



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 295 737**

51 Int. Cl.:
G01N 35/00 (2006.01)
B01L 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Número de solicitud europea: **04015573 .1**
86 Fecha de presentación : **02.07.2004**
87 Número de publicación de la solicitud: **1612560**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **04.01.2006**

54 Título: **Dispositivo para un análisis fiable.**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.04.2008

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.04.2008

73 Titular/es: **F. HOFFMANN-LA ROCHE AG.**
Grenzacherstrasse 124
4070 Basel, CH

72 Inventor/es: **Haack, Carsten y**
Belz, Renato

74 Agente: **Isern Jara, Jorge**

ES 2 295 737 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 para un análisis fiable.

5 El objeto de la presente invención es un dispositivo de diagnóstico para determinar analitos, un método para determinar analitos utilizando dicho dispositivo, un método para el montaje de dicho dispositivo y un instrumento para determinar la presencia de analitos utilizando dichos dispositivos.

Antecedentes de la invención

10 La invención resulta útil en el campo de los analíticos, donde un dispositivo que contiene reactivos inmovilizados unidos a una superficie interior de dicho dispositivo está para contactar con una muestra para ligar un componente de dicha muestra a dicho dispositivo. En particular, la invención resulta útil en el campo de diagnósticos moleculares, es decir, el análisis de componentes de ácido nucleico en muestras, como por ejemplo, fluidos corporales humanos o en
15 muestras medioambientales.

Debido al progreso conseguido en el incremento de la sensibilidad en ensayos mediante la amplificación de secuencias de ácido nucleico, por ejemplo, mediante la Reacción en cadena de la polimerasa (PCR), tal como se describe en EP 0 201 184 y la detección posterior como se describe en EP 0 200 362 se ha establecido el diagnóstico molecular como una herramienta para determinar el ácido nucleico que contiene parámetros, como virus y bacterias, por ejemplo el virus de la Hepatitis B y el VIH. Ensayos basados en la PCR se desarrollaron utilizando el así denominado formato heterogéneo como se describe en EP 0 420 260. En esos ensayos, ejemplificados en ensayos de AMPLICOR de Roche, secuencias de ácido nucleico de un analito definido, como el virus de la Hepatitis B, son amplificadas e inmovilizadas en las así llamadas probetas de captura contenidas en un tubo. Debido a la baja difusión de los ácidos nucleicos en las
20 probetas de captura, la inmovilización requerida algunas veces alcanza la cumplimentación. Esta desventaja se evitó por los así denominados ensayos homogéneos que no necesitan probetas inmovilizadas para la detección. Un método de ejemplo se describe en EP 0 543 942.

Se han desarrollado instrumentos para realizar PCR para llevar a cabo de forma conveniente los ciclos térmicos requeridos necesarios para fortalecer el primer en el ácido nucleico objeto, extender el primer utilizando el ácido nucleico objeto como un modelo, y separar los filamentos de ácido nucleico para proporcionar filamentos individuales que pueden ligar de nuevo el primer. Un termociclo útil para conducir termociclos se describe en EP 0 236 069.

Debido a la capacidad de la PCR para amplificar secuencias de ácido nucleico que están presentes en muestras en solamente periodos de minuto y para amplificar diferentes secuencias en una muestra, se desarrollaron ensayos para amplificar y detectar varios analitos o parámetros independientemente en paralelo. En particular, si se sospecha de que más de diez analitos están contenidos y detectados en una muestra, esos ensayos requieren el uso de un número correspondiente de probetas, preferentemente inmovilizadas para separar emplazamientos de una superficie sólida. La fabricación de chips que contienen un gran número de agentes de unión se describe en EP 0 476 014.

40 Un dispositivo para soportar chips y conducir reacciones analíticas en dicho dispositivo se propuso en EP 1 161 989. Un primer método para procesar líquidos en dicho dispositivo se describe en EP 1 226 863. En este método, un cartucho que contiene un chip se mueve hacia atrás y hacia adelante para mezclar el líquido contenido en dicho cartucho. En EP 1 224 976 se describe un método para mezclar un cartucho en el que el cartucho es balanceado hacia atrás y hacia delante para obligar al líquido a pasar por la superficie del chip. Esos dispositivos tienen cavidades muy delgadas para evitar el transporte de líquido desde grandes distancias hacia la superficie del chip. Las cavidades delgadas tienen la desventaja de que el llenado con líquido requiere canales de entrada y salida relativamente complicados y adaptadores para conectar el canal de entrada y salida a un sistema de fluido.

50 En EP 0 695 941 se describe un dispositivo plano que contiene un chip que tiene una cavidad plana, canales de entrada y salida que están dispuestos sobre la superficie plana del dispositivo. De nuevo, el dispositivo es difícil de llenar porque los canales de entrada y salida necesitan estar fuertemente conectados al instrumento. EP 0 695 941 describe un dispositivo en el que un soporte plano está fijado a un cuerpo de un dispositivo que utiliza un adhesivo que se aplica a una distancia alrededor del soporte plano y el cuerpo del dispositivo. Esto requiere la alineación del soporte y el dispositivo antes de aplicar el adhesivo. Los adhesivos generalmente liberan disolventes orgánicos que pueden dañar los reactivos en el soporte. US 6,043,080 describe un dispositivo plano que contiene un chip. Este dispositivo
55 sufre de nuevo las mismas desventajas.

Otro dispositivo para soportar chips se describe en EP 1 419 821. Ya que este dispositivo tiene una cavidad más delgada, la difusión de componentes de la muestra de líquido contenida en el interior hacia la superficie activa lleva demasiado tiempo para diagnósticos rutinarios. La referencia describe el uso de movimientos vorticales de la muestra de líquido para la mezcla.

65 Los dispositivos actualmente conocidos tienen la desventaja de que o bien son relativamente difíciles de fabricar, no proporcionan la retención fiable de la muestra y los reactivos o bien utilizan coadyuvantes que pueden dañar los reactivos contenidos en el soporte.

Breve descripción de los dibujos

En la figura 1 se muestra un dispositivo (1) según la invención que contiene un chip (soporte plano (2)) que tiene reactivos inmovilizados sobre su superficie en una vista explosionada.

La figura 2 muestra secciones transversales de un dispositivo ejemplar que muestra en particular el reborde (12) según la invención y la parte del fondo del dispositivo sin el chip insertado. El área en gris ligero que se extiende desde el reborde hacia el exterior del dispositivo marca el recorrido de inyección del material utilizado para producir el reborde.

La figura 3a muestra de forma esquematizada una construcción de montura de inmovilización.

La figura 3b muestra una montura de inmovilización ejemplar (4).

La figura 4 muestra de forma esquematizada un instrumento de acuerdo con la invención a partir de una vista superior.

La figura 5 muestra el dispositivo de acuerdo con la invención en una vista cortada a través de las esquinas del soporte.

Descripción de la invención

En una primera realización, la invención está dirigida a un dispositivo de diagnóstico (1) que comprende una entrada de muestras y una cámara de procesado (13) que tiene una porción de ventana (8) y un soporte plano (2) que tiene una superficie frontal orientada hacia dicha cámara de procesado (13), teniendo dicha superficie frontal una superficie activa que contiene un reactivo de diagnóstico inmovilizado en dicha superficie frontal activa y una superficie frontal extendida, en el que dicha porción de ventana (8) contiene además una porción de reborde (12) orientada dicha superficie frontal extendida que sella dicha cámara (13) versus dicho soporte (2) a través de dicha superficie frontal extendida, comprendiendo además una montura de inmovilización (4) que empuja el soporte hacia dicha porción de reborde (12), comprendiendo dicha montura de inmovilización (4) clips (9) que se extienden sobre las esquinas (6) de dicha montura (4), siendo dichos clips (9) más flexibles que la montura.

En otra realización, la invención está dirigida a un método para montar un dispositivo de diagnóstico (1) que comprende una cámara de procesado (13) que tiene una porción de ventana (8) y un soporte plano (2) que tiene una superficie frontal, una superficie posterior y una o más superficies laterales, teniendo dicha superficie frontal una superficie activa que contiene un reactivo de diagnóstico inmovilizado en dicha superficie frontal activa y una superficie frontal extendida, que comprende las etapas de:

- proporcionar un dispositivo que comprende una cámara de procesado (13) que tiene dicha porción de ventana (8) una porción de ventana abierta (8) que contiene además una porción de reborde (12),
- proporcionar dicho soporte plano (2),
- situar la superficie frontal de dicho soporte (2) en dicha porción de reborde (12) tal que dicha superficie frontal está orientada hacia dicha cámara de procesado (13) y dicho reborde (12) sella dicha cámara (13) versus dicho soporte (2) a través de dicha superficie frontal extendida,
- proporcionar una montura de inmovilización (4) que tiene clips (9) que se extienden sobre las esquinas (6) de dicha montura, siendo dichos clips más flexibles que la montura, y
- presionar dicha montura de inmovilización (4) hacia el dispositivo (1) tal que es retenida en una posición que fija el soporte (2).

En otra realización, la invención está dirigida a un método para determinar la presencia de un analito en una muestra que comprende las etapas de:

- proporcionar un dispositivo (1) según la invención,
- situar dicha muestra en dicho dispositivo (1) tal que dicha muestra está en contacto con la superficie activa de dicho soporte (2),
- reactivar dicho analito con dicho reactivo de diagnóstico,
- determinar los resultados de dicha reacción como una medición de la presencia de dicho analito en dicha muestra.

ES 2 295 737 T3

En otra realización, la invención está dirigida a un instrumento de diagnóstico para determinar la presencia de un analito en una muestra que comprende:

- uno o más dispositivos (1) según la invención,
- un módulo para entrar una muestra (101) en dicho dispositivo (1), y
- un módulo para determinar los resultados (108) de la reacción de analitos en dicha muestra con dichos reactivos.

Otro objeto de la invención es un artículo de fabricación para cerrar un soporte plano (2) en un dispositivo analítico de acuerdo con la invención que comprende una montura sensiblemente rectangular (4) y dos o más clips que se extienden sobre las esquinas del rectángulo siendo dichos clips (9) más flexibles que la montura (4).

15 Descripción detallada de la invención

Chips para analizar componentes de una muestra en su superficie son bien conocidos, por ejemplo en EP 0 476 014. Habitualmente son placas planas hechas de vidrio u otro material inerte a la muestra y con los reactivos utilizados para reaccionar la muestra y sus componentes. El soporte puede tener dimensiones laterales inferiores a 20 mm. En la presente invención, es posible analizar reacciones que tengan lugar en soportes que tienen lados incluso inferior a 6mm. Uno de sus lados, preferentemente el lado frontal, está al menos parcialmente recubierto por reactivos que están diseñados para unir los componentes de la muestra que tiene que ser analizada, en el caso de estar presentes. El área de dicho lado que está recubierto por dichos reactivos tiene alrededor de 4 mm² a 2 cm² y se denomina superficie activa. Preferentemente, la superficie recubierta es plana. Los reactivos de unión son preferentemente específicos para los componentes que tienen que analizarse. En el caso de que tengan de determinarse anticuerpos, el reactivo de unión puede ser un antígeno que puede estar unido por el anticuerpo. Para el análisis de ácidos nucleicos, el reactivo de unión puede ser un ácido nucleico que comprenda una secuencia que puede ser hibridizada en el ácido nucleico que tiene que determinarse. En el caso de ácidos nucleicos, los ácidos nucleicos inmovilizados en la superficie son habitualmente oligonucleótidos, es decir, polinucleótidos químicamente sintetizados. Métodos para su síntesis se describen en EP 0 476 014. Dependiendo del número de analitos que tengan que determinarse en el dispositivo se inmoviliza el correspondiente número de diferentes reactivos de unión en la superficie. Los reactivos están convenientemente dispuestos de una manera definida y fijada geoméricamente. Preferentemente, diez o más, más preferentemente entre cien y un millón, de agentes de unión diferentes están inmovilizados en un chip. Esas disposiciones se denominan con frecuencia matriz. Cuando se fabrica el soporte, inevitablemente hay una parte de la superficie frontal que no está recubierta por los reactivos de unión. Esta parte de la superficie frontal se denomina la superficie frontal extendida. Habitualmente, envuelve la superficie activa. Puede tener una amplitud de banda inferior a 3 mm., preferentemente inferior a 1 mm. Además, el soporte tiene convenientemente una superficie posterior y superficies laterales. La superficie posterior indica el exterior del dispositivo y es accesible a los medios de detección a través de una ventana como se explica a continuación.

El chip preferentemente es transparente a la radiación utilizada para detectar cualquier señal creada o ligada a la superficie del chip indicando al interior de la cavidad.

El dispositivo de acuerdo con la presente invención tiene, por lo general, un cuerpo tubular con una pared inferior, paredes laterales y una abertura superior que puede estar cerrada con una tapa (3) o un cierre estanco. El cuerpo preferentemente tiene una cavidad con un volumen de 10 a 800 preferentemente de 20 a 200µl. Esta cavidad es utilizada a modo de una cámara de proceso para tratar el fluido de muestra. De este modo, está diseñada para que sea al menos tan grande como el volumen del fluido de muestra a ser transferido en el dispositivo para el tratamiento. Preferentemente, el volumen es al menos un 10% mayor que el volumen del líquido a ser transferido. La cavidad tiene además una forma que permite que el líquido de muestra contacte por completo con los reactivos de unión sobre la superficie del chip. El chip está preferentemente situado en una de las paredes laterales del dispositivo, tal que la cavidad es accesible para un dispositivo de pipeteado para aspirar y dispensar el líquido de muestra y/o cualquier reactivo sin pipetear con el contacto de la superficie. La forma de la cavidad es tal que existe una distancia de al menos 1,5 mm. desde la superficie que soporta el reactivo de unión a la pared más cercana de la cavidad. Preferentemente, la cavidad tiene un diámetro de al menos 3 mm. en la región del chip. La longitud de dicha cavidad desde la base a la abertura es de al menos 5 mm. El cuerpo del dispositivo está preferentemente hecho de polímeros termoplásticos, más preferentemente de policarbonato, preparado mediante moldeo por inyección.

En una realización preferida, la cavidad tiene la forma de un prisma rectangular cuyas longitudes de sus lados son iguales o del mismo orden de magnitud. Este prisma rectangular tiene una longitud lateral de 3 o más milímetros.

En una realización preferida, el dispositivo de la presente invención tiene una geometría similar a la del dispositivo según EP 1 419 821, que se incorpora en esta memoria a modo de referencia para describir las características y la fabricación de dicho dispositivo. Este dispositivo tiene la ventaja de que la mezcla con movimientos vorticales es muy eficiente en dicha cámara.

La tapa del dispositivo está preferentemente fijada en el dispositivo para cerrar la abertura y si no está troquelada. La fijación está preferentemente tan ajustada que la tapa no puede ser extraída sin la destrucción bien del dispositivo o

ES 2 295 737 T3

bien de la tapa. Un método preferido y medios para fijar firmemente la tapa al dispositivo consisten en una conexión a presión. La tapa puede comprender medios para recoger la tapa y el dispositivo mediante un módulo de transferencia. Formas de tapa adecuadas para ser recogida por medios de transferencia automatizados se describen en EP 907083, que se incorpora en esta memoria a modo de referencia.

5

En una realización preferida, la tapa comprende una membrana que separa la cámara de procesado del medio exterior. Más preferentemente, la membrana es perforable. Materiales para dichas membranas perforables incluyen silicona y polímero. Más preferido son los materiales autosellables, tales como elastómeros, más preferido TPE (elastómero termoplástico, caucho procesable por fusión). Si se perfora, el material debería retener más del 90% del líquido cuando se calienta durante 16 horas a 60°C. La tapa está preferentemente fabricada mediante moldeo por inyección con 2 componentes. Un encaje perfecto en la cámara de procesado puede conseguirse, si el diámetro de la tapa en la región orientada hacia la cámara es ligeramente más grande que el diámetro interior de la cámara en esta región, tal que se mantiene una ligera presión sobre el diámetro interior de la cámara.

15 Preferentemente, la porción de reborde contiene una pared circunferencial hecha de un material elástico. Además, los materiales son preferentemente inertes a las muestras clínicas y a los reactivos utilizados para hibridar y detectar ácidos nucleicos. Son preferidos los materiales que son inertes a cambios de forma irreversibles a temperaturas entre 4 y 95°C. Dicho material es seleccionado a partir del grupo de las siliconas o polímeros, más preferido TPE (elastómero termoplástico). Estos materiales tienen la ventaja de que son procesables por fusión y pueden ser producidos dentro del mismo proceso como el cuerpo del dispositivo. Además preferentemente, el reborde tiene un perfil plano y lineal que refleja por completo la forma de la superficie de dicho chip. Ya que la superficie del chip es básicamente plana, el perfil del reborde es esencialmente lineal y prácticamente envuelve la superficie activa del chip sin interrupción. En la figura 3, se aportan perfiles ejemplares del reborde. Perfiles preferidos no presentan bordes en el contacto con la superficie del chip. Más preferentemente, la sección transversal del reborde que indica la superficie del chip es esencialmente curvada. Secciones transversales de ejemplo se muestran en la figura 2.

20 El reborde puede convenientemente estar preparado de una forma separada del dispositivo, y a continuación combinarse con el dispositivo, por ejemplo, mediante la preparación un anillo del reborde material y un dispositivo que tenga una cavidad para alojar el anillo y a continuación presionar el anillo de reborde en la cavidad en el dispositivo. En una forma más preferida, el dispositivo que tiene una cavidad se prepara de forma convencional, y a continuación el reborde es moldeado por inyección en la cavidad del dispositivo utilizando una forma.

Otra característica preferida del dispositivo según la invención es que se proporciona un tope fijo en el dispositivo en el área opuesta a la superficie frontal extendida. Este se utiliza para definir una posición del soporte en el dispositivo, tanto para la detección precisa como para el ajuste del encaje. El tope fijo está posicionado tal que cuando el soporte es empujado hacia el reborde y comprime el reborde, el soporte detiene el proceso cuando alcanza el tope fijo. El tope fijo preferentemente envuelve el reborde opuesto a la superficie frontal extendida, aunque no hace falta que esté sellado de forma ajustada. Preferentemente, está hecho del mismo material que el dispositivo y es una parte solidaria del dispositivo.

35

En una realización preferida, el dispositivo según la invención comprende una montura de inmovilización que empuja el soporte hacia dicha porción de reborde. Con esta característica, el soporte está presionado hacia dicha porción de reborde de tal modo que no existe una distancia entre dicho reborde y la parte opuesta de la superficie. Además, la montura de inmovilización permite que la porción de reborde se comprima por la presión impuesta contra el soporte. Esto asegura que el reborde encaje en dicha superficie por encima de la temperatura total y el rango de presión tal que el líquido no se escape del dispositivo a través de la conexión de dicho reborde y dicho soporte. La presión impuesta contra la superficie preferentemente es entre 1 y 1000 mbares. La montura de inmovilización permite además el acceso de radiación electromagnética hacia y desde la superficie activa del soporte. De este modo, la montura puede tener una ventana en su estructura que reensamble la forma de la superficie activa o ligeramente más grande, es decir, hasta un 100% más grande. Cuanto más pequeña es la parte de la montura que cubre la superficie posterior del soporte, mejor es la montura desde el punto de vista de los costes elevados del soporte y la compacticidad deseada del dispositivo. La ventana tiene sensiblemente límites interiores rectangulares o cuadrados, que reflejan principalmente los límites exteriores de la superficie activa del soporte. Además, la montura de inmovilización tiene preferentemente una estructura sensiblemente plana. Preferentemente, en los límites interiores de la ventana, sobresale de la superficie posterior del soporte menos de 0,3 mm., más preferentemente entre 0,01 y 0,3 μm . La montura de inmovilización está hecha preferentemente de un material que es inerte por encima del rango de temperaturas dado anteriormente durante al menos 24 meses contra la deformación irreversible y pérdidas de pre-tensión de más de un 10%, más preferentemente más de un 5%. El material tiene preferentemente un coeficiente de alargamiento inferior a 20 $\mu\text{m}/\text{m}^\circ\text{C}$. La montura de inmovilización puede estar hecha de un solo material o puede ser un compuesto. Preferentemente, la montura contiene un tramo de metal, preferentemente acero, más preferentemente acero inoxidable, como los metales que tienen generalmente una alta resistencia a la tensión por encima del rango de temperaturas completo y que son estables a la destrucción. Otros materiales útiles para la construcción de las monturas de inmovilización son los plásticos. Particularmente preferidos son los compuestos de metal y plástico, es decir, acero y polímero. Resulta preferida, la montura de inmovilización hecha de acero con un espesor de 0,1 mm.

40

La montura de inmovilización es otro objeto de la invención. Es un artículo de fabricación utilizado para fijar el soporte a la porción de reborde del dispositivo. Comprende una montura sensiblemente rectangular y dos o más clips que se extienden sobre las esquinas del rectángulo que son más flexibles que la montura.

ES 2 295 737 T3

El término rectangular significa la descripción de una forma geométrica que tiene al menos cuatro lados, preferentemente cuatro lados. Esos lados pueden ser idénticos (formando un cuadrado) o de longitud diferente. Preferentemente, lados adyacentes forman ángulos de 90°, formando esquinas. De este modo, la montura tiene preferentemente cuatro esquinas. Además, la montura puede mostrar cavidades o protuberancias en los lados o las esquinas. Estas cavidades y/o protuberancias pueden ser ventajosamente utilizadas como medios para posicionar la montura de inmovilización dentro del dispositivo. Otro uso es ajustar la rigidez de la montura para proporcionar la flexibilidad para torcer la montura de manera que pueda encajar a presión en las respectivas cavidades (5) del dispositivo mientras mantiene una fuerza para alojarse dentro de las cavidades (5).

La montura de inmovilización comprende medios para empujar el soporte hacia el cuerpo del dispositivo si la montura de inmovilización está insertada en el dispositivo. Esto está preferentemente hecho por clips que se extienden sobre las esquinas de la montura. Preferentemente, los clips son más flexibles que la montura, tal que los clips se deforman cuando la montura de inmovilización se coloca en el dispositivo. La fuerza aplicada en el soporte por los clips puede ser por lo tanto descrita como un tipo de fuerza elástica. Mientras que algunas realizaciones no necesitan una elevada presión puede ser suficiente el uso de dos clips, es decir, en esquinas opuestas de la montura, especialmente preferido es el uso de tres o incluso cuatro clips que se extienden sobre las esquinas, es decir, que se extienden sobre todas las esquinas.

En una realización preferida, un clip es una abrazadera que tiende un puente sobre una esquina mediante la conexión de dos lados adyacentes del rectángulo. Incluso más preferido, hay una distancia entre cada clip y la esquina que sobresale. Esta distancia puede tener diferentes funciones en la montura de inmovilización. En una primera realización, puede ser utilizada para posicionar la montura de inmovilización en el dispositivo, por ejemplo al insertar una guía en la distancia, forzando la montura de inmovilización en la posición deseada.

La fijación de la montura de inmovilización en el dispositivo puede realizarse por medios proporcionados en la montura de inmovilización. Esos medios de fijación pueden virtualmente estar en todas las posiciones que no dificultan la detección óptica sobre la superficie activa del soporte. Más preferido es el área de la superficie posterior opuesta a la superficie frontal extendida sobre el soporte. Se proporcionan medios preferidos mediante o sobre las esquinas de la montura. En una realización muy preferida, las propias esquinas son utilizadas para fijar la montura al dispositivo. Para ello, las esquinas tienen una forma o el correspondiente lugar en el dispositivo tal que se ajustan conjuntamente para fijar la montura. Sin embargo, existen otras opciones en la montura que pueden utilizarse para fijar la montura al dispositivo, de los laterales exteriores o del interior de los límites interiores de la montura. En este caso, más preferentemente, los espacios formados entre los clips y las esquinas de la montura se utilizan para fijar la montura. Esto puede realizarse al proporcionar medios en el dispositivo que sobresalen en el espacio, y que incluso contienen un elemento para la conexión a presión con un elemento sobre la montura, preferentemente en el perímetro del espacio.

Para conseguir la fijación del soporte en el dispositivo, los clips se solapan con la superficie posterior del soporte por fuera de la superficie activa, preferentemente en las esquinas del soporte. Es preferido que solamente los clips solapen el soporte y no otras partes de la montura de inmovilización. Como resultado, se forma un ventana por dicha montura y los clips que es superior a un 99%, más preferentemente superior a un 99,5%, de la superficie del soporte plano. La ventana preferentemente tiene además esquinas sensiblemente redondeadas, indicando las esquinas de la montura. Sensiblemente redondeado quiere decir que la esquina no contiene ángulos con más de 70°, más preferentemente no más amplios de 45°. Más preferentemente, la esquina no tiene ángulos macroscópicos, aunque está suavemente curvada. La ventaja de tal forma de las esquinas es que esquinas sensiblemente redondeadas permiten el uso más eficiente de la ventana para la detección de señales procedentes de la superficie activa del soporte. Ejemplos de trabajo a cerca de tales monturas de inmovilización (4) se muestran en las figuras 3a y 3b. Más preferido es el artículo de la figura 3b, que es plano y fácilmente fabricado y manipulado.

El artículo de fabricación puede ser obtenido mediante métodos que son generalmente conocidos para la fabricación de artículos planos. El método particular depende del material utilizado para la fabricación. En el caso de monturas metálicas, la montura de inmovilización puede ser troquelada a partir de una placa de metal. Otro modo es grabando la forma a partir de una placa de metal. En caso de una montura de inmovilización compuesta, los procesos de fabricación pueden comprender diversas etapas posteriores, incluyendo el moldeo por inyección, troquelado o/y grabado.

Se ha demostrado que es particularmente ventajoso si la montura de inmovilización no sobresale más de 1 mm, más preferentemente no sobresale más de 0,5 mm por encima de toda la planicie sobre el lado del dispositivo que presenta el soporte. Esto es muy ventajoso en la conveniente detección de la señal proporcionada en la superficie activa del soporte. La irradiación se realiza preferentemente mediante radiación homofocal. La detección de la luz resultante puede ser hecha por CCD. Tal método utiliza un cono para incidir luz focalizada sobre posiciones específicas en la superficie interior del soporte (abertura óptica). Por ello, la ventana en la montura debe ser más grande que la superficie activa dependiendo del ángulo del haz de luz incidente.

En las figuras 1, 3a y 3b se muestran monturas preferidas.

En la figura 1, en la izquierda, se muestra una montura que comprende una ventana (8), labios (6) para acoplarse en las cavidades (5) en el dispositivo (1) y retenedores (9) para contactar con el soporte. En la figura 3a, un dibujo esquemático muestra la montura (4), los retenedores (9), la ventana (8) y los medios de posicionamiento (10). La

ES 2 295 737 T3

montura es el interfaz en el cuerpo del dispositivo de diagnóstico y está conectada al cuerpo. La montura también es soporte de las abrazaderas (metálicas) elásticas. Las abrazaderas (metálicas) elásticas son el interfaz en el soporte (chip) y están fijando el dispositivo con una fuerza constante independiente del tiempo (sin fluencia) en el reborde. Las abrazaderas metálicas están conectadas a la montura. Los marcadores de posicionamiento permiten una conexión bien definida de la montura y la cámara de proceso y una conexión bien definida de las abrazaderas metálicas y el dispositivo de diagnóstico.

La montura de inmovilización puede estar preparada de acuerdo con métodos conocidos. Si está hecha de metal, una placa de metal es convenientemente cortada con la forma, es decir, troquelando una pieza que tenga la forma exterior deseada y la porción de ventana a partir de una placa de metal delgada, y a continuación la pieza es embutida para proporcionar la forma final en tres dimensiones. Si está hecha de un compuesto, cualquiera de las partes metálicas se forman tal como se ha descrito anteriormente, y a continuación se moldea la parte plástica por inyección rodeando la parte de metal.

La montura de inmovilización comprende preferentemente medios para unirse de forma reversible o irreversible al dispositivo. Esto puede realizarse con partes que encajen en las respectivas cavidades (5) del dispositivo. Preferentemente, la montura de inmovilización tiene medios a presión para encajar en las cavidades (5) del dispositivo de tal modo que la montura no pueda ser extraída del dispositivo sin destruirse de forma irreversible el dispositivo o la montura.

La invención tiene la ventaja de que a través de la fusión en el soporte con materiales termoplásticos los termoplásticos tienden a deformarse a temperaturas más altas y de este modo no resultan un cierre estanco fiable. Además, tienen que calentarse de forma conjunta con el soporte para cerrar de forma apretada el soporte en el dispositivo. Esto puede destruir o al menos afectar las propiedades de unión de la superficie activa. Las colas tienen generalmente la desventaja de que tienden a colocar monómeros libres que interfieren con las condiciones de detección en el dispositivo.

La figura 3 muestra algunas realizaciones ventajosas de monturas de inmovilización. En la figura 3a, se muestran las características esenciales y preferidas de la montura de inmovilización (4) de una forma esquematizada. La referencia está hecha a las referencias numéricas siguientes. En la figura 3b, se muestra una montura de inmovilización particularmente ventajosa. Es esencialmente plana y tiene áreas que tienen las funciones que se han descrito anteriormente. En particular, la ventana tiene esquinas redondeadas proporcionadas por la forma de los clips orientadas hacia la ventana.

La figura 5 muestra un dispositivo (1) según la invención en una vista cortada en el área próxima a las esquinas (6) del soporte plano (2), cortando la superficie frontal extendida y la superficie activa orientada hacia la cámara de procesado (13). La montura de inmovilización (4) empuja el soporte (2) hacia los topes fijos (14) y el reborde (12). Las cavidades (5) en el dispositivo fijan la montura de inmovilización (4) en las 4 esquinas (6) de la montura de inmovilización (4) y están colocadas de tal manera que pueden ser fabricadas mediante moldeo por inyección. Puede verse como la porción de reborde (12) rodea la porción del tope fijo (14). Esto es preferido para proteger el reborde de gran parte del líquido contenido en el dispositivo.

La siguiente forma de la invención consiste en un método para montar un dispositivo de diagnóstico que comprende una cámara de procesado que tiene una porción de ventana y un soporte plano que tiene una superficie frontal, una superficie posterior y una o más superficies laterales, teniendo dicha superficie frontal una superficie activa que contiene un reactivo de diagnóstico inmovilizado en dicha superficie frontal activa y una superficie frontal extendida, comprendiendo las etapas de:

- proporcionar un dispositivo que comprende una cámara de procesado cuya dicha porción de ventana tiene una porción de ventana abierta que contiene además una porción de reborde,
- proporcionar dicho soporte plano,
- situar la superficie frontal de dicho soporte en dicha porción de reborde tal que dicha superficie frontal está orientada hacia dicha cámara de procesado y dicho reborde sella dicha cámara versus dicho soporte a través de dicha superficie frontal extendida.

El soporte está preferentemente fijado al dispositivo al presionar la montura de inmovilización en el dispositivo, tal que es retenida en una posición fijando el soporte, es decir, de tal manera que la montura de inmovilización encaja a presión en la cavidad (5) del dispositivo.

Preferentemente, mediante esta acción de la montura de inmovilización anteriormente mencionada, el soporte está presionado contra la porción de reborde tal que la cámara queda sellada del escape de fluidos. La montura de inmovilización está presionada contra la superficie posterior de dicho soporte tal que la superficie frontal del soporte está presionada firmemente al reborde de dicho dispositivo. Las porciones de la montura de inmovilización que contactan con el soporte son preferentemente retenedores (9) sobre la montura de inmovilización, más preferentemente están situados en las esquinas de la ventana (8). Los medios de fijación preferidos han sido descritos con anterioridad. La fijación más preferida es por vía de una construcción a presión tal que los labios (6) encajen bajo las cavidades (5).

ES 2 295 737 T3

Una ventaja de la presente invención es que proporciona una unión, coloración o lavado eficiente y fiable en dispositivos que contienen reactivos de unión inmovilizados.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para determinar la presencia de un analito en una muestra que comprende las etapas de:

- proporcionar un dispositivo según la invención,
- situar dicha muestra en dicho dispositivo tal que dicha muestra esté en contacto con la superficie activa de dicho soporte,
- reactivar dicho analito con dicho reactivo de diagnóstico,
- determinar los resultados de dicha reacción como una medición de la presencia de dicho analito en dicha muestra.

Una muestra de acuerdo con la invención puede ser cualquier líquido que esté previsto para ser sometido a un análisis. Habitualmente las muestras son fluidos tomados del cuerpo humano, como orina, esputo, sangre, líquido o fluidos derivados del mismo, como suero o plasma. Muestras preferidas son fluidos como los anteriores, pretratados además para un mejor análisis. Las etapas de pretratamiento pueden ser elegidas para el grupo de aislamiento de componentes, extracción de componentes de la muestra, concentración, disolución, adición de reactivos, amplificación de componentes y lisis de componentes. Esas etapas de pretratamiento pueden realizarse manualmente, realizarse sobre otro instrumento, o realizarse en el mismo instrumento. La muestra, de la forma más adecuada, se sitúa en el dispositivo para pipetear el líquido en el dispositivo a través de dicho puerto de entrada. Más preferentemente, el puerto de entrada está hecho de un material que si se perfora una vez, delimita una pequeña abertura, tal que puede también actuar como una salida de gas. Por lo tanto, el puerto de entrada está preferentemente situado en la parte superior del dispositivo, tal que el líquido, es decir, la muestra no alcance el puerto de entrada y de este modo no pueda escapar. Materiales apropiados para dichos puertos de entrada perforables son silicona y polímero, preferentemente TPE (elastómero termoplástico, caucho procesable por fusión).

Con mayor detalle, el método según la presente invención comprende las siguientes etapas:

1. cargar la muestra, los reactivos y los dispositivos de diagnóstico
2. ejecutar la preparación de la muestra (partición mediante un enzima de restricción que produce ácidos nucleicos de longitud definida)
3. si hay un retraso de tiempo enfriar y mantener las muestras
4. transferir la muestra al dispositivo de diagnóstico
5. iniciar la hibridación
6. lavar
7. iniciar la coloración
8. lavar
9. transferir a una estación de detección
10. transferir a una estación de residuos

Una ventaja de la presente invención es que proporciona una ligadura, una coloración o lavado fiables y eficientes en dispositivos que contienen reactivos de unión inmovilizados.

El método para el procesado automatizado de uno o más dispositivos analíticos que contienen reactivos de unión inmovilizados según la invención contiene preferentemente las siguientes etapas:

En una primera etapa, las muestras son cargadas en el área de carga de muestra (101). La figura 4 muestra un soporte con 24 recipientes de muestras, en 4 placas separadas, teniendo cada una 6 cavidades que mantienen una muestra en cada cavidad. Para ello, se abre la incubadora (104), se carga la incubadora con los tubos de muestra. Los reactivos son aspirados desde las botellas de reactivos contenidas en el almacenamiento de reactivos (102). Se abren los tubos con las muestras. Los reactivos son pipeteados, dispensados en cada uno de los tubos de muestras. Los tubos de muestras son cerrados. Las agujas son lavadas. Entonces el tubo de muestra es incubado a 40° y hasta 95°C. Durante esta etapa los ácidos nucleicos amplificados son transformados (partidos) en piezas más pequeñas. En

ES 2 295 737 T3

la etapa de coloración, se realizan las siguientes etapas: Se abre la incubadora, se aspira el reactivo, se abren los tubos de muestra, y se dispensa el reactivo en los tubos de muestra. Los tubos de muestra son cerrados, las agujas lavadas. La mezcla es incubada a 40° y hasta 75°C.

5 Para la unión, se realizan las siguientes etapas: tomar la muestra y un regulador de hibridación, llenar el chip disponible a través de la tapa perforable, recoger y colocar el dispositivo en una estación de hibridación, calentar y mezclar a 60° hasta 16 h.

10 El lavado se realiza tal como sigue: recoger y situar el dispositivo en la estación de lavado, lavar con un regulador de lavado A (múltiples veces) a través de la tapa perforable, mezclar durante el procedimiento de lavado, lavar la aguja cada vez, llenar el dispositivo con el regulador de coloración.

15 Para la coloración se realizan las siguientes etapas: recoger y situar el dispositivo en la estación de coloración, mezclar durante la coloración.

Otro lavado se realiza tal como sigue: recoger y situar el dispositivo en la estación de lavado lavar con un regulador de lavado B (múltiples veces) a través de la tapa perforable, mezclar durante el procedimiento de lavado, lavar la aguja cada vez, llenar el dispositivo de nuevo con el regulador de coloración.

20 La detección se realiza al recoger y situar el dispositivo en una entrada de escáner e iniciar la detección.

En otro aspecto, la invención está dirigida a un instrumento de diagnóstico para determinar la presencia de un analito en una muestra que comprende:

- 25 - uno o más dispositivos según la invención,
- un módulo para entrar una muestra en dicho dispositivo,
30 - un módulo para determinar los resultados de la reacción de los analitos en dicha muestra con dichos reactivos.

Para la ilustración de la invención, se explican detalles preferidos del instrumento en referencia a las referencias numéricas mostradas en la figura 4.

35 Habitualmente, una estación de entrada de muestras define la posición para alojar los contenedores que contienen uno o más recipientes de muestra. Esas posiciones están definidas tal que el instrumento reconoce cada posición a medida que se recibe una muestra concreta. Esta muestra de forma preferente se identifica con una etiqueta, tal como una etiqueta de código de barras que puede leerse antes de que la muestra entre en el instrumento o después o al mismo tiempo con éstos. Esto se realiza con un lector situado de forma adyacente o dentro de la estación de entrada de muestras. En la presente invención, la estación receptora de muestras tiene al menos 4 posiciones para alojar recipientes de muestras, preferentemente al menos 8, más preferentemente entre 8 y 96 recipientes de muestras. De este modo, el instrumento es capaz de manipular un elevado número correspondiente de fluidos de muestra sin ninguna necesidad de detener otro proceso que tenga lugar dentro del instrumento.

45 Un módulo para la entrada de la muestra en el dispositivo puede ser una parte del instrumento que es utilizada para suministrar la muestra en el dispositivo de diagnóstico de la invención. Esto preferiblemente se realiza de forma automática. Medios convenientes son medios para pipetear que pueden estar controlados por un ordenador. Tales dispositivos para pipetear son por lo general conocidos y pueden ser utilizados en la presente invención. De forma conveniente, el dispositivo comprende un alveolo para alojar una punta de pipeta y una bomba para aplicar un ligero vacío en el interior de la punta de pipeta, tal que, si la abertura inferior está en contacto con la muestra, la muestra es succionada en la punta de la pipeta. Después de aspirar la muestra, el dispositivo es desplazado hacia el dispositivo según la presente invención, se inserta la punta de la pipeta a través del puerto de entrada en el dispositivo de acuerdo con la invención. A continuación, el líquido es extraído y dispensado al dispositivo. Lo mismo se realiza para cualquier reactivo necesario para la reacción.

60 Un módulo de transferencia con relación a la invención es una parte del instrumento previsto para transferir un fluido, por ejemplo una muestra de fluido o un reactivo, o/y para transportar un dispositivo, tanto vacío o conteniendo algún fluido, desde una posición a otra posición. De este modo, módulos de transferencia preferidos comprenden una unidad de manipulación de líquido, como un alveolo para alojar una punta de pipeta o una jeringa, y/o un agarrador para encajar en un dispositivo o una parte de un dispositivo, como una tapa. Módulos de transferencia adecuados son bien conocidos. Una combinación de tapa y agarrador preferida se describe en EP 0 907 083.

65 Una estación de tratamiento es una estación diseñada para tratar el dispositivo durante el proceso analítico. Incluye una posición para mantener el dispositivo que contiene la muestra en una posición definida dentro de la estación. Medios de posicionamiento adecuados consisten en cavidades en la estación, definiendo un soporte para el dispositivo. En una realización muy preferida, la estación de tratamiento comprende un soporte del dispositivo, a continuación denominado soporte dispó, que tiene aberturas para alojar uno o más, preferentemente dos o más, más preferentemente

ES 2 295 737 T3

entre 4 y 48 dispositivos. La forma interior de la cavidad preferentemente imita la forma exterior del dispositivo, al menos en la parte del dispositivo que está prevista para ser tratada en la estación de tratamiento específica, de tal modo que el dispositivo no puede escapar de forma imprevista de la estación de tratamiento durante el tratamiento.

5 Estaciones de tratamiento preferidas son seleccionadas a partir de estaciones de unión, estaciones de coloración y estaciones de lavado, o cualquier combinación de éstas, como una estación de unión y coloración combinadas, una estación de coloración y lavado combinadas, una estación de unión y lavado combinadas y una estación de unión, coloración y lavado combinadas. El diseño de dicha estación viene determinado por su función. De este modo, las funciones de la estación de tratamiento son seleccionadas a partir de la función de unión, coloración y lavado.

10 En una primera realización preferida, una primera estación de tratamiento es una estación de unión. Una estación de unión preferentemente proporciona todas las condiciones necesarias para la unión eficaz de componentes de la muestra en uno o más de los reactivos de unión inmovilizados en el dispositivo. La unión eficaz preferentemente se consigue al mantener la muestra dentro del dispositivo a una temperatura establecida. Las temperaturas preferidas para unir ácidos nucleicos en probetas de captura están entre los 20 y 95°C, más preferentemente entre los 40 y 60°C. Para alcanzar la temperatura prevista, la estación de unión preferentemente tiene un elemento de calentamiento, como un calentador con resistencia, un calentador Joule o un elemento de Peltier. Para el mantenimiento de una temperatura deseada, la estación puede contener medios aislantes alrededor del dispositivo o/y el calentador. Dichos medios aislantes pueden estar hechos de poliestireno u otros plásticos aislantes y pueden estar dispuestos dentro de una cobertura.

20 En una segunda realización, la estación de tratamiento es una estación de coloración. La coloración es un proceso para visualizar cualquier componente unido a los reactivos de unión inmovilizados en el dispositivo. Principalmente se utiliza en el caso de que los componentes no sean directamente detectables, aunque necesita reactivos adicionales para desarrollar una señal. Tales reactivos pueden ser compuestos que sean capaces de unir los componentes unidos al dispositivo. En un ensayo a modo de ejemplo, los componentes de la muestra a ser analizada son ácidos nucleicos etiquetados con biotina. En este caso, la coloración puede estar hecha mediante el contacto de la muestra con un conjugado de avidina o streptavidina y una etiqueta fluorescente. Después de la cumplimentación de la reacción de unión de biotina en (strept-)avidina el complejo resultante tendrá características fluorescentes.

30 En una tercera realización, la estación de tratamiento es una estación de lavado. El lavado es un proceso para eliminar los componentes indeseados de la muestra de los componentes unidos. Para conseguirlo, después de la cumplimentación de la reacción de unión el líquido es eliminado del dispositivo, mientras que cualquier componente unido por los reactivos de unión permanecerá en el dispositivo. Un líquido de lavado se añade al dispositivo para diluir además cualquier componente indeseado restante que pueda estar adherido aún al dispositivo. El líquido de lavado es eliminado del dispositivo junto con los componentes indeseados. Este proceso preferentemente se repite con tanta frecuencia como sea necesaria para eliminar los componentes indeseados en una concentración sin interferir con la determinación del analito previsto. El líquido de lavado tiene una constitución química que no afecta sustancialmente la unión del analito a determinar.

40 Una estación de detección es una parte del instrumento equipado con una unidad para detectar una señal recibida por parte de la muestra tras la estimulación de la muestra. Medios para estimular una muestra comprenden irradiación por radiación electromagnética, por ejemplo luz apropiada para excitar un componente en el dispositivo que sea una medición de la presencia, ausencia o cantidad presente del analito. En una realización preferida, la luz es utilizada para excitar una etiqueta acoplada en una probeta. La señal, es decir, la luz que retorna del dispositivo es seguidamente correlacionada con una señal de referencia recibida de una muestra con analito(s) conocido(s). En una realización más preferida, la superficie del chip indicando el interior de la cavidad es barrida por una señal y las posiciones que muestran una señal y la intensidad de la señal recibida de cada posición son identificadas. Esos detectores pueden incluir también un dispositivo microscópico de barrido homofocal. Detectores de barrido son ampliamente conocidos en la materia.

50

Referencias numéricas

- 1 Dispositivo según la invención
- 55 2 Soporte plano (mostrado desde la superficie posterior)
- 3 Tapa
- 60 4 Montura de inmovilización según la invención
- 5 Cavidad para mantener la montura de inmovilización
- 6 Labio de la montura de inmovilización que rebaja las cavidades/esquina (5)
- 65 7 Espacio para la etiqueta de código de barras

ES 2 295 737 T3

8	Ventana
9	Retenedor/clip
5	10 Cavidades de ajuste/medios de posicionamiento
	11 Distancia
	12 Reborde
10	13 Cámara de procesado
	14 Tope fijo
15	101 Módulo de entrada de muestra
	102 Módulo de entrada de reactivo
	103 Posición de eliminación de residuos
20	104 Incubadora
	105 Módulo de entrada de dispositivo
25	106 Estación de hibridación
	107 Estación de lavado
	108 Estación de detección
30	109 Estación de coloración
	110 Estación de enjuague
35	
40	
45	
50	
55	
60	
65	

REIVINDICACIONES

5 1. Dispositivo de diagnóstico (1) que comprende una entrada de muestras y una cámara de procesado (13) que
tiene una porción de ventana (8) y un soporte plano (2) que tiene la superficie frontal orientada hacia dicha cámara
de procesado (13), teniendo dicha superficie frontal una superficie activa que contiene un reactivo de diagnóstico
inmovilizado en dicha superficie frontal activa y una superficie frontal extendida, en el que dicha porción de ventana
(8) contiene además una porción de reborde (12) orientada hacia dicha superficie frontal extendida sellando dicha
cámara (13) versus dicho soporte (2) a través de dicha superficie frontal extendida, comprendiendo dicho dispositivo
10 (1) una montura de inmovilización (4) para empujar el soporte hacia dicha porción de reborde (12), **caracterizado** por
el hecho de que dicha montura de inmovilización (4) comprende clips (9) que se extienden sobre las esquinas (9) de
dicha montura (4), siendo dichos clips más flexibles que la montura.

15 2. Dispositivo según la reivindicación 1, en el que dicha porción de reborde contiene una pared circunferencial
hecha de un material elástico.

3. Dispositivo según la reivindicación 1 o 2, en el que dicha montura de inmovilización (4) contiene una parte
metálica.

20 4. Dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la entrada de muestras está cerrada por una
tapa (3) que comprende una membrana perforable.

5. Dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la cámara de procesado (13) es una cámara
de mezcla.

25 6. Método para montar un dispositivo de diagnóstico (1) que comprende una cámara de procesado (13) que tiene
una porción de ventana (8) y un soporte plano (2) que tiene una superficie frontal, una superficie posterior y una o más
superficies laterales, teniendo dicha superficie frontal una superficie activa que contiene un reactivo de diagnóstico
inmovilizado en dicha superficie frontal activa y una superficie frontal extendida, **caracterizado** por el hecho de que
comprende las siguientes etapas:
30

- proporcionar un dispositivo que comprende una cámara de procesado (13) cuya dicha porción de ventana
(8) tiene una porción de ventana abierta (8) que contiene además una porción de reborde (12),
- 35 - proporcionar dicho soporte plano (2),
- situar la superficie frontal de dicho soporte (2) en dicha porción de reborde (12) tal que dicha superficie
frontal está orientada hacia dicha cámara de procesado (13) y dicho reborde (12) sella dicha cámara (13)
versus dicho soporte (2) a través de dicha superficie frontal extendida,
- 40 - proporcionar una montura de inmovilización (4) que tiene clips (9) que se extienden sobre las esquinas (6)
de dicha montura, siendo dichos clips más flexibles que la montura, y
- presionar dicha montura de inmovilización (4) hacia el dispositivo (1) tal que es retenida en una posición
45 que fija el soporte (2).

7. Método para determinar la presencia de un analito en una muestra que comprende las etapas de:
- proporcionar un dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6,
50 - situar dicha muestra en dicho dispositivo (1) tal que dicha muestra está en contacto con la superficie activa
de dicho soporte (2),
- reactivar dicho analito con dicho reactivo de diagnóstico,
55 - determinar los resultados de dicha reacción como una medición de la presencia de dicho analito en dicha
muestra.

60 8. Método de la reivindicación 7, que comprende además la etapa de extraer el líquido de dicha cámara de proce-
sado (13).

9. Método según cualquiera de las reivindicaciones 7 y 8, que comprende además una etapa de dispensar y aspirar
un líquido de lavado hacia dicha cámara de procesado (13).

65 10. Método según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, que comprende además la mezcla de cualquier líquido
en dicha cámara de procesado (13).

11. Método de la reivindicación 10, en el que dicha mezcla se realiza mediante agitación vorticial.

ES 2 295 737 T3

12. Instrumento de diagnóstico para determinar la presencia de un analito en una muestra que comprende:

- uno o más dispositivos (1) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6,
- un módulo para entrar una muestra (101) en dicho dispositivo (1), y
- un módulo para determinar los resultados (108) de la reacción de analitos en dicha muestra con dichos reactivos.

13. Artículo de fabricación hecho a partir de un solo material para cerrar un soporte plano (2) en un dispositivo de diagnóstico (1) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 que comprende:

- una montura de inmovilización sensiblemente rectangular (4), **caracterizada** por el hecho de que comprende clips (9) que se extienden sobre las esquinas de dicha montura que son más flexibles que la montura (4).

14. Artículo de la reivindicación 13 en el que el clip (9) es una abrazadera que tiende un puente sobre una esquina (6) mediante la conexión de dos lados adyacentes del rectángulo.

15. Artículo según cualquiera de las reivindicaciones 13 a 14 en el que hay una distancia (11) entre cada clip (9) y la esquina (6) en la que se extiende.

16. Artículo según cualquiera de las reivindicaciones 13 a 15, que comprende además medios de posicionamiento (10).

17. Artículo según cualquiera de las reivindicaciones 13 a 16, que comprende además una ventana (8) formada por dicha montura (4) y los clips (9) que es superior al 99% de la superficie del soporte plano (2).

Fig. 1

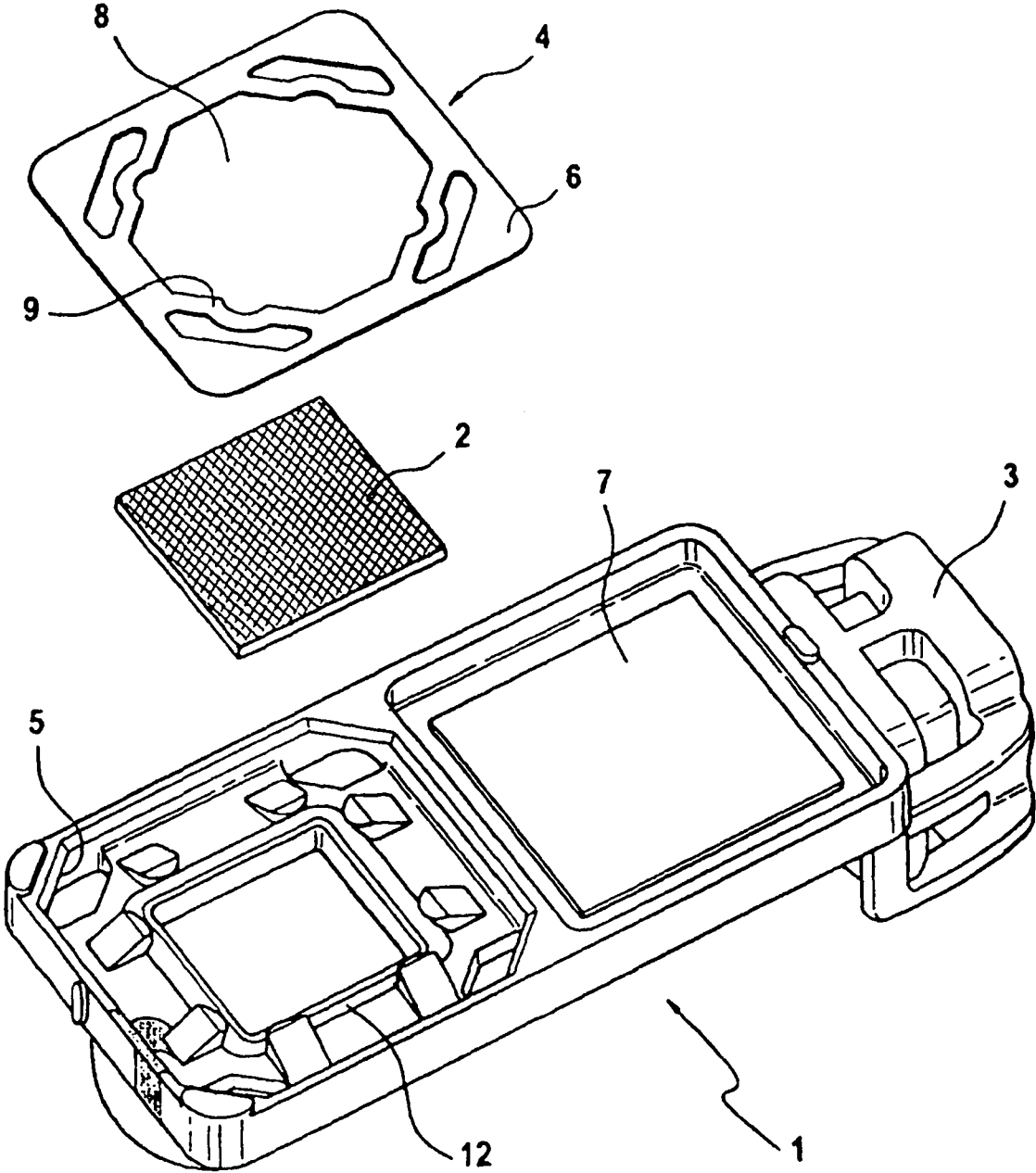


Fig. 2

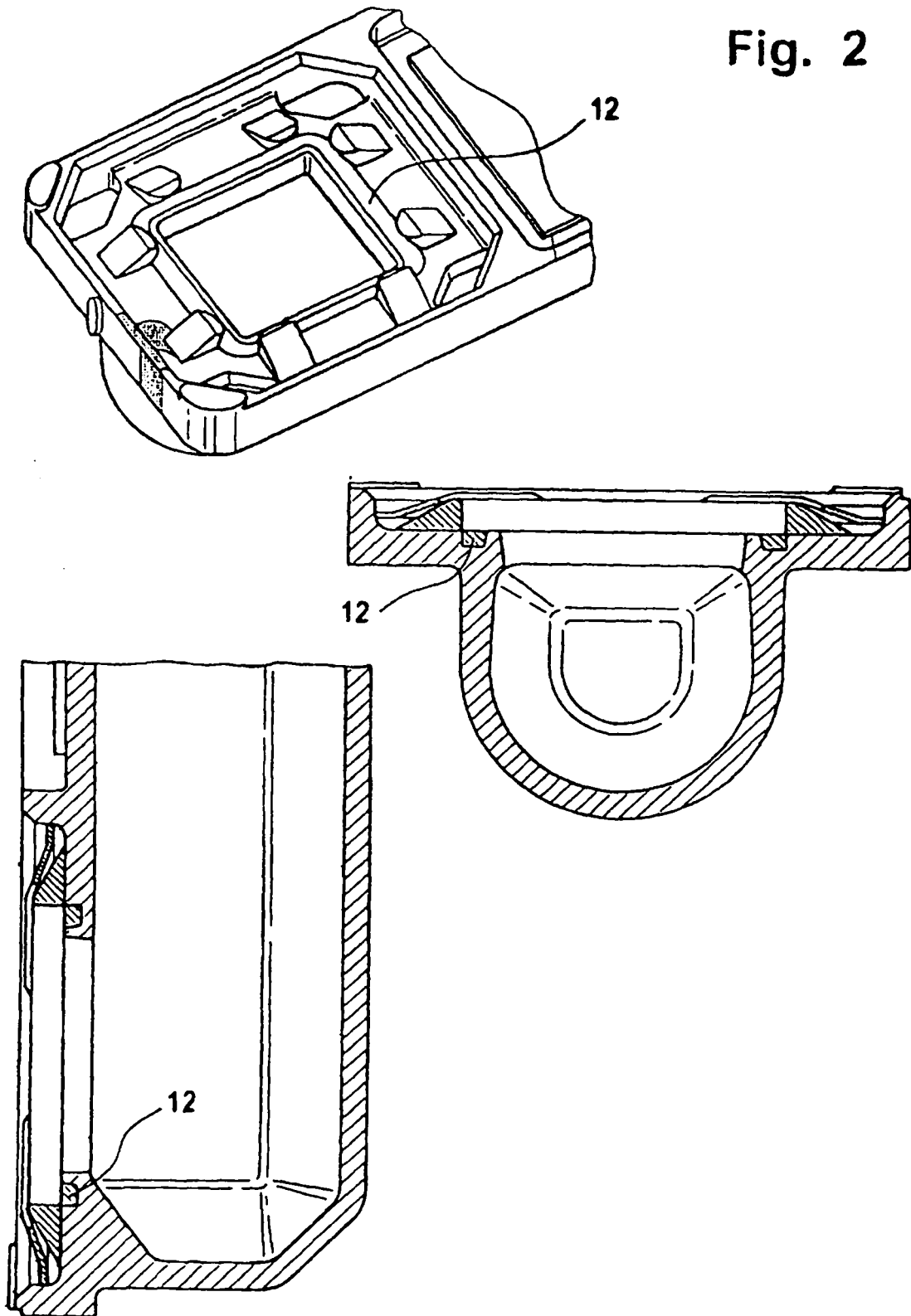


Fig. 3a

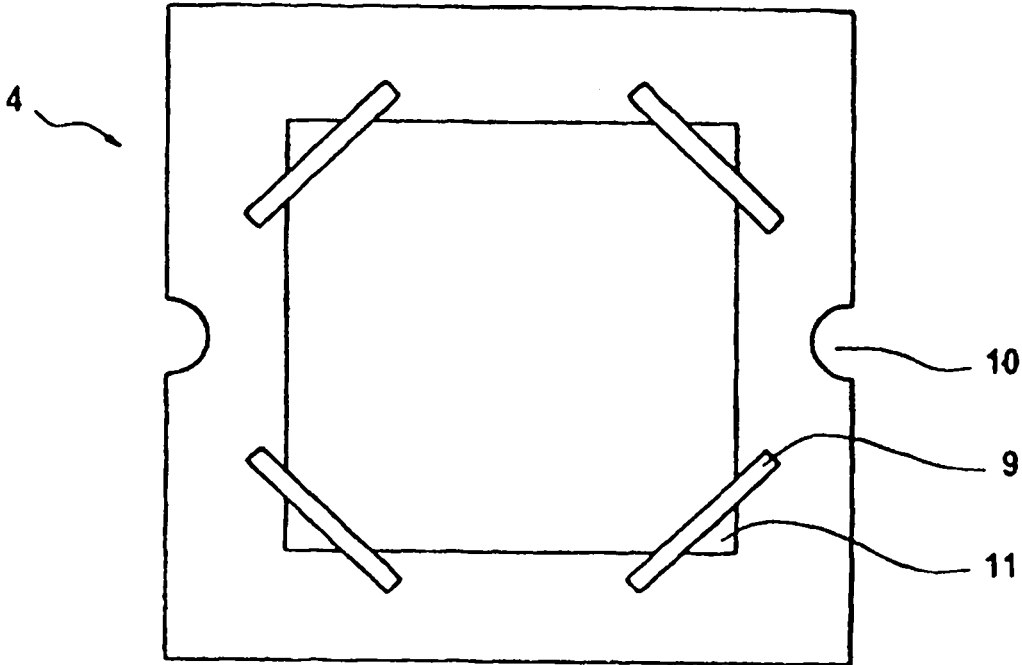


Fig. 3b

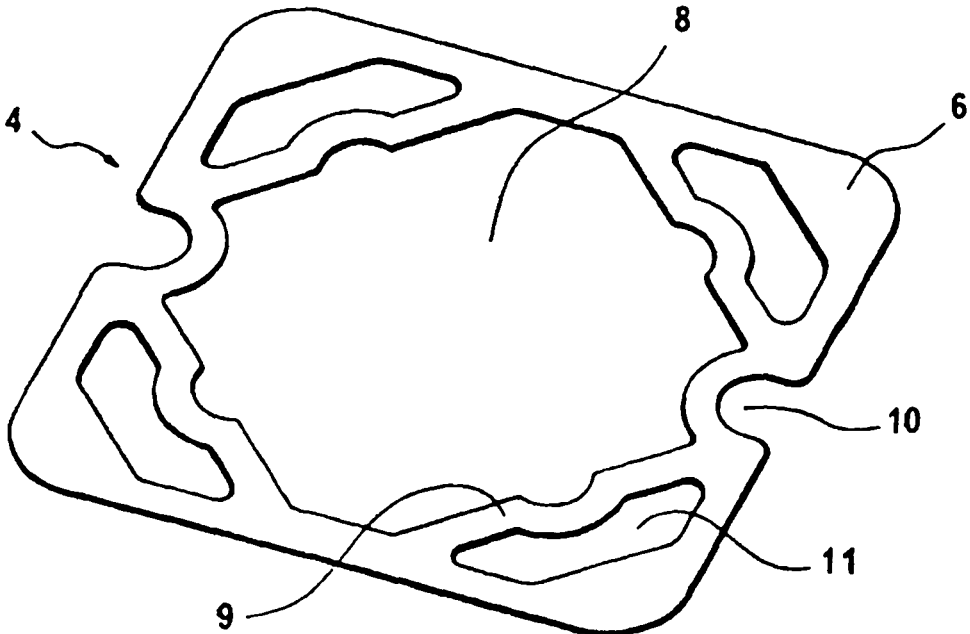


Fig. 4

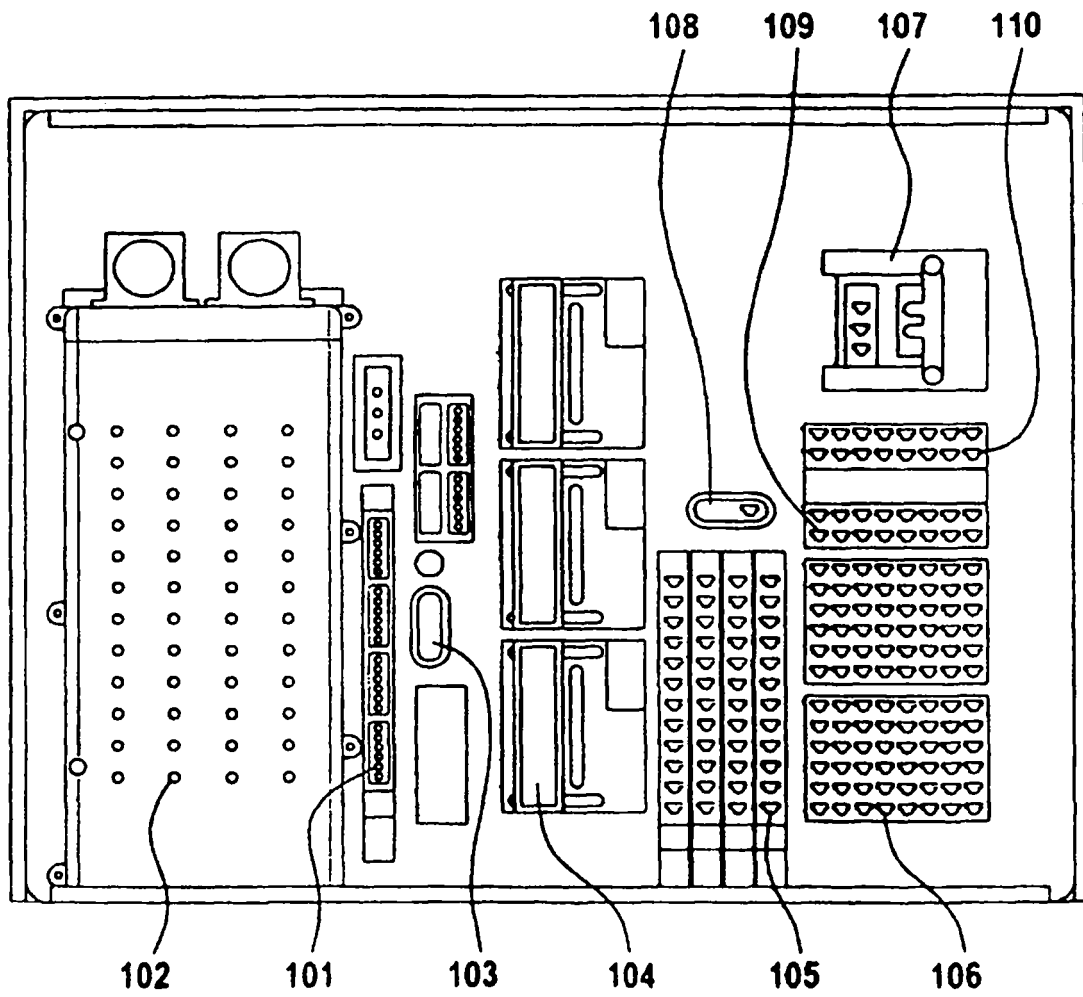


Fig. 5

