordamiento se coloca cerca de la parte interior de la cámara en uno de los lados longitudinales de la cámara. La cámara de desbordamiento se ubica hacia el borde exterior del dispositivo centrípeto fluídico con respecto a la salida de desbordamiento 310 y la cámara de desbordamiento se ventila a través del canal de ventilación 305b. Esta configuración permite definir el volumen en la cámara que se puede llenar por la parte inferior mientras se ventila simultáneamente la cámara que se puede llenar por la parte inferior y la cámara de desbordamiento 309. El volumen de la cámara de desbordamiento se compone de entre 100 µl y varios mililitros. En una realización de ejemplo, el volumen de la cámara de desbordamiento comprende entre 150 y 200 µl.

40

Medición

[0206] La figura 6 ilustra una salida opcional 312 a la cámara que se puede llenar por la parte inferior para conectar de forma fluida la cámara que se puede llenar por la parte inferior a una cámara posterior 313 con el canal de transferencia 314. La salida se ubica en uno de los lados longitudinales de la cámara que se puede llenar por la parte inferior. La salida puede ser una válvula de ruptura con dimensión micrométrica. La dimensión de la válvula micrométrica puede ser de 1 a 100 µm de profundidad, 10 µm a 1 mm de ancho y de unas pocas micras a unos pocos milímetros de largo. En una realización de ejemplo, la dimensión de la válvula micrométrica está comprendida entre 30 a 75 µm de profundidad, 70 a 120 µm de ancho y 0,5 a 1,5 mm de largo. La salida se puede colocar a cualquier distancia entre los bordes interior y exterior de la cámara que se puede llenar por la parte inferior siempre y cuando la salida se coloque en una posición exterior con respecto a la salida de desbordamiento. La distancia entre la salida y la salida de desbordamiento definirá el volumen que se va a medir y enviar a la cámara siguiente.

45

[0207] El volumen de fluido medido por la salida puede estar comprendido entre 10 y 50 µl. En una realización

50

65

de ejemplo, el volumen definido es 20 µl.

[0208] La figura 7A ilustra una cámara que se puede llenar por la parte inferior que tiene algunas de las configuraciones opcionales descritas anteriormente. El receptáculo de admisión 5 se conecta de forma fluida al canal de entrada 302, la cámara que se puede llenar por la parte inferior 315 y la entrada inferior 304. Una cámara de desbordamiento 309 se conecta de forma fluida a la cámara que se puede llenar por la parte inferior a través de la salida de desbordamiento 310 y el canal de desbordamiento 311. La salida 312 permite transferir líquidos ubicados entre la salida de desbordamiento y la salida a una cámara posterior 313 a través del canal de salida 312. La cámara contiene un miembro translocable 307 y material sólido 308.

[0209] La figura 7B ilustra una cámara que se puede llenar por la parte inferior con un tope de diana 316. El tope se coloca para forzar la muestra a través de él. El agua y las moléculas pequeñas pasarán, pero la diana se retendrá. Dado que la mayoría del líquido cargado en el receptáculo de admisión 5 fluiría a través del desbordamiento 309 a través del tope de diana 316, la diana se concentrará en el pequeño porcentaje de líquido presente en la cámara que se puede llenar por la parte inferior.

[0210] La figura 7C muestra la liberación de las bacterias atrapadas después de que el tope de patógeno se disocie por el movimiento translocable del miembro translocable 307. La diana puede ser al menos uno de células, bacterias, hongos, virus, etc. En una realización, el tope de diana 316 es un filtro de exclusión por tamaño. En otra realización, el tope de diana 316 es una resina de intercambio iónico. En otra realización, el tope de patógeno 316 incluye microesferas funcionalizadas con anticuerpos específicos.

[0211] La figura 8 ilustra la progresión fluida en la cámara que se puede llenar por la parte inferior descrita en la figura 7. Las figuras 8A a 8F describen el movimiento secuencial de fluido en la cámara que se puede llenar por la parte inferior. El llenado de la cámara se produce en la figura 8A, el desbordamiento de líquido hacia la cámara de desbordamiento se produce en la figura 8B y en la figura 8C, la homogeneización de la muestra y la lisis accionada por movimiento translocable se produce en la figura 8D, la clarificación por sedimentación de materiales insolubles se produce en la figura 8E y la transferencia del líquido medido a la siguiente cámara se produce en la figura 8F.

[0212] Con referencia ahora a la figura 9A y la figura 9B, la geometría de la entrada inferior 304 y la salida de desbordamiento opcional 310 y la salida opcional 312 se adaptan para ayudar a evitar que el objeto translocable y/o las microesferas salgan de la cámara que se puede llenar por la parte inferior. En una realización, la dimensión más pequeña del objeto translocable y las microesferas contenidos en el material sólido debe ser mayor que el ancho 317a o profundidad 318a y mayor que el ancho 317b o profundidad 318b.

Cámara de retención

[0213] Una realización de ejemplo de una estructura fluida para retener y/o diluir una muestra se ilustra en las figuras 10A a 10D. En esta realización, un canal de entrada de fluido 401 se conecta de forma fluida a la entrada 402, ubicada en el lado interior de la cámara 403. La salida de ventilación 404 se ubica en el lado interior de la cámara para permitir el desplazamiento de aire en la cámara. El depósito tiene un volumen de aproximadamente 1 µl a aproximadamente 2 ml. La salida 405 del depósito se ubica en el lado exterior de la cámara y es en general una válvula de ruptura.

[0214] En la realización de ejemplo de la figura 10A, la cámara de retención tiene un receptáculo opcional 406 ubicado en el lado exterior de la cámara. El receptáculo se adapta en general para contener líquido 407 procedente del canal de entrada para ayudar a evitar que el líquido entre en contacto con la salida de cámara 405 tras la entrada inicial en la cámara de retención como se muestra en la figura 10B.

[0215] Opcionalmente, el receptáculo puede contener reactivos secos 408 como se muestra en la figura 10C. Los reactivos secos 408 pueden ser, pero no se restringe a, enzimas, tampones y/o sustancias químicas.

[0216] En la realización de ejemplo ilustrada en la figura 10D, la cámara de retención puede incluir opcionalmente un recipiente de líquido 409 colocado dentro de la cámara de retención y que contiene un diluyente 410. El diluyente puede ser, pero no se limita a, agua, tampón o alguna parte de tampón que no se puede secar. El recipiente de líquido 409 en general, pero no necesariamente, se fabrica con un material tolerante al calor y/o material de cambio de fase sensible. El material tolerante al calor puede tener un punto de fusión superior a 100 °C y puede ser de vidrio, polímero termoplástico, así como otros materiales conocidos por los expertos en la técnica. El material de cambio de fase se puede fundir y solidificar a una temperatura determinada. La fase sólida puede estar por debajo de aproximadamente 45 °C y la temperatura de la fase de fusión puede estar entre aproximadamente 45 °C y 85 °C. El material de cambio de fase puede ser cera, cera de parafina, cera microcristalina, cera sintética, cera natural, pegamento u otros materiales de sellado conocidos por los expertos en la técnica.

[0217] Las estructuras descritas anteriormente se pueden usar como un tipo de válvula novedosa que denominamos válvula de desacoplamiento de flujo. La válvula de desacoplamiento de flujo contiene dos elementos,

un receptáculo de desacoplamiento de flujo para interrumpir la conexión fluidica entre la entrada y la salida de una cámara de retención, y un recipiente de líquido que encierra un diluyente que se puede liberar tras aplicar una fuerza externa. La liberación del diluyente restaura la conexión fluidica dentro del circuito.

5 **[0218]** En una realización de ejemplo, una extremidad de material de cambio de fase 411 del recipiente 410 libera el líquido cuando la cámara de retención se calienta por encima de una temperatura determinada. El recipiente de líquido puede ayudar a evitar la evaporación del líquido encerrado durante un periodo de aproximadamente 1 a 3 años y tiene una capacidad de un microlitro a dos mililitros.

10 **[0219]** La figura 11 ilustra la progresión fluidica del movimiento secuencial de fluido en la realización de la cámara de retención. En la figura 11A se muestra el líquido 407 procedente de la entrada que está en el receptáculo, en la figura 11B, la cámara de retención se calienta 416 y la extremidad de material de cambio de fase se funde 411a, 411b, en la figura 11C, el diluyente 410 se libera, en la figura 11D, el líquido 407 procedente de la entrada se mezcla con el diluyente 410 y, en la figura 11E, la salida de válvula de ruptura 405 evacua el diluido 415.

15 **[0220]** Una realización de ejemplo alternativa se ilustra en la figura 12 para diluir un fluido en una cámara de retención. Una cámara de diluyente 412 se puede ubicar por encima o en el lado interior de la cámara de retención 403. El líquido se libera en la cámara de retención al activar una válvula de material de cambio de fase 413 colocada en la salida de diluyente 414. En esta realización de ejemplo, la válvula de material de cambio de fase es una válvula de cera activada por calor por encima de aproximadamente 50 °C. En otra realización, el calor es generado por ondas electromagnéticas tales como radiación infrarroja, láser, microondas y cualquier otro material conocido por los expertos en la técnica. En una realización alternativa (no ilustrada), el líquido del recipiente de líquido se puede liberar mecánicamente. Por ejemplo, un mecanismo de perforación se puede activar mediante un émbolo. En otra realización alternativa (no ilustrada), el líquido del recipiente de diluyente se puede liberar mediante un accionador
25 electromagnético.

[0221] En la figura 13, se muestra una realización de ejemplo de un sistema de medición de fluido conectado a la cámara de retención. En este ejemplo, la salida de muestra 303 se conecta de forma fluida a la cámara que se puede llenar por la parte inferior 315, a través de la entrada inferior 304. Una cámara de desbordamiento 309 se
30 conecta a la cámara que se puede llenar por la parte inferior 315 con la salida de desbordamiento 310 y canal de desbordamiento 311. La salida de medición 312 permite transferir el líquido contenido, entre la salida de desbordamiento 310 y la salida de medición 312 de la cámara 315, al receptáculo de cámara de retención 406 a través del canal de medición 314 y la entrada de cámara de retención 402.

35 **[0222]** Tras el calentamiento, el diluyente 410 contenido en el recipiente de dilución 409 se libera en la cámara de retención 403. El líquido liberado 410 se mezcla con el volumen medido contenido en el receptáculo de cámara de retención 406. Una vez que el diluyente y el volumen medido se mezclan, el volumen total es lo suficientemente grande como para poner la dilución en contacto con la salida 405 que actúa como válvula de ruptura. Por tanto, la liberación del líquido del recipiente 409 transporta un líquido al lugar correcto en el momento adecuado y también reactiva los
40 circuitos fluidicos. En efecto, antes de calentar el recipiente de líquido, el líquido procedente de la cámara 315 se retiene en el receptáculo 406. En esta realización particular, el receptáculo de cámara de retención permite una velocidad de ruptura con unas RPM altas para la válvula de ruptura de salida de dosificación 312 y ayuda a evitar que el líquido salga de la cámara de retención al controlar la ubicación del fluido para ayudar a evitar el contacto con la válvula de salida de la cámara de retención 405. El mecanismo de esta novedosa válvula de desacoplamiento de flujo
45 disocia la válvula de ruptura de salida de medición pasiva 312 de la válvula de salida pasiva 405, lo que permite un control fluidico sólido sin necesidad de válvulas activas complejas.

[0223] En otra realización de ejemplo, el material de cambio de fase 411 del recipiente de líquido 409 tiene una densidad superior al líquido medido 407 retenido en el recipiente 406 y el diluyente 410. Cuando se calienta, el líquido
50 410 contenido en el recipiente de líquido 409 se libera en la cámara 403. El material de cambio de fase 411 se moverá por debajo de la mezcla de diluyente 410 y fluido 407 y desplazará este último para que pueda estar en contacto con la salida 405 que puede actuar como válvula de ruptura. En esta realización particular, la cámara de retención se puede vaciar una vez que se libere el líquido de mayor densidad.

55 **[0224]** En algunas realizaciones, los reactivos secos 408 se pueden almacenar en la cámara de retención 403.

Cubeta, cámara de detección y cámara de distribución

[0225] La figura 14 ilustra una realización de una disposición de cubetas de detección fluidica. En la realización de ejemplo de la figura 14A, un depósito de muestra 601 se conecta de forma fluida a una o más cubetas de detección 602a, 602b y 602c a través del canal de entrada 603, el canal de distribución 604 y las entradas de cubetas. En el ejemplo mostrado, el número de cubetas es tres. El extremo del canal de distribución 604 se conecta de forma fluida a la cámara de residuos 605 y una salida ventilada 606 se ubica cerca del extremo del canal de distribución 604.

65 **[0226]** En una realización de ejemplo de la figura 14B, los reactivos secos 607a, 607b y 607c se han

almacenado en las respectivas cubetas 602a, 602b, 602c. Los reactivos secos pueden ser conjuntos de cebadores, mezclas de enzimas, sondas de fluorescencia y sales para llevar a cabo el procedimiento de amplificación enzimática y/o detección. El fluido transferido en las cubetas resuspenderá los reactivos secos.

5 **[0227]** En otra realización mostrada en la figura 14C, se puede colocar un material de cambio de fase sensible al calor 608 directamente dentro de cada cubeta, por ejemplo, encima de los reactivos secos 607. El material de cambio de fase sensible al calor 608 puede tener una gravedad específica inferior a la gravedad específica del fluido entrante. Por ejemplo, el punto de fusión del material 608 está por encima de 50 °C y tiene una gravedad específica por debajo de uno. En una realización de ejemplo, el material de cambio de fase es cera. En esta realización, el
10 volumen de la cubeta menos el volumen del material de cambio de fase define el volumen de la reacción de amplificación que está en general entre 5 y 100 µl. Tras el calentamiento, el material de cambio de fase se fundirá y, bajo fuerza centrípeta, se moverá hasta la entrada de cubeta 610. En esta realización, una entrada de cubeta bien diseñada cuando se llena con el material de cambio de fase ayudará a evitar la evaporación y la contaminación cruzada entre cada cubeta.

15 **[0228]** En otra realización ilustrada en la figura 14D, la cámara de residuos puede contener un material de cambio de fase sensible al calor 612 con una gravedad específica inferior a la gravedad específica de la muestra. Por ejemplo, el punto de fusión del material está por encima de 50 °C y tiene una gravedad específica por debajo de 1. En una realización de ejemplo, el material de cambio de fase es cera. Como se ilustra en la figura 15, cuando la cámara
20 de residuos 605, el canal de distribución 604 y las cubetas 602 se calientan 611, y cuando un exceso de fluido 609 entra en la cámara de residuos 605, la cera fundida 612b se mueve dentro del canal de distribución 604 en la parte superior de las entradas de cubeta.

[0229] En otra realización, se coloca un material de cambio de fase 612 en el residuo. El líquido procedente de
25 la cámara de retención se lleva al canal de distribución con una temperatura inferior al punto de fusión del material de cambio de fase presente en los residuos.

[0230] En una realización, se coloca un material de cambio de fase tanto en las cubetas como en los residuos. En esta realización particular, el punto de fusión del material de cambio de fase 612 colocado en los residuos es igual
30 o inferior al punto de fusión del material de cambio de fase 608 colocado en las cubetas.

[0231] La figura 16 muestra otra realización de ejemplo en la que una cámara de retención 403, como se describió anteriormente, se conecta de forma fluida al canal de distribución 604. En una realización, la salida de ventilación 606 del canal de distribución y la salida de ventilación 404 de la cámara de retención se pueden fusionar
35 opcionalmente en un único canal de ventilación 704 cerca de la salida de ventilación 404 de la cámara de retención 403.

[0232] La figura 17 muestra otra realización de ejemplo en la que un puerto de muestra 303 se conecta de forma fluida a la cámara que se puede llenar por la parte inferior 315, en la que la cámara incluye un miembro
40 translocable 307 y microesferas duras 308. La cámara que se puede llenar por la parte inferior se conecta a una cámara de desbordamiento 309 y una salida de medición de válvula de ruptura 312 se conecta de forma fluida a una entrada de cámara de retención 402. La cámara de retención 403 contiene un receptáculo 406 y un recipiente de líquido 409 como se describió anteriormente para permitir la dilución del fluido. El fluido diluido alcanza la salida 405 y se transfiere a las cubetas 602 a través de la salida de válvula de ruptura 405 de la cámara de retención 403 y los
45 residuos 605 contienen cera 612. En esta realización de ejemplo, los reactivos secos 607 y la cera (no ilustrada) se almacenan en las cubetas. La salida ventilada 606, 404 y 815 de las cubetas, la cámara de retención y la cámara que se puede llenar por la parte inferior se fusionan para permitir la ventilación de los circuitos fluidicos completos a través de un único puerto de ventilación 816.

50 **Configuración ejemplar del instrumento**

[0233] La figura 18 ilustra un instrumento de ejemplo 1000 para procesar un dispositivo centrífugo fluido como se presentó anteriormente. El aparato 1000 tiene, en esta realización de ejemplo, 30 cm de ancho x 30 cm de profundidad x 20 cm de alto. Incluye una base 1001, una tapa abisagrada 1002 y un conjunto de rotor 1003 colocado
55 dentro de la carcasa de centrifugación 1004. El conjunto de rotor 1003 colocado dentro de la carcasa de centrifugación 1004 gira en un plano paralelo a la base del instrumento.

[0234] La figura 19 muestra el instrumento 1000 con más detalle, especialmente los componentes ubicados dentro de la base 1001. El movimiento de rotación del conjunto de rotor 1003 lo produce el motor 1005, ubicado debajo
60 de la carcasa de centrifugación 1004. El controlador 1008 proporciona un microprocesador, una memoria, electrónica y *software* para controlar el instrumento 1000. En este ejemplo, el controlador proporciona una interfaz de protocolo de comunicaciones cableada tal como Ethernet, en serie, E/S digital y E/S analógica. En esta realización de ejemplo, la pantalla táctil LCD 1006 proporciona una interfaz gráfica de usuario (GUI) usada para hacer funcionar el *software* de instrumento integrado en el controlador 1008. La pantalla LCD se comunica con el controlador mediante un
65 protocolo de comunicación en serie. El controlador se comunica con los controladores de motor 1010 y la placa de

adquisición de señal óptica 1011 usando enlaces en serie. La placa de acondicionamiento de temperatura 1012 se conecta a entradas analógicas y la placa de control de fuentes de excitación 1013 se conecta a la salida digital del controlador 1008.

- 5 [0235] Este instrumento de ejemplo 1000 proporciona múltiples controles de zona de temperatura para controlar la temperatura en regiones predeterminadas de interés de un dispositivo centrípeto fluídico. En esta realización de ejemplo, la carcasa de centrifugación 1004, el conjunto de rotor 1003 y la tapa 1001 se diseñan para garantizar un control de temperatura del aire de zona doble.
- 10 [0236] El módulo de excitación 1007 proporciona al menos una longitud de onda de excitación. La trayectoria del haz de excitación va hacia arriba para excitar especies fluorescentes dentro de las cubetas de los dispositivos centrípetos fluídicos desde la cara inferior.
- [0237] El módulo de detección 1009 se ubica en la parte posterior de la carcasa de centrifugación. El módulo de detección 1009 alberga los elementos ópticos que recogen la luz emitida por especies fluorescentes en el dispositivo centrípeto fluídico a al menos una longitud de onda. En esta realización de ejemplo, el detector es un PMT.

Descripción general de las funciones del instrumento

- 20 [0238] El instrumento incluye módulos integrados: motor 1005, carcasa de centrifugación 1004, controlador de temperatura de múltiples zonas 2000, óptica 1014, controlador 1008 y una interfaz humana con la máquina 1006. Se entenderá que la disposición de los diversos componentes o módulos mostrados en la figura 20 es un ejemplo y no pretende ser limitante.

25 Carcasa de centrifugación

- [0239] El conjunto de rotor 1003 se coloca dentro de una carcasa de centrifugación 1004 que gira para controlar el movimiento del fluido en el dispositivo centrípeto fluídico 1. El motor 1005 produce el movimiento de rotación del conjunto de rotor. El conjunto de rotor se puede fijar de forma permanente dentro de la carcasa centrífuga o se puede retirar de la carcasa centrífuga para permitir la colocación de dispositivos centrífugos fluídicos en el rotor antes de colocar el rotor dentro de la carcasa centrífuga. El conjunto de rotor puede girar en un plano paralelo a la base del instrumento o, de forma alternativa, en un plano perpendicular a la base del instrumento. Las velocidades de revolución del conjunto de rotor pueden variar entre 0 y 10.000 RPM en sentido horario y/o antihorario con una velocidad de aceleración entre 0 y 20000 RPM/s. Por ejemplo, la secuencia rotativa se lleva a cabo automáticamente por el controlador 1008.

- [0240] Se puede colocar un imán permanente (no mostrado) dentro de la carcasa de centrifugación para activar magnéticamente el miembro translocable 307 ubicado en la cámara que se puede llenar por la parte inferior de algunas realizaciones del dispositivo centrípeto fluídico. Un ejemplo de la acción magnética para un disco fluídico de centrifugación se ha descrito en Kido *et al.*, in "A novel, compact disk-like centrifugal microfluidics system for cell lysis and sample homogenization", *Colloids Surfaces B: Biointerfaces*, 58 (2007) 44-51.

Control de temperatura de múltiples zonas

- 45 [0241] El instrumento 1000 también permite que el controlador de temperatura de múltiples zonas 2000 module la temperatura de regiones predeterminadas de interés (ROI) 1300, 1302 de un dispositivo centrípeto fluídico. El calentamiento/enfriamiento se puede lograr con técnicas resistivas (alambre de níquel, calentador cerámico), con o sin ventilador, técnicas termoelectricas (Peltier), calentamiento de bombillas halógenas así como otros sistemas de calentamiento/enfriamiento conocidos por los expertos en la técnica.
- 50 [0242] Con referencia ahora a la figura 21, una vista superior simplificada de un dispositivo centrípeto fluídico ilustra esquemáticamente dos áreas ROI 1300, 1302. En esta realización de ejemplo, las dos áreas ROI no se solapan y tienen forma de anillo. El calentamiento/enfriamiento de diferentes ROI se puede lograr independientemente en puntos temporales específicos.
- 55 [0243] Con referencia de nuevo a la figura 20, los calentadores 2001a y 2001b pueden calentar aire y el aire caliente fuerza a calentar el ROI seleccionado del dispositivo centrípeto fluídico y, en consecuencia, el fluido que se va a calentar. La carcasa de centrifugación 1004 puede comprender una estructura aislante para confinar el aire calentado a los respectivos compartimentos de la carcasa centrífuga para garantizar el control de temperatura del ROI del dispositivo centrípeto fluídico. La temperatura del aire caliente en cada compartimento se puede medir mediante un sensor de temperatura. El sensor de temperatura puede ser termopares, termistor, detector de temperatura resistivo (RTD), así como otro sensor de temperatura conocido por los expertos en la técnica. Se puede implementar un control de ciclo de retroalimentación de temperatura en el controlador 1008 para controlar con precisión la temperatura del aire.
- 60
- 65

[0244] En algunas realizaciones, se puede usar un ventilador para recircular aire caliente alrededor de un ROI. Alternativa o adicionalmente, un ventilador puede forzar que el aire fresco sea calentado por un calentador antes de entrar en contacto con el ROI de interés.

5 **[0245]** En algunas realizaciones, al menos un respiradero (no mostrado) permite que el aire caliente salga del compartimento de la carcasa centrífuga. El respiradero puede estar abierto de forma momentánea o permanente.

[0246] En algunas realizaciones, el ventilador 2002 se puede utilizar para enfriar un ROI específico del dispositivo centrípeto fluídico. Se puede usar un ROI para forzar que el aire frío (temperatura ambiente) entre en un
10 compartimento específico de la carcasa centrífuga para enfriar un ROI específico del dispositivo centrípeto fluídico.

[0247] En algunas realizaciones, se puede mantener al menos un ROI del dispositivo centrípeto fluídico por debajo de 35 °C cuando se calienta otro ROI entre 25 °C y 99 °C.

15 **[0248]** Preferentemente, se puede implementar un algoritmo de ciclo de retroalimentación de temperatura en el controlador 1008 para llevar a cabo una incubación isotérmica de al menos uno de los ROI del dispositivo centrípeto fluídico. Alternativa o adicionalmente, se pueden implementar algoritmos de ciclo de retroalimentación de temperatura para llevar a cabo ciclos térmicos en al menos un ROI del dispositivo centrípeto fluídico.

20 **[0249]** En una realización, la incubación isotérmica de un ROI se puede usar para controlar la inhibición de la amplificación de ácidos nucleicos, más específicamente, para controlar la inhibición de la amplificación con PCR. Alternativa o adicionalmente, la incubación isotérmica se puede usar para calentar material de cambio de fase. En una realización más específica, el ROI de interés en el dispositivo centrípeto fluídico incluye al menos la cámara de retención de la realización del dispositivo centrípeto fluídico descrita anteriormente.

25 **[0250]** En una realización, la incubación isotérmica de al menos un ROI de un dispositivo centrípeto fluídico se puede usar para llevar a cabo una amplificación isotérmica de ácidos nucleicos. En una realización más específica, el ROI comprende las cubetas de una realización del dispositivo centrípeto fluídico descrita anteriormente.

30 **[0251]** En otra realización, se puede usar los ciclos térmicos de al menos un ROI de un dispositivo centrípeto fluídico para llevar a cabo la amplificación por PCR. En una realización más específica, el ROI comprende las cubetas de una realización del dispositivo centrípeto fluídico descrita anteriormente.

[0252] Con referencia ahora a la figura 22, la temperatura del fluido se puede controlar en los ROI 2201, 2202a, 35 2202b, 2202c más específicos de un dispositivo centrípeto fluídico. Puede ser adecuado evitar el calentamiento de áreas innecesarias del dispositivo centrípeto fluídico para minimizar la masa térmica y aumentar la velocidad de calentamiento/enfriamiento. La temperatura en cada ROI específico se puede controlar colocando elementos de calentamiento/enfriamiento y sensores de temperatura en contacto con la cara inferior y/o la cara superior del dispositivo centrípeto fluídico en el rotor. La energía se puede transmitir a los elementos de calentamiento a través de
40 anillos deslizantes (no mostrados) colocados entre el motor y el conjunto de rotor. Los datos del sensor de temperatura también se pueden transmitir a través del conjunto de anillo deslizante y/o de forma inalámbrica.

[0253] En otra realización alternativa, se puede integrar un subcontrolador en el conjunto de rotor rotativo para implementar el ciclo de retroalimentación de control de temperatura de uno o más elementos de calentamiento
45 directamente en el rotor. Se puede suministrar potencia eléctrica a la placa electrónica rotativa mediante una de las baterías colocadas en la placa electrónica rotativa, transferencia de energía de inducción entre la parte no rotativa y la placa electrónica colocada en el rotor o con una interfaz de anillo deslizante entre el motor y el rotor. Se puede implementar una interfaz de comunicación entre este subcontrolador y el controlador 1008 a través de comunicación en serie a través de un anillo deslizante, comunicación por RF o cualquier otro modo de transmisión inalámbrica. En
50 algunas realizaciones, la temperatura se puede medir en diferentes ROI de un dispositivo centrípeto fluídico. El acondicionamiento del elemento de detección y la conversión de analógico a digital se pueden implementar directamente en el controlador rotativo, evitando así la transmisión de señal del sensor analógico a través de un anillo deslizante y disminuyendo el ruido. Esta realización es adecuada para calibrar la reacción de amplificación enzimática tal como amplificación por PCR. En una realización alternativa, el controlador rotativo se puede usar para medir la
55 señal eléctrica del electrodo recubierto en una de las capas del dispositivo centrípeto fluídico. El electrodo se puede usar para detectar la presencia de líquido en diversos ROI del dispositivo centrípeto fluídico.

[0254] La figura 23 ilustra el control de temperatura de aire de zona doble. En este ejemplo, hay dos
60 compartimentos: el compartimento n.º 1 1301 para calentar la cámara de retención 403 y el compartimento n.º 2 1303 para calentar y enfriar el área de las cubetas 602 del dispositivo centrípeto fluídico 1. El confinamiento de aire en cada área se logra a través de una combinación de compartimentos delimitados por la carcasa de centrifugación 1004, la pared de separación de carcasa de centrifugación 1304, la parte inferior del rotor 2, la pared de aislamiento de rotor 1305, el anillo de retención 7, el aislamiento de tapa 1307 y la pared de aislamiento de tapa 1308. Los materiales aislantes se pueden usar para controlar la transferencia de calor entre componentes adyacentes y/o acoplados y
65 también para evitar el flujo de calor no controlado fuera de la carcasa de centrifugación 1004. Para generar calor dentro

de cada compartimento, se coloca un elemento térmico 1309a debajo del dispositivo centrípeto fluídico en el compartimento n.º 2 1303, y un elemento de calentamiento 1309b se coloca por encima del dispositivo centrípeto fluídico en el compartimento n.º 1 1301. Los termopares 1310a y 1310b se colocan dentro de cada compartimento para medir la temperatura individual del compartimento. En el instrumento 1000, los elementos de calentamiento en
 5 ambos compartimentos son bobinas de calentamiento resistivas. Para controlar la velocidad de enfriamiento del compartimento n.º 2 1303, el soplador 3111 fuerza al aire a temperatura ambiente a entrar en el compartimento n.º 2 1303. Cuando el soplador 3111 está soplando aire dentro, la compuerta de salida 3112 se abre para expulsar aire caliente fuera del compartimento n.º 2 1303. Se implementa un algoritmo de ciclo de retroalimentación de temperatura en el controlador electrónico 1008 para controlar con precisión la temperatura en cada compartimento. Esta
 10 configuración permite que una velocidad de calentamiento del aire para ambos compartimentos esté, por ejemplo, entre 1 y 20 °C/s. La velocidad de enfriamiento del aire del compartimento n.º 2 1303 es, por ejemplo, de entre 0,1 y 20 °C/s. Los algoritmos de ciclo de retroalimentación de control se pueden implementar para llevar a cabo incubación isotérmica de cada región de interés del dispositivo centrípeto fluídico y programas de ciclos térmicos tales como amplificación por PCR para el compartimento n.º 2 1303.

15

Óptica

[0255] Con referencia de nuevo a la figura 20, la óptica 1014 del instrumento de ejemplo 1000 incluye dos módulos: módulo de excitación 1007 y módulo de detección 1009. Estos dos módulos se configuran para examinar
 20 ópticamente un líquido 1608 en el dispositivo centrípeto fluídico 1. Es adecuado para medir especies fluorescentes en las cubetas del dispositivo centrípeto fluídico 1. En algunas realizaciones, la óptica de fluorescencia se puede usar para llevar a cabo PCR en tiempo real o detección isotérmica en tiempo real.

[0256] En otra realización, la óptica 1014 solo incluye un módulo de detección para examinar el líquido en el
 25 dispositivo centrípeto fluídico.

[0257] El módulo de excitación 1007 incluye fuente(s) de luz y elementos mecánicos y ópticos para dar forma espectral y espacial a un haz de excitación. Se pueden alojar diversas fuentes de luz en un módulo de excitación y sus salidas se pueden acoplar a una única trayectoria de haz. Alternativamente, un accionador puede permitir el
 30 cambio entre fuentes de luz para excitar especies fluorescentes a diferentes longitudes de onda. En una realización, la selección de la longitud de onda y el ajuste de la potencia de salida se llevan a cabo automáticamente por el controlador 1008 del instrumento.

[0258] En una realización, las fuentes de luz son diodos emisores de luz (LED). En otra realización, se pueden
 35 usar lámparas láser, halógenas o de mercurio.

[0259] En algunas realizaciones, el módulo de excitación 1007 contiene de 1 a 6 LED para excitar especies fluorescentes a de 1 a 6 longitudes de onda diferentes. Cada LED se puede filtrar espectralmente por un filtro de interferencia de paso de banda único antes de acoplarse a una única trayectoria de haz. Alternativamente, se puede
 40 usar un filtro de interferencia de paso de banda múltiple para filtrar LED después de acoplarse a una única trayectoria de haz.

[0260] El módulo de detección 1009 comprende elementos ópticos para recoger la luz emitida por especies de interés dentro del dispositivo centrípeto fluídico. Los elementos ópticos pueden ser lentes, para dar forma a la luz recolectada espacialmente a un fotodetector, filtro de interferencia para seleccionar una banda de longitud de onda correspondiente al espectro de emisión de la especie fluorescente. En esta realización, el detector es un PMT. En otra
 45 realización, los detectores pueden ser fotodiodos.

[0261] En algunas realizaciones, el módulo de detección puede detectar de 1 a 6 longitudes de onda diferentes
 50 en un único detector. Cada longitud de onda se puede filtrar mediante un único filtro de interferencia de paso de banda y un accionador puede permitir el cambio entre filtros para detectar secuencialmente especies fluorescentes. Alternativamente, se puede usar un filtro de interferencia de paso de banda múltiple para evitar la necesidad de un accionador para cambiar entre longitudes de onda. En este caso, el detector detectará simultáneamente todas las longitudes de onda. Puede ser necesario excitar especies fluorescentes secuencialmente con el módulo de excitación
 55 para distinguir cada especie. Por ejemplo, esta tarea la lleva a cabo automáticamente el controlador 1008.

[0262] La figura 24 ilustra una vista en sección esquemática que ilustra un módulo de excitación 1007. En esta realización, el combinador de haces 1607 está compuesto por dos LED 1601a y 1601b, dos lentes fuente 1602a y 1602b, dos filtros de excitación 1603a y 1603b, un espejo dicróico 1604, una abertura 1605 y lentes de proyección
 60 1606a y 1606b. Después de dirigirla a través de una lente 1602a, la luz del LED 1601a se filtra espectralmente mediante el filtro 1603a. A continuación, la luz pasa a través del divisor de haz dicróico 1604 y el enfoque de la lente 1602a se encuentra en la abertura 1605. La luz emitida por el LED 1601b tiene forma y se filtra usando la lente 1602b y el filtro 1603b y también se dirige sobre la abertura 1605 al reflejarse en el divisor de haz 1604. La abertura 1605 filtra espacialmente la luz emitida por los dos LED 1601a y 1601b. A continuación, la luz se proyecta a la muestra 1608
 65 en el dispositivo centrípeto fluídico 1 a través de un par de lentes 1606a y 1606b para excitar especies fluorescentes.

[0263] La figura 25 ilustra las características espectrales de los LED de ejemplo 1601a y 1601b, filtros 1602a y 1602b y divisor de haz 1604. Las características espectrales del divisor de haz permiten combinar LED azul y LED ámbar que tienen un máximo de potencia a 471 nm y 590 nm, respectivamente. Esta disposición espectral es adecuada para excitar la carboxifluoresceína (5-FAM) y/o Texas Red® usados comúnmente en la amplificación por PCR en tiempo real.

[0264] Con referencia ahora a la figura 26, las vistas en sección lateral esquemáticas ilustran un módulo de detección de ejemplo para recoger la luz emitida por las especies fluorescentes de interés a dos longitudes de onda de la muestra 1608 ubicada en el dispositivo centrípeto fluídico 1. La fluorescencia emitida se recoge y colima mediante la lente de objetivo 1801. A continuación, después de filtrarse espectralmente a través del filtro de interferencia 1802 que tiene dos bandas de transmisión correspondientes al espectro de emisión de la especie fluorescente, la trayectoria de haz de fluorescencia 1807 se forma por separado en ambos planos mediante dos lentes cilíndricas 1803 y 1804. El haz se filtra espacialmente a continuación por el tope de campo de apertura rectangular 1805 y el fotocátodo rectangular del PMT 1806.

[0265] La figura 27 ilustra la característica espectral del filtro de banda doble. Esta configuración espectral permite la transmisión centrada en 524 nm y 628 nm. Esta configuración es adecuada para la detección de 5-carboxifluoresceína (5-FAM) y Texas Red® usados comúnmente en la amplificación por PCR en tiempo real. Además, este módulo puede tener diversas configuraciones en función de las necesidades de la aplicación prevista.

[0266] La figura 28 muestra características espectrales más complejas con 5 bandas de transmisión: [420-460 nm], [510-531 nm], [589-623 nm], [677-711 nm] y [769-849 nm]. Este filtro de paso de banda múltiple es adecuado para la detección secuencial de los siguientes cinco tintes: AlexaFluor350, 5-carboxifluoresceína (5-FAM), Texas Red®, Cy5 y Alexa 750.

Procedimiento de las pruebas para la amplificación mediante ciclos térmicos

[0267] La figura 29 ilustra un flujo de trabajo de ejemplo que usa el instrumento 1000 y el dispositivo centrípeto fluídico de ejemplo de la figura 17 para llevar a cabo la preparación de muestras de material biológico, controlar los posibles inhibidores y detectar con una PCR en tiempo real. Este diagrama de flujo muestra temperaturas, duraciones, velocidades y etapas de ejemplo.

[0268] La primera etapa 1201 consiste en cargar una muestra biológica en el receptáculo de admisión 5. A continuación, se coloca el dispositivo centrípeto fluídico en el instrumento y se pulsa el botón de inicio 1202. A partir de este momento, el instrumento se encargará de todo el procedimiento. La rotación comenzará a la velocidad n.º 1 1203 para transferir el líquido del receptáculo de admisión 5 a la cámara de lisis 315 y evacuar parte de la muestra a la cámara de desbordamiento 309. La velocidad de rotación cambiará a la velocidad n.º 2 1204 para activar el movimiento del miembro de translocación 307 dentro de la cámara de lisis que se puede llenar por la parte inferior. Los imanes permanentes colocados debajo del rotor 2 crean un campo magnético fluctuante cuando los dispositivos centrípetos fluídicos rotan sobre él. Después de una cantidad predeterminada de tiempo, la rotación se cambia de nuevo a la velocidad n.º 3 1205 para aclarar el lisado y reventar la salida de medición 312.

[0269] El volumen medido se transfiere al receptáculo de cámara de retención 406. En la etapa 1206, la rotación se cambia de nuevo a la velocidad n.º 4. El compartimento n.º 1 se calienta para que el ROI n.º 1 del dispositivo centrípeto fluídico alcance 95 °C durante 3 minutos, por ejemplo, para controlar los inhibidores potencialmente presentes en la muestra biológica. Este calentamiento también fundirá el tapón de cera del recipiente de líquido 411 para liberar el diluyente 410 dentro de la cámara de retención 403. Cabe destacar que el compartimento n.º 2 del instrumento y el ROI n.º 2 del dispositivo centrípeto fluídico se mantienen a una temperatura inferior a 35 °C, por ejemplo, activando el soplador si es necesario.

[0270] Al final de la etapa 1206, el lisado se mezcla bien en general con el diluyente y está listo para transferirlo al canal de distribución y a las cubetas 602. La transferencia se lleva a cabo calentando el compartimento n.º 2 a una temperatura de modo que el ROI n.º 2 alcance una temperatura superior a 50 °C, por ejemplo, para fundir la cera 608 en la cámara de residuos 605 y cambiando la rotación a la velocidad n.º 3, etapa 1207. La salida de depósito de dilución 405 se rompe y el líquido se transfiere a las cubetas 602 para resuspender los reactivos secos de PCR almacenados previamente 607. En la etapa 1208, la velocidad de rotación se cambia a la velocidad n.º 4 y la enzima de arranque en caliente contenida en los reactivos 607 se activa mediante el compartimento de calentamiento n.º 2, de modo que el ROI n.º 2 del dispositivo centrípeto fluídico alcance 94 °C, por ejemplo, durante un periodo de entre 3 y 10 minutos en función de los reactivos específicos usados.

[0271] Durante este tiempo, la zona de calentamiento n.º 1 se enfría naturalmente a una temperatura de aproximadamente 45 °C. Continuando a la velocidad de rotación n.º 4, se inicia el protocolo de ciclos de PCR en tiempo real 1209. La temperatura en el compartimento n.º 2 se somete a una acción cíclica de modo que la temperatura en el ROI n.º 2 se someta a una acción cíclica entre aproximadamente 95 °C, 56 °C y 72 °C durante periodos que

varían respectivamente de 1 a 15 s, 0 a 15 s y 1 a 20 s. Al final de cada ciclo a 72 °C, la medición de fluorescencia se lleva a cabo a 1 a 6 longitudes de onda de excitación/detecciones diferentes simultáneas o secuencialmente. La acción cíclica se lleva a cabo de 35 a 45 veces. La curva de fluorescencia de PCR en tiempo real se analiza e interpreta a continuación mediante un algoritmo basado en ordenador. Los resultados se registran en una base de datos y se transmiten opcionalmente al operador de la prueba o a un médico.

[0272] La figura 30A ilustra el perfil de velocidad de rotación, el perfil de temperatura térmica del ROI n.º 1 y del ROI n.º 2 para la realización de ejemplo descrita con respecto a la figura 29. La figura 30B ilustra el periodo anterior a la PCR en tiempo real y la figura 30C ilustra 3 ciclos de detección por PCR en tiempo real.

[0273] En otra realización, el instrumento puede procesar alternativamente la preparación de la muestra y la detección isotérmica en tiempo real. La amplificación isotérmica usada puede ser, pero no se limita a, RMA (amplificación mediada por ribonucleasa), HDA (amplificación dependiente de helicasa), RPA (amplificación con polimerasa recombinasa) y SPIA (amplificación isotérmica con cebador único), LAMP (amplificación isotérmica mediada por ciclos), SDA (amplificación por desplazamiento de hebras), NASBA (amplificación basada en secuencia de ácidos nucleicos), wGA (amplificación de genoma completo), pWGA (amplificación de genoma completo basada en primasa), ICAN (amplificación de ácidos nucleicos iniciada por cebador isotérmico y quimérico), EXPAR (reacción de amplificación exponencial), NEAR (reacción de amplificación con enzimas de corte), RCA (amplificación en círculo rodante), TMA (amplificación mediada por transcripción).

[0274] Los expertos en la técnica reconocerán que se pueden fabricar múltiples dispositivos centrípetos fluidicos con aplicaciones específicas en mente, lo que permite la definición del volumen de muestra, la homogeneización de la muestra, la lisis de la muestra, la medición de la muestra, la dilución de la muestra, la mezcla de la muestra y la detección de la muestra.

Procedimiento de las pruebas para la amplificación isotérmica

[0275] En una realización alternativa del diagrama de flujo ilustrado en la figura 29, las etapas 1207, 1208, 1209 y 1210 se modifican para llevar a cabo la preparación de la muestra de material biológico, controlar los posibles inhibidores y detectar con una amplificación isotérmica en tiempo real. En una realización más particular, la amplificación isotérmica en tiempo real es amplificación con polimerasa recombinasa en tiempo real (RPA en tiempo real).

[0276] Las etapas son las siguientes: cargar una muestra biológica en el receptáculo de admisión 5. A continuación, colocar el dispositivo centrípeto fluido en el instrumento y pulsar el botón de inicio. A partir de este momento, el instrumento se encargará de todo el procedimiento. La rotación comenzará a una velocidad n.º 1 para transferir el líquido del receptáculo de admisión 5 a la cámara de lisis 315 y evacuar parte de la muestra a la cámara de desbordamiento 309. La velocidad de rotación cambiará a la velocidad n.º 2 para activar el movimiento del miembro de translocación 307 dentro de la cámara de lisis que se puede llenar por la parte inferior. Los imanes permanentes colocados debajo del rotor 2 crean un campo magnético fluctuante cuando los dispositivos centrípetos fluidicos rotan sobre él. Después de una cantidad predeterminada de tiempo, la rotación se cambia de nuevo a la velocidad n.º 3 para aclarar el lisado y reventar la salida de medición 312.

[0277] El volumen medido se transfiere al receptáculo de cámara de retención 406. La rotación se cambia de nuevo a la velocidad n.º 4. El compartimento n.º 1 se calienta de modo que en el ROI n.º 1 la temperatura del dispositivo centrípeto fluido es 95 °C durante 3 minutos, por ejemplo, para controlar los inhibidores potencialmente presentes en la muestra biológica. Este calentamiento también fundirá el tapón de cera del recipiente de líquido 411 para liberar el diluyente 410 dentro de la cámara de retención 403. Cabe destacar que el compartimento n.º 2 se mantiene a una temperatura menor de modo que el ROI n.º 2 se mantenga a una temperatura inferior a 35 °C, por ejemplo, activando el soplador si es necesario.

[0278] En general, el lisado se mezcla bien con el diluyente y se enfría a una temperatura igual o inferior a 42 °C y está listo para transferirlo al canal de distribución y las cubetas 602. En esta realización, el diluyente es agua y magnesio. La transferencia se lleva a cabo manteniendo el compartimento n.º 2 a una temperatura de modo que el ROI n.º 2 se mantenga a 37-42 °C, y cambiando la rotación a la velocidad n.º 3. La salida de depósito de dilución 405 se rompe y el líquido se transfiere a las cubetas 602 para resuspender los reactivos secos de PCR almacenados previamente 607. En esta realización, el reactivo seco 607 comprende sonda fluorescente de RPA, cebadores, recombinasa, polimerasa, exonucleasa, el agente de agrupamiento, GP32, uvsY y uvsX. La velocidad de rotación se cambia a la velocidad n.º 4 y el compartimento n.º 2 se calienta para que el ROI n.º 2 alcance 37-42 °C.

[0279] Durante este tiempo, la zona de calentamiento n.º 1 se enfría naturalmente a una temperatura inferior a 45 °C. La medición de fluorescencia se toma en de 1 a 6 longitudes de onda de excitación/detección diferentes simultánea o secuencialmente cada pocos minutos. La etapa de amplificación se detiene después de 20 minutos. La señal de fluorescencia RPA en tiempo real se analiza e interpreta mediante un algoritmo basado en ordenador. Los resultados se registran en una base de datos y se transmiten opcionalmente al operador de la prueba o a un médico.

[0280] En otra realización, el instrumento puede procesar alternativamente la preparación de la muestra y la detección isotérmica en tiempo real. La amplificación isotérmica usada puede ser, pero no se limita a, RMA (amplificación mediada por ribonucleasa), HDA (amplificación dependiente de helicasa), RPA (amplificación con polimerasa recombinasa) y SPIA (amplificación isotérmica con cebador único), LAMP (amplificación isotérmica mediada por ciclos), SDA (amplificación por desplazamiento de hebras), NASBA (amplificación basada en secuencia de ácidos nucleicos), wGA (amplificación de genoma completo), pWGA (amplificación de genoma completo basada en primasa), ICAN (amplificación de ácidos nucleicos iniciada por cebador isotérmico y quimérico), EXPAR (reacción de amplificación exponencial), NEAR (reacción de amplificación con enzimas de corte), RCA (amplificación en círculo rodante), TMA (amplificación mediada por transcripción).

[0281] Los expertos en la técnica reconocerán que se puede fabricar una pluralidad de dispositivos centrípetos fluidicos con aplicaciones específicas en mente, lo que permite la definición del volumen de muestra, la homogeneización de la muestra, la lisis de la muestra, la medición de la muestra, la dilución de la muestra, la mezcla de la muestra y la detección de la muestra.

Ejemplo 1

[0282] El siguiente ejemplo es ilustrativo y no pretende ser limitante.

[0283] El presente ejemplo se refiere a la detección de la presencia de estreptococos del grupo B de un frotis vaginal anal de una mujer embarazada.

[0284] El dispositivo centrípeto fluido usado para el propósito de este ejemplo tiene la forma externa descrita en la figura 1C y está compuesto por los elementos fluidicos mostrados y descritos en la figura 17.

Tabla 1. Resumen de los detalles de las estructuras del dispositivo centrípeto fluido

Capa fluidica	Material: policarbonato transparente (Lexan HP1-112)
	Procedimiento de fabricación: moldeado por inyección + micromolienda de la salida de la cámara de lisis y de la salida de la cámara de retención
Capa inferior delgada	Policarbonato (espesor = 0,015")
	(McMaster Carr n.º 85585K14)
Adhesivo sensible a la presión	9493R, 3M™
Miembro translocable	Elementos de agitación de tambor de acero inoxidable magnético V&P Scientific, Inc. n.º 721-F (diámetro = 4 mm, espesor = 0,5 mm)
Reactivos de la cámara de lisis	Suspensión de microesferas de vidrio G1145 en solución acuosa de PVP al 1 %
Reactivos de PCR	2 µl de cebadores GBS específicos
	Sag59 TTTCACCAGCTGT ATT AGAAGT A
	Sag190 GTTCCCTGAACATTATCTTTGAT
	Sonda Taqman: (FAM)CCCAGCAAATGGCTCAAAAGC(BHQ-1)OmniMix HS (Takara n.º 700-2102)
Recipiente de líquido	Paja plástica de restaurante (diámetro = 4 mm)
	Pegamento en caliente Arrow BAP 5-4
	Cera de parafina (Calwax® n.º CAL-140)
	Agua tratada para PCR
Cámara de residuos	Cera de parafina (Calwax® n.º CAL-120)

[0285] El recipiente de líquido se fabricó usando el siguiente protocolo: cerrar un extremo de la paja de plástico con pegamento en caliente; cargar 140 µl de agua tratada para PCR; sellar el recipiente con cera de parafina fundida.

[0286] El dispositivo centrípeto flúidico se ensambló usando el siguiente protocolo: colocar disco paramagnético en la cámara de lisis; cargar 60 µl de suspensión de microesferas de vidrio; cargar 2 µl de cebadores en cada cubeta; cargar 0,5 µl de sonda TaqMan; secar la suspensión y los cebadores al vacío durante la noche; colocar el recipiente de líquido en la cámara de retención; dispensar cera de parafina de punto fusión bajo en la cámara de residuos.

[0287] Las siguientes etapas se llevan a cabo en una cámara de bioseguridad con guantes bajo una atmósfera de argón: colocar una microesfera de OmniMix HS por cubeta de detección; unir la capa inferior delgada a la capa flúidica usando el adhesivo sensible a la presión; colocar el dispositivo centrípeto flúidico ensamblado en una bolsa de aluminio con desecante y sellar la bolsa.

Experimento

[0288] Durante un estudio clínico, se recogieron frotis vaginales/anales de mujeres embarazadas usando tecnología de válvula de retención Clinical Packaging llena con 600 µl de Tris EDTA 10 mM (TE).

[0289] Después de la resuspensión del frotis con los 600 µl de TE, se coloca una cantidad de 170 µl de la dilución del frotis directamente en el receptáculo de admisión del dispositivo centrípeto flúidico descrito anteriormente.

[0290] Se pone el dispositivo centrípeto flúidico en el instrumento y se lleva a cabo el siguiente protocolo en el instrumento de control de temperatura de zona doble para la preparación de la muestra.

[0291] Los parámetros para la medición, lisis y control de inhibidores de PCR usados en este ejemplo son los siguientes:

Tabla 2. Carga de la cámara que se puede llenar por la parte inferior

Etapas	Parámetros	Condición
1	Aceleración	Velocidad: -900 RPM, velocidad de aceleración: 50 RPM/s
2	Espera	25 s

Tabla 3. Etapa de lisis

Etapas	Parámetros	Condición
3	Aceleración	Velocidad: -200 RPM, velocidad de aceleración: 1000 RPM/s
4	Espera	300 s

Tabla 4. Etapa de aclaración y transferencia al receptáculo de la cámara de retención

Etapas	Parámetros	Condición
5	Aceleración	Velocidad: -3500 RPM, velocidad de aceleración: 50 RPM/s
6	Espera	60 s

Tabla 5. Control de inhibidores de PCR

Etapas	Parámetros	Condición
7	Aceleración	Velocidad: -600 RPM, velocidad de aceleración: 50 RPM/s
8	Zona caliente n.º 1	Temperatura 110 °C, 180 s
9	Espera	20 s

Tabla 6. Llenado de la cubeta para PCR

Etapas	Parámetros	Condición
10	Aceleración	Velocidad: -3000 RPM, velocidad de aceleración: 500 RPM/s
11	Espera	155 s
12	Detener zona de calentamiento n.º 1	
13	Comenzar zona del soplador n.º	

(continuación)

Etapa	Parámetros	Condición
	2	
14	Espera	30 s
15	Detener zona de soplador n.º 2	
16	Detener	

[0292] El dispositivo centrípeto fluídico se transfiere a continuación a un rotor adaptado diseñado específicamente para trabajar en un RotorGene para procesar la PCR en tiempo real usando las siguientes condiciones.

5

Tabla 7. Condiciones del procedimiento

Ciclo		Punto del ciclo
Mantener	a 94 °C, 3 min	
Acción cíclica (45)		Etapa 1 a 95 °C, mantener 20 s
		Etapa 2 a 56 °C, mantener 60 s
		Etapa 3 a 72 °C, mantener 30 s

Resultados:

10 **[0293]** El frotis resultó positivo para la presencia de detección de GBS en una TC de 28,30.

Ejemplo 2

[0294] El siguiente ejemplo es ilustrativo y no pretende ser limitante.

15

[0295] El presente ejemplo se refiere al uso de una realización de ejemplo del dispositivo centrípeto fluídico para detectar la presencia de estreptococos del grupo B de frotis vaginales anales de mujeres embarazadas.

20 **[0296]** El dispositivo centrípeto fluídico usado para el propósito de este ejemplo tiene la forma externa descrita en la figura 1C y está compuesto por los elementos fluídicos mostrados y descritos en la figura 17.

Tabla 8. Resumen de los detalles de las estructuras del dispositivo centrípeto fluídico

Capa fluídica	Material: Policarbonato transparente (Lexan HP1-112)
	Procedimiento de fabricación: Moldeado por inyección
Capa inferior delgada	Policarbonato (espesor = 0,015")
	(McMaster Carr n.º 85585K14)
Adhesivos sensibles a la presión	9795R, 3M™, en contacto con la capa fluídica.
	467 MP, 3M™ en contacto con la capa inferior y la capa 9795R
Miembro translocable	Elementos de agitación de tambor de acero inoxidable magnético V&P Scientific, Inc. n.º 721-F (diámetro = 4 mm, espesor = 0,5 mm)
Reactivos de la cámara de lisis (cámara que se puede llenar por la parte inferior)	Suspensión de microesferas de vidrio Sigma n.º G1145 (150-212 micras) en solución acuosa de PVP al 0,5 %
Reactivos de PCR, secos en cada cubeta, por reacción	Cebadores y sondas para los ensayos de GBS tal como se enumeran en la Tabla 15 a 0,4 µM para cebadores SEQ ID 1-2 y SEQ ID 4-5; 0,2 µM para las sondas SEQ ID 3 y SEQ ID 6; secuencia diana de control interno SEQ ID 7 a 500 copias por reacción
	tampón de PCR, 1X
	BSA, 3,3 mg/ml

(continuación)

	dATP, 0,2 mM
	dCTP, 0,2 mM
	dGTP, 0,2 mM
	dTTP, 0,2 mM
	polimerasa GoTaq™, Promega n.º PRM3005
	Trehalosa, 6 %
Recipiente de líquido	Tubos de polialómero, 5 x 20 mm Beckman Coulter n.º 34263
	Pegamento en caliente Arrow BAP 5-4
	Cera de parafina (Calwax® n.º CAL-140)
	Líquido de diluyente de PCR (5,83 mM de MgCl ₂)
Cámara de residuos	Cera de parafina (Calwax® n.º CAL-120)

[0297] El recipiente de líquido se fabricó usando el siguiente protocolo: cargar 120 µl de líquido de diluyente de PCR; sellar el tubo de polialómero con pegamento en caliente Arrow BAP 5-4.

5 **[0298]** El dispositivo centrípeto fluídico se ensambló usando el siguiente protocolo: Colocar disco paramagnético en la cámara de lisis; cargar 60 µl de suspensión de microesferas de vidrio; cargar 4,6 µl de reactivos de PCR en cada cubeta; secar la suspensión y los reactivos de PCR con calor y al vacío; colocar el recipiente de líquido en la cámara de retención; dispensar cera de parafina de punto fusión bajo en la cámara de residuos.

10 **[0299]** Unir las capas preensambladas 9795R/467 MP/polycarbonato a la capa fluídica y aplicar una presión utilizando una prensa con un par de 10 Nm (90 in.lbs). Colocar el dispositivo centrípeto fluídico ensamblado en una bolsa de aluminio con desecante y sellar la bolsa.

Experimento

15

[0300] Durante un estudio clínico, se recogieron frotis vaginales/anales de mujeres embarazadas usando tecnología de válvula de retención Medical Packaging llena con 600 µl de Tris EDTA 10 mM (TE).

20 **[0301]** Después de la resuspensión del frotis con los 600 µl de TE, se colocan 170 µl de la dilución del frotis directamente en el receptáculo de admisión del dispositivo centrípeto fluídico descrito anteriormente.

[0302] Se coloca el dispositivo centrípeto fluídico en el instrumento y se lleva a cabo el siguiente protocolo en el instrumento de control de temperatura de zona doble para la preparación de la muestra.

25 **[0303]** Los parámetros para la medición, lisis y control de inhibidores de PCR usados en este ejemplo son los siguientes:

Tabla 9. Carga de la cámara que se puede llenar por la parte inferior

Etapas	Parámetros	Condición
1	Aceleración	Velocidad: -1000 RPM, velocidad de aceleración: 300 RPM/s
2	Espera	30 s

30

Tabla 10. Etapa de lisis

Etapas	Parámetros	Condición
3	Aceleración	Velocidad: -180 RPM, velocidad de aceleración: 1000 RPM/s
4	Espera	300 s

Tabla 11. Etapa de aclaración y transferencia al receptáculo de la cámara de retención

Etapas	Parámetros	Condición
5	Aceleración	Velocidad: -1500 RPM, velocidad de aceleración: 50 RPM/s

(continuación)

Etapa	Parámetros	Condición
6	Aceleración	Velocidad: -3500 RPM, velocidad de aceleración: 300 RPM/s
7	Espera	30 s

Tabla 12. Control de inhibidores de PCR mediante calentamiento y dilución de fluido

Etapa	Parámetros	Condición
8	Aceleración	Velocidad: -450 RPM, velocidad de aceleración: 1000 RPM/s
9	Zona caliente n.º 1	Temperatura 165 °C, 180 s
10	Espera	Velocidad: -3000 RPM, velocidad de aceleración: 300 RPM/s

Tabla 13. Llenado de la cubeta para PCR

Etapa	Parámetros	Condición
11	Aceleración	Velocidad: -3000 RPM, velocidad de aceleración: 500 RPM/s
12	Espera	155 s
13	Detener zona de calentamiento n.º 1	
14	Comenzar zona del soplador n.º 2	
15	Espera	30 s
16	Detener zona de soplador n.º 2	
17	Detener	

5

[0304] El dispositivo centrífugo fluídico se transfiere a continuación a un rotor adaptado diseñado específicamente para trabajar en un RotorGene para procesar la PCR en tiempo real usando las siguientes condiciones.

10

Tabla 14. Condiciones de los ciclos térmicos

Ciclo		Punto del ciclo
Mantener	a 94 °C, 3 min	
Acción cíclica (45)		Etapa 1 a 97 °C, mantener 20 s
		Etapa 2 a 58 °C, mantener 20 s
		Etapa 3 a 72 °C, mantener 20 s

Resultados:

15

[0305] Se encontraron frotis positivos para la presencia de detección de GBS en CT entre 27 y 32.

Ejemplo 3

[0306] El siguiente ejemplo es ilustrativo y no pretende ser limitante.

20

[0307] El presente ejemplo se refiere al uso de una realización de ejemplo del dispositivo centrífugo fluídico para detectar la presencia del gen de beta-globina humana a partir de una muestra de frotis de mejilla humana, *Escherichia coli* a partir de muestras de orina humana y *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) a partir de muestras de frotis de nariz humana.

25

Tabla 15. Lista de cebadores de amplificación y sondas de detección seleccionados para los diferentes ensayos

Combinación de ensayos	Tipo oligonucleótido	SEQ ID	Secuencia a
GBS	Cebador de amplificación	SEQ ID 1	TTTCACCAGCTGTATTAGAAGTA
	Cebador de amplificación	SEQ ID 2	GTTCCCTGAACATTATCTTTGAT
	Detección sonda Taqman FAM-BHQ	SEQ ID 3	CCCAGCAAATGGCTCAAAGC
	Cebador de amplificación IC	SEQ ID 4	TTTCACCAGCTGTATTAGAAGTA
	Cebador de amplificación IC	SEQ ID 5	GTTCCCTGAACATTATCTTTGAT
	Detección Sonda Taqman Cal Red-BHQ IC	SEQ ID 6	TCTCTTGGATCTTGCTCATGCCCC
	Diana IC	SEQ ID 7	TTTCACCAGCTGTATTAGAAGTAAGCTT GTAATGGACCTCCCGGTGGAACACGGT TTACTTCTAGATAATCTCTTGGATCTTG CTCATGCCCCATTCATCATACATCCAC TTTTGCAAAGGCTGGAGTGTCCCAAG TTTGGTGAAGTTTTTAACACCTACCTCG GGTCTCCAAGGATACTGGGATCCATAT CCAATCGATATCAAAGATAATGTTTCAG GGAAC
Bglobina	Cebador de amplificación	SEQ ID 8	GAAGAGCCAAGGACAGGTAC
	Cebador de amplificación	SEQ ID 9	CAACTTCATCCACGTTCCACC
	Detección sonda Taqman FAM-BHQ	SEQ ID 10	CATCACTTAGACCTCACCTGTGGAG
UTI/E. coli	Cebador de amplificación	SEQ ID 11	GTGGGAAGCGAAAATCCTG
	Cebador de amplificación	SEQ ID 12	CCAGTACAGGTAGACTTCTG
	Detección sonda Taqman-LNA FAM-BHQ	SEQ ID 13	CTTCTTcacCAAcTTTgATG
	Cebador de amplificación IC	SEQ ID 14	GTGGGAAGCGAAAATCCTG
	Cebador de amplificación IC	SEQ ID 15	CCAGTACAGGTAGACTTCTG
	Detección Sonda Taqman Cal Red-BHQ IC	SEQ ID 16	TCTCTTGGATCTTGCTCATGCCCC

(continuación)

Combinación de ensayos	Tipo oligonucleótido	SEQ ID	Secuencia a
UTI/E. coli	Diana IC	SEQ ID 17	GGGAAGCGAAAATCCTGCTTCTTTACA GCCTCCATCAGGGTTTTAATTCATGCT GAGCTTGTAATGGACCTCCCGGTGGAA CACGGTTTACTTCTAGATAATCTCTTGG ATCTTGCTCATGCCCCATTCATCATAAC ATCCACTTTTGCAAAGGCTGGAGTGT CCCAAGTTTGGTGAAGTTTTTAACACCT ACCTCGGGTCTCCAAGGATACTGGGAT CCATATCCAATCGATATGGAATTTAAA CCACCGTGTATTGTTTTATCGACAATCG GGATATCAAAAACCGGGAACTAGAAAG GCAAAAGCACACAGCAGTGAGCAACA CATCTTCATCAACTCCAGAAGTCTACCT GTACT
MRSA	Cebador de amplificación	SEQ ID 14	GGATCAAACGGCCTGCACA
	Cebador de amplificación	SEQ ID 15	GTCAAAAATCATGAACCTCATTACTTAT G
	Cebador de amplificación	SEQ ID 16	ATTTTCATATATGTAATTCCTCCACATCT C
	Cebador de amplificación	SEQ ID 17	CAAATATTATCTCGTAATTTACCTTGTT C
	Cebador de amplificación	SEQ ID 18	CTCTGCTTTATATTATAAAAATTACGGCT G
	Cebador de amplificación	SEQ ID 19	CACTTTTTATTCTTCAAAGATTTGAGC
	Detección sonda Taqman FAM-BHQ	SEQ ID 20	CGTCTTACAACGCAGTAACCTACGCACT ATCATTACAGC
	Cebador de amplificación IC	SEQ ID 21	CAAATATTATCTCGTAATTTACCTTGTT C
	Cebador de amplificación IC	SEQ ID 22	CTCTGCTTTATATTATAAAAATTACGGCT G
	Detección Sonda Taqman Cal Red-BHQ IC	SEQ ID 23	ATGCCTCTTCACATTGCTCCACCTTTCC TGTG

(continuación)

Combinación de ensayos	Tipo oligonucleótido	SEQ ID	Secuencia a
MRSA	Diana IC	SEQ ID 24	TCTCGTAATTTACCTTGTTCGAAGGTCG GTACAAACAGTCACCGGAGTAGAGATG TTGAAATTGCAGGCAAATTGATTGATTT CACCAGCTGTATTAGAAGTACAAGAAG GTTGGTTACAACCCAAAGACAGCTGTG CATGAATTGCAGAAAATTTATTGCAGC TTCGCCACAGGAAAGGTGGAGCAATGT GAAGAGGCATCATGCCATCTGCTGTAG GCTATCAACCAATGGTAAGACTCTTCT GGAAGCAATTGAGCTATGGTCATGCCA GGTGACAACATATGATGAGTCATCAGC CGTAATTTTATAATATAAAGCAGAG
^a El subíndice en la sonda Taqman-LNA indica ácidos nucleicos bloqueados (LNA TM).			

[0308] Tabla 16. Resumen de los detalles de las estructuras del dispositivo centrípeto fluídico

Capa fluídica	Material: Policarbonato transparente (Lexan HP1-112)
	Procedimiento de fabricación: Moldeado por inyección
Capa inferior delgada	Policarbonato (espesor = 0,015")
	(McMaster Carr n.º 85585K14)
Adhesivos sensibles a la presión	9795R, 3M TM , en contacto con la capa fluídica. 467 MP, 3M TM en contacto con la capa inferior y la capa 9795R
Miembro translocable	Elementos de agitación de tambor de acero inoxidable magnético V&P Scientific, Inc. n.º 721-F (diámetro = 4 mm, espesor = 0,5 mm)
Reactivos de la cámara de lisis (cámara que se puede llenar por la parte inferior)	Suspensión de microesferas de vidrio Sigma n.º G1145 (150-212 micras) en solución acuosa de PVP al 0,5 %
Reactivos de PCR, secos en cubetas, por reacción	Cebadores y sondas para los diferentes ensayos como se enumera en la Tabla 15 en concentraciones que varían de 0,2-1,0 µM en función del ensayo. Los controles internos cuando estuvieron presentes en el ensayo múltiple fueron de 500 copias por cubeta
	BSA, 2,15 mg/ml
	1,15 unidades de polimerasa, HGS Diamond Taq (Eurogentec) Trehalosa, 6 %
Recipiente de líquido	Tubos de polialómero, 5 x 20 mm Beckman Coulter n.º 34263
	Pegamento en caliente Arrow BAP 5-4
	Cera de parafina (Calwax® n.º CAL-140)
	120 µL de líquido diluyente PCR (3,5 mM de MgCl ₂ en tampón de PCR HGS IX)
Cámara de residuos	Cera de parafina (Calwax® n.º CAL-120)

5 [0309] Los dispositivos centrípetos fluídicos usados para el propósito de este ejemplo tienen la forma externa descrita en la figura 1C y están compuestos por los elementos fluídicos mostrados y descritos en la figura 17.

[0310] Los dispositivos centrípetos fluídicos usados para el propósito de este ejemplo contenían los componentes enumerados en la Tabla 16.

10

[0311] El recipiente de líquido se fabricó usando el siguiente protocolo: cargar 120 µl de líquido de diluyente de

PCR; sellar el tubo de polialómero con pegamento en caliente Arrow BAP 5-4.

[0312] El dispositivo centrípeto fluídico se ensambló usando el siguiente protocolo: colocar disco paramagnético en la cámara de lisis; cargar 60 µl de suspensión de microesferas de vidrio; cargar 4,6 µl de reactivos de PCR en cada cubeta; secar la suspensión y los reactivos de PCR con calor y al vacío; colocar el recipiente de líquido en la cámara de retención; dispensar cera de parafina de punto fusión bajo en la cámara de residuos.

[0313] Unir las capas preensambladas 9795R/467 MP/polycarbonato a la capa fluídica y aplicar una presión utilizando una prensa con un par de 10 Nm (90 in.lbs).

Experimento

[0314] Se recogió un frotis de mejillas de un voluntario humano usando el frotis de Medical Packaging con tecnología de válvula de retención relleno con 600 µl de Tris EDTA 10 mM (TE). El frotis se colocó en contacto con la superficie interior de la mejilla y se frotó durante 30 s. El frotis se colocó de nuevo en su manguito y la válvula de retención se rompió para liberar los 600 µl de TE. Después de 5 minutos de espera, el frotis se mezcló en vórtex durante 1 minuto. Esta muestra diluida suspendida sirvió para la prueba.

[0315] Las muestras de orina recogidas de los pacientes se diluyeron 1/56 en TE. Esta muestra diluida sirvió para la prueba.

[0316] Durante un estudio clínico, se recogieron frotis nasales de voluntarios y se resuspendieron en 600 µl de TE. Esta muestra diluida suspendida sirvió para la prueba.

[0317] Se coloca un volumen de 140 µl de las muestras diluidas directamente en el receptáculo de admisión de muestra del dispositivo centrípeto fluídico descrito anteriormente.

[0318] Los dispositivos centrípetos fluídicos se colocan en el instrumento y los protocolos se llevaron a cabo según las Tablas 9, 10, 11, 12 y 13.

[0319] En algunas pruebas, el protocolo se pausó y se reanudó en la etapa 8 para examinar la posición del fluido en el receptáculo de la cámara de retención.

[0320] Los ciclos térmicos se llevaron a cabo en las condiciones enumeradas en la Tabla 17 o en la Tabla 18, en función del ensayo.

Tabla 17. Condiciones de los ciclos térmicos para el ensayo con beta-globina

Ciclo		Punto del ciclo
Mantener	a 94 °C, 3 min	
Acción cíclica (45)		Etapas 1 a 95 °C, mantener 5 s
		Etapas 2 a 55 °C, mantener 15 s
		Etapas 3 a 72 °C, mantener 20 s

Tabla 18. Condiciones de los ciclos térmicos para los ensayos UTI y MRSA

Ciclo		Punto del ciclo
Mantener	a 99 °C, 12 min	
Acción cíclica (45)		Etapas 1 a 95 °C, mantener 20 s
		Etapas 2 a 61 °C, mantener 40 s
		Etapas 3 a 72 °C, mantener 40 s

Resultados:

[0321] Los controles internos revelaron una inhibición mínima o nula de las muestras. Todas las muestras que ya se sabe que contienen el ADN diana mediante otro procedimiento de prueba se encontraron en efecto positivas con el dispositivo centrípeto fluídico y, de manera similar, las muestras que ya se sabía que eran negativas para el ADN diana se encontraron en efecto negativas con el dispositivo centrípeto fluídico.

[0322] Este ejemplo ilustra la versatilidad de la tecnología centrípeta fluídica de la presente invención para detectar ácidos nucleicos a partir de una variedad de muestras biológicas y células. Las muestras fecales diluidas

también se sometieron a prueba con éxito para la detección de patógenos bacterianos responsables de la diarrea.

Ejemplo 4

5 **[0323]** El siguiente ejemplo es ilustrativo y no pretende ser limitante.

[0324] El presente ejemplo se refiere al uso de una realización de ejemplo del dispositivo centrípeto fluido y, más específicamente, de la cámara que se puede llenar por la parte inferior y otros elementos para concentrar células y microbios.

10

Tabla 19. Resumen de los detalles de las estructuras del dispositivo centrípeto fluido

Capa fluidica	Material: Policarbonato transparente (Lexan HP1-112)
	Procedimiento de fabricación: Moldeado por inyección
Capa inferior delgada	Policarbonato (espesor = 0,015")
	(McMaster Carr n.º 85585K14)
Adhesivos sensibles a la presión	9795R, 3M™, en contacto con la capa fluidica 467 MP, 3M™, en contacto con la capa inferior y la capa 9795R
Miembro translocable	Elementos de agitación de tambor de acero inoxidable magnético V&P Scientific, Inc. n.º 721-F (diámetro = 4 mm, espesor = 0,5 mm)
Reactivos de la cámara de lisis (cámara que se puede llenar por la parte inferior)	Suspensión de microesferas de vidrio Sigma n.º G1145 (150-212 micras) en solución acuosa de PVP al 0,5 %

[0325] Los dispositivos centrípetos fluidicos usados para el propósito de este ejemplo tienen la forma externa descrita en la figura 1C y están compuestos por los elementos fluidicos mostrados y descritos en la figura 17.

15

[0326] Los dispositivos centrípetos fluidicos usados para el propósito de este ejemplo contenían los componentes enumerados en la Tabla 19.

20 **[0327]** El dispositivo centrípeto fluido se ensambló usando el siguiente protocolo: colocar disco paramagnético en la cámara de lisis; cargar 60 µl de suspensión de microesferas de vidrio; secar la suspensión durante la noche al vacío; unir las capas preensambladas 9795R/467 MP/policarbonato a la capa fluidica y aplicar una presión utilizando una prensa con un par de 10 Nm (90 in.lbs).

Experimento

25

[0328] 10 µl (10⁵ unidades formadoras de colonias; CFU) de un cultivo diluido de la bacteria *Enterococcus faecalis* se mezclaron con 190 µl de TE.

30 **[0329]** La mezcla de 200 µl se colocó directamente en el receptáculo de admisión de muestra del dispositivo centrípeto fluido descrito anteriormente.

[0330] Los dispositivos centrípetos fluidicos se colocaron en el instrumento y los siguientes protocolos se llevaron a cabo según las Tablas 9 y 10.

35 **[0331]** El dispositivo centrípeto fluido se desmontó retirando las capas sensibles a la presión de modo que el líquido en la cámara que se puede llenar por la parte inferior y en la cámara de desbordamiento se pueda recoger y diluir para llevar a cabo recuentos en placa de las células bacterianas presentes en cada cámara.

Resultados:

40

[0332] Los recuentos en placas revelaron que el número de células bacterianas era superior en la cámara que se puede llenar por la parte inferior en comparación con la cantidad de células bacterianas presentes en la cámara de rebosamiento por un factor de 1,5 a 3 veces.

45 **[0333]** Se pretende que las realizaciones descritas anteriormente solo sean ejemplares. Por lo tanto, se pretende el alcance de la invención esté limitado solamente por las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo centrípeto fluídico (1) para someter a prueba los componentes de un material biológico en un fluido, dicho dispositivo centrípeto fluídico (1) comprende:
 - 5 una forma adaptada para recibirla dentro de un soporte giratorio (2);
 - una capa de componente fluídico (3) que tiene características fluídicas en al menos una cara frontal, dichas características fluídicas incluyen:
 - un canal de entrada de fluido (401);
 - 10 una cámara de retención (403) para recibir dicho fluido, dicha cámara de retención se acopla a dicho canal de entrada de fluido (401) para recibir fluido de dicho canal de entrada de fluido;
 - un recipiente (409) proporcionado exclusivamente en dicha cámara de retención (403), dicho recipiente contiene un diluyente líquido (410), dicho recipiente comprende además un primer material de cambio de fase sensible para liberar dicho diluyente dentro de la cámara de retención; y
 - 15 una capa de componente inferior (4) unida a dicha capa de componente fluídico (3), la capa de componente fluídico y la capa de componente inferior crean una red fluídica para hacer circular dicho fluido, dicho fluido fluye a través de dicha red fluídica bajo fuerza centrípeta.
2. El dispositivo según se reivindica en la reivindicación 1, donde dicho primer material de cambio de fase es un material tolerante al calor que libera dicho diluyente a una temperatura determinada.
3. El dispositivo según se reivindica en la reivindicación 1 o 2, donde dicha cámara de retención (403) comprende un receptáculo de desacoplamiento de flujo (406), donde dicho receptáculo de desacoplamiento de flujo (406) se ubica en un lado exterior de dicha cámara de retención (403) entre el canal de entrada de fluido (401) y un
 - 25 interior de la cámara de retención (403), dicho receptáculo de desacoplamiento de flujo (406) interrumpe una conexión fluídica entre el canal de entrada de fluido (401) y la cámara de retención (403).
4. El dispositivo según se reivindica en la reivindicación 1 o 2, donde dicha cámara de retención (403) comprende un receptáculo de desacoplamiento de flujo (406) ubicado en un lado exterior de dicha cámara de retención
 - 30 (403), el receptáculo de desacoplamiento de flujo comprende un reactivo seco (408).
5. El dispositivo según se reivindica en la reivindicación 4, donde el reactivo (408) se aísla de un interior de la cámara de retención (403) por un segundo material de cambio de fase sensible, donde dicho segundo material de cambio de fase es preferentemente un material tolerante al calor que libera dicho reactivo a una temperatura
 - 35 determinada.
6. El dispositivo según se reivindica en la reivindicación 4 o 5, donde dicho receptáculo de desacoplamiento de flujo (406) incluye un reactivo seco.
7. El dispositivo según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde dicha cámara de retención (403) tiene una salida de distribución (405) para dicha cámara de retención (403), dicha salida de distribución se ubica en un lado exterior de dicha cámara de retención, dicha salida de distribución se acopla a un canal de distribución (604) en un lado interior de dicho canal de distribución en un primer extremo de dicho canal de distribución, dicho canal de distribución tiene al menos una cubeta (602) proporcionada en un lado exterior de dicho
 - 40 canal de distribución.
 - 45 canal de distribución.
8. El dispositivo según se reivindica en la reivindicación 7, donde dicha al menos una de dicha cubeta (602) incluye al menos uno de un reactivo seco (607) y un tercer material de cambio de fase (608), donde dicho tercer material de cambio de fase es preferentemente un material tolerante al calor que libera dicho reactivo a una
 - 50 temperatura determinada.
9. El dispositivo según se reivindica en la reivindicación 7 u 8, donde dicha cubeta (602) se adapta para consultarla ópticamente para al menos un parámetro, donde dicho parámetro es uno de fluorescencia, absorbancia y colorimetría.
10. El dispositivo según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, donde dicho canal de distribución (604) incluye una cámara de residuos (605) en un segundo extremo de dicho canal de distribución.
11. El dispositivo según se reivindica en la reivindicación 10, donde dicha cámara de residuos (605) incluye
 - 55 un material de cambio de fase (612).
 - 60 un material de cambio de fase (612).
12. El dispositivo según se reivindica en la reivindicación 10 u 11, donde dicho canal de distribución (604), dicha al menos una cubeta (602) y dicha cámara de residuos (605) se proporcionan en una porción de dicha capa de componente fluídico (3) que se extiende más allá de dicho borde exterior de dicho soporte giratorio (2).

13. El dispositivo según se reivindica, donde dicha capa de componente fluídico (3) comprende al menos dos secciones distintas controlables por temperatura.

14. El dispositivo según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde dicho recipiente (409) se adapta para mantener dicho diluyente líquido (410) en dicho recipiente y para liberar dicho diluyente líquido (410) en dicha cámara de retención (403) tras aplicar una fuerza externa a dicho recipiente (409), donde dicha fuerza externa es una fuerza mecánica, eléctrica, electromagnética, de calor, de choque y acústica, permitiendo así una conexión fluídica entre dicho diluyente líquido y dicho fluido en dicha cámara de retención.

15. El dispositivo según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde dicho dispositivo comprende además una cámara que se puede llenar por la parte inferior (315), donde dicha cámara que se puede llenar por la parte inferior se acopla a dicho canal de entrada (401) para proporcionar fluido a la cámara de retención (403).

16. El dispositivo según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además un receptáculo de admisión (5) para cargar fluido que comprende dicho material biológico.

17. El dispositivo según se reivindica en la reivindicación 15, donde dicha cámara que se puede llenar por la parte inferior incluye al menos un miembro translocable que se transloca dentro de dicha cámara que se puede llenar por la parte inferior en respuesta a un campo magnético fluctuante externo.

18. El dispositivo según se reivindica en la reivindicación 15 o 16, donde la cámara que se puede llenar por la parte inferior comprende al menos un objeto que no responde a un campo magnético fluctuante y donde dicho objeto es al menos uno de una microesfera, una zeolita, una partícula, una partícula de filtración, una microesfera de vidrio, una microesfera de circonio, una resina, una suspensión de microesfera y resina.

19. Un aparato de prueba (1000) que usa un dispositivo centrípeto fluídico (1) para someter a prueba los componentes de un material biológico en un fluido, el aparato comprende:

al menos uno de dicho dispositivo centrípeto fluídico (1) según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18;
un conjunto de rotor (1003);
un soporte (2) para recibir dicho al menos uno de dicho dispositivo centrípeto fluídico (1) usando dicha capa de componente fluídico, dicho soporte se acopla a dicho rotor;
un motor (1005) para rotar dicho conjunto de rotor;
un controlador de velocidad (1008) para dicho motor para controlar al menos una de una duración y una velocidad de rotación de dicho conjunto de rotor;
un subsistema de acondicionamiento de temperatura (2000) para controlar una temperatura de al menos una porción de dicho dispositivo centrípeto microfluídico;
un subsistema de detección (1009) para detectar una característica de dicho fluido; y
una interfaz de usuario (1006) para recibir un comando de usuario y para enviar un comando a al menos uno de dicho controlador de velocidad, dicho subsistema de acondicionamiento de temperatura, dicho subsistema de excitación y dicho subsistema de detección.

20. Un procedimiento de prueba que usa un dispositivo centrípeto fluídico para someter a prueba los componentes de un material biológico en un fluido, el procedimiento comprende:

proporcionar un aparato de prueba (1000) con al menos uno de dicho dispositivo centrípeto fluídico según se reivindica en la reivindicación 19;
proporcionar un fluido con material biológico;
cargar dicho fluido en dicho receptáculo de admisión de dicho dispositivo centrípeto fluídico;
colocar dicho dispositivo centrípeto fluídico en dicho soporte (2) de dicho aparato de prueba;
proporcionar un comando de usuario para comenzar una secuencia de prueba;
rotar dicho conjunto de rotor a una primera velocidad para transferir dicho fluido de dicho receptáculo de admisión a dicha cámara que se puede llenar por la parte inferior.

21. El procedimiento según la reivindicación 20, donde el fluido se selecciona de entre el grupo que consiste en sangre, aspiración faríngea nasal, fluido oral, líquido de frotis oral resuspendido, líquido de frotis nasal resuspendido, líquido resuspendido de frotis anal, líquido resuspendido de frotis vaginal, saliva y orina.

22. El procedimiento de prueba según la reivindicación 20 o 21, para someter a prueba al menos un componente seleccionado de entre el grupo que consiste en iones, azúcares, metabolitos, ácidos grasos, aminoácidos, ácidos nucleicos, proteínas o lípidos.

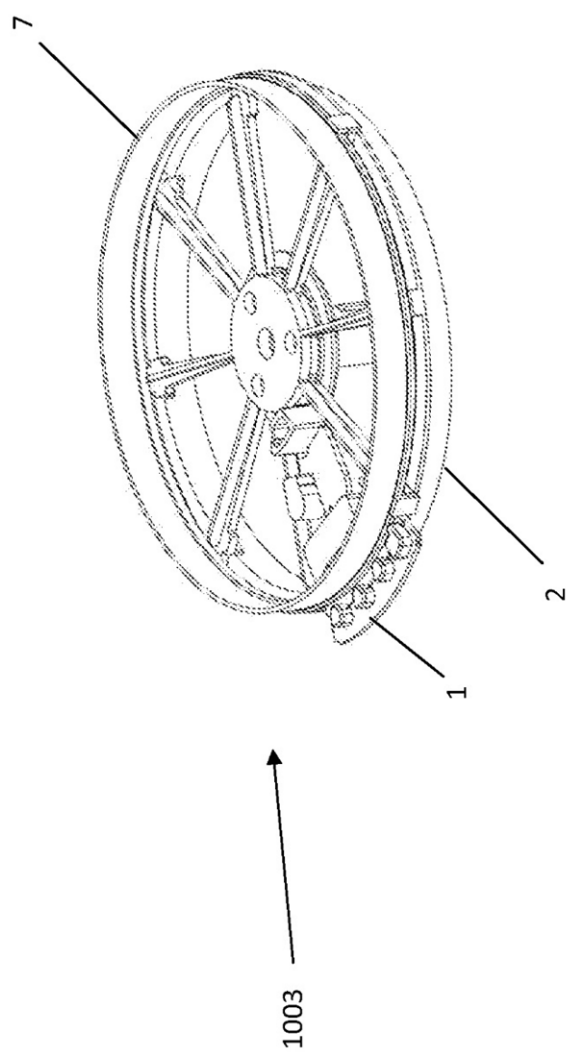


Fig. 1A

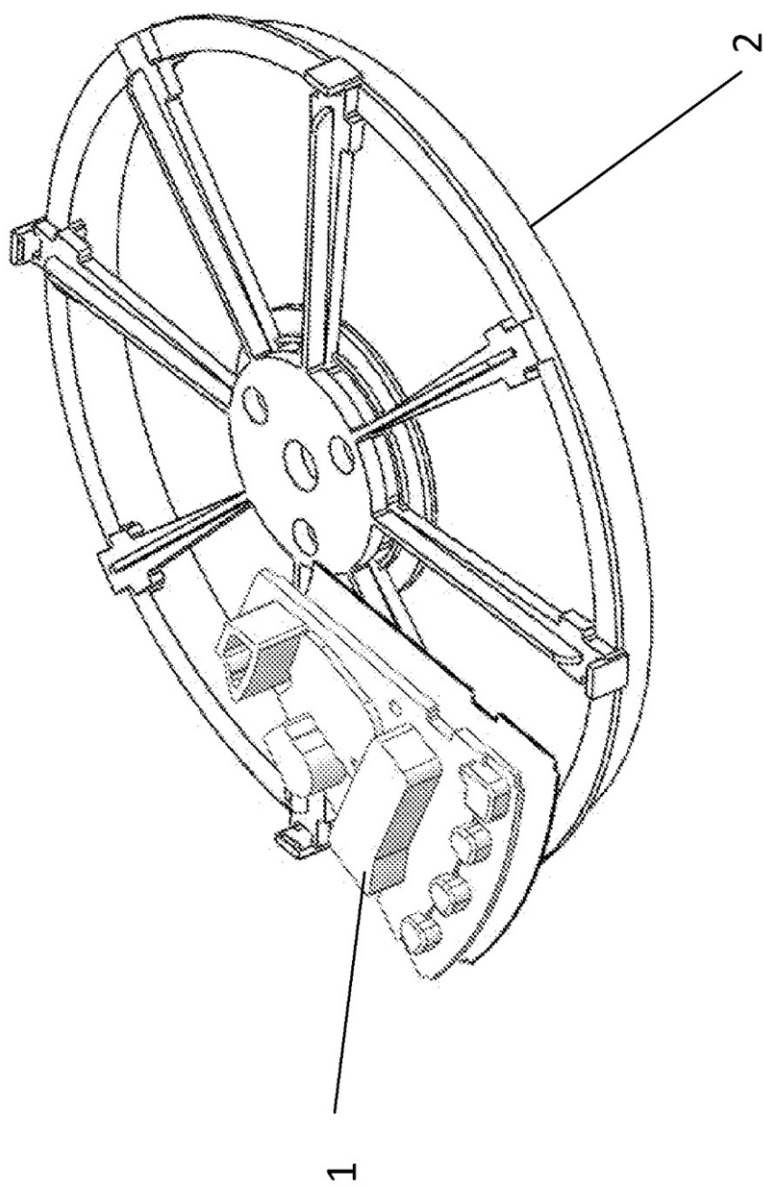


Fig. 1B

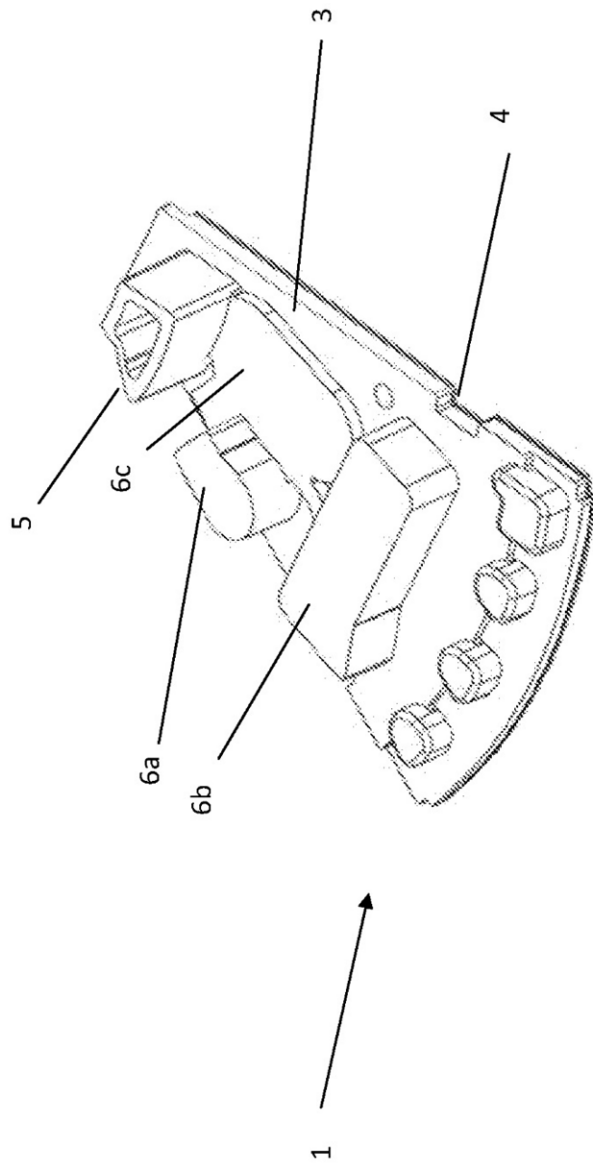


Fig. 1C

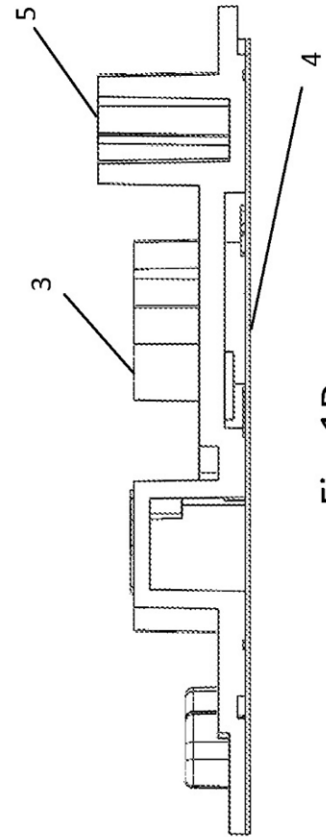


Fig. 1D

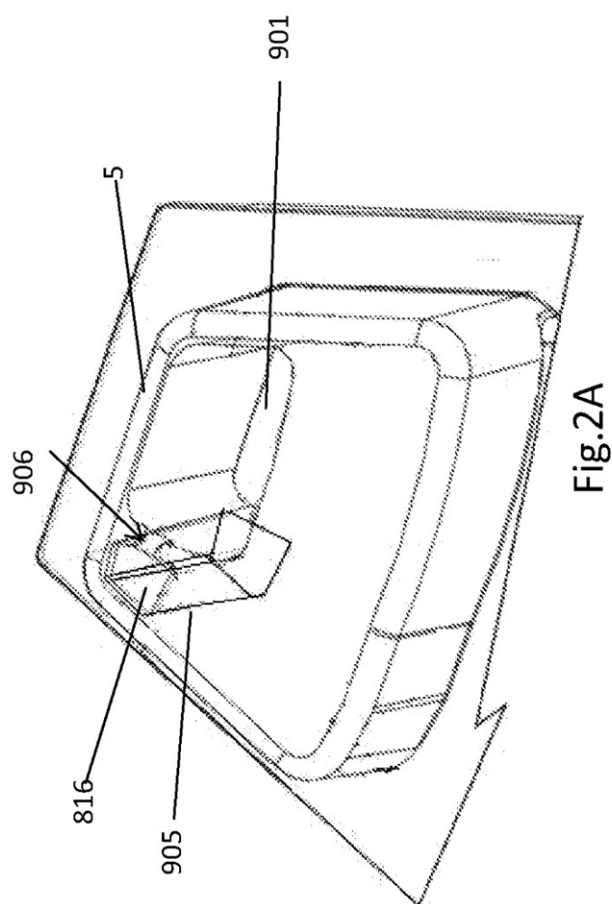


Fig. 2A

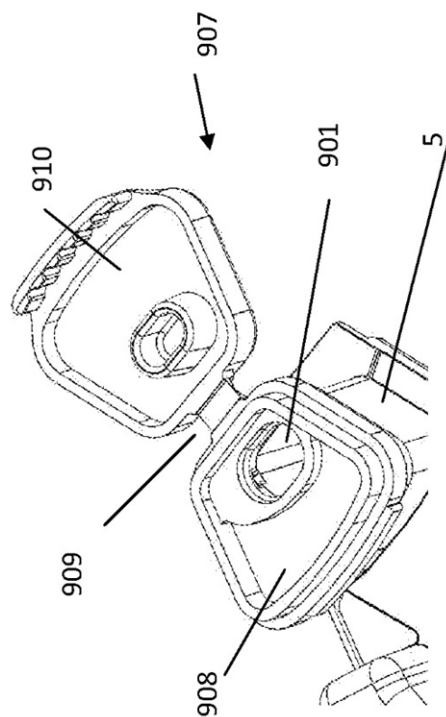


Fig. 2B

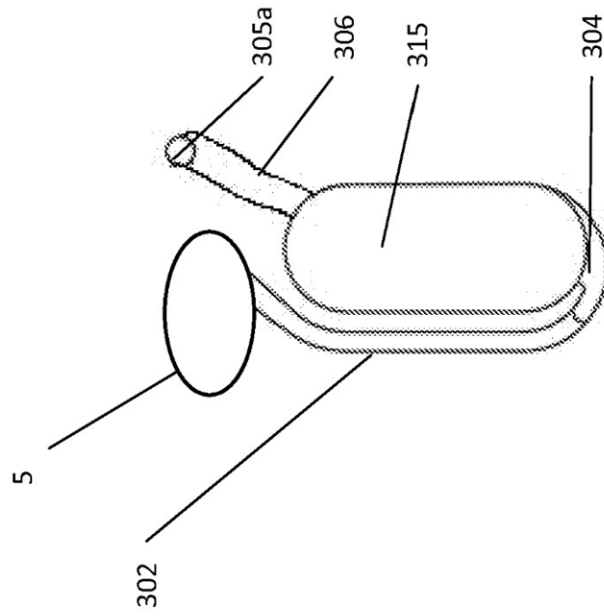


Fig. 3A

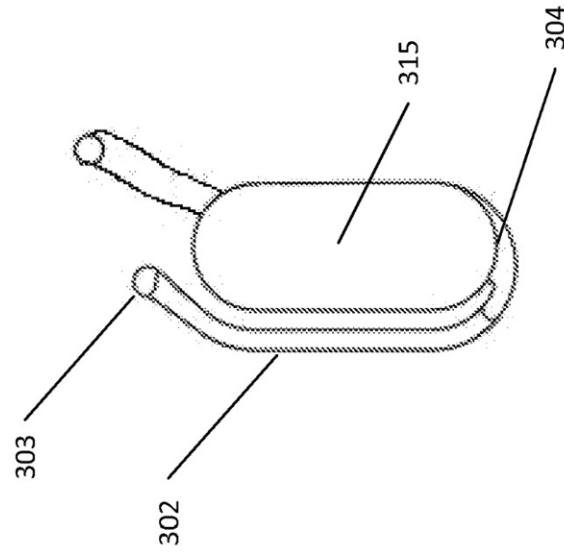


Fig. 3B

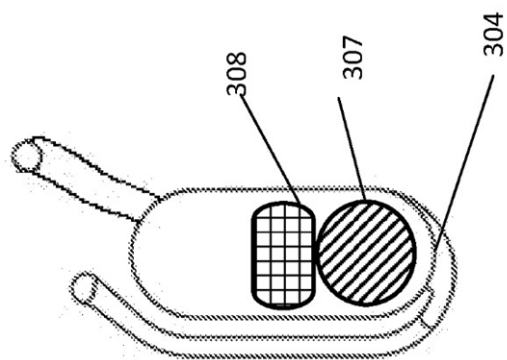


Fig. 4B

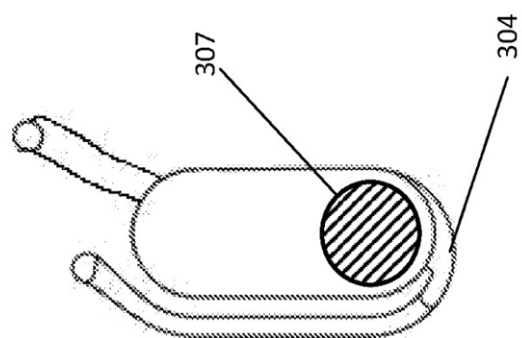


Fig. 4A

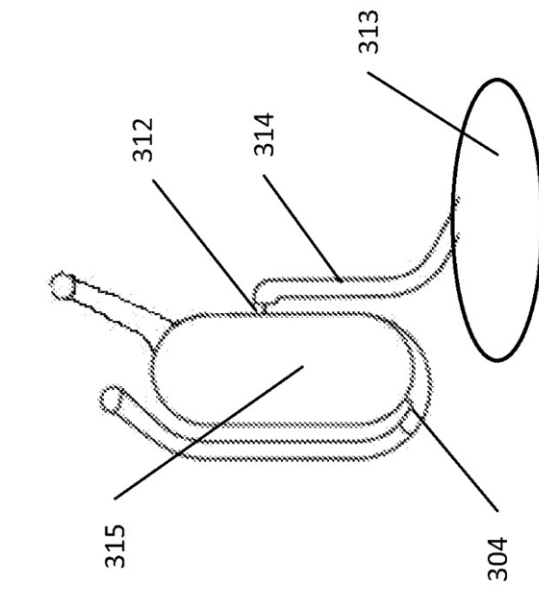


Fig. 6

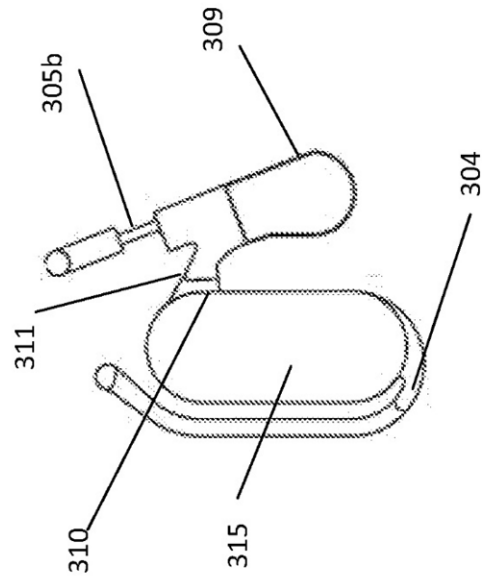


Fig. 5

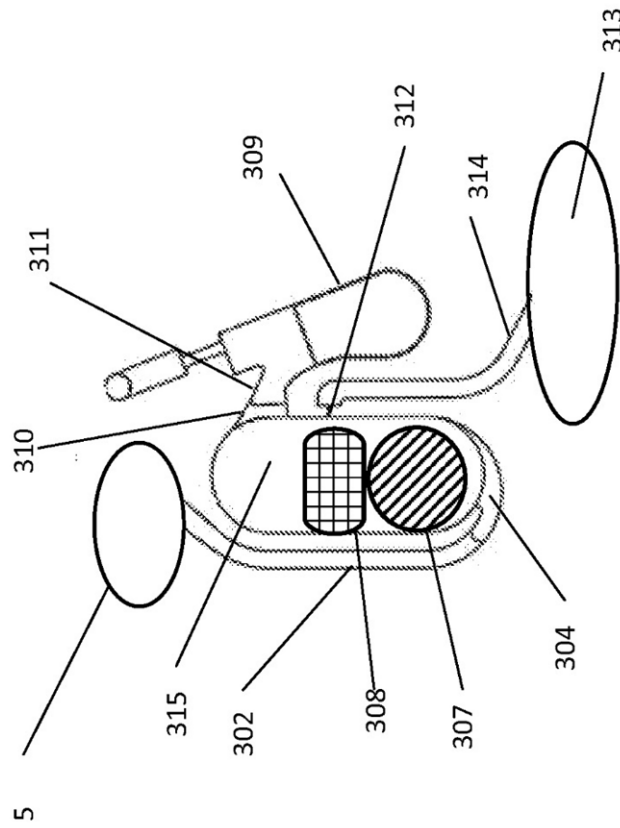


Fig. 7A

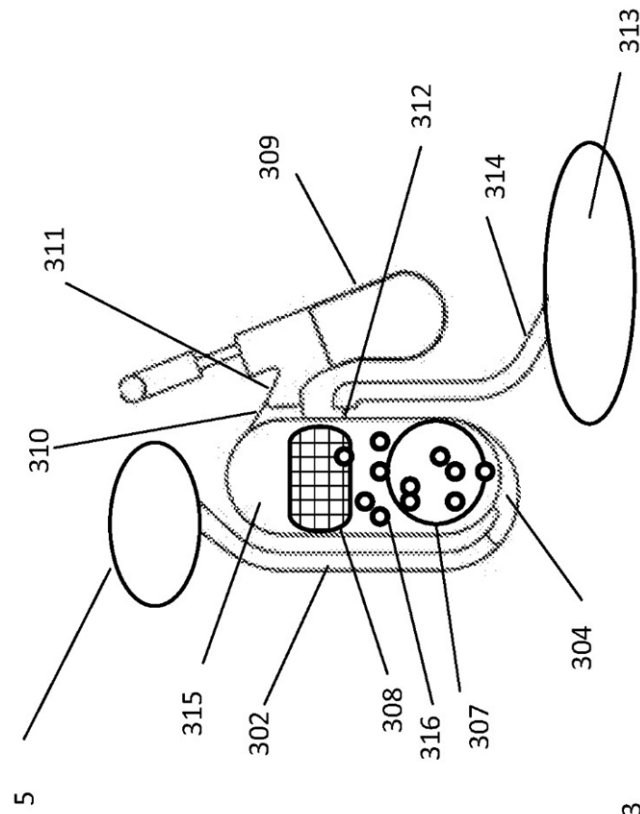


Fig. 7C

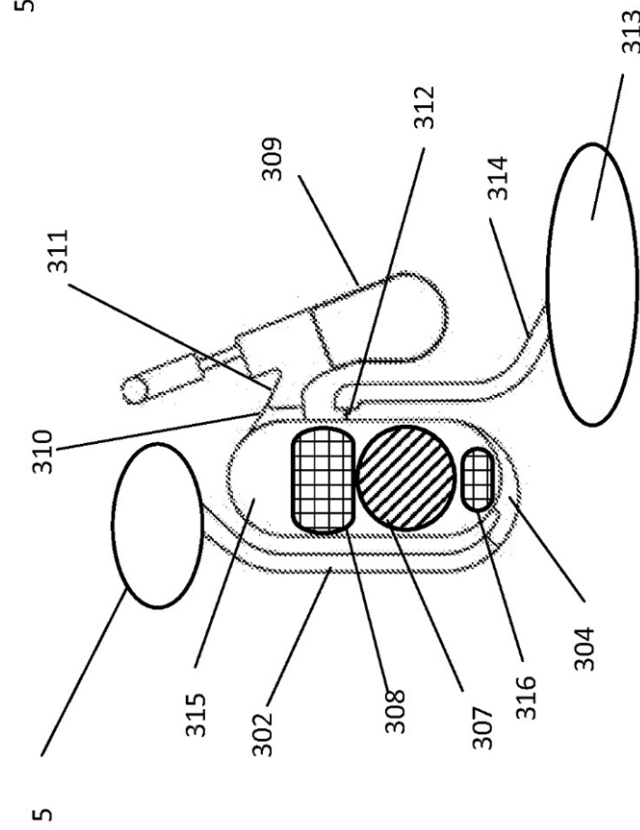


Fig. 7B

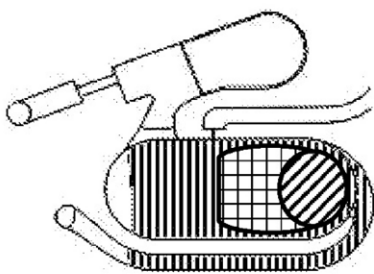


Fig. 8A

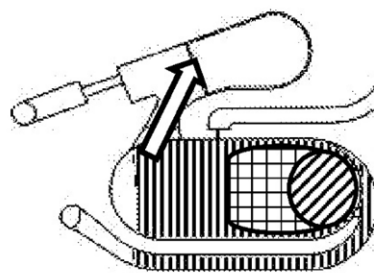


Fig. 8B

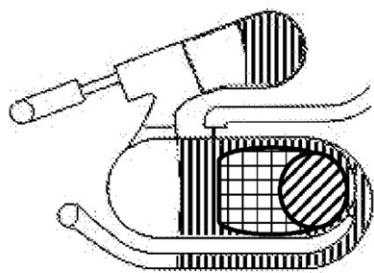


Fig. 8C

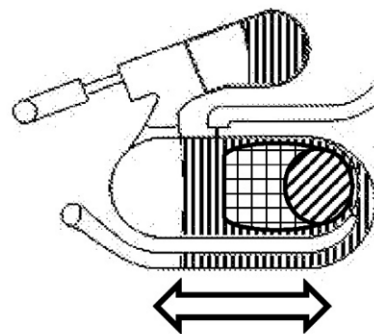


Fig. 8D

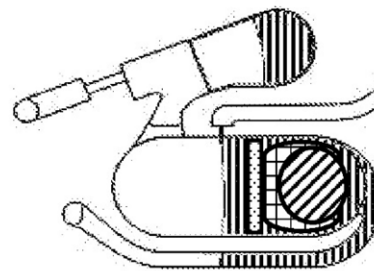


Fig. 8E

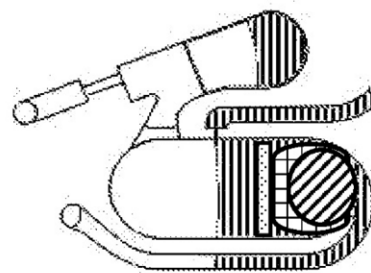


Fig. 8F

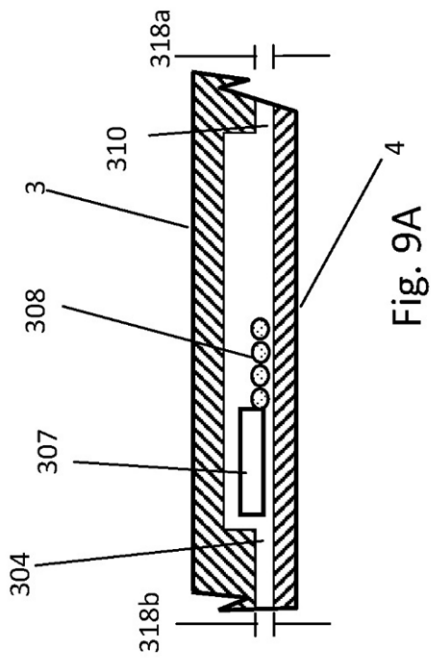


Fig. 9A

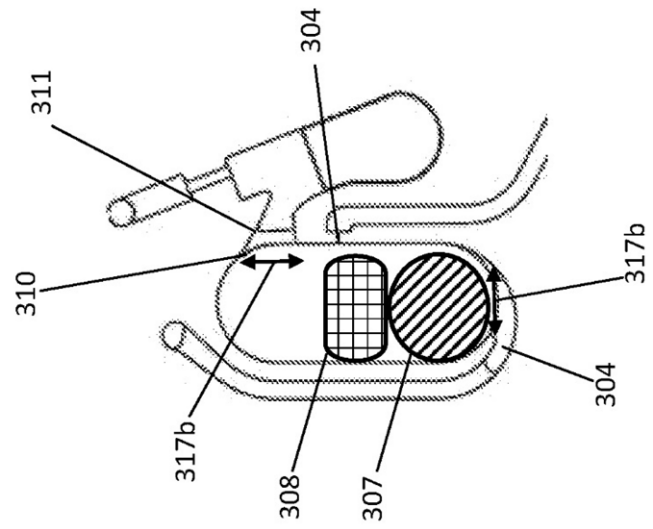


Fig. 9B

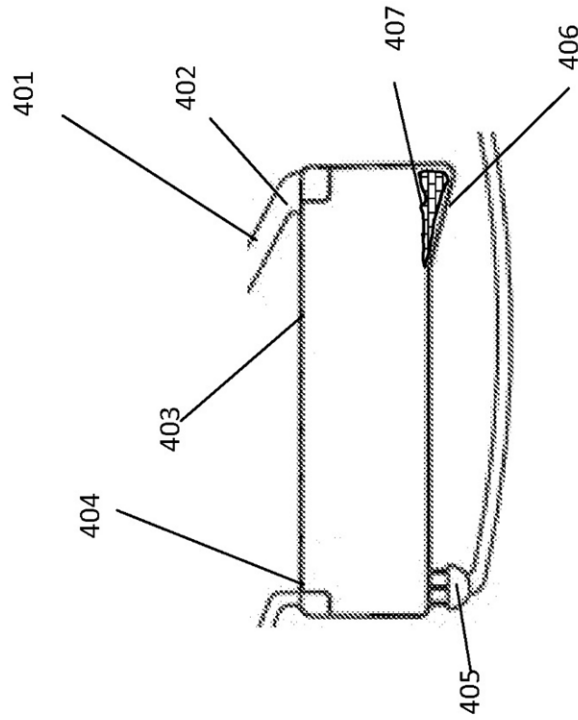


Fig. 10B

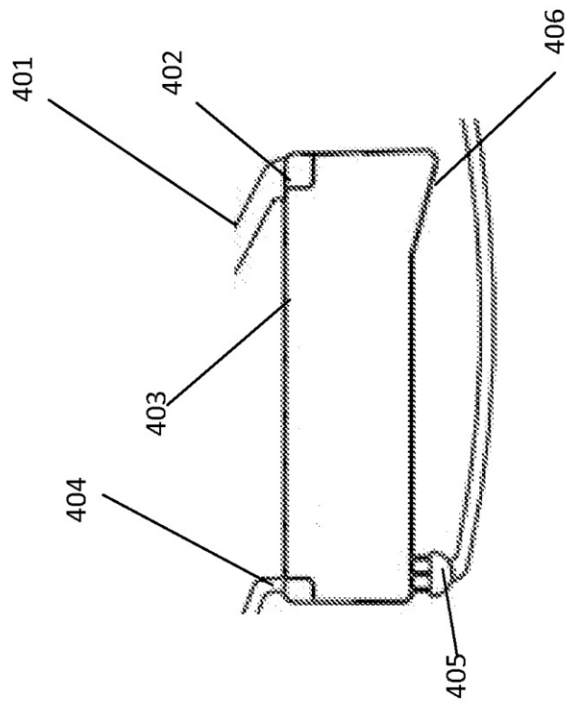


Fig. 10A

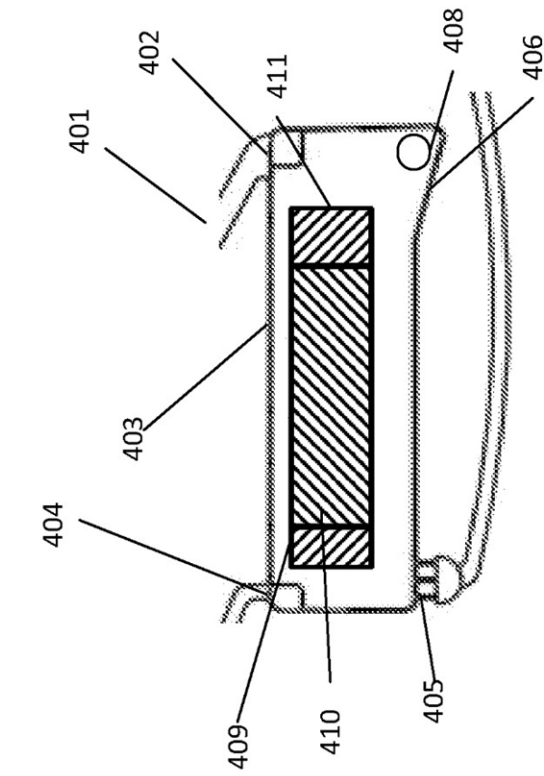


Fig. 10D

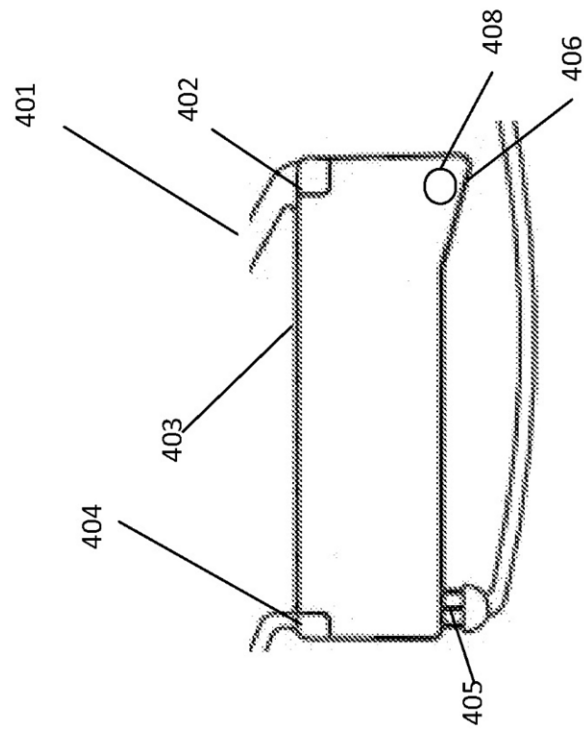
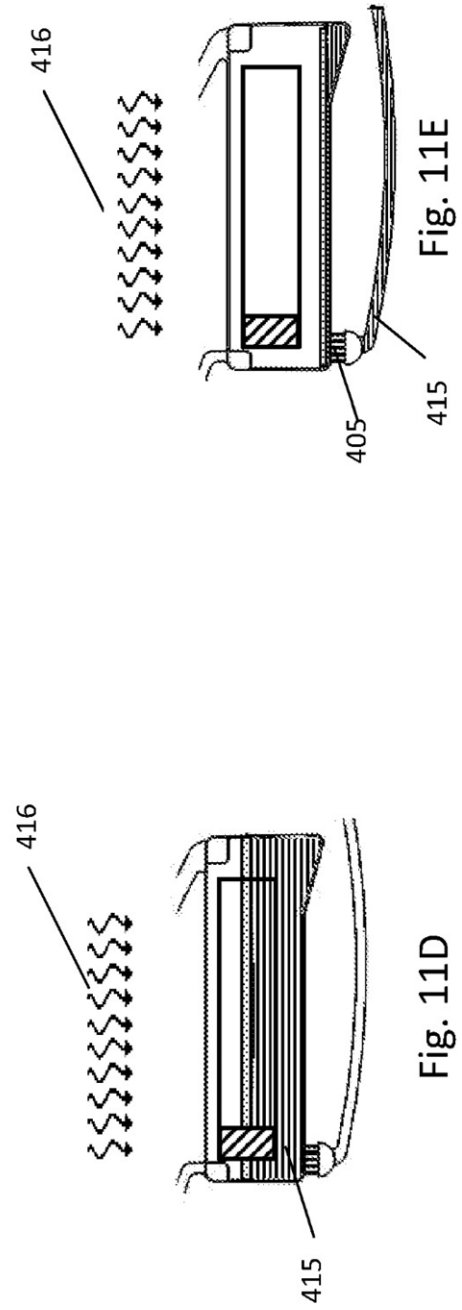
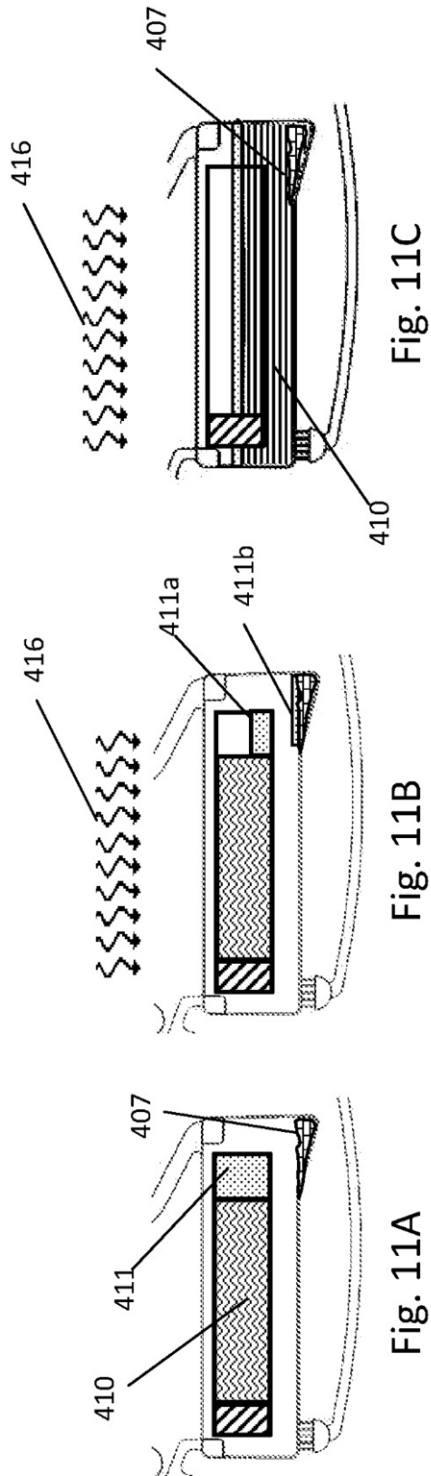


Fig. 10C



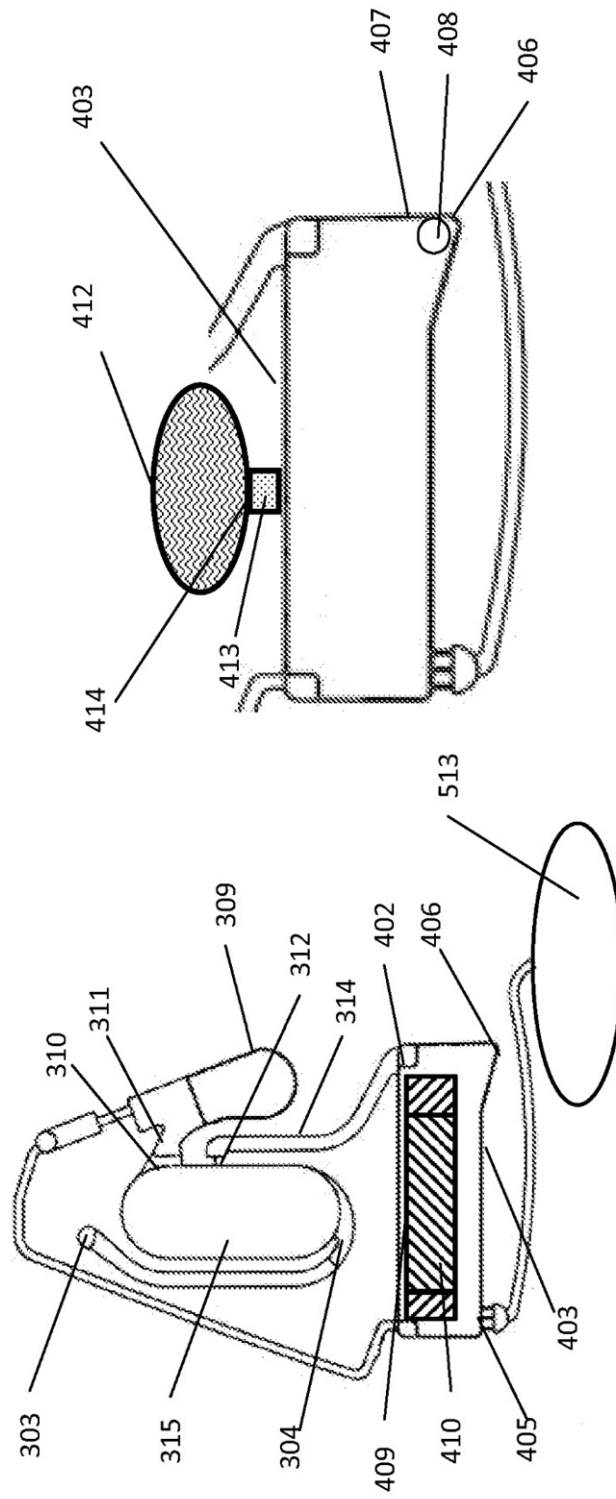


Fig. 12

Fig. 13

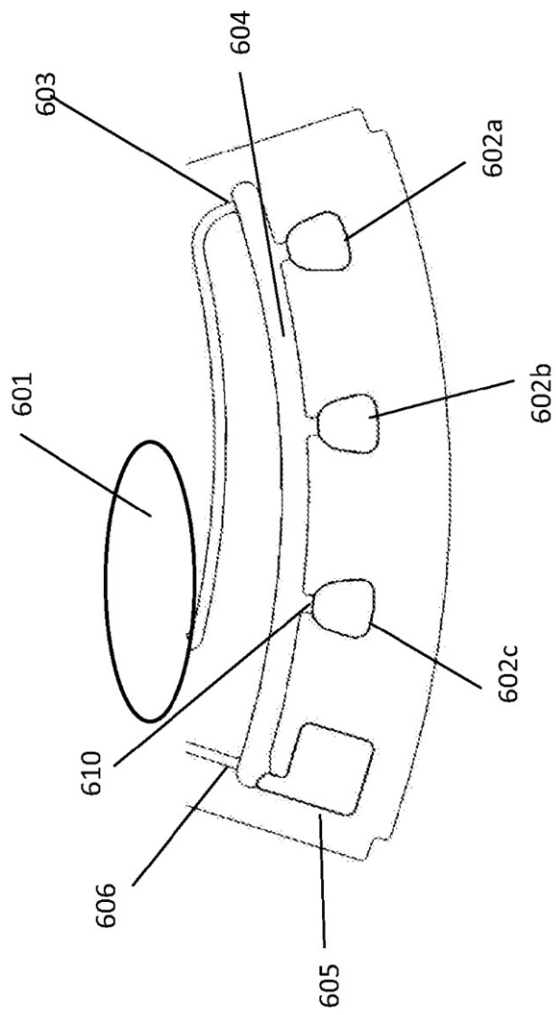


Fig. 14A

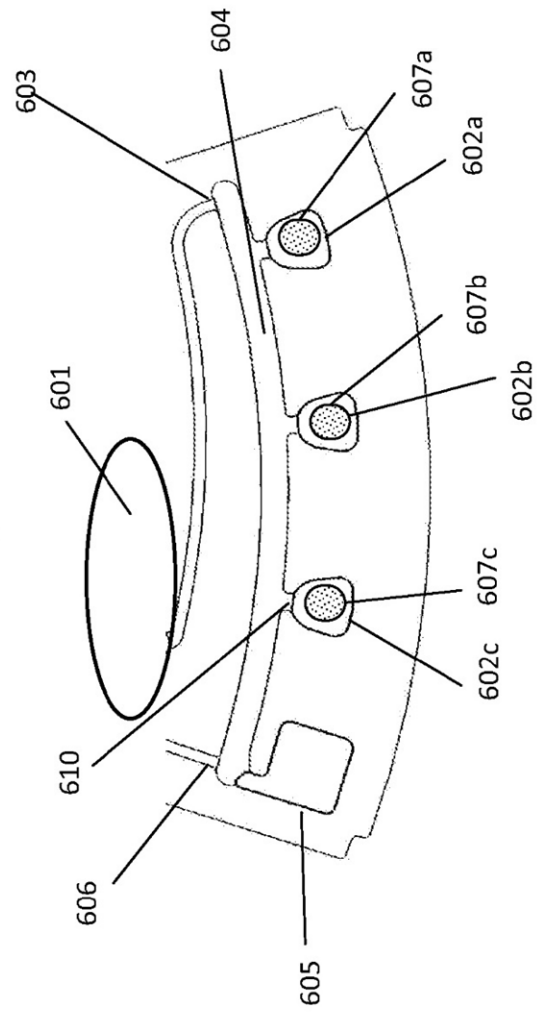


Fig. 14B

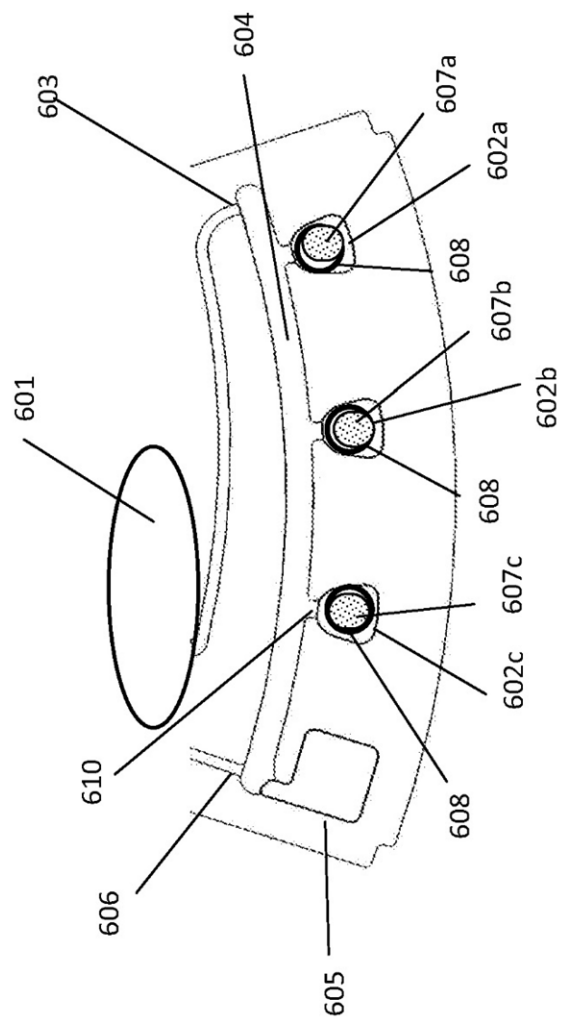


Fig. 14C

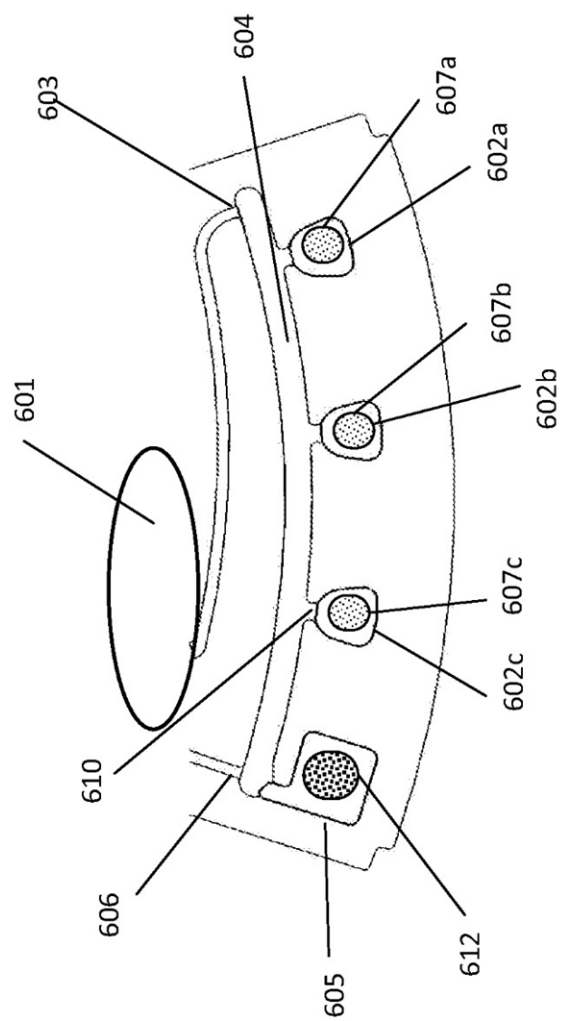


Fig. 14D

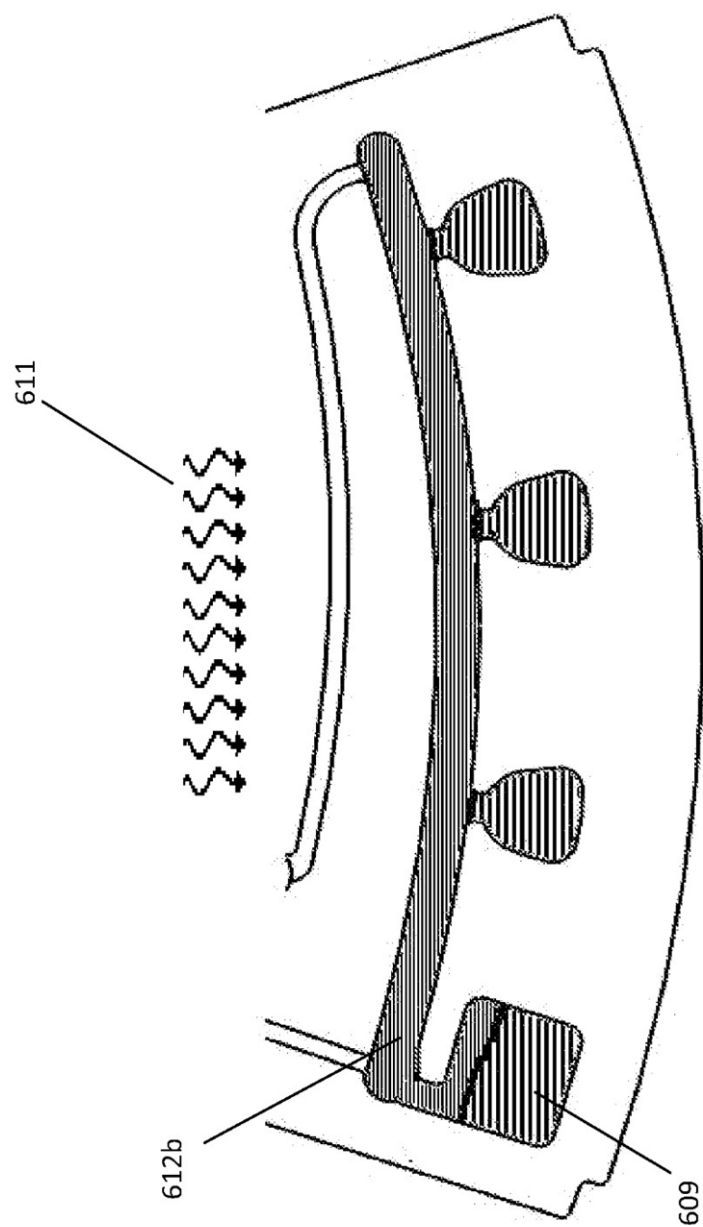


Fig. 15

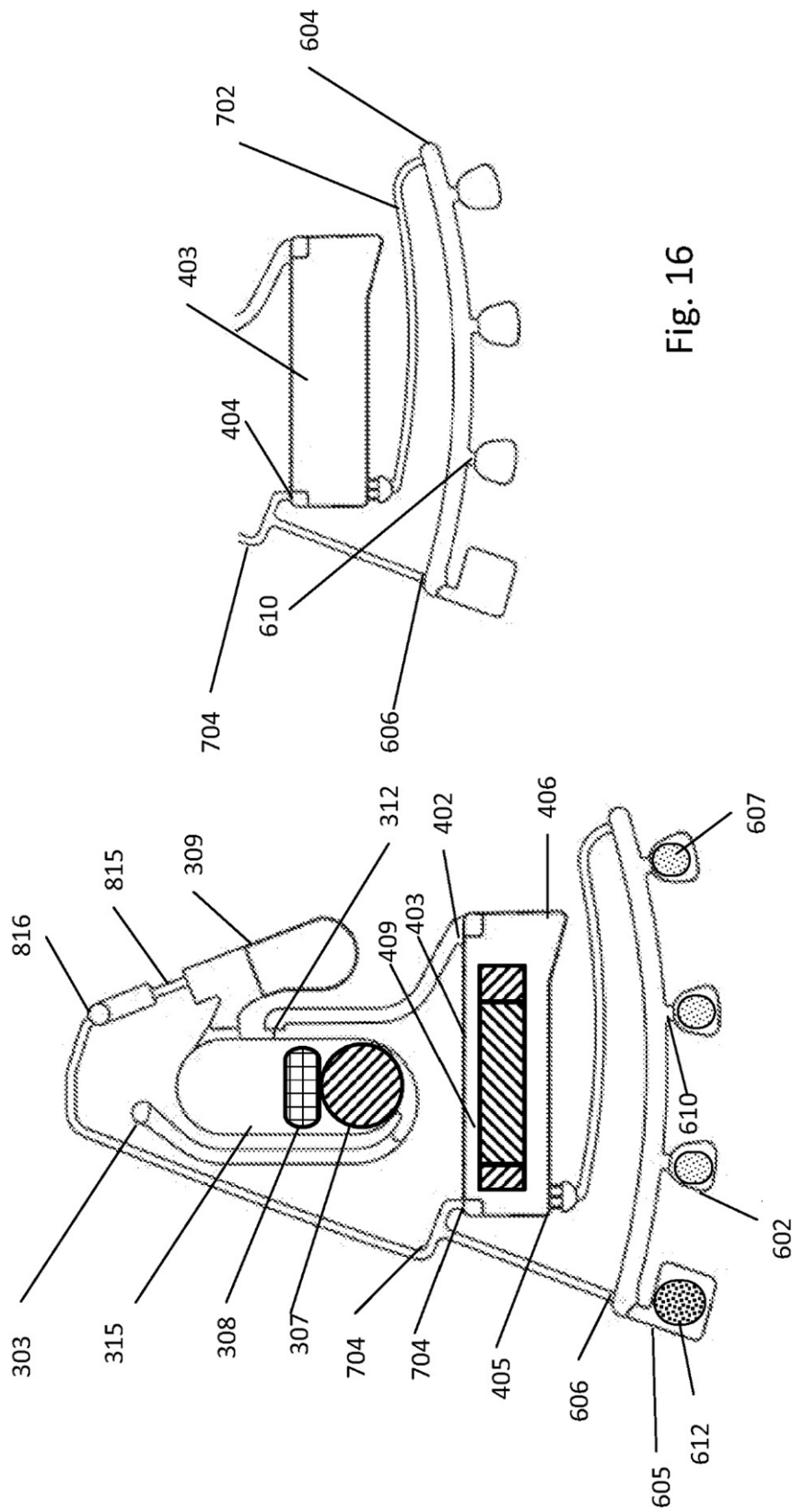


Fig. 16

Fig. 17

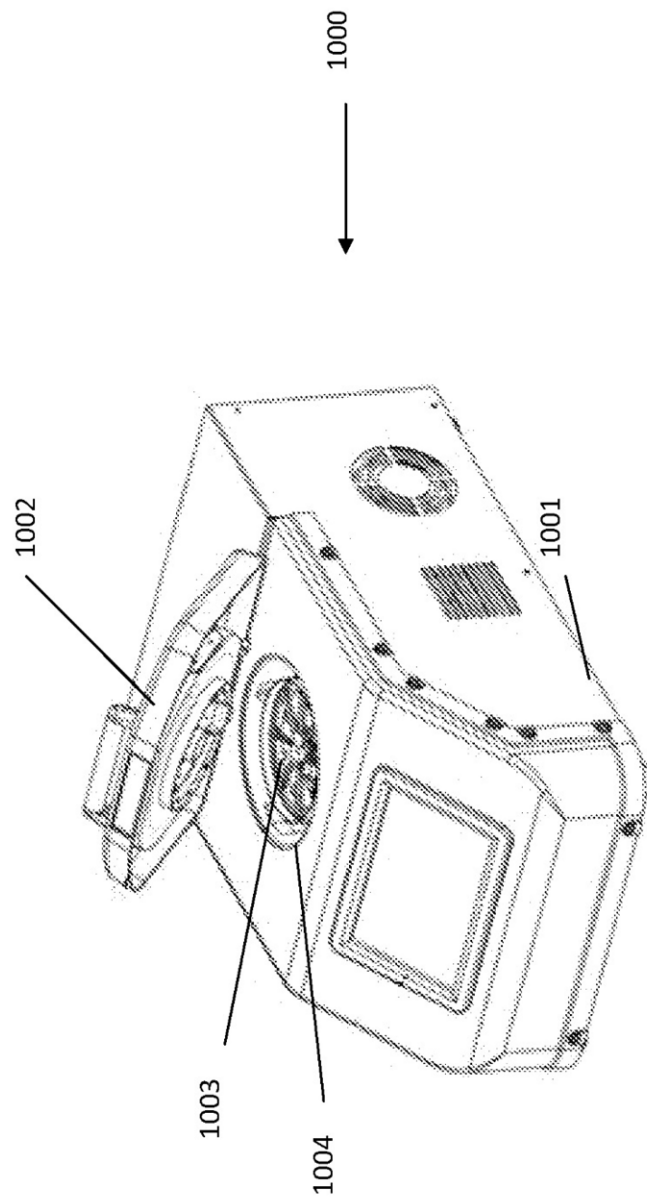


Fig. 18

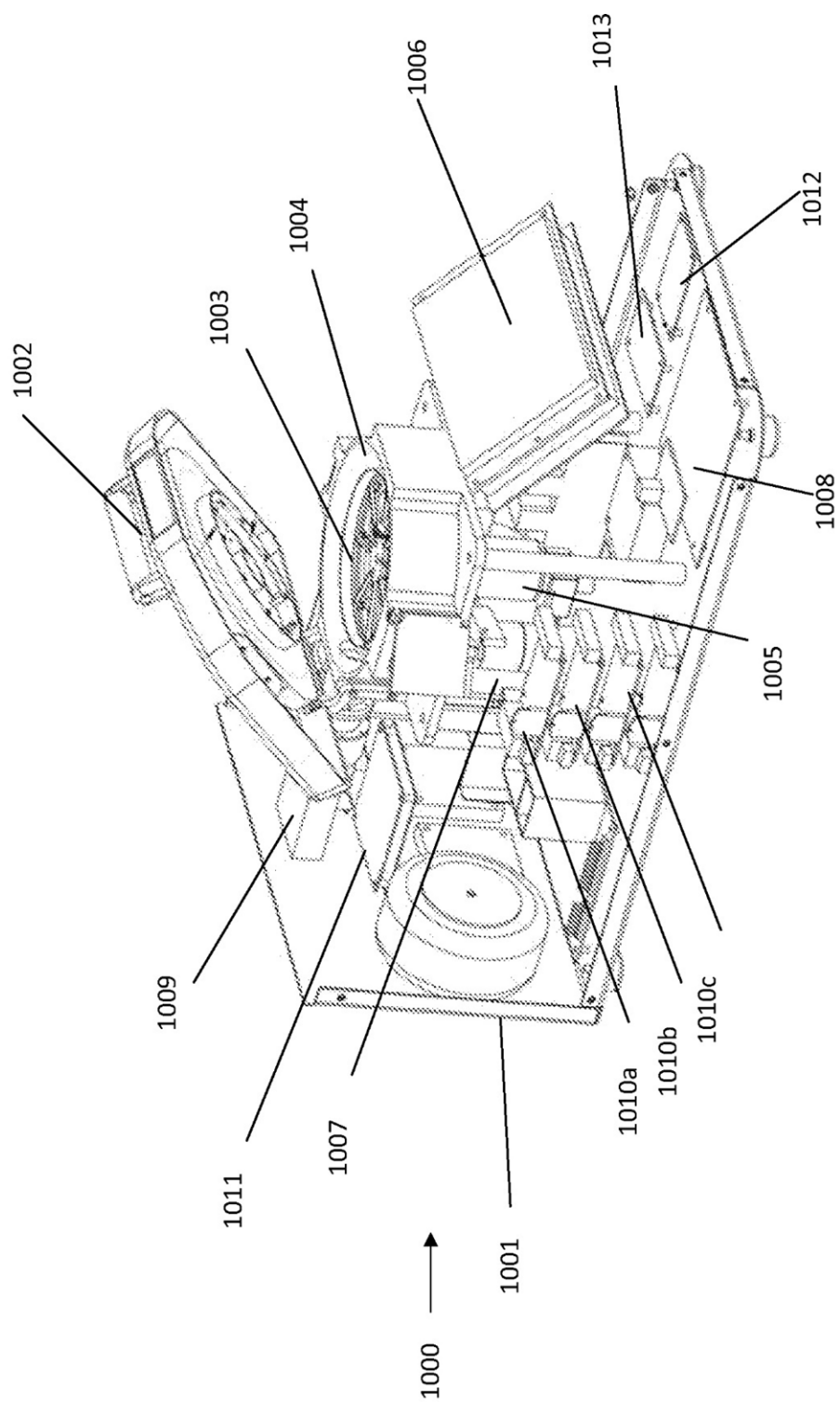


Fig. 19

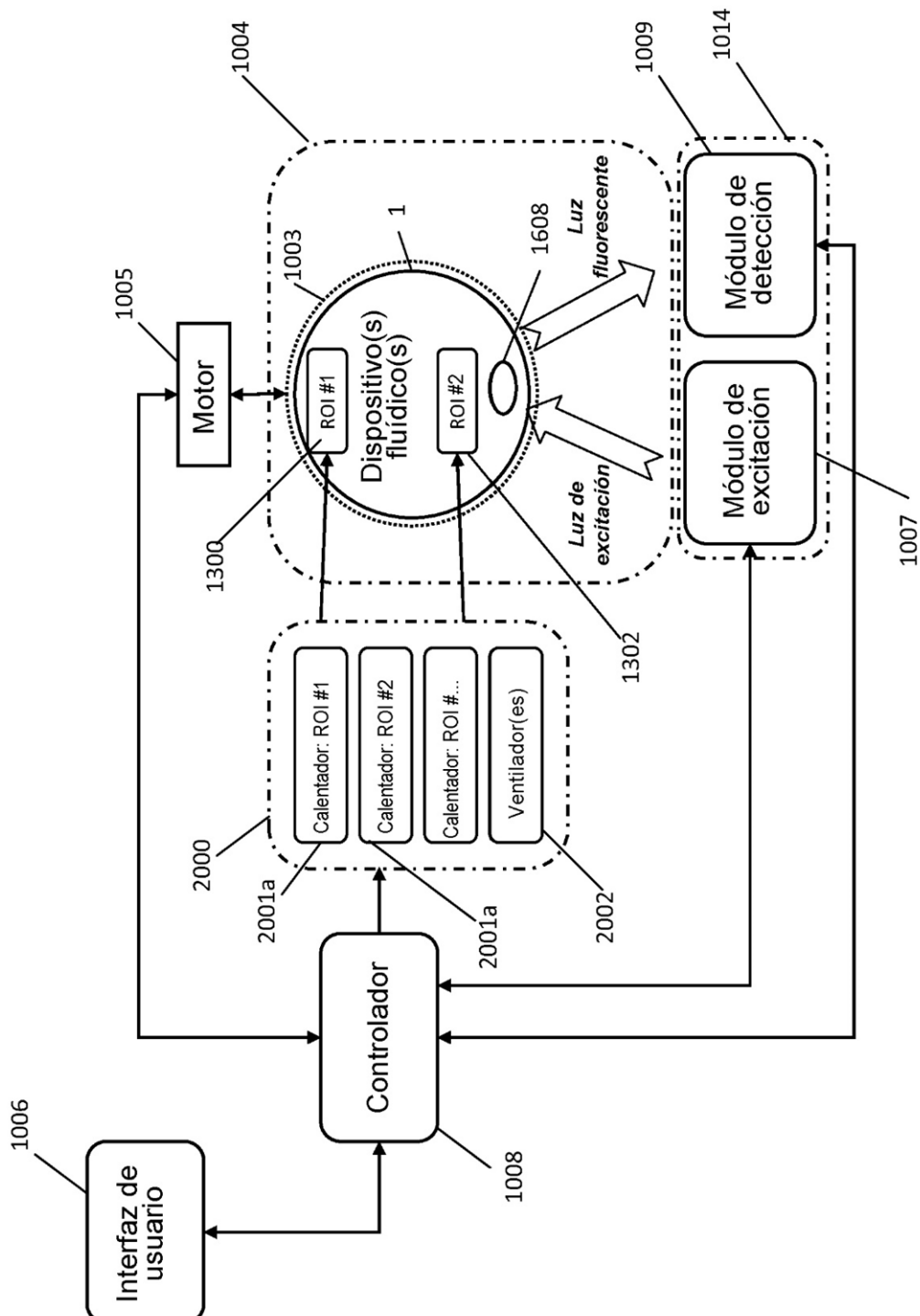


Fig. 20

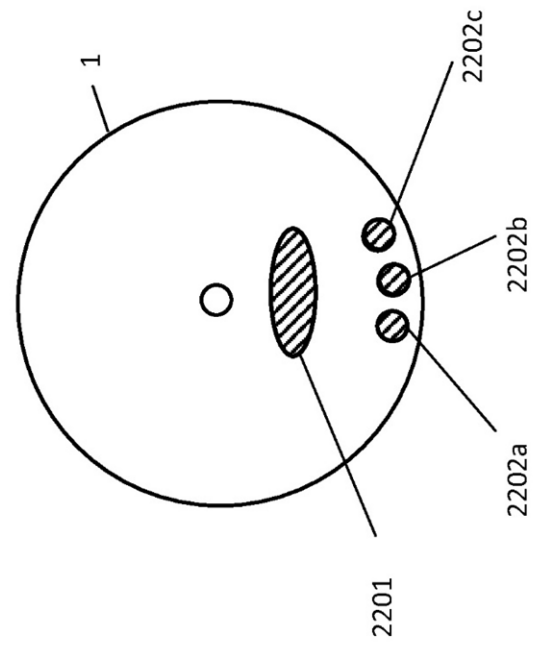


Fig. 22

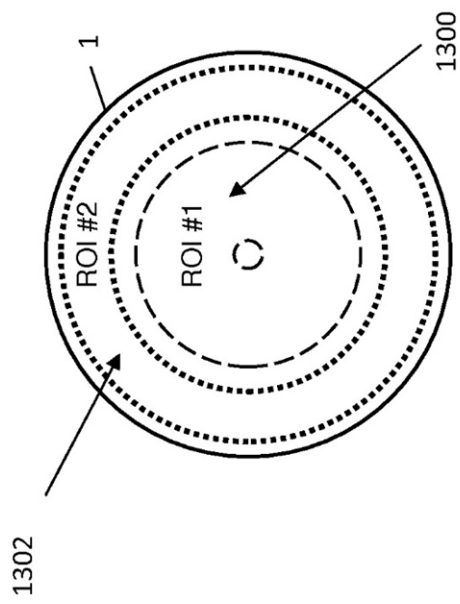


Fig. 21

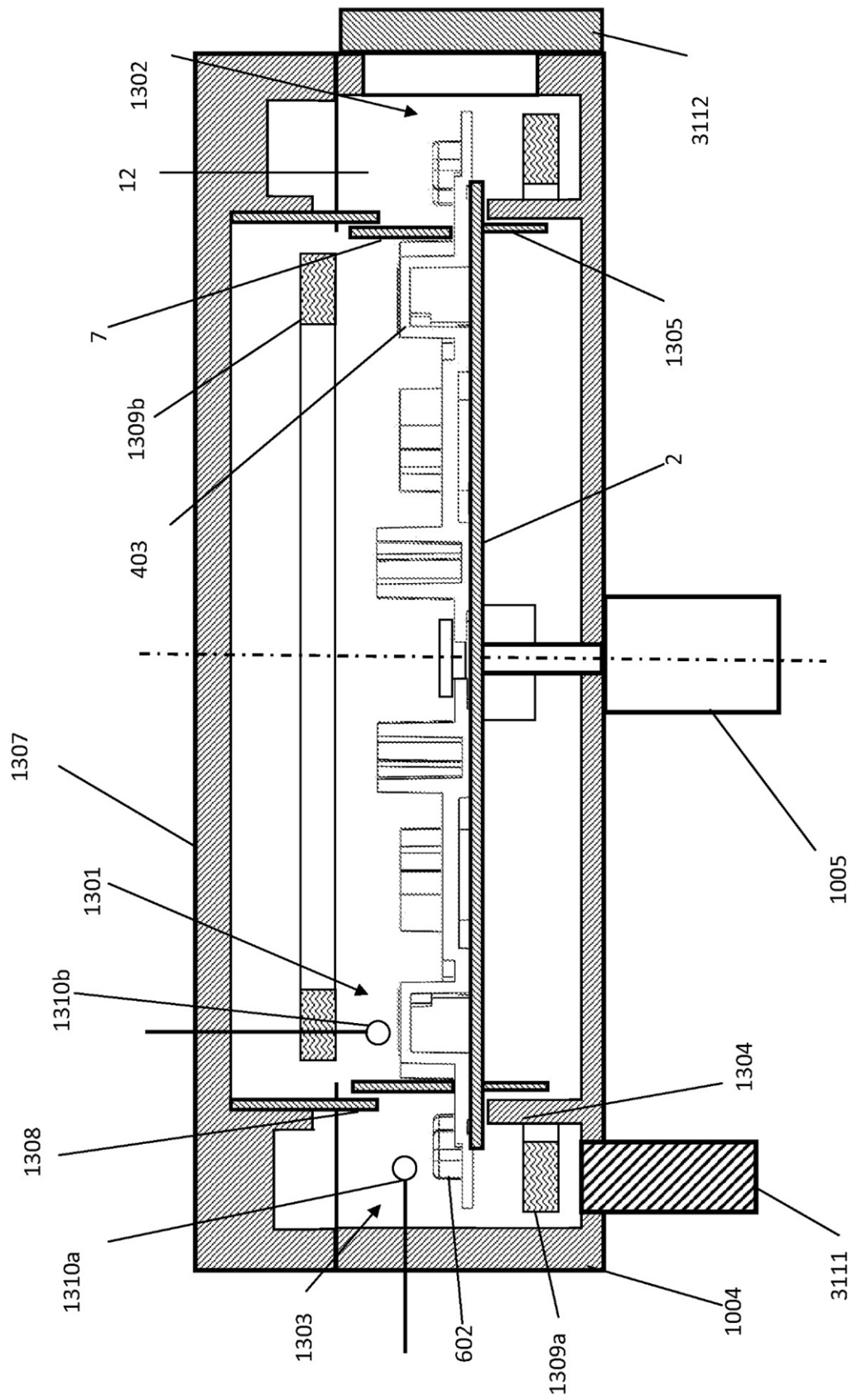


Fig. 23

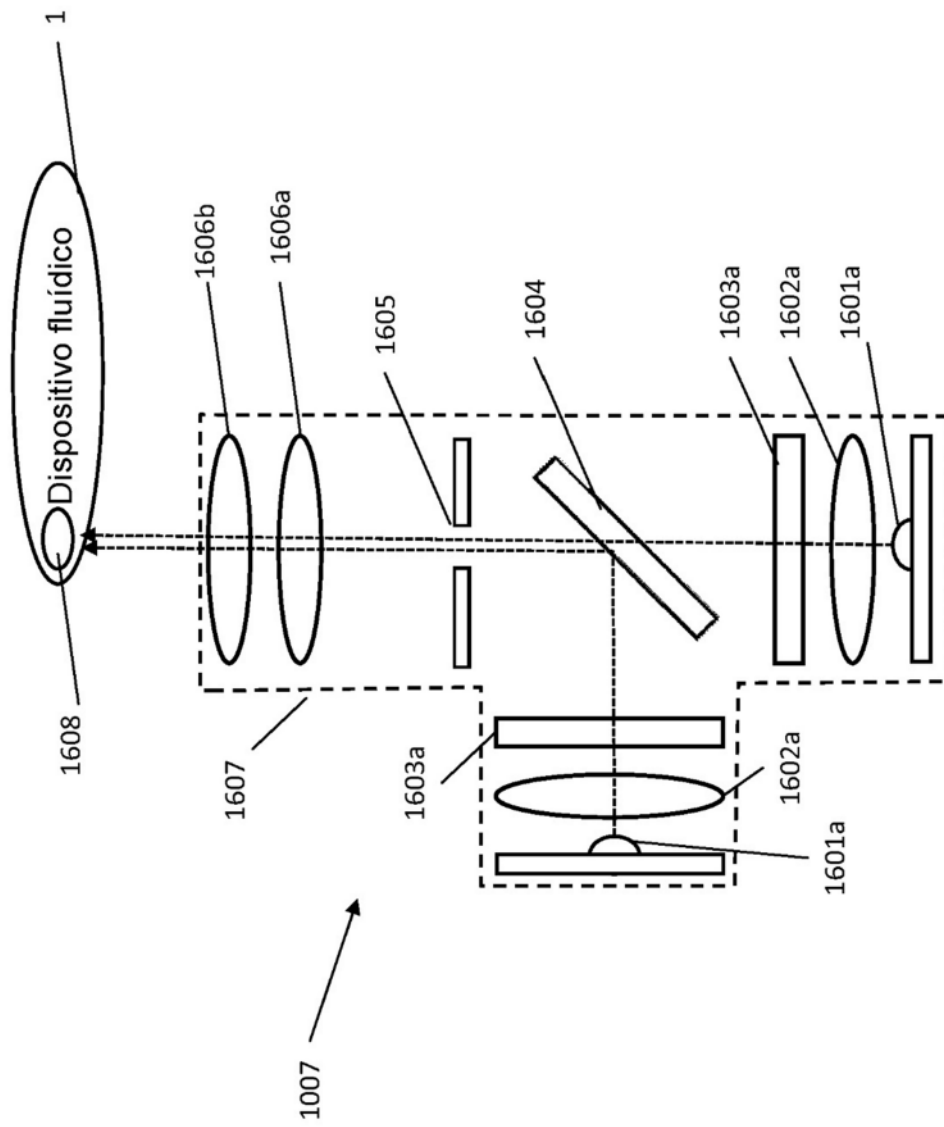


Fig. 24

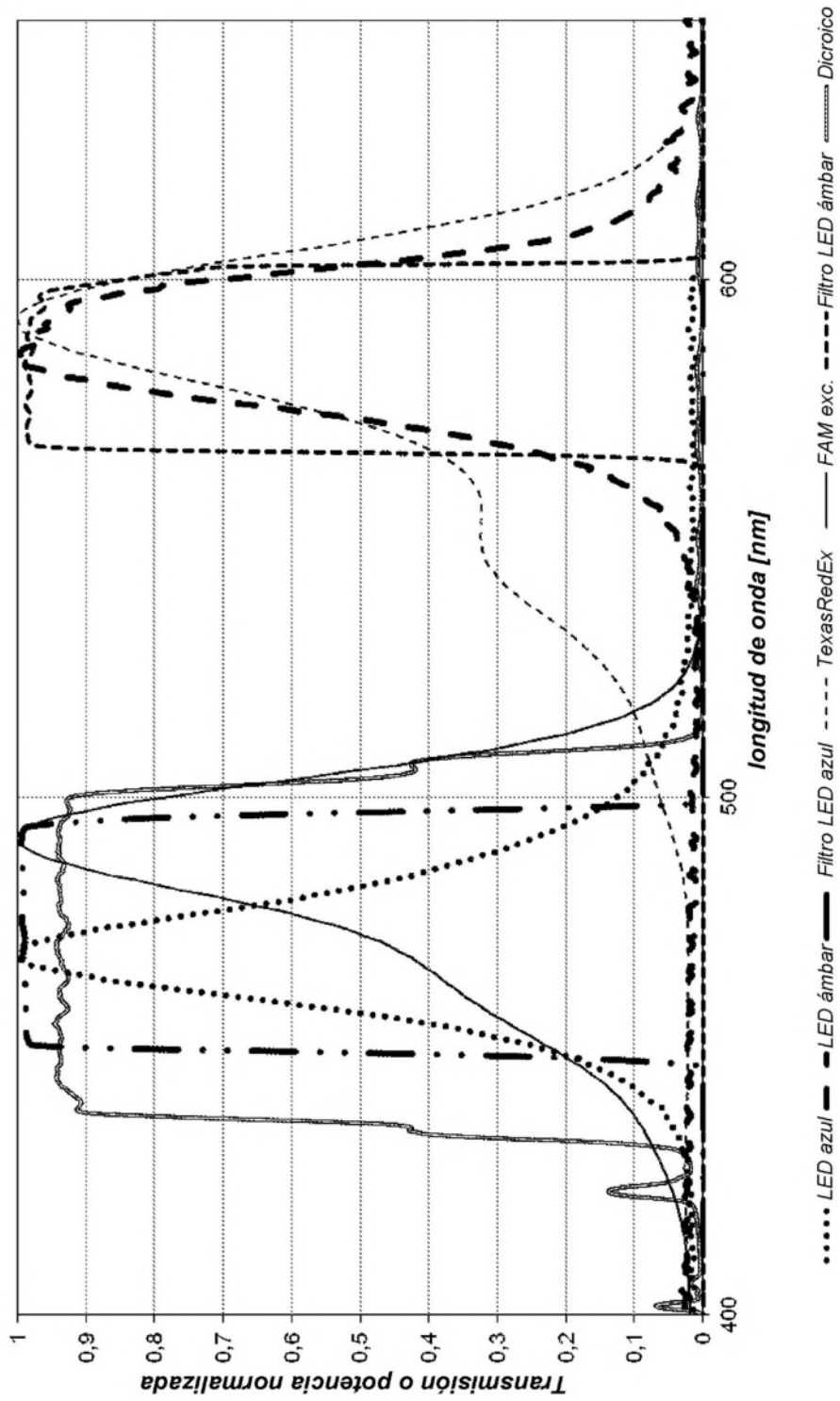


Fig. 25

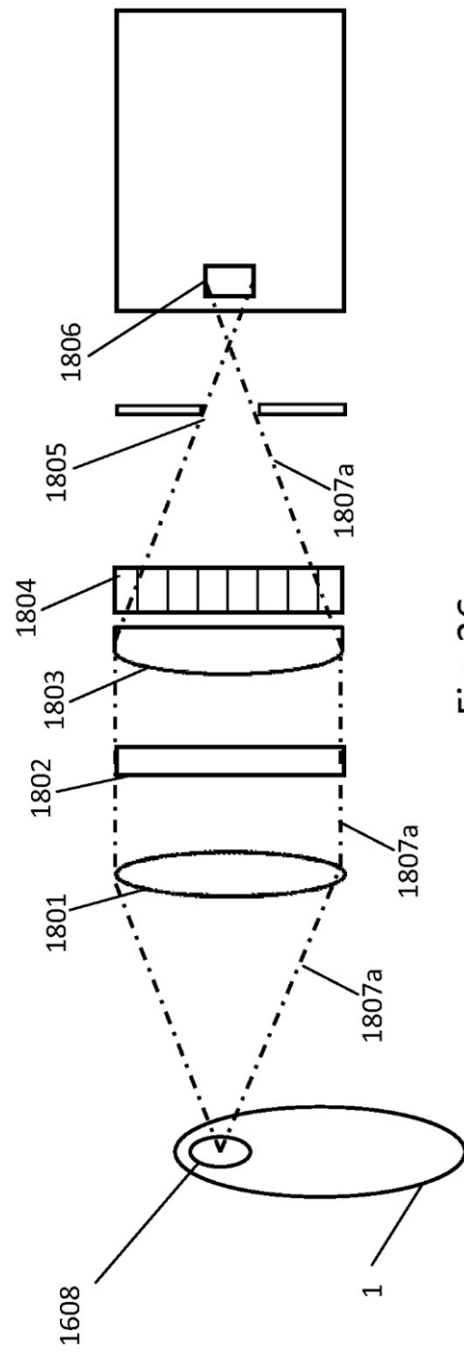


Fig. 26

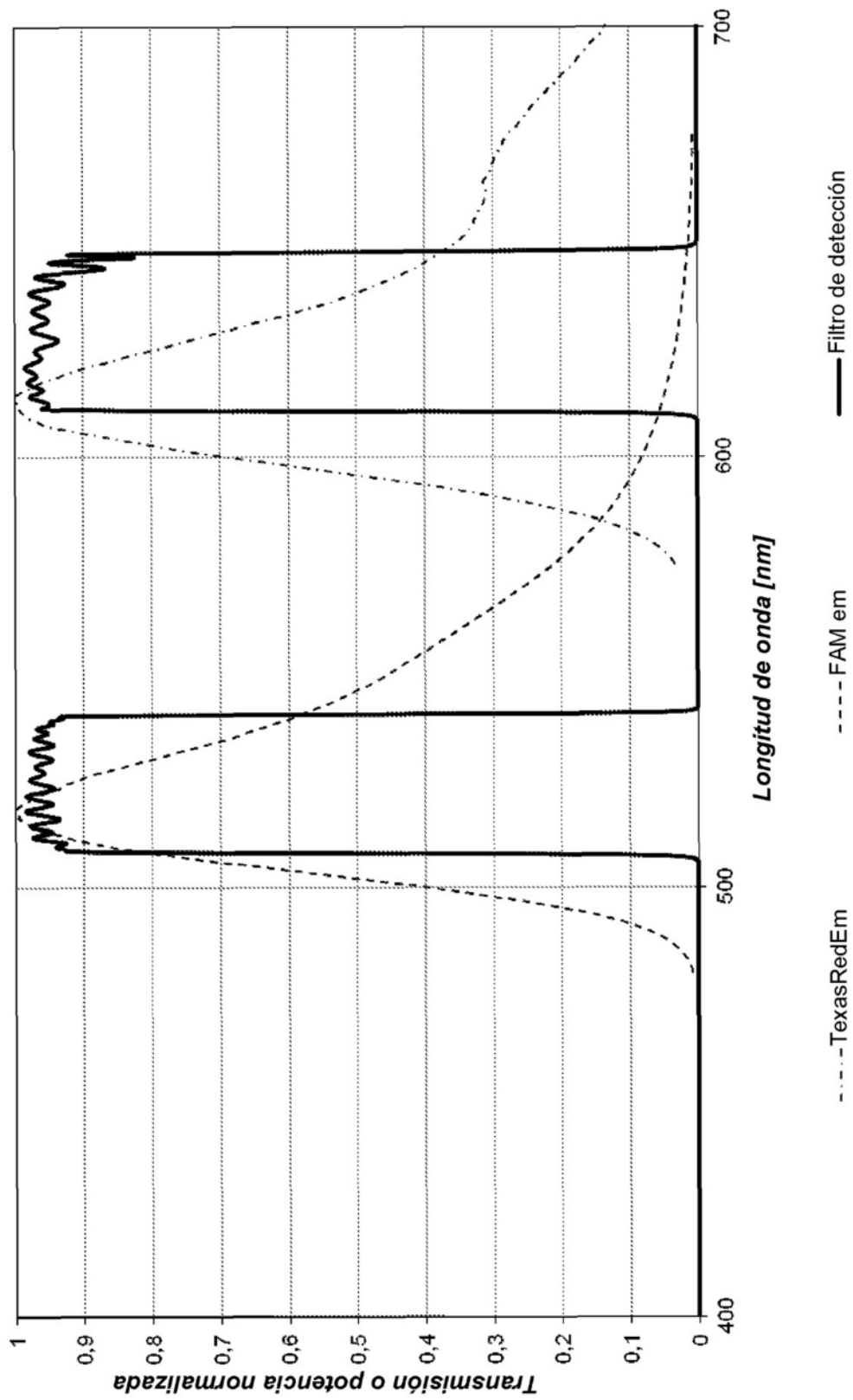


Fig. 27

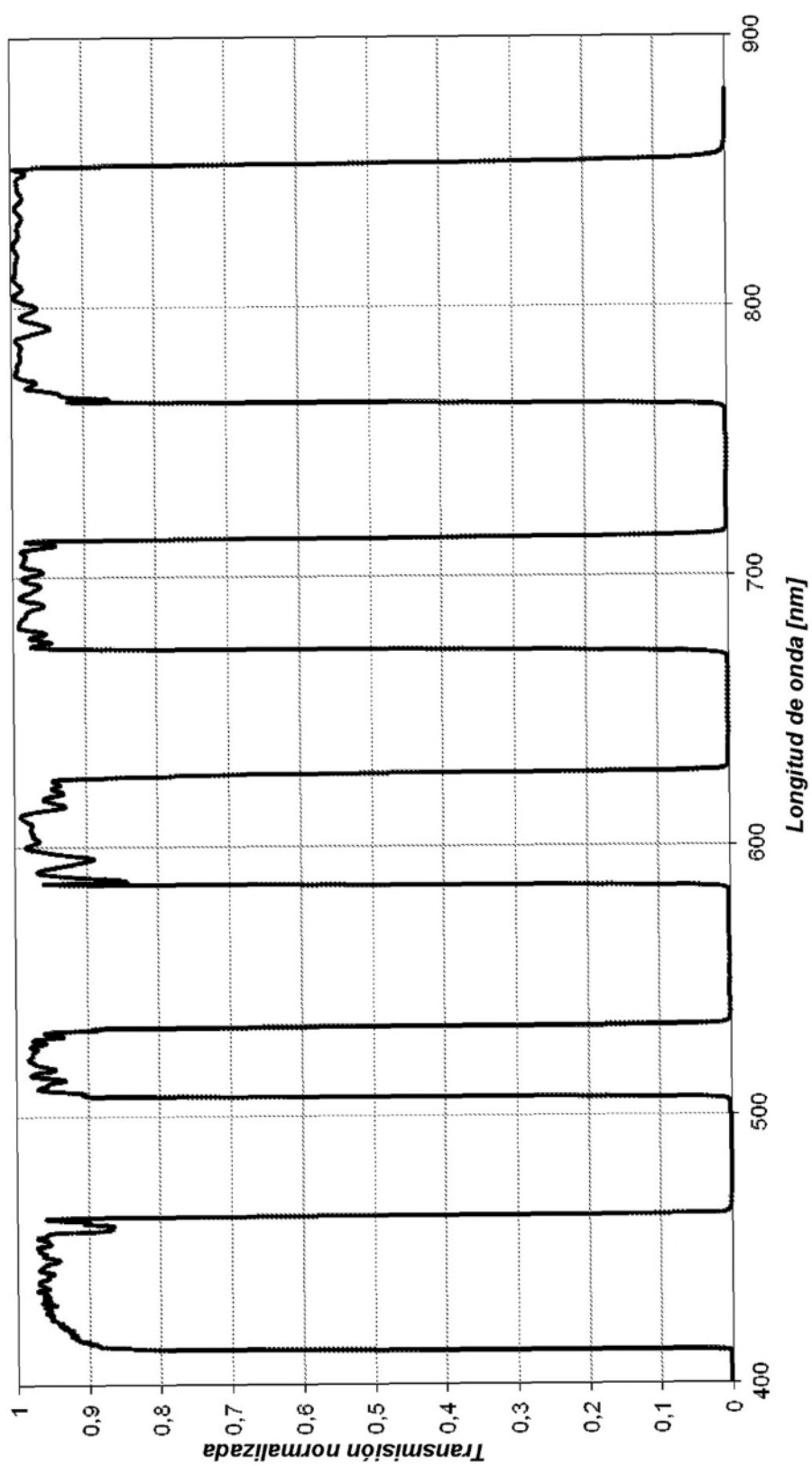


Fig. 28

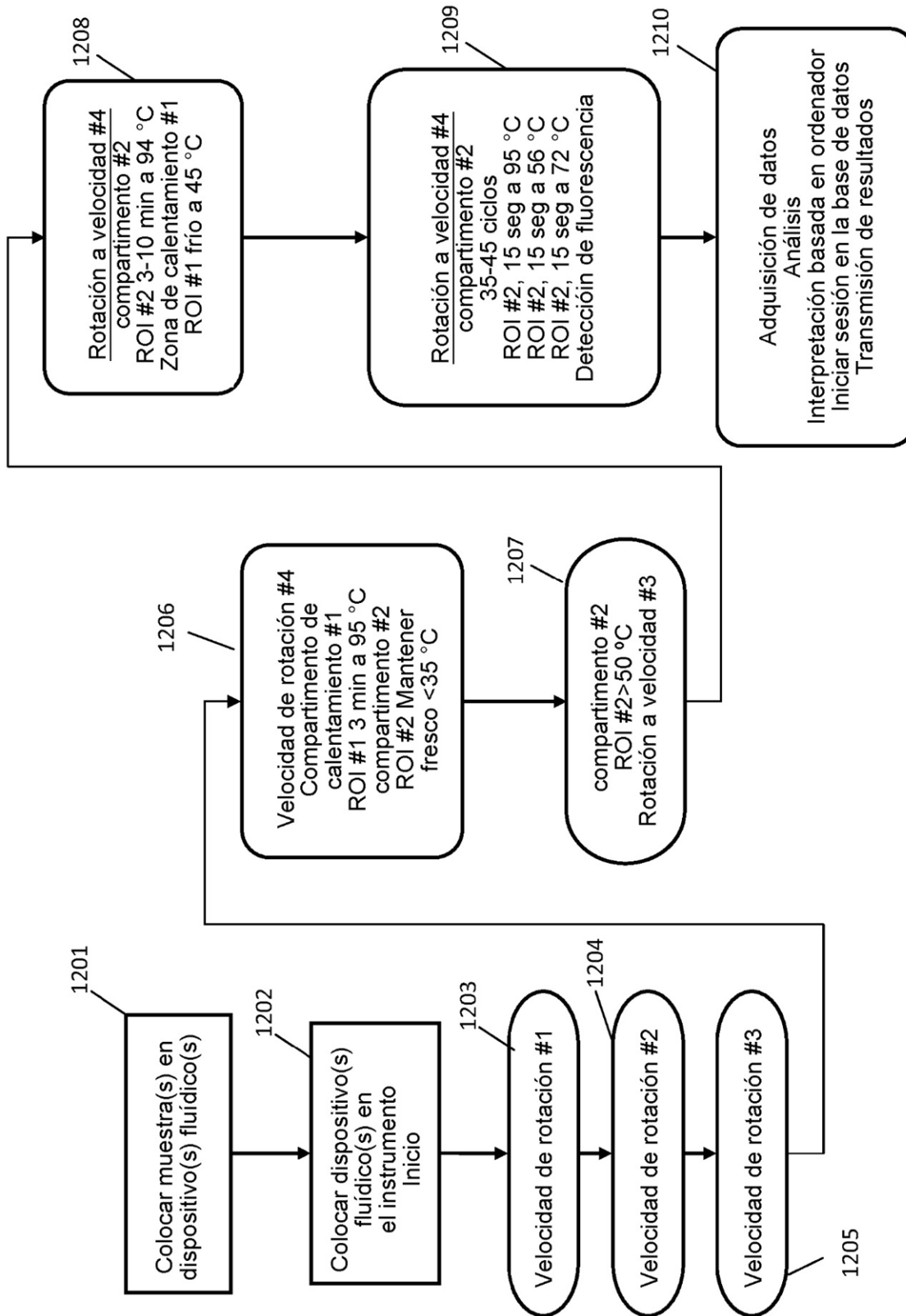


Fig. 29

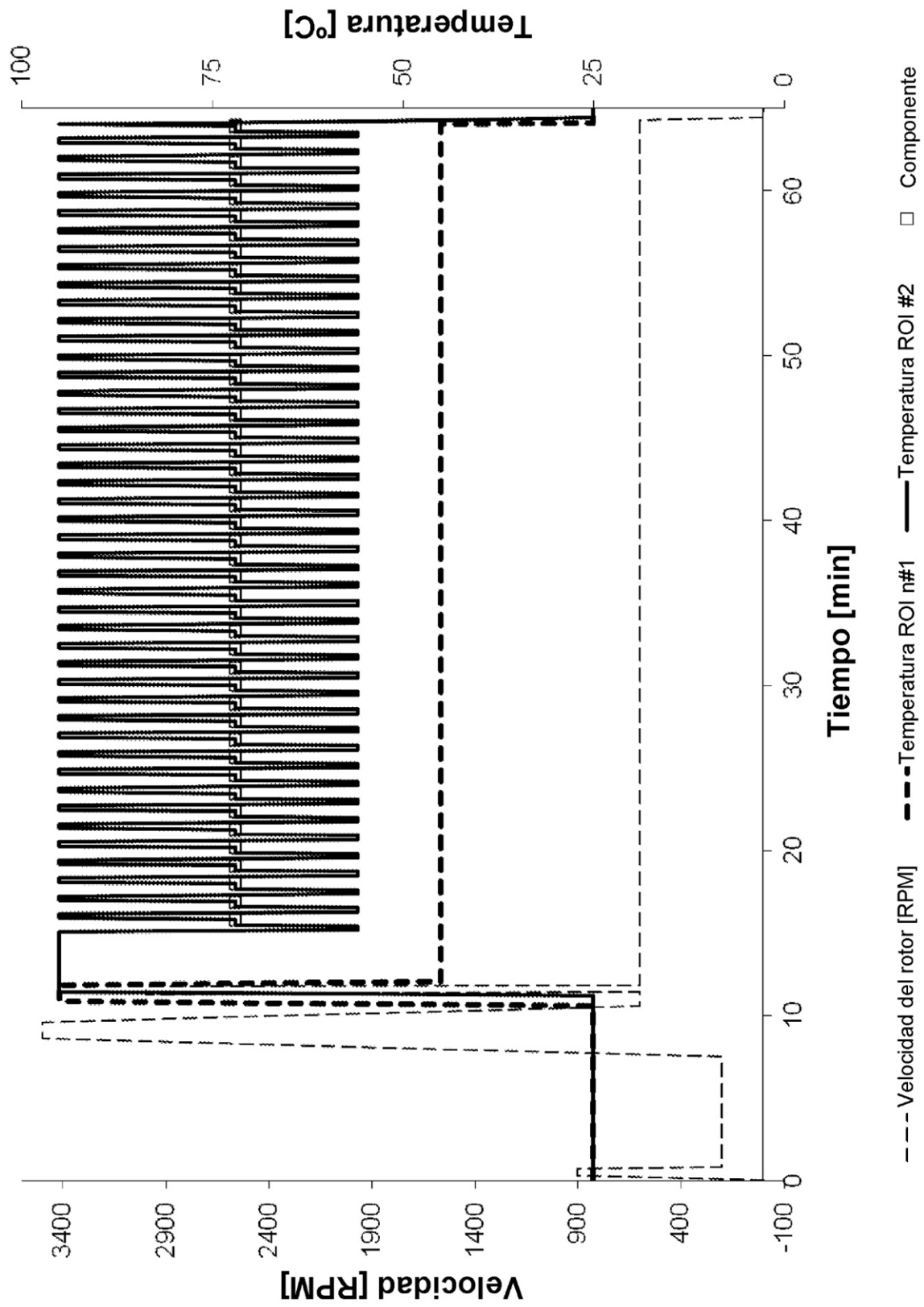


Fig. 30A

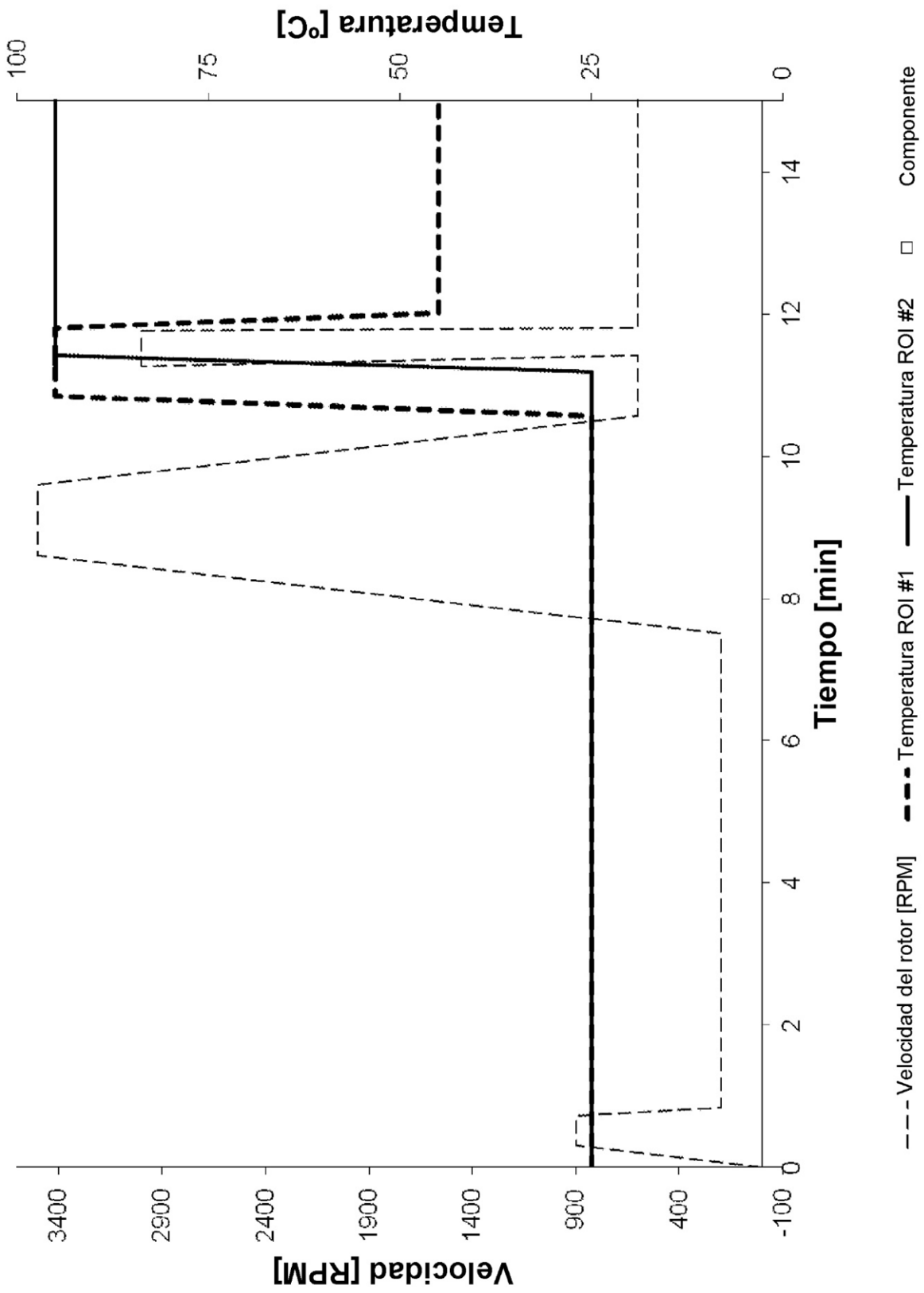


Fig. 30B

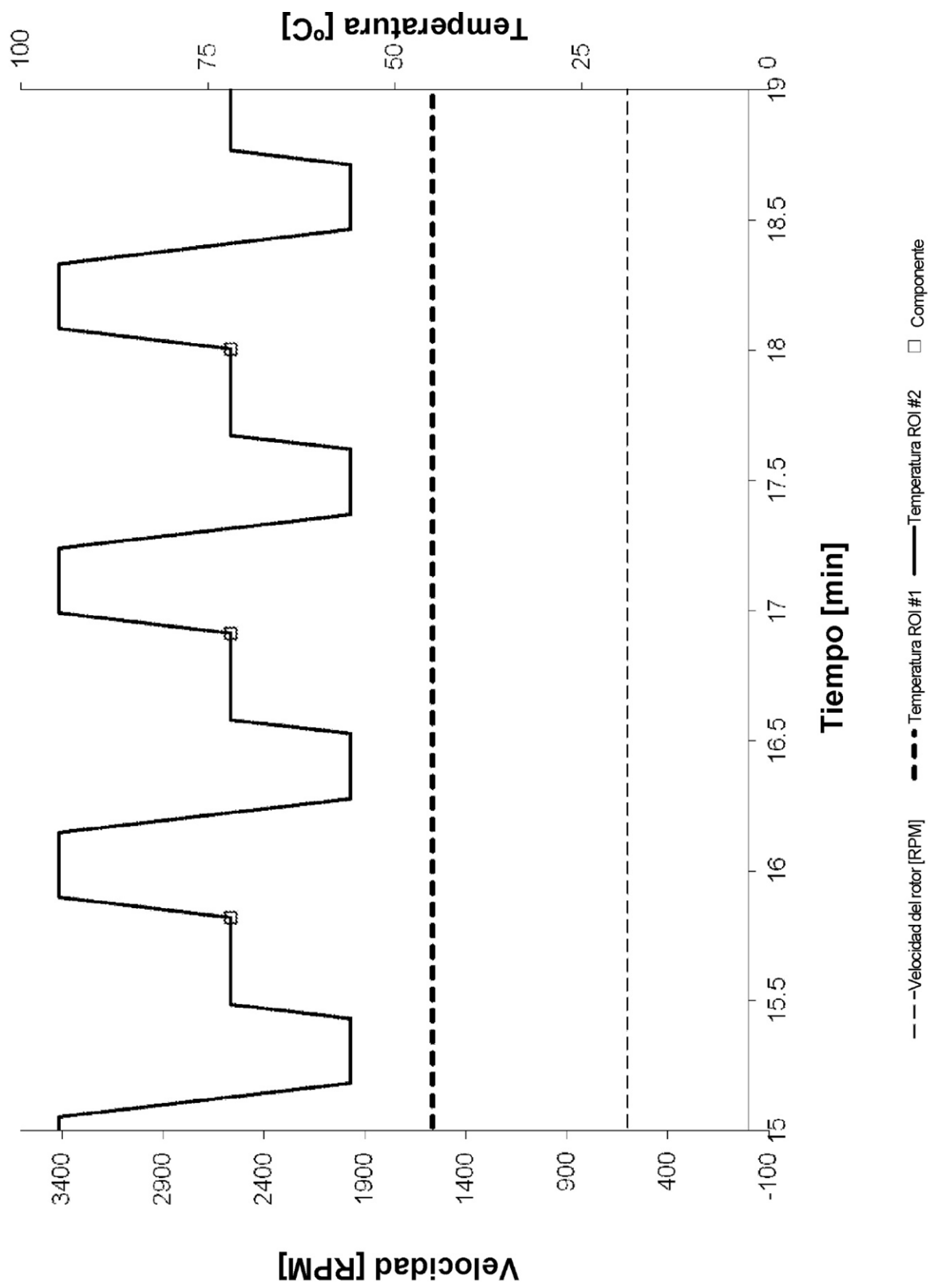


Fig. 30C