

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 898 103**

51 Int. Cl.:

B01L 7/00 (2006.01)

B01L 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.12.2015 PCT/US2015/068101**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.07.2016 WO16109691**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.12.2015 E 15876276 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.08.2021 EP 3240906**

54 Título: **Dispositivos para pruebas de diagnóstico molecular**

30 Prioridad:

31.12.2014 US 201462098769 P

02.09.2015 US 201562213291 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
03.03.2022

73 Titular/es:

VISBY MEDICAL, INC. (100.0%)

3010 N. First Street

San Jose, CA 95134, US

72 Inventor/es:

**ANDREYEV, BORIS;
CIOPYK, BRIAN;
DE LA ZERDA, ADAM;
MORAVICK, KEITH;
SWENSON, DAVID;
LONEY, GREGORY;
CHING, JESUS;
KELLY, COLIN;
BRIONES, VICTOR;
CHU, STEVE y
HUANG, HELEN**

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 898 103 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

Dispositivos para pruebas de diagnóstico molecular

5 Antecedentes

Los ejemplos descritos en el presente documento se refieren a métodos y a dispositivos para pruebas de diagnóstico molecular. De manera más particular, los ejemplos descritos en el presente documento se refieren a dispositivos desechables y autónomos y a métodos para pruebas de diagnóstico molecular.

Existen más de mil millones de infecciones en los Estados Unidos cada año, muchas de las cuales son tratadas de manera incorrecta debido a resultados de diagnóstico inexactos o tardíos. Muchas pruebas en el punto de atención (POC) conocidas tienen poca sensibilidad (30%-70%), mientras que las pruebas altamente sensibles, tales como aquellas que implican la detección específica de ácidos nucleicos o pruebas moleculares asociadas con una diana patógena, están disponibles únicamente en los laboratorios. De este modo, aproximadamente el noventa por ciento de las pruebas de diagnóstico molecular actuales se realiza en laboratorios centralizados. Los dispositivos y métodos conocidos para realizar pruebas de diagnóstico molecular en el laboratorio, sin embargo, requieren personal formado, infraestructura regulada e instrumentos caros de alto rendimiento. Con frecuencia, los instrumentos de laboratorio conocidos se compran como una inversión de capital junto con un suministro regular de pruebas o cartuchos consumibles. El equipo de laboratorio de alto rendimiento conocido generalmente procesa muchas muestras (de 96 a 384 y más) a la vez, por lo tanto las pruebas de laboratorio central se realizan por lotes. Los métodos conocidos para el procesamiento normalmente incluyen el procesamiento de todas las muestras recogidas durante un periodo de tiempo (por ejemplo, un día) en un ensayo grande, con un tiempo de turno de horas a días después de recogerse la muestra. Además, tales instrumentos y métodos conocidos están diseñados para realizar ciertas operaciones bajo la dirección de un técnico experto que agrega los reactivos, supervisa el procesamiento y mueve la muestra paso a paso. De este modo, aunque las pruebas y métodos de laboratorio conocidos son muy exactos, con frecuencia tardan mucho tiempo y son muy caros.

Existen opciones de pruebas limitadas disponibles para realizar la prueba en el punto de atención ("POC") o en otros lugares fuera de un laboratorio. Las opciones de pruebas POC conocidas tienden a hacer pruebas de un solo analito con baja calidad analítica. Estas pruebas se usan junto con algoritmos clínicos para ayudar en el diagnóstico, pero se comprueban con frecuencia por pruebas de laboratorio de mayor calidad para el diagnóstico definitivo. De este modo, ni los consumidores ni los médicos pueden lograr un resultado de prueba rápido y exacto en el plazo requerido para "pruebas y tratamiento" en una visita. Como resultado, los doctores y pacientes con frecuencia determinan un tratamiento antes de conocer el diagnóstico. Esto tiene tremendas ramificaciones: no se prescriben antibióticos cuando son necesarios, lo que da lugar a infecciones; o los antibióticos se prescriben cuando no son necesarios, lo que da lugar a nuevas cepas resistentes al antibiótico en la comunidad. Además, los sistemas y métodos conocidos con frecuencia dan como resultado diagnósticos de infecciones virales severas, tal como la gripe porcina H1N1, demasiado tarde, limitando los esfuerzos de contención. Además, los pacientes pierden mucho tiempo en visitas innecesarias y repetitivas al doctor.

De este modo, existe la necesidad de dispositivos y métodos mejorados para pruebas de diagnóstico molecular. En particular, existe la necesidad de una prueba asequible y fácil de usar que permita a los profesionales sanitarios y a los pacientes en casa diagnosticar infecciones de manera precisa y rápida de modo que puedan tomar mejores decisiones sobre la salud. El artículo de Jong Tae y A1. en BIOSENSORS AND BIOELECTRONICS, ELSEVIER SCIENCE LTD. US, ÁMSTERDAM, NL, vol. 33, n.º 1, 14 de diciembre de 2011, da a conocer un "microdispositivo integrado para reacción en cadena de la polimerasa con retrotranscripción con detección inmunocromatográfica colorimétrica para el análisis rápido de expresión génica del virus gripal A H1N1". El documento US6645758 da a conocer una cubeta de contención para PCR y un método de uso. El documento EP2682480 da a conocer un método de detección de ácidos nucleicos y un dispositivo y equipo de uso del mismo. El documento US2004/018502 da a conocer un método para analizar un fragmento de ácido nucleico diana y un equipo para analizar un fragmento de ácido nucleico diana. PLoS ONE, vol. 8, n.º 7, 26 de julio de 2013, página e 69 355 por Kristina Roskos *et al.* da a conocer un sistema sencillo para amplificación isotérmica del ADN acoplada a detección de flujo lateral.

Sumario

Según un aspecto, se proporciona un dispositivo de prueba de diagnóstico molecular portátil, que comprende: un alojamiento que define una abertura de detección; un módulo de amplificación configurado para recibir una muestra de entrada, incluyendo el módulo de amplificación un elemento de flujo y un calentador, definiendo el elemento de flujo una trayectoria de flujo, el calentador acoplado al elemento de flujo de modo que el calentador y la trayectoria de flujo se cruzan en múltiples lugares, el módulo de amplificación configurado para realizar una reacción en cadena de la polimerasa para amplificar un ácido nucleico diana dentro de la muestra de entrada para producir un amplicón diana; un módulo de reactivo dispuesto dentro del alojamiento, conteniendo el módulo de reactivo un reactivo formulado para producir una señal visible que indica una presencia del amplicón diana, y un módulo de detección que define un canal de detección que recibe una salida producida por el módulo de amplificación,

incluyendo el módulo de detección una superficie de detección configurada para retener el amplicón diana de modo que, cuando el módulo de detección contiene el reactivo, la señal visible se produce desde la superficie de detección caracterizada porque el dispositivo de prueba de diagnóstico molecular portátil es un dispositivo autónomo para detectar el ácido nucleico diana; el módulo de amplificación está dentro del alojamiento; y el módulo de detección se sitúa dentro del alojamiento de modo que la señal visible desde la superficie de detección pueda verse mediante la abertura de detección del alojamiento.

Breve descripción de las figuras

- 10 La figura 1 es una ilustración esquemática de un dispositivo de prueba de diagnóstico molecular, según un ejemplo.
- La figura 2 es una ilustración esquemática de un dispositivo de prueba de diagnóstico molecular, según un ejemplo.
- 15 Las figuras 3 y 4 son ilustraciones esquemáticas de un dispositivo de prueba de diagnóstico molecular, según un ejemplo en una primera configuración y una segunda configuración, respectivamente.
- Las figuras 5 y 6 son ilustraciones esquemáticas de un dispositivo de prueba de diagnóstico molecular, según un ejemplo en una primera configuración y una segunda configuración, respectivamente.
- 20 La figura 7 es una ilustración esquemática de un dispositivo de prueba de diagnóstico molecular, según un ejemplo.
- La figura 8 es un diagrama que ilustra una reacción unida a enzima según un ejemplo realizado en el dispositivo de la figura 7, que da como resultado la producción de un resultado colorimétrico.
- 25 La figura 9 es una ilustración esquemática de un dispositivo de prueba de diagnóstico molecular, según un ejemplo.
- Las figuras 10 y 11 son vistas en perspectiva de un dispositivo de prueba de diagnóstico molecular, según un ejemplo.
- 30 La figura 12 es una vista en perspectiva de una parte superior de un alojamiento del dispositivo de prueba de diagnóstico molecular mostrado en las figuras 10 y 11.
- La figura 13 es una vista en perspectiva de una parte inferior de un alojamiento del dispositivo de prueba de diagnóstico molecular mostrado en las figuras 10 y 11.
- 35 La figura 14 es una vista en perspectiva del dispositivo de prueba de diagnóstico molecular mostrado en las figuras 10 y 11, con la parte superior del alojamiento quitada para mostrar los componentes internos.
- La figura 15 es una vista en perspectiva del dispositivo de prueba de diagnóstico molecular mostrado en las figuras 10, 11 y 14, con la parte superior del alojamiento, el módulo de amplificación y el módulo de detección quitados para mostrar los componentes internos.
- 40 La figura 16 es una vista en perspectiva frontal de un módulo de entrada de muestra del dispositivo de prueba de diagnóstico molecular mostrado en las figuras 10 y 11.
- 45 La figura 17 es una vista en sección transversal en perspectiva del módulo de entrada de muestra mostrado en la figura 16 tomada a lo largo de la línea X-X en la figura 16.
- La figura 18 es una vista en perspectiva lateral del módulo de entrada de muestra del dispositivo de prueba de diagnóstico molecular mostrado en las figuras 10 y 11.
- 50 La figura 19 es una vista en sección transversal en perspectiva del módulo de entrada de muestra mostrado en la figura 18 tomada a lo largo de la línea X-X en la figura 18.
- 55 La figura 20 es una vista en perspectiva lateral de un accionador de muestra del dispositivo de prueba de diagnóstico molecular mostrado en las figuras 10 y 11.
- La figura 21 es una vista en sección transversal lateral del módulo de entrada de muestra mostrado en las figuras 10 y 11 en una configuración accionada.
- 60 La figura 22 es una vista en perspectiva frontal de un módulo de lavado del dispositivo de prueba de diagnóstico molecular mostrado en las figuras 10 y 11.
- La figura 23 es una vista en sección transversal en perspectiva del módulo de lavado mostrado en la figura 22 tomada a lo largo de la línea X-X en la figura 22.
- 65

La figura 24 es una vista en perspectiva lateral de un accionador de lavado del dispositivo de prueba de diagnóstico molecular mostrado en las figuras 10 y 11.

Las figuras 25 y 26 son una vista en perspectiva frontal y una vista en perspectiva trasera, respectivamente, de un módulo de elución y un módulo de reactivo del dispositivo de prueba de diagnóstico molecular mostrado en las figuras 10 y 11.

La figura 27 es una vista en perspectiva trasera del módulo de elución y el módulo de reactivo mostrados en las figuras 25 y 26, con una parte superior quitada.

La figura 28 es una vista en sección transversal en perspectiva del módulo de elución y el módulo de reactivo mostrado en las figuras 25 y 26, con una parte superior quitada.

Las figuras 29 y 31 son secciones transversales en perspectiva del módulo de reactivo mostrado en las figuras 25 y 26, en una primera configuración (o listo) y una segunda configuración (o accionado), respectivamente.

La figura 30 es una vista en perspectiva lateral de un accionador de elución y reactivo del dispositivo de prueba de diagnóstico molecular mostrado en las figuras 10 y 11.

Las figuras 32 y 34 son vistas en perspectiva frontales de un montaje de filtro del dispositivo de prueba de diagnóstico molecular mostrado en las figuras 10 y 11, en una primera configuración (listo) y una segunda configuración (accionado), respectivamente.

Las figuras 33 y 35 son una vista en despiece ordenado frontal y una vista en despiece ordenado trasera, respectivamente, del montaje de filtro mostrado en las figuras 32 y 34.

La figura 36 es una vista en perspectiva lateral de una cámara de inactivación del dispositivo de prueba de diagnóstico molecular mostrado en las figuras 10 y 11.

La figura 37 es una vista en despiece ordenado de la cámara de inactivación mostrada en la figura 36.

Las figuras 38 y 39 son una vista en despiece ordenado frontal y una vista en despiece ordenado trasera, respectivamente, de un montaje de mezcla del dispositivo de prueba de diagnóstico molecular mostrado en las figuras 10 y 11.

La figura 40 es una vista en perspectiva frontal de un módulo de transferencia de fluido del dispositivo de prueba de diagnóstico molecular mostrado en las figuras 10 y 11.

La figura 41 es una vista en sección transversal del módulo de transferencia de fluido mostrado en la figura 40 tomada a lo largo de la línea X-X en la figura 40.

La figura 42 es una vista en despiece ordenado del módulo de transferencia de fluido mostrado en la figura 40.

La figura 43 es una vista en despiece ordenado de un módulo de amplificación del dispositivo de prueba de diagnóstico molecular mostrado en las figuras 10 y 11.

La figura 44 es una vista desde arriba de un elemento de flujo del módulo de amplificación mostrado en la figura 43.

La figura 45 es una vista en perspectiva en despiece ordenado del módulo de amplificación mostrado en la figura 43 y un módulo de detección del dispositivo de prueba de diagnóstico molecular mostrado en las figuras 10 y 11.

La figura 46 es una vista en perspectiva en despiece ordenado del módulo de detección del dispositivo de prueba de diagnóstico molecular mostrado en las figuras 10 y 11.

La figura 47 es una vista en perspectiva desde abajo del módulo de detección mostrado en la figura 46.

La figura 48 es una vista en sección transversal lateral de una parte del módulo de detección mostrado en la figura 46.

La figura 49 es una vista desde arriba de una parte del módulo de detección mostrado en la figura 46.

Las figuras 50 y 51 son una vista en perspectiva frontal y una vista en perspectiva trasera, respectivamente, del montaje de válvula giratoria del dispositivo de prueba de diagnóstico molecular mostrado en las figuras 10 y 11.

Las figuras 52 y 53 son una vista en despiece ordenado frontal y una vista en despiece ordenado trasera,

respectivamente, del montaje de válvula giratoria mostrado en las figuras 50 y 51.

Las figuras 54 a figura 61 son vistas frontales del montaje de válvula giratoria mostrado en las figuras 50 y 51 en cada una de las ocho configuraciones de funcionamiento diferentes.

5

La figura 62 es una vista en sección transversal lateral de una parte de transferencia de muestra del dispositivo de prueba de diagnóstico molecular mostrado en las figuras 10 y 11 en una primera configuración, y un dispositivo de transferencia externo según un ejemplo.

10

La figura 63 es una vista en perspectiva del dispositivo de prueba de diagnóstico molecular mostrado en las figuras 10 y 11 en una segunda configuración (muestra accionada).

La figura 64 es una vista en perspectiva del dispositivo de prueba de diagnóstico molecular mostrado en las figuras 10 y 11 en una tercera configuración (lavado accionado).

15

La figura 65 es una vista en perspectiva del dispositivo de prueba de diagnóstico molecular mostrado en las figuras 10 y 11 en una cuarta configuración (elución y reactivo accionados).

20

La figura 66 es una vista en perspectiva del dispositivo de prueba de diagnóstico molecular mostrado en las figuras 10 y 11 en una quinta configuración (de lectura).

La figura 67 es un gráfico del consumo de energía y el voltaje de la fuente de alimentación cuando el dispositivo mostrado en las figuras 10 y 11 se usa para realizar un protocolo de prueba según un ejemplo.

25

Las figuras 68A-68C muestran un diagrama de flujo de un flujo de proceso de prueba para una prueba de diagnóstico, según un ejemplo.

La figura 69 muestra un diagrama de flujo de un método de pruebas de diagnóstico, según un ejemplo.

30

La figura 70 es una vista en perspectiva de un dispositivo de prueba de diagnóstico molecular, según un ejemplo.

La figura 71 es una vista en perspectiva del dispositivo de prueba de diagnóstico molecular mostrado en la figura 70, con la parte superior del alojamiento quitada para mostrar los componentes internos.

35

La figura 72 es una vista en perspectiva del dispositivo de prueba de diagnóstico molecular mostrado en la figura 70, con la parte superior del alojamiento, el módulo de amplificación y el módulo de detección quitada para mostrar los componentes internos.

40

Las figuras 73 y 74 son vistas en perspectiva de un módulo de reactivo del dispositivo de prueba de diagnóstico molecular mostrado en la figura 70.

La figura 75 es una vista en perspectiva de un aparato para las pruebas de diagnóstico, según un ejemplo.

45

La figura 76 es una vista desde arriba del aparato de la figura 75.

La figura 77 es una vista lateral del aparato de la figura 75.

La figura 78 es una ilustración del uso de un orificio de entrada de muestra del aparato de la figura 75.

50

La figura 79 es una ilustración del uso de los émbolos del aparato de la figura 75.

La figura 80 es una ilustración del uso de una pestaña extraíble del aparato de la figura 75.

55

La figura 81 es una ilustración de una batería desmontable del aparato de la figura 75.

La figura 82 es una ilustración de una batería recargable del aparato de la figura 75.

La figura 83 es una vista desde arriba de un dispositivo de prueba de diagnóstico molecular, según un ejemplo.

60

La figura 84 es una vista en perspectiva de los dispositivos de prueba de diagnóstico molecular mostrados en la figura 83, en una configuración sin embalar.

Las figuras 85-87 son varias vistas de los dispositivos de prueba de diagnóstico molecular mostrados en la figura 83, en varias fases de funcionamiento.

65

Las figuras 88-89 son ilustraciones esquemáticas de un dispositivo de transferencia de muestra según un ejemplo,

en una primera configuración y una segunda configuración, respectivamente.

La figura 90 es una vista en despiece ordenado en perspectiva de componentes de un módulo de preparación de muestra, según un ejemplo.

La figura 91 es una ilustración esquemática del montaje de dispensación y almacenamiento del reactivo de lavado mostrado en la figura 90.

La figura 92 es una ilustración esquemática del montaje de dispensación y almacenamiento de reactivo de elución mostrado en la figura 90.

La figura 93 es una vista en perspectiva de un módulo de amplificación, según un ejemplo.

La figura 94 es una ilustración esquemática de un disipador de calor del módulo de amplificación mostrado en la figura 93.

La figura 95 es una vista en despiece ordenado de componentes del módulo de amplificación mostrado en la figura 93.

La figura 96 es una vista en sección transversal en perspectiva de un módulo de transferencia de fluido, según un ejemplo.

Las figuras 97-99 son vistas en sección transversal en perspectiva del módulo de transferencia de fluido mostrado en la figura 96, en varias fases de funcionamiento.

Descripción detallada

En algunos ejemplos, un aparato está configurado para un enfoque de diagnóstico molecular desechable, portátil, de un solo uso y barato. El aparato puede incluir uno o más módulos configurados para realizar pruebas de diagnóstico molecular de alta calidad, incluyendo, pero sin limitarse a, preparación de la muestra, amplificación de ácido nucleico (por ejemplo, mediante una reacción en cadena de la polimerasa o PCR) y detección. En algunos ejemplos, la preparación de la muestra puede realizarse aislando la entidad/patógeno diana y eliminando inhibidores de PCR no deseados. La entidad diana puede lisarse posteriormente para liberar el ácido nucleico diana para la amplificación por PCR. Un ácido nucleico diana en la entidad diana puede amplificarse con una polimerasa sometiendo a termociclado para producir un gran número de copias de la secuencia de ácido nucleico diana para la detección.

La detección puede producirse, en algunos ejemplos, a través de una reacción colorimétrica en un carril de lectura. Múltiples dianas de ácido nucleico pueden leerse en el carril, permitiendo pruebas/detección multiplexada. El aparato también puede contener almacenamiento de reactivo incorporado, bombeo fluido, valvulaje y componentes electrónicos para secuenciar apropiadamente las etapas de la prueba y controlar el funcionamiento. Además, el aparato puede alimentarse por baterías, permitiendo que la(s) prueba(s) de diagnóstico se realice(n) sin corriente C/A, y en cualquier lugar adecuado (por ejemplo, fuera de un laboratorio y/o en cualquier "punto de atención" adecuado).

En algunos ejemplos, el aparato puede estar configurado para detectar patógenos comúnmente asociados con infecciones de transmisión sexual (ITS) incluyendo, pero sin limitarse a, *Chlamydia trachomatis* (CT), *Neisseria gonorrhea* (NG) y *Trichomonas vaginalis* (TV), por medio de la detección de ácido nucleico. En algunos ejemplos, el aparato incluye controles positivos y negativos incorporados para asegurar que las pruebas de diagnóstico estén funcionando apropiadamente.

En algunos ejemplos, el aparato está optimizado para el funcionamiento desechable y portátil. Por ejemplo, en algunos ejemplos, el módulo de alimentación puede hacerse funcionar por una batería pequeña (por ejemplo, una batería de 9 V), y puede incluir un controlador para controlar la sincronización y/o magnitud de energía consumida para adecuar la capacidad de la batería. En otros ejemplos, el aparato puede incluir cualquier número de elementos, tales como cierres de seguridad, configurados para minimizar las probabilidades de error del usuario.

El dispositivo de prueba de diagnóstico molecular portátil incluye un alojamiento, un módulo de amplificación (o PCR) y un módulo de detección. El módulo de amplificación está configurado para recibir una muestra de entrada, y define un volumen de reacción. El módulo de amplificación incluye un calentador de modo que el módulo de amplificación pueda realizar una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) sobre la muestra de entrada. El módulo de detección está configurado para recibir una salida del módulo de amplificación y un reactivo formulado para producir una señal que indica la presencia de un amplicón diana dentro de la muestra de entrada. El módulo de amplificación y el módulo de detección están integrados dentro del alojamiento.

En algunos ejemplos, un aparato incluye un alojamiento, un módulo de preparación de muestra, un módulo de

amplificación (o PCR) y un módulo de detección. El módulo de preparación de muestra se dispone dentro del alojamiento y está configurado para recibir una muestra de entrada. El módulo de amplificación se dispone dentro del alojamiento y está configurado para recibir una salida del módulo de preparación de muestra. El módulo de amplificación incluye un elemento de flujo y un calentador, definiendo el elemento de flujo una trayectoria de flujo serpenteante. El calentador se acopla al elemento de flujo. El módulo de amplificación está configurado para realizar una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en la salida del módulo de preparación de muestra. El módulo de detección se dispone dentro del alojamiento y está configurado para recibir una salida del módulo de amplificación. El módulo de detección está configurado para recibir un reactivo formulado para producir una señal colorimétrica que indica la presencia de un organismo diana en dicha muestra de entrada. El módulo de preparación de muestra, el módulo de amplificación (o PCR) y el módulo de detección están configurados colectivamente para un solo uso. En algunos ejemplos, el aparato es desechable mediante procedimientos de residuos estándar después de su uso.

En algunos ejemplos, un aparato incluye un módulo de amplificación (o PCR) y un módulo de detección. El módulo de amplificación está configurado para recibir una muestra de entrada, y define un volumen de reacción. El módulo de amplificación incluye un calentador de modo que el módulo de amplificación pueda realizar una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) sobre la muestra de entrada. El módulo de detección está configurado para recibir una salida del módulo de amplificación y un reactivo formulado para producir una señal que indica la presencia de un organismo diana dentro de la muestra de entrada. El aparato está configurado para producir la señal en un tiempo de menos de aproximadamente 25 minutos.

El aparato incluye un alojamiento, un módulo de amplificación (o PCR) y un módulo de detección. El módulo de amplificación está configurado para recibir una muestra de entrada, y define un volumen de reacción. El módulo de amplificación incluye un calentador de modo que el módulo de amplificación pueda realizar una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) sobre la muestra de entrada. El módulo de detección está configurado para recibir una salida del módulo de amplificación y un reactivo formulado para producir una señal que indica la presencia de un organismo diana dentro de la muestra de entrada. El organismo diana está asociado con una enfermedad. El módulo de amplificación y el módulo de detección están integrados dentro del alojamiento y colectivamente tienen una sensibilidad de al menos aproximadamente el 93 por ciento y una especificidad de al menos aproximadamente el 95 por ciento para la detección de la enfermedad.

El aparato incluye un alojamiento, un módulo de amplificación (o "PCR"), un módulo de reactivo y un módulo de detección. El alojamiento incluye un orificio de entrada de muestra y define una abertura de detección. El módulo de PCR se dispone dentro del alojamiento, e incluye un elemento de flujo y un calentador. El elemento de flujo define una trayectoria de flujo de PCR que tiene una parte de entrada en comunicación fluida con el orificio de entrada de muestra. El calentador se acopla fijamente al elemento de flujo de modo que el calentador y la trayectoria de flujo de PCR se cruzan en múltiples lugares. El módulo de reactivo se dispone dentro del alojamiento, y contiene un sustrato formulado para catalizar la producción de una señal óptica por una molécula de señal asociada con un amplicón diana. El módulo de detección define un canal de detección en comunicación fluida con una parte de salida de la trayectoria de flujo de PCR y el módulo de reactivo. El módulo de detección incluye una superficie de detección dentro del canal de detección que está configurada para retener el amplicón diana. El módulo de detección se dispone dentro del alojamiento de modo que la superficie de detección sea visible mediante la abertura de detección del alojamiento.

En algunos ejemplos, el canal de detección tiene un ancho de al menos aproximadamente 4 mm. En algunos ejemplos, el alojamiento incluye una parte de máscara configurada para rodear al menos una parte de la superficie de detección. La parte de máscara puede estar configurada para mejorar la visibilidad de la superficie de detección a través de la abertura de detección.

En algunos ejemplos, un aparato incluye un alojamiento, un módulo de amplificación, un módulo de reactivo y un módulo de detección. El módulo de amplificación se dispone dentro del alojamiento y está configurado para recibir una muestra de entrada. El módulo de amplificación define un volumen de reacción e incluye un calentador de modo que el módulo de amplificación pueda realizar una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) sobre la muestra de entrada. El módulo de reactivo se dispone dentro del alojamiento y define un volumen de reactivo dentro del cual esté contenido al menos uno de un lavado de muestra, un amortiguador de elución, un reactivo de PCR, un reactivo de detección o un sustrato. El módulo de reactivo se acciona por un accionador del reactivo configurado para transportar el reactivo desde el volumen cuando el accionador del reactivo se desplace de una primera posición a una segunda posición. El accionador del reactivo está configurado para permanecer bloqueado en la segunda posición. El módulo de detección se dispone dentro del alojamiento y está configurado para recibir una salida del módulo de amplificación. El módulo de detección está configurado para recibir el reactivo de detección del módulo de reactivo, estando el reactivo de detección formulado para producir una señal colorimétrica que indica la presencia de un organismo diana en la entrada.

En algunos ejemplos, el aparato también incluye una fuente de alimentación dispuesta dentro del alojamiento. En algunos ejemplos, la fuente de alimentación tiene un voltaje nominal de aproximadamente 9 V y una capacidad de menos de aproximadamente 1200 mAh. En algunos ejemplos, el aparato también incluye un controlador dispuesto

dentro del alojamiento, donde el controlador se implementa en al menos uno de una memoria o un procesador. En algunos ejemplos, el controlador incluye al menos un módulo de control térmico configurado para producir una señal de control térmico para ajustar una salida del calentador.

- 5 En algunos ejemplos, un aparato incluye un alojamiento, un módulo de amplificación, un módulo de reactivo, un módulo de detección y una fuente de alimentación. El módulo de amplificación se dispone dentro del alojamiento y está configurado para recibir una muestra de entrada. El módulo de amplificación incluye un elemento de flujo que define un volumen de reacción. El módulo de amplificación incluye un calentador acoplado al elemento de flujo de modo que el módulo de amplificación pueda realizar una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) sobre la muestra de entrada. El módulo de reactivo se dispone dentro del alojamiento y define un volumen de reactivo dentro del cual está contenido al menos uno de un lavado de muestra, un amortiguador de elución, un reactivo de PCR, un reactivo de detección o un sustrato. El módulo de reactivo incluye un accionador del reactivo configurado para transportar el reactivo desde el volumen cuando el accionador del reactivo se desplaza de una primera posición a una segunda posición. El módulo de detección está configurado para recibir una salida del módulo de amplificación y el reactivo de detección. El reactivo de detección está formulado para producir una señal que indica la presencia de un amplicón diana dentro de la muestra de entrada. El módulo de detección incluye una superficie de detección desde la cual se produce la señal, y la cual es visible mediante la abertura de detección. La fuente de alimentación se aísla eléctricamente de al menos uno de un procesador o el módulo de amplificación cuando el accionador del reactivo está en la primera posición. La fuente de alimentación se acopla eléctricamente a al menos uno del procesador o el módulo de amplificación cuando el accionador del reactivo está en la segunda posición.

En algunos ejemplos, un aparato incluye un elemento de flujo y un montaje de calentador. El elemento de flujo define una trayectoria de flujo serpenteante que tiene al menos 30 canales de flujo de amplificación. El montaje de calentador se acopla al elemento de flujo para definir tres zonas de calentamiento dentro de cada canal de flujo de amplificación. El montaje de calentador y el elemento de flujo están configurados colectivamente para mantener una temperatura de una primera parte del elemento de flujo asociada con la primera zona de calentamiento a una primera temperatura. El montaje de calentador y el elemento de flujo están configurados colectivamente para mantener una temperatura de una segunda parte del elemento de flujo asociada con la segunda zona de calentamiento a una segunda temperatura. El montaje de calentador y el elemento de flujo están configurados colectivamente para mantener una temperatura de una tercera parte del elemento de flujo asociada con la tercera zona de calentamiento a la primera temperatura. El montaje de calentador se acopla a un primer lado del elemento de flujo mediante una unión adhesiva.

En algunos ejemplos, un método incluye llevar una muestra a un módulo de preparación de muestra de un dispositivo de diagnóstico. El módulo de preparación de muestra se dispone dentro de un alojamiento del dispositivo de diagnóstico. El método también incluye accionar el dispositivo de diagnóstico para extraer, dentro del módulo de preparación de muestra, una molécula diana. El método también incluye accionar el dispositivo de diagnóstico para hacer fluir una solución de PCR que contiene la molécula diana dentro de una trayectoria de flujo de PCR definida por un módulo de PCR, de modo que la solución de PCR se cicle térmicamente por un calentador acoplado al módulo de PCR. El método también incluye accionar el dispositivo de diagnóstico para llevar la solución de PCR de una salida del módulo de PCR a un canal de detección de un módulo de detección. El módulo de detección incluye una superficie de detección dentro del canal de detección, la superficie de detección configurado para retener la molécula diana. El método también incluye accionar el dispositivo de diagnóstico para llevar un reactivo hacia el canal de detección, de modo que cuando el reactivo reaccione con una molécula señal asociada con un amplicón diana, se produzca una señal óptica visible asociada con la superficie de detección. El método también incluye observar la superficie de detección mediante una abertura de detección del alojamiento.

Tal como se utiliza en el presente documento, el término “aproximadamente” cuando se usa en relación con una indicación numérica mencionada significa la indicación numérica mencionada más o menos hasta el 10% de esa indicación numérica mencionada. Por ejemplo, el lenguaje “aproximadamente 50” cubre el intervalo de 45 a 55.

Tal como se utiliza en esta memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas, las palabras “proximal” y “distal” se refieren a direcciones cercanas y lejanas de, respectivamente, un operador del dispositivo de diagnóstico. De este modo, por ejemplo, el extremo de un accionador pulsado por un usuario que está lo más lejos posible del usuario sería el extremo distal del accionador, mientras que el extremo opuesto al extremo distal (es decir, el extremo manipulado por el usuario) sería el extremo proximal del accionador.

Tal como se utiliza en esta memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas, el término “reactivo” incluye cualquier sustancia que se usa junto con cualquiera de las reacciones descritas en el presente documento. Por ejemplo, un reactivo puede incluir un amortiguador de elución, un reactivo de PCR, una enzima, un sustrato, una solución de lavado o similar. Un reactivo puede incluir una mezcla de uno o más constituyentes. Un reactivo puede incluir tales constituyentes independientemente de su estado de materia (por ejemplo, sólido, líquido o gas). Además, un reactivo puede incluir múltiples constituyentes que pueden incluirse en una sustancia en un estado mezclado, en un estado no mezclado y/o en un estado parcialmente mezclado. Un reactivo puede incluir tanto constituyentes activos como constituyentes inertes. En consecuencia, tal como se usa en el presente documento, un reactivo puede incluir constituyentes no reactivos y/o inertes tales como agua, colorante o similares.

Debe comprenderse que el término "hermético a fluidos" abarca el sellado hermético (es decir, un sello que es impermeable a gases) así como un sello que es solamente impermeable a líquidos. El término "sustancialmente" cuando se usa en relación con "hermético a fluidos", "impermeable a gases" y/o "impermeable a líquidos" pretende transmitir que, aunque es deseable la impermeabilidad total a fluidos, puede producirse alguna fuga mínima debido a tolerancias de fabricación, u otras consideraciones prácticas (tales como, por ejemplo, la presión aplicada al sello y/o dentro del fluido), incluso en un sello "sustancialmente hermético a fluidos". De este modo, un sello "sustancialmente hermético a fluidos" incluye un sello que evita el paso de un fluido (incluyendo gases, líquidos y/o suspensiones) a través del mismo cuando el sello se mantiene a presiones de menos de aproximadamente 34,47 kPa (5 psig), menos de aproximadamente 68,95 kPa (10 psig), menos de aproximadamente 137,90 kPa (20 psig), menos de aproximadamente 206,84 kPa (30 psig), menos de aproximadamente 344,74 kPa (50 psig), menos de aproximadamente 517,11 kPa (75 psig), menos de aproximadamente 689,48 kPa (100 psig), y todos los valores entre ellos. No se considera una fuga cualquier capa de fluido residual que pueda estar presente sobre una parte de pared de un recipiente después de que el componente que define el sello de "sustancialmente hermético a fluidos" se desplaza más allá de la parte de la pared.

Debe comprenderse que el término "opaco" incluye estructuras (tales como partes de un alojamiento de dispositivo) que no sean transparentes y/o que no permitan que un objeto se vea claramente o de manera distintiva a través de la estructura. El término "opaco" o "sustancialmente opaco" o "semiopaco" cuando se usa en relación con la descripción de un alojamiento de dispositivo o cualquier otra estructura descrita en el presente documento pretende transmitir que los objetos no pueden verse claramente a través del alojamiento. Debe comprenderse que un alojamiento (o parte del mismo) descrito como "opaco" o "sustancialmente opaco" o "semiopaco" incluye estructuras que pueden tener un color bloqueador, o que pueden no tener un color, pero que son de otro modo brumosas, borrosas, manchadas, texturizada o similares.

A menos que se indique lo contrario, los términos aparato, aparato de diagnóstico, sistema de diagnóstico, prueba de diagnóstico, sistema de prueba de diagnóstico, unidad de prueba y variantes de los mismos pueden usarse de manera intercambiable.

La figura 1 es una ilustración esquemática de un dispositivo de prueba de diagnóstico molecular portátil 1000 (también denominado "dispositivo de prueba") según un ejemplo. El dispositivo de prueba 1000 incluye un alojamiento 1010, un módulo de amplificación 1600 y un módulo de detección 1800. El alojamiento 1010 puede ser cualquier estructura dentro de la cual el módulo de amplificación 1600 y el módulo de detección 1800 estén contenidos para formar un dispositivo portátil. Dicho de manera similar, el dispositivo de prueba de diagnóstico molecular 1000 tiene un tamaño, forma y/o peso tal que el dispositivo puede llevarse, sujetarse, usarse y/o manipularse en las manos de un usuario. De esta manera, el usuario puede realizar una prueba de diagnóstico molecular para la detección rápida y exacta de una enfermedad sin un instrumento grande y caro. Además, la prueba de diagnóstico molecular autónoma y portátil de esta disposición para la detección rápida y exacta de una enfermedad. En algunos ejemplos, el dispositivo de prueba 1000 (y cualquiera de los dispositivos de prueba descritos en el presente documento) puede tener un volumen total de menos de aproximadamente 260 cm³ (o aproximadamente 16 pulgadas cúbicas; por ejemplo, una longitud de aproximadamente 10,2 cm, un ancho de aproximadamente 10,2 cm y un grosor de aproximadamente 2,5 cm). En algunos ejemplos, el dispositivo de prueba 1000 (y cualquiera de los dispositivos de prueba descritos en el presente documento) puede tener un volumen total de menos de aproximadamente 200 cm³ (o aproximadamente 12,25 pulgadas cúbicas; por ejemplo, una longitud de aproximadamente 8,9 cm, un ancho de aproximadamente 8,9 cm y un grosor de aproximadamente 2,5 cm). En algunos ejemplos, el dispositivo de prueba 1000 (y cualquiera de los dispositivos de prueba descritos en el presente documento) puede tener un volumen total de menos de aproximadamente 147 cm³ (o aproximadamente 9 pulgadas cúbicas; por ejemplo, una longitud de aproximadamente 7,6 cm, un ancho de aproximadamente 7,6 cm y un grosor de aproximadamente 2,5 cm). En algunos ejemplos, el dispositivo de prueba 1000 (y cualquiera de los dispositivos de prueba descritos en el presente documento) puede tener un volumen total de aproximadamente 207 cm³ (o aproximadamente 12,6 pulgadas cúbicas; por ejemplo, una longitud de aproximadamente 9,0 cm, un ancho de aproximadamente 7,7 cm y un grosor de aproximadamente 3,0 cm).

El módulo de amplificación 1600 está configurado para recibir una muestra de entrada S1 que puede contener un organismo diana asociada con un estado de enfermedad. La muestra S1 (y cualquiera de las muestras de entrada descritas en el presente documento) puede ser, por ejemplo, sangre, orina, especímenes uretrales masculinos, especímenes vaginales, especímenes de frotis cervical y/o especímenes de frotis nasal recogidas usando un equipo de obtención de muestras disponible comercialmente. El equipo de recolección de muestra puede ser un equipo de recolección de orina o equipo de recolección de frotis. Los ejemplos no limitativos de tales equipos de obtención de muestras incluyen el Copan Mswab o BD ProbeTec Urine Preservative Transport Kit, # de Cat 440928, de orina pura. En algunos ejemplos, la muestra S1 puede ser una muestra sin tratar obtenida de la fuente, y sobre la cual se ha realizado una preparación limitada (filtración, lavado o similar). En algunos ejemplos, por ejemplo, el dispositivo 1000 puede incluir un módulo de entrada de muestra y/o un módulo de preparación de muestra de los tipos mostrados y descritos en el presente documento.

El módulo de amplificación 1600 define un volumen de reacción 1618 e incluye un calentador 1630 de modo que

el módulo de amplificación 1600 pueda realizar una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) sobre la muestra de entrada S1. En algunos ejemplos, el volumen de reacción 1618 puede ser un volumen central dentro del cual la muestra S1 se mantiene mientras el calentador 1630 cicle repetidamente la muestra S1 a través de una serie de puntos fijos de temperatura para amplificar el organismo diana y/o partes del ADN del organismo. En otros ejemplos, el volumen de reacción 1618 puede ser un volumen a través del cual la muestra S1 se haga fluir, y que tenga varias partes mantenidas a diferentes temperaturas por el calentador 1630. De esta manera, el módulo de amplificación 1600 puede realizar una PCR de "flujo pasante". En algunos ejemplos, el volumen de reacción puede tener una forma curva, "de retroceso", y/o serpenteante para permitir una longitud de flujo grande conservando a la vez el tamaño total del dispositivo dentro de los límites deseados.

El calentador 1630 puede ser cualquier calentador o conjunto de calentadores adecuado que pueda realizar las funciones descritas en el presente documento para amplificar la muestra S1. Por ejemplo, en algunos ejemplos, el calentador 1630 puede ser un solo calentador que se acople térmicamente al volumen de reacción 1618 y que pueda realizar ciclos a través de múltiples puntos fijos de temperatura (por ejemplo, entre aproximadamente 60 C y aproximadamente 90 C). En otros ejemplos, el calentador 1630 puede ser un conjunto de calentadores, cada uno de los cuales se acopla térmicamente al volumen de reacción 1618 y que se mantiene en un punto fijo sustancialmente constante. De esta manera, el calentador 1630 y el volumen de reacción 1618 puede establecer múltiples zonas de temperatura a través de las cuales la muestra S1 fluye y/o puede definir un número deseado de ciclos de amplificación para asegurar la sensibilidad de prueba deseada (por ejemplo, al menos 30 ciclos, al menos 34 ciclos, al menos 36 ciclos, al menos 38 ciclos, o al menos 40 ciclos). El calentador 1630 (y cualquiera de los calentadores descritos en el presente documento) puede ser de cualquier diseño adecuado. Por ejemplo, en algunos ejemplos, el calentador 1630 puede ser un calentador de resistencia, un dispositivo termoeléctrico (por ejemplo, un dispositivo de Peltier) o similares.

El módulo de detección 1800 recibe una salida S7 del módulo de amplificación 1800 y un reactivo R. El reactivo R está formulado para producir una señal OP1 que indica la presencia de un amplicón y/u organismo diana dentro de la muestra de entrada S1. De esta manera, el dispositivo autónomo 1000 puede proporcionar diagnóstico molecular de confianza en el marco de un punto de atención (por ejemplo, la consulta del doctor, farmacia o similar) o en la casa del usuario. La señal OP1 puede ser cualquier señal adecuada que alerte al usuario con respecto a si el organismo diana está presente o no. Dicho de manera similar, la señal OP1 puede ser cualquier señal adecuada para detectar una enfermedad asociada con el amplicón y/u organismo diana. La señal OP1 puede ser, por ejemplo, una señal visual, una señal acústica, una señal de radiofrecuencia o similar.

La señal OP1 es una señal visual que el usuario puede ver a través de una abertura de detección (no mostrada en la figura 1) definida por el alojamiento. La señal visual puede ser, por ejemplo, una señal no fluorescente. Esta disposición permite que el dispositivo 1000 sea desprovisto de una fuente de luz (por ejemplo, láseres, diodos emisores de luz o similares) y/o cualquier detector de luz (tubo fotomultiplicador, fotodiodos, dispositivos CCD, o similares) para detectar y/o amplificar la señal OP1. En algunos ejemplos, la señal OP1 es una señal visible caracterizada por un color asociado con la presencia del amplicón y/u organismo diana. Dicho de otra manera, en algunos ejemplos, el dispositivo 1000 puede producir una señal de salida colorimétrica que es visible al usuario. En tales ejemplos, el módulo de detección 1800 (y cualquiera de los módulos de detección descritos en el presente documento) puede producir una señal quimioluminiscente que resulte de la introducción del reactivo R y/o cualquier otra sustancia (por ejemplo, un sustrato para catalizar la producción de la señal OP1, y similares). En algunos ejemplos, el reactivo está formulado de modo que la señal visible OP1 siga presente durante al menos aproximadamente 30 minutos. El reactivo R y cualquier otra composición formulada para producir la señal OP1 puede ser cualquier composición adecuada tal como se describe en el presente documento. En algunos ejemplos, el reactivo R puede almacenarse dentro del alojamiento 1010 de cualquier forma tal como se describe en el presente documento (por ejemplo, en un recipiente sellado, una forma liofilizada o similar).

En algunos ejemplos, el dispositivo 1000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede estar configurado para producir la señal OP1 en un tiempo de menos de aproximadamente 25 minutos a partir de que la muestra S1 se reciba. En otros ejemplos, el dispositivo 1000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede estar configurado para producir la señal OP1 en un tiempo de menos de aproximadamente 20 minutos a partir de que se introduzca la muestra S1, menos de aproximadamente 18 minutos a partir de que se introduzca la muestra S1, menos de aproximadamente 16 minutos a partir de que se introduzca la muestra S1, menos de aproximadamente 14 minutos a partir de que se introduzca la muestra S1 y todos los intervalos entre ellos.

Dicho de manera similar, el dispositivo 1000 y los componentes en el mismo pueden estar configurados para realizar un PRC "rápido" (por ejemplo, completando al menos 30 ciclos en menos de aproximadamente 10 minutos), y una rápida producción de la señal OP1. Dicho de manera similar, el dispositivo 1000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede estar configurado para procesar volúmenes, para tener tamaños dimensionales y/o estar construido a partir de materiales que faciliten una PCR rápida o amplificación en menos de aproximadamente 10 minutos, menos de aproximadamente 9 minutos, menos de aproximadamente 8 minutos, menos de aproximadamente 7 minutos, menos de aproximadamente 6 minutos, o cualquier intervalo entre ellos, tal como se describe en el presente documento.

En algunos ejemplos, el dispositivo 1000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede ser desechable y/o estar configurado para un solo uso. Dicho de manera similar, el dispositivo 1000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede estar configurado para un solo uso. Por ejemplo, en algunos ejemplos, la cantidad del reactivo R puede ser suficiente para un solo uso. En otros ejemplos, el dispositivo 1000 puede incluir una fuente de alimentación incorporada (por ejemplo, un batería de CC) para alimentar el módulo de amplificación 1600 y/o cualquier módulo de transferencia de fluido o preparación de la muestra que puede estar presente (no mostrado en la figura 1) que tiene una capacidad suficiente para una sola prueba. En algunos ejemplos, el dispositivo 1000 puede incluir una fuente de alimentación (no mostrada en la figura 1) que tiene una capacidad de menos de aproximadamente 1200 mAh.

Otro ejemplo de un dispositivo configurado para un solo uso se muestra en la figura 2, la cual muestra un dispositivo de prueba de diagnóstico molecular 2000 (también denominado “dispositivo de prueba” o “dispositivo”), según un ejemplo. El dispositivo de prueba 2000 incluye un alojamiento 2010, un módulo de preparación de muestra 2200, un módulo de amplificación 2600 y un módulo de detección 2800. El alojamiento 2010 puede ser cualquier estructura dentro de la cual estén contenidos el módulo de preparación de muestra 2200, el módulo de amplificación 2600 y el módulo de detección 2800. En algunos ejemplos, el dispositivo de prueba 2000 tiene un tamaño, forma y/o peso tal que el dispositivo puede llevarse, sujetarse, usarse y/o manipularse en las manos de un usuario (es decir, puede ser un dispositivo “portátil”). En otros ejemplos, el dispositivo de prueba 2000 puede ser un dispositivo autónomo de un solo uso que tiene un volumen total mayor de aproximadamente 260 cm³ (o aproximadamente 16 pulgadas cúbicas). En algunos ejemplos, el dispositivo de prueba 2000 (y cualquiera de los dispositivos de prueba descritos en el presente documento) puede tener un volumen total de aproximadamente 207 cm³ (o aproximadamente 12,6 pulgadas cúbicas; por ejemplo, una longitud de aproximadamente 9,0 cm, un ancho de aproximadamente 7,7 cm y un grosor de aproximadamente 3,0 cm).

El módulo de preparación de muestra 2200 se dispone dentro del alojamiento 2010, y está configurado para recibir una muestra de entrada S1 mediante una parte de entrada 2162 del alojamiento 2010. Tal como se describe en el presente documento, el módulo de preparación de muestra 2200 está configurado para procesar la muestra S1 para facilitar la detección de un organismo en el mismo que esté asociado con una enfermedad. Por ejemplo, en algunos ejemplos, el módulo de preparación de muestra 2200 puede estar configurado para concentrar y lisar células en la muestra S1, permitiendo por lo tanto la extracción posterior de ADN para facilitar la amplificación y/o detección. En algunos ejemplos, la muestra procesada/lisada se empuja y/o se transfiere de otro modo del módulo de preparación de muestra 2200 a los otros módulos dentro del dispositivo 2000 (por ejemplo, el módulo de amplificación 2600, un módulo de mezcla (no mostrado), o similar). Eliminado la necesidad de preparación externa de la muestra y un instrumento engorroso, el dispositivo 2000 es adecuado para usarse en el marco de un punto de atención (por ejemplo, la consulta del doctor, farmacia o similar) o en la casa del usuario, y puede recibir cualquier muestra adecuada S1. La muestra S1 (y cualquiera de las muestras de entrada descritas en el presente documento) puede ser, por ejemplo, sangre, orina, especímenes uretrales masculinos, especímenes vaginales, especímenes de frotis cervical y/o especímenes de frotis nasal recogidos usando un equipo de obtención de muestras disponible comercialmente.

El módulo de preparación de muestra 2200 incluye un montaje de filtro 2230 a través del cual la muestra S1 fluye durante una operación de “dispensación” o “accionamiento de la muestra”. Aunque no se muestra en la figura 2, en algunos ejemplos, el módulo de preparación de muestra 2200 incluye un depósito de residuos al cual se transporta el producto residual de la operación de filtración. En algunos ejemplos, el módulo de preparación de muestra 2200 incluye componentes y/o sustancias que siguen la operación de “dispensación de muestra” con una operación de lavado. En algunos ejemplos, el módulo de preparación de muestra 2200 está configurado para una operación de retorno de elución para suministrar las partículas capturadas de la membrana de filtro y suministrar el volumen eluido al destino diana (por ejemplo, a través del módulo de amplificación 2600). En algunos ejemplos, el módulo de preparación de muestra 2200 está configurado de modo que no provoque que la solución de salida se contamine por reactivos anteriores (por ejemplo, similar a la muestra o lavado).

El módulo de amplificación 2600 incluye un elemento de flujo 2610 y un calentador 2630, y está configurado para realizar una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) sobre la muestra de entrada S6 de modo que se emite por el módulo de preparación de muestra 2200. El elemento de flujo 2610 define una trayectoria de flujo de “retroceso” o serpenteante 2618 a través de la cual la muestra preparada S6 fluye. Dicho de manera similar, el elemento de flujo 2610 define una trayectoria de flujo 2618 que es curva de modo que la trayectoria de flujo 2618 se cruce con el calentador 2630 en múltiples ubicaciones. De esta manera, el módulo de amplificación 2600 puede realizar una PCR de “flujo pasante” donde la muestra S6 fluye a través de múltiples regiones de temperatura diferentes.

El calentador 2630 puede ser cualquier calentador o conjunto de calentadores adecuado que pueda realizar las funciones descritas en el presente documento para amplificar la muestra S6. Específicamente, el calentador 2630 se acopla al elemento de flujo 2610, y está configurado para establecer múltiples zonas de temperatura a través de la cual la muestra S6 fluye y/o puede definir un número deseado de ciclos de amplificación para asegurar la

sensibilidad de prueba deseada (por ejemplo, al menos 30 ciclos, al menos 34 ciclos, al menos 36 ciclos, al menos 38 ciclos, o al menos 40 ciclos). El calentador 2630 (y cualquiera de los calentadores descritos en el presente documento) puede ser de cualquier diseño adecuado. Por ejemplo, en algunos ejemplos, el calentador 2630 puede ser un calentador de resistencia, un dispositivo termoelectrico (por ejemplo, un dispositivo de Peltier), o similar. En algunos ejemplos, el calentador 2630 puede ser uno o más "calentadores de banda" lineales dispuestos de modo que la trayectoria de flujo 2618 atraviese los calentadores en múltiples puntos diferentes. En otros ejemplos, el calentador 2630 puede ser uno o más calentadores curvos que tienen una geometría que corresponde a la del elemento de flujo 2610 para producir múltiples zonas de temperaturas diferentes en la trayectoria de flujo 2618.

El módulo de detección 2800 recibe una salida S7 del módulo de amplificación 2800 y un reactivo R. El reactivo R está formulado para producir una señal OP1 que indica la presencia de un amplicón y/u organismo diana dentro de la muestra de entrada S1. De esta manera, el dispositivo autónomo 2000 puede proporcionar un diagnóstico molecular de confianza en el marco de un punto de atención (por ejemplo, la consulta del doctor, farmacia o similar) o en la casa del usuario. La señal OP1 puede ser cualquier señal adecuada que alerte al usuario con respecto a si el organismo diana está presente o no. Dicho de manera similar, la señal OP1 puede ser cualquier señal adecuada para detectar una enfermedad asociada con el amplicón y/u organismo diana. La señal OP1 puede ser, por ejemplo, una señal visual, una señal acústica, una señal de radiofrecuencia o similar.

En algunos ejemplos, la señal OP1 es una señal visual que el usuario puede ver a través de una abertura de detección (no mostrada en la figura 2) definida por el alojamiento. La señal visual puede ser, por ejemplo, una señal no fluorescente. Esta disposición permite que el dispositivo 2000 sea desprovisto de una fuente de luz (por ejemplo, láseres, diodos emisores de luz o similares) y/o cualquier detector de luz (tubo fotomultiplicador, fotodiodos, dispositivos de CCD, o similares) para detectar y/o amplificar la señal OP1. En algunos ejemplos, la señal OP1 es una señal visible caracterizada por un color asociado con la presencia del amplicón y/u organismo diana. Dicho de otro modo, en algunos ejemplos, el dispositivo 2000 puede producir una señal de salida colorimétrica que sea visible por el usuario. En tales ejemplos, el módulo de detección 2800 (y cualquiera de los módulos de detección descritos en el presente documento) puede producir una señal quimioluminiscente que resulte de la introducción del reactivo R y/o cualquier otra sustancia (por ejemplo, un sustrato para catalizar la producción de la señal OP1, y similar). En algunos ejemplos, el reactivo está formulado de modo que la señal visible OP1 permanezca presente durante al menos aproximadamente 30 minutos. El reactivo R y cualquier otra composición formulada para producir la señal OP1 puede ser cualquier composición adecuada tal como se describe en el presente documento. En algunos ejemplos, el reactivo R puede almacenarse dentro del alojamiento 2010 de cualquier manera tal como se describe en el presente documento (por ejemplo, en un recipiente sellado, una forma liofilizada o similar).

En algunos ejemplos, el dispositivo 2000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede estar configurado para producir la señal OP1 en un tiempo de menos de aproximadamente 25 minutos a partir de que la muestra S1 se reciba. En otros ejemplos, el dispositivo 2000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede estar configurado para producir la señal OP1 en un tiempo de menos de aproximadamente 20 minutos a partir de que se introduzca la muestra S1, menos de aproximadamente 18 minutos a partir de que se introduzca la muestra S1, menos de aproximadamente 16 minutos a partir de que se introduzca la muestra S1, menos de aproximadamente 14 minutos a partir de que se introduzca la muestra S1, y todos los intervalos entre ellos.

Dicho de manera similar, el dispositivo 2000 y los componentes en el mismo pueden estar configurados para realizar una PCR "rápida" (por ejemplo, completando al menos 30 ciclos en menos de aproximadamente 20 minutos), y producción rápida de la señal OP1. Dicho de manera similar, el dispositivo 2000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede estar configurado para procesar volúmenes, para tener tamaños dimensionales y/o estar contruidos a partir de materiales que faciliten una PCR rápida o amplificación en menos de aproximadamente 10 minutos, menos de aproximadamente 9 minutos, menos de aproximadamente 8 minutos, menos de aproximadamente 7 minutos, menos de aproximadamente 6 minutos, o cualquier intervalo entre ellos, tal como se describe en el presente documento.

Tal como se describió anteriormente, el dispositivo 2000 está configurado como un dispositivo de un solo uso que puede usarse en el marco de un punto de atención y/o en la casa de un usuario. Dicho de manera similar, en algunos ejemplos, el dispositivo 2000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede estar configurado para usarse en un centro de pruebas descentralizado. Además, en algunos ejemplos, el dispositivo 2000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede ser un dispositivo de baja complejidad de CLIA y/o puede funcionar según métodos de baja complejidad de CLIA. Dicho de manera similar, en algunos ejemplos, el dispositivo 2000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) está configurado para hacerse funcionar de una manera suficientemente sencilla, y puede producir resultados con suficiente exactitud para tener una probabilidad limitada de mal uso y/o presentar un riesgo limitado de daño si se usa de manera inapropiada. En algunos ejemplos, el dispositivo 2000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede hacerse funcionar por un usuario con una mínima (o ninguna) formación científica, según métodos que requieren poco juicio del usuario, y/o en los cuales determinadas etapas de funcionamiento se controlan de manera fácil y/o

automática.

Por ejemplo, en algunos ejemplos, el módulo de preparación de muestra 2200 del dispositivo de prueba de diagnóstico molecular de un solo uso 2000 puede acoplarse de manera fija dentro del alojamiento 2010. De esta manera, se elimina el riesgo de colocar de manera inadecuada un cartucho extraíble dentro del alojamiento (estando presente tal riesgo con los sistemas basados en cartuchos conocidos). De manera más particular, en algunos ejemplos, el dispositivo 2000 puede incluir un módulo de transferencia de muestra (no mostrado en la figura 2) configurado para generar presión de fluido, flujo de fluido y/o de otro modo transmitir la muestra de entrada S1 a través de los módulos del dispositivo. Un módulo de transferencia de muestra de este tipo puede ser un módulo de un solo uso que está configurado para entrar en contacto y/o recibir el flujo de muestra. La disposición de un solo uso elimina la probabilidad de contaminación del módulo de transferencia de fluido y/o el módulo de preparación de muestra 2200 se contaminará en ensayos previos, impactando de este modo negativamente en la exactitud de los resultados.

Como otro ejemplo, en algunos ejemplos, el dispositivo 2000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede incluir una variedad de dispositivos de bloqueo que evitan que el usuario realice determinadas etapas de funcionamiento fuera del orden deseado. Además, el dispositivo 2000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede incluir una variedad de dispositivos de bloqueo que evitan que el usuario reutilice el dispositivo después de que se haya intentado y completado un uso inicial. De esta manera, el dispositivo 2000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede estar configurado específicamente para una operación de un solo uso y puede presentar un riesgo limitado de mal uso. Por ejemplo, en algunos ejemplos, el dispositivo 2000 puede incluir un accionador de muestra (no mostrado en la figura 2) configurado para producir una fuerza para llevar la muestra de entrada S1 a través del montaje de filtro 2230 cuando el accionador de muestra se mueve en relación con el alojamiento 2010. El accionador de la muestra puede estar configurado además con protuberancias, rebajos y/u otras características de modo que el accionador de muestra permanecerá bloqueado en la posición accionada después de un solo uso.

Como en otro ejemplo más, en algunos ejemplos, un dispositivo puede incluir reactivos incorporados y un módulo de reactivos de un solo uso configurado para dispensar los reactivos de manera que pueda hacerse funcionar por un usuario con una mínima (o ninguna) formación científica, según métodos que requieren poco juicio del usuario. En algunos ejemplos, un dispositivo que incluye un módulo de reactivo puede incluir un dispositivo de bloqueo que evita que el usuario accione el módulo fuera del orden deseado y/o evita que el usuario reutilice el dispositivo después de que se haya intentado y/o completado un uso inicial. Por ejemplo, las figuras 3 y 4 muestran un dispositivo de prueba de diagnóstico molecular 3000 (también denominado “dispositivo de prueba” o “dispositivo”), según un ejemplo. El dispositivo de prueba 3000 incluye un alojamiento 3010, un módulo de reactivo 3700, un módulo de amplificación 3600 y un módulo de detección 3800. El alojamiento 3010 puede ser cualquier estructura dentro de la cual estén contenidos el módulo de reactivo 3700, el módulo de amplificación 3600 y el módulo de detección 3800. En algunos ejemplos, el dispositivo de prueba 3000 tiene un tamaño, forma y/o peso de modo que el dispositivo puede llevarse, sujetarse, usarse y/o manipularse en las manos de un usuario (es decir, puede ser un dispositivo “portátil”). En otros ejemplos, el dispositivo de prueba 3000 puede ser un dispositivo autónomo de un solo uso que tiene un volumen total mayor de aproximadamente 260 cm³ (o aproximadamente 16 pulgadas cúbicas). En algunos ejemplos, el dispositivo de prueba 3000 (y cualquiera de los dispositivos de prueba descritos en el presente documento) puede tener un volumen total de aproximadamente 207 cm³ (o aproximadamente 12,6 pulgadas cúbicas; por ejemplo, una longitud de aproximadamente 9,0 cm, un ancho de aproximadamente 7,7 cm y un grosor de aproximadamente 3,0 cm).

El módulo de reactivo 3700 se dispone dentro del alojamiento 3010 y define un volumen de reactivo 3710 dentro del cual está contenido al menos un reactivo. Aunque las figuras 3 y 4 muestran el volumen de reactivo 3710 que contiene un reactivo R y un reactivo R1, y que está acoplado fluidicamente al módulo de amplificación 3600 y el módulo de detección 3800, en otros ejemplos, un módulo de reactivo puede contener cualquier reactivo adecuado y puede acoplarse fluidicamente a y/o puede llevar tales reactivos a cualquier módulo adecuado dentro del dispositivo. Por ejemplo, en algunos ejemplos, el volumen de reactivo puede contener cualquiera de un lavado de muestra, un amortiguador de elución, uno o más reactivos de PCR, un reactivo de detección y/o un sustrato.

Tal como se muestra por la flecha AA en la figura 4, el módulo de reactivo 3700 se acciona por un accionador del reactivo 3080 para llevar el reactivo (indicado como reactivo R y reactivo R1) desde el volumen de reactivo 3710. Específicamente, el accionador del reactivo 3080 se desplaza desde una primera posición (figura 3) hasta una segunda posición (figura 4) para llevar el/los reactivo(s) desde el volumen de reactivo 3710. El accionador del reactivo 3080 se configura para permanecer bloqueado en la segunda posición para evitar la reutilización del dispositivo 3000. En algunos ejemplos, el accionador del reactivo 3080 puede incluir protuberancias, rebajos y/u otras características que interfieren en el alojamiento 3010 y/u otras partes del dispositivo para mantener el accionador 3080 en la segunda posición. Dicho de manera similar, el accionador del reactivo 3080 puede incluir cualquier estructura adecuada para mantener el módulo de reactivo 3700 en su segunda configuración (o accionada). De esta manera, el dispositivo 3000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede configurarse específicamente para una operación de un solo uso y puede presentar

un riesgo limitado de mal uso.

Aunque el accionador del reactivo 3080 se muestra como si se desplazara en una dirección lineal para llevar los reactivos, en otros ejemplos, el accionador del reactivo 3080 puede estar configurado para girar para desarrollar la presión y/o el flujo del/de los reactivo(s). Además, en algunos ejemplos, el accionador del reactivo 3080 (y cualquiera de los accionadores de reactivos descrito en el presente documento) puede ser un accionador automático (es decir, un accionador electrónico, un accionador que se desplace y/o se accione con una interacción humana limitada, y/o un accionador que se desplace y/o se accione sin interacción humana directa). En otros ejemplos, el accionador del reactivo 3080 (y cualquiera de los accionadores de reactivos descrito en el presente documento) puede ser un accionador manual (por ejemplo, un accionador no electrónico que lo manipule directamente un usuario). Esta disposición permite que el accionador del reactivo 3080 se accione sin la necesidad de energía electrónica y/o antes de que el dispositivo 3000 se encienda. En algunos ejemplos, el movimiento del accionador 3080 también puede iniciar una secuencia de encendido del dispositivo 3000. De esta manera, el dispositivo puede limitar cualquier uso de energía antes de comenzar la prueba, limitando por lo tanto la probabilidad de mal uso y/o una prueba inexacta (por ejemplo, debido a una batería agotada inesperadamente).

El módulo de amplificación 3600 define un volumen de reacción 3618, incluye un calentador 3630 y está configurado para realizar una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) sobre la muestra de entrada S1. La muestra de entrada S1 puede ser cualquier muestra adecuada tal como se describe en el presente documento, y puede llevarse al módulo de amplificación mediante una parte de entrada 3162 del alojamiento 3010. En algunos ejemplos, el volumen de reacción 3618 puede ser un volumen central dentro del cual la muestra S1 se mantiene mientras el calentador 3630 cicla repetidamente la muestra S1 a través de una serie de puntos fijos de temperatura para amplificar el organismo diana y/o partes del ADN del organismo. En otros ejemplos, el volumen de reacción 3618 puede ser un volumen a través del cual la muestra S1 se hace fluir, y que tiene varias partes mantenidas a diferentes temperaturas por el calentador 3630. De esta manera, el módulo de amplificación 3600 puede realizar una PCR de "flujo pasante". En algunos ejemplos, el volumen de reacción puede tener una forma curva, "de retroceso" y/o serpenteante para permitir una longitud de flujo grande conservando a la vez el tamaño total del dispositivo dentro de los límites deseados.

El calentador 3630 puede ser cualquier calentador o conjunto de calentadores adecuado que pueda realizar las funciones descritas en el presente documento para amplificar la muestra S1. Por ejemplo, en algunos ejemplos, el calentador 3630 puede ser un solo calentador que se acople térmicamente al volumen de reacción 3618 y que pueda realizar ciclos a través de múltiples puntos fijos de temperatura (por ejemplo, entre aproximadamente 60 C y aproximadamente 90 C). En otros ejemplos, el calentador 3630 puede ser un conjunto de calentadores, cada uno de los cuales se acopla térmicamente al volumen de reacción 3618 y que se mantiene en un punto fijo sustancialmente constante. De esta manera, el calentador 3630 y el volumen de reacción 3618 puede establecer múltiples zonas de temperatura a través de las cuales la muestra S1 fluye y/o puede definir un número deseado de ciclos de amplificación para asegurar la sensibilidad de prueba deseada (por ejemplo, al menos 30 ciclos, al menos 34 ciclos, al menos 36 ciclos, al menos 38 ciclos, o al menos 40 ciclos). El calentador 3630 (y cualquiera de los calentadores descritos en el presente documento) puede ser de cualquier diseño adecuado. Por ejemplo, en algunos ejemplos, el calentador 3630 puede ser un calentador de resistencia, un dispositivo termoeléctrico (por ejemplo, un dispositivo de Peltier), o similar.

Tal como se muestra la figura 4, el módulo de detección 3800 recibe una salida S7 del módulo de amplificación 3800 y un reactivo R del módulo de reactivo 3700. El reactivo R es un reactivo de detección formulado para producir y/o catalizar la producción de una señal OP1 que indica la presencia de un amplicón y/u organismo diana dentro de la muestra de entrada S1. De esta manera, el dispositivo autónomo 3000 puede proporcionar diagnósticos moleculares fiables en el marco de un punto de atención (por ejemplo, la consulta del doctor, farmacia o similar) o en la casa del usuario. La señal OP1 puede ser cualquier señal adecuada que alerte al usuario con respecto a si el organismo diana está presente o no. Dicho de manera similar, la señal OP1 puede ser cualquier señal adecuada para detectar una enfermedad asociada con el amplicón y/u organismo diana. La señal OP1 puede ser, por ejemplo, una señal visual, una señal acústica, una señal de radiofrecuencia o similar.

En algunos ejemplos, la señal OP1 es una señal visual que el usuario puede ver a través de una abertura de detección (no mostrada en las figuras 3 y 4) definida por el alojamiento. La señal visual puede ser, por ejemplo, una señal no fluorescente. Esta disposición permite que el dispositivo 3000 sea desprovisto de una fuente de luz (por ejemplo, láseres, diodos emisores de luz o similares) y/o cualquier detector de luz (tubo fotomultiplicador, fotodiodos, dispositivos CCD, o similares) para detectar y/o amplificar la señal OP1. En algunos ejemplos, la señal OP1 es una señal visible caracterizada por un color asociada con la presencia del amplicón y/u organismo diana. Dicho de otra manera, en algunos ejemplos, el dispositivo 3000 puede producir una señal de salida colorimétrica que sea visible al usuario. En tales ejemplos, el módulo de detección 3800 (y cualquiera de los módulos de detección descritos en el presente documento) puede producir una señal quimioluminiscente que resulte de la introducción del reactivo R y/o cualquier otra sustancia (por ejemplo, un sustrato para catalizar la producción de la señal OP1, y similares). En algunos ejemplos, el reactivo está formulado de modo que la señal OP1 visible siga presente durante al menos aproximadamente 30 minutos. El reactivo R y cualquier otra composición formulada para producir la señal OP1 puede ser cualquier composición adecuada tal como se describe en el presente

documento. En algunos ejemplos, el reactivo R puede almacenarse dentro del alojamiento 3010 de cualquier manera tal como se describe en el presente documento (por ejemplo, en un recipiente sellado, una forma liofilizada o similar).

- 5 En algunos ejemplos, el dispositivo 3000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede estar configurado para producir la señal OP1 en un tiempo de menos de aproximadamente 25 minutos desde cuando la muestra S1 se reciba. En otros ejemplos, el dispositivo 3000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede estar configurado para producir la señal OP1 en un tiempo de menos de aproximadamente 20 minutos desde cuando se introduzca la muestra S1, al menos de aproximadamente 18 minutos desde cuando se introduzca la muestra S1, menos de aproximadamente 16 minutos desde cuando se introduzca la muestra S1, menos de aproximadamente 14 minutos desde cuando se introduzca la muestra S1, y todos los intervalos entre ellos.

- 15 Dicho de manera similar, el dispositivo 3000 y los componentes en el mismo pueden estar configurados para realizar una PCR "rápida" (por ejemplo, completando al menos 30 ciclos en menos de aproximadamente 10 minutos), y la producción rápida de la señal OP1. Dicho de manera similar, el dispositivo 3000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede estar configurado para procesar volúmenes, tener tamaños dimensionales y/o estar construido a partir de materiales que faciliten completar una PCR rápida o amplificación en menos de aproximadamente 10 minutos, menos de aproximadamente 9 minutos, menos de aproximadamente 8 minutos, menos de aproximadamente 7 minutos, menos de aproximadamente 6 minutos o cualquier intervalo entre estos, tal como se describe en el presente documento.

- 25 Tal como se describió anteriormente, el dispositivo 3000 está configurado como un dispositivo de un solo uso que puede usarse en el marco de un punto de atención y/o en la casa de un usuario. Dicho de manera similar, en algunos ejemplos, el dispositivo 3000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede estar configurado para usarse en un centro de pruebas descentralizado. Además, en algunos ejemplos, el dispositivo 3000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede ser un dispositivo de baja complejidad de CLIA y/o puede funcionar según métodos de baja complejidad de CLIA. Dicho de manera similar, en algunos ejemplos, el dispositivo 3000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) está configurado para hacerse funcionar de una forma suficientemente sencilla, y puede producir resultados con exactitud suficiente para tener una probabilidad limitada de mal uso y/o presentar un riesgo limitado de peligro si se usa inapropiadamente. En algunos ejemplos, el dispositivo 3000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede hacerse funcionar por un usuario con una mínima (o ninguna) formación científica, según métodos que requieran poco juicio del usuario, y/o en los cuales ciertas etapas de funcionamiento se controlan de manera fácil y/o automática.

- 40 Por ejemplo, en algunos ejemplos, el módulo de reactivo 3700 del dispositivo de prueba de diagnóstico molecular 3000 puede incluir sellos de modo que el volumen de reactivo 3710 sea un volumen de reactivo sellado dentro del cual se almacenen el/los reactivo(s). En tales ejemplos, el accionador del reactivo 3080 está configurado para perforar el sello que aísla fluidicamente el volumen de reactivo 3710 cuando se desplaza. De esta manera, el dispositivo de prueba de diagnóstico molecular 3000 puede estar configurado para el almacenamiento a largo plazo de tal manera que tenga una probabilidad limitada de mal uso (contaminación del/de los reactivo(s), caducidad del/de los reactivo(s), fuga del/de los reactivo(s), o similares). En algunos ejemplos, el módulo de reactivo 3700 y/o cualquier área en comunicación fluida con este (o cualquier otro módulo de reactivo descrito en el presente documento) puede incluir un desecante, sellos u otras composiciones o componentes para mantener la estabilidad durante el almacenamiento a largo plazo. En algunos ejemplos, el dispositivo de prueba de diagnóstico molecular 3000 está configurado para almacenarse durante hasta aproximadamente 36 meses, hasta aproximadamente 32 meses, hasta aproximadamente 26 meses, hasta aproximadamente 24 meses, hasta aproximadamente 20 meses, hasta aproximadamente 18 meses, o cualquier valor entre ellos.

- 55 En algunos ejemplos, el dispositivo 3000 (o cualquiera de los dispositivos mostrados en el presente documento) puede incluir una fuente de alimentación incorporada (por ejemplo, una batería de CC, un capacitor, o similar) para alimentar al módulo de amplificación 3600 y/o cualquier módulo de preparación de muestra o de transferencia de fluido que pueda estar presente (no mostrado en las figuras 3 y 4). Además, la fuente de alimentación puede tener una capacidad suficiente para una sola prueba. De esta manera, la probabilidad de mal uso del dispositivo es limitada. Además, incluyendo una fuente de alimentación con una capacidad limitada, el riesgo de reutilización o uso inapropiado (por ejemplo, después de un acontecimiento de "encendido" erróneo) se limita o se reduce. En algunos ejemplos, el dispositivo 3000 puede incluir una fuente de alimentación (no mostrada en la figura 1) que tenga una capacidad de menos de aproximadamente 1200 mAh. En algunos ejemplos, el dispositivo 3000 (o cualquier otro dispositivo mostrado y descrito en el presente documento) puede incluir un conmutador, elemento de aislamiento o similar que facilite el acoplamiento eléctrico de la fuente de alimentación a un procesador (no mostrado en las figuras 3 y 4), el módulo de amplificación o cualquier otro módulo dentro del dispositivo 3000 para el accionamiento del módulo de preparación de muestra, módulo de reactivo o similar.

- 65 Por ejemplo, las figuras 5 y 6 muestran un dispositivo de prueba de diagnóstico molecular 4000 (también

denominado “dispositivo de prueba” o “dispositivo”), según un ejemplo que incluye una fuente de alimentación 4905. El dispositivo de prueba 4000 también incluye un alojamiento 4010, un módulo de reactivo 4700, un módulo de amplificación 4600 y un módulo de detección 4800. El alojamiento 4010 puede ser cualquier estructura dentro de la cual el módulo de reactivo 4700, el módulo de amplificación 4600, el módulo de detección 4800, y la fuente de alimentación 4905 estén contenidos. En algunos ejemplos, el dispositivo de prueba 4000 tiene un tamaño, forma y/o peso de modo que el dispositivo puede llevarse, sujetarse, usarse y/o manipularse en las manos de un usuario (es decir, que puede ser un dispositivo “portátil”). En otros ejemplos, el dispositivo de prueba 4000 puede ser un dispositivo autónomo de un solo uso que tiene un volumen total mayor de aproximadamente 260 cm³ (o aproximadamente 46 pulgadas cúbicas). En algunos ejemplos, el dispositivo de prueba 4000 (y cualquiera de los dispositivos de prueba descritos en el presente documento) puede tener un volumen total de aproximadamente 207 cm³ (o aproximadamente 12,6 pulgadas cúbicas; por ejemplo, una longitud de aproximadamente 9,0 cm, un ancho de aproximadamente 7,7 cm y un grosor de aproximadamente 3,0 cm).

El módulo de reactivo 4700 se dispone dentro del alojamiento 4010, y define un volumen de reactivo 4710 dentro del cual está contenido al menos un reactivo. Aunque las figuras 5 y 6 muestran el volumen de reactivo 4710 que contiene un reactivo R y un reactivo R1, y que está acoplado fluidicamente al módulo de amplificación 4600 y el módulo de detección 4800, en otros ejemplos, un módulo de reactivo puede contener cualquier reactivo adecuado y puede acoplarse fluidicamente a y/o puede llevar tales reactivos a cualquier módulo adecuado dentro del dispositivo. Por ejemplo, en algunos ejemplos, el volumen de reactivo puede contener cualquiera de un lavado de muestra, un amortiguador de elución, uno o más reactivos de PCR, un reactivo de detección y/o un sustrato.

Tal como se muestra por la flecha BB en la figura 6, el módulo de reactivo 4700 se acciona por un accionador del reactivo 4080 para llevar el reactivo (indicado como reactivo R y reactivo R1) desde el volumen de reactivo 4710. Específicamente, el accionador del reactivo 4080 se desplaza desde una primera posición (figura 4) hasta una segunda posición (figura 4) para llevar el/reactivo(s) desde el volumen de reactivo 4710. Aunque el accionador del reactivo 4080 se muestra como si se desplazara en una dirección lineal para llevar los reactivos, en otros ejemplos, el accionador del reactivo 4080 puede estar configurado para girar para desarrollar la presión y/o el flujo del/de los reactivo(s). Además, el accionador del reactivo 4080 es un accionador manual (por ejemplo, un accionador no electrónico que lo manipula directamente un usuario). Esta disposición permite que el accionador del reactivo 4080 se accione sin la necesidad de energía electrónica y/o antes de que el dispositivo 4000 se encienda. Además, tal como se describe con mayor detalle más adelante, el movimiento del accionador 4080 también puede iniciar una secuencia de encendido del dispositivo 4000. De esta manera, el dispositivo 4000 puede limitar cualquier uso de energía antes de comenzar la prueba, limitando por lo tanto la probabilidad de mal uso y/o una prueba inexacta (por ejemplo, debido a una batería agotada inesperadamente).

El módulo de amplificación 4600 incluye un calentador 4630 y un elemento de flujo 4610 que define un volumen de reacción 4618, y está configurado para realizar una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) sobre la muestra de entrada S1. La muestra de entrada S1 puede ser cualquier muestra adecuada tal como se describe en el presente documento, y puede llevarse al módulo de amplificación mediante una parte de entrada 4162 del alojamiento 4010. En algunos ejemplos, el volumen de reacción 4618 puede ser un volumen central dentro del cual la muestra S1 se mantiene mientras el calentador 4630 cicla repetidamente la muestra S1 a través de una serie de puntos fijos de temperatura para amplificar el organismo diana y/o partes del ADN del organismo. En otros ejemplos, el volumen de reacción 4618 puede ser un volumen a través del cual la muestra S1 se haga fluir, y que tenga varias partes mantenidas a diferentes temperaturas por el calentador 4630. De esta manera, el módulo de amplificación 4600 puede realizar una PCR de “flujo pasante”. En algunos ejemplos, el volumen de reacción puede tener una forma curva, de “retroceso”, y/o serpenteante para permitir una longitud de flujo grande conservando a la vez el tamaño total del dispositivo dentro de los límites deseados.

El calentador 4630 puede ser cualquier calentador o conjunto de calentadores adecuado que pueda realizar las funciones descritas en el presente documento para amplificar la muestra S1. Por ejemplo, en algunos ejemplos, el calentador 4630 puede ser un solo calentador que se acople térmicamente al volumen de reacción 4618 y que pueda realizar ciclos a través de múltiples puntos fijos de temperatura (por ejemplo, entre aproximadamente 60 C y aproximadamente 90 C). En otros ejemplos, el calentador 4630 puede ser un conjunto de calentadores, cada uno de los cuales se acopla térmicamente al volumen de reacción 4618 y que se mantiene en un punto fijo sustancialmente constante. De esta manera, el calentador 4630 y el volumen de reacción 4618 puede establecer múltiples zonas de temperatura a través de las cuales la muestra S1 fluye y/o puede definir un número deseado de ciclos de amplificación para asegurar la sensibilidad de prueba deseada (por ejemplo, al menos 30 ciclos, al menos 34 ciclos, al menos 36 ciclos, al menos 38 ciclos, o al menos 40 ciclos). El calentador 4630 (y cualquiera de los calentadores descritos en el presente documento) puede ser de cualquier diseño adecuado. Por ejemplo, en algunos ejemplos, el calentador 4630 puede ser un calentador de resistencia, un dispositivo termoeléctrico (por ejemplo, un dispositivo de Peltier), o similar.

Tal como se muestra en la figura 6, el módulo de detección 4800 recibe una salida S7 del módulo de amplificación 4800 y un reactivo R del módulo de reactivo 4700. El reactivo R es un reactivo de detección formulado para producir y/o catalizar la producción de una señal OP1 que indica la presencia de un amplicón diana y/u organismo dentro de la muestra de entrada S1. De esta manera, el dispositivo 4000 puede proporcionar un diagnóstico molecular de

confianza en el marco de un punto de atención (por ejemplo, la consulta del doctor, farmacia o similar) o en la casa del usuario. La señal OP1 puede ser cualquier señal adecuada que alerte al usuario con respecto a si el organismo diana está presente o no. Dicho de manera similar, la señal OP1 puede ser cualquier señal adecuada para detectar una enfermedad asociada con el amplicón y/u organismo diana. La señal OP1 puede ser, por ejemplo, una señal visual, una señal acústica, una señal de radiofrecuencia o similar.

En algunos ejemplos, la señal OP1 es una señal visual que el usuario puede ver a través de una abertura de detección (no mostrada en las figuras 5 y 6) definida por el alojamiento. La señal visual puede ser, por ejemplo, una señal no fluorescente. Esta disposición permite que el dispositivo 4000 sea desprovisto de una fuente de luz (por ejemplo, láseres, diodos emisores de luz o similares) y/o cualquier detector de luz (tubo fotomultiplicador, fotodiodos, dispositivos CCD, o similares) para detectar y/o amplificar la señal OP1. En algunos ejemplos, la señal OP1 es una señal visible caracterizada por un color asociado con la presencia del amplicón y/u organismo diana. Dicho de otra manera, en algunos ejemplos, el dispositivo 4000 puede producir una señal de salida colorimétrica que es visible al usuario. En tales ejemplos, el módulo de detección 4800 (y cualquiera de los módulos de detección descritos en el presente documento) puede producir una señal quimioluminiscente que resulta de la introducción del reactivo R y/o cualquier otra sustancia (por ejemplo, un sustrato para catalizar la producción de la señal OP1, y similares). En algunos ejemplos, el reactivo está formulado de modo que la señal OP1 visible siga presente durante al menos aproximadamente 30 minutos. El reactivo R y cualquier otra composición formulada para producir la señal OP1 puede ser cualquier composición adecuada tal como se describe en el presente documento. En algunos ejemplos, el reactivo R puede almacenarse dentro del alojamiento 4010 de cualquier forma tal como se describe en el presente documento (por ejemplo, en un recipiente sellado, una forma liofilizada o similar).

El dispositivo 4000 incluye un sistema de circuito electrónico que incluye al menos un procesador 4950 y la fuente de alimentación 4905. Aunque no se muestra en las figuras 5 y 6, el sistema de circuito electrónico (y cualquiera de los sistemas de circuito electrónico descritos en el presente documento) puede incluir cualquier componente electrónico adecuado, tal como, por ejemplo, tarjetas de circuitos impresos, conmutadores, resistencias, capacitores, diodos, chips de almacenamiento de memoria dispuestos de tal manera que controlen la operación del dispositivo 4000. El procesador 4950 (y cualquiera de los procesadores mostrados en el presente documento) puede ser un dispositivo de procesamiento disponible comercialmente dedicado a realizar una o más tareas específicas. Por ejemplo, en algunos ejemplos, el microprocesador 4950 puede ser un microprocesador disponible comercialmente, tal como un microcontrolador PIC de 8 bits. De manera alternativa, el procesador 4950 puede ser un circuito integrado para aplicaciones específicas (ASIC) o una combinación de ASIC, los cuales se diseñan para realizar una o más funciones específicas, en otros ejemplos más, el procesador 4950 puede ser un circuito analógico o digital, o una combinación de múltiples circuitos.

La fuente de alimentación 4905 puede ser cualquier fuente de alimentación adecuada que proporcione energía al sistema de circuito electrónico (incluyendo el procesador 4950) y cualquiera de los módulos dentro del dispositivo 4000. Específicamente, la fuente de alimentación 4905 puede proporcionar energía al módulo de amplificación 4600 y/o el calentador 4630 para facilitar la finalización de la PCR sobre la muestra de entrada S1. En algunos ejemplos, la fuente de alimentación 4905 puede ser una o más baterías de CC, tal como, por ejemplo, múltiples células de 1,5 VCC (por ejemplo, baterías alcalinas AAA o AA). En otros ejemplos, la fuente de alimentación 4905 puede ser una batería de 9 VCC que tiene una capacidad de menos de aproximadamente 1200 mAh. En otros ejemplos, la fuente de alimentación 4905 puede ser cualquier elemento de almacenamiento/conversión de energía adecuado, tal como un capacitor, un sistema de almacenamiento magnético, una célula de combustible o similar.

Tal como se muestra en la figura 5, la fuente de alimentación 4905 se aísla eléctricamente del procesador 4950 y/o el módulo de amplificación 4600 cuando el accionador del reactivo 4080 está en la primera posición. De esta manera, el acontecimiento de "encendido" está vinculado al movimiento del accionador del reactivo 4080. Esta disposición limita la probabilidad de consumo de energía prematuro desde la fuente de alimentación 4905 durante el almacenamiento. Tal como se muestra en la figura 6, la fuente de alimentación 4905 se acopla eléctricamente al procesador 4950 y/o el módulo de amplificación 4600 cuando el accionador del reactivo 4080 está en la segunda posición. Esta disposición permite que el dispositivo 4000 se haga funcionar de una forma suficientemente sencilla, y reduce el juicio del usuario en la operación. Específicamente, no se requiere juicio con respecto a cuándo encender el dispositivo 4000, y la probabilidad de que un usuario encienda el dispositivo 4000 y entonces retrase la siguiente operación del dispositivo 4000 (lo cual puede agotar la energía almacenada) se limita y/o se elimina.

El accionador del reactivo 4080 puede accionar la fuente de alimentación 1905 y/o colocar la fuente de alimentación 4905 en conexión eléctrica con el procesador 4950 y/o el módulo de amplificación 4600 de cualquier forma adecuada. Por ejemplo, en algunos ejemplos, el accionador del reactivo 4080 puede incluir una protuberancia (no mostrada) que accione un conmutador para colocar la fuente de alimentación 4905 en conexión eléctrica con el procesador 4950 y/o el módulo de amplificación 4600 cuando el accionador del reactivo 4080 se desplace de la primera posición a la segunda posición. En otros ejemplos, el accionador del reactivo 4080 puede incluir y/o acoplarse a un elemento de aislamiento que, cuando se elimina, coloca la fuente de alimentación 4905 en conexión eléctrica con el procesador 4950 y/o el módulo de amplificación 4600 cuando el accionador del reactivo 4080 se desplace de la primera posición a la segunda posición.

En algunos ejemplos, el dispositivo 4000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede estar configurado para producir la señal OP1 en un tiempo de menos de aproximadamente 25 minutos desde cuando la muestra S1 se reciba. En otros ejemplos, el dispositivo 4000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede estar configurado para producir la señal OP1 en un tiempo de menos de aproximadamente 20 minutos desde cuando se introduzca la muestra S1, menos de aproximadamente 18 minutos desde cuando se introduzca la muestra S1, menos de aproximadamente 16 minutos desde cuando se introduzca la muestra S1, menos de aproximadamente 14 minutos desde cuando se introduzca la muestra S1, y todos los intervalos entre estos.

Dicho de manera similar, el dispositivo 4000 y los componentes en el mismo pueden estar configurados para realizar una PCR "rápida" (por ejemplo, completar al menos 40 ciclos en menos de aproximadamente 10 minutos), y producción rápida de la señal OP1. Dicho de manera similar, el dispositivo 4000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede estar configurado para procesar volúmenes, para tener tamaños dimensionales y/o estar construido a partir de materiales que faciliten la finalización de una PCR o amplificación rápida en menos de aproximadamente 10 minutos, menos de aproximadamente 9 minutos, menos de aproximadamente 8 minutos, menos de aproximadamente 7 minutos, menos de aproximadamente 6 minutos, o cualquier intervalo entre estos, tal como se describe en el presente documento.

En algunos ejemplos, el accionador del reactivo 4080 está configurado para permanecer bloqueado en una segunda posición para evitar la reutilización del dispositivo 4000. De esta manera, el dispositivo 4000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede estar configurado específicamente para una operación de un solo uso y puede presentar un riesgo limitado de mal uso. Por ejemplo, en algunos ejemplos, el módulo de reactivo 4700 del dispositivo de prueba de diagnóstico molecular 4000 puede incluir sellos de modo que el volumen de reactivo 4710 sea un volumen de reactivo sellado dentro del cual el/los reactivo(s) se almacene(n). En tales ejemplos, el accionador del reactivo 4080 está configurado para perforar el sello que aísla fluidicamente el volumen de reactivo 4710 cuando se desplaza. De esta manera, el dispositivo de prueba de diagnóstico molecular 4000 puede estar configurado para el almacenamiento a largo plazo de una forma que presente una probabilidad limitada de mal uso (contaminación del/de los reactivo(s), caducidad del/de los reactivo(s), fuga del/de los reactivo(s), o similares). En algunos ejemplos, el módulo de reactivo 4700 y/o cualquier área en comunicación fluida con este (o cualquier otro módulo de reactivo descrito en el presente documento) puede incluir un desecante, sellos u otras composiciones o componentes para el mantenimiento de la estabilidad durante el almacenamiento a largo plazo. En algunos ejemplos, el dispositivo de prueba de diagnóstico molecular 4000 está configurado para almacenarse durante hasta aproximadamente 46 meses, hasta aproximadamente 42 meses, hasta aproximadamente 26 meses, hasta aproximadamente 24 meses, hasta aproximadamente 20 meses, hasta aproximadamente 18 meses, o cualquier valor entre estos.

En algunos ejemplos, un dispositivo de prueba de diagnóstico molecular puede incluir un conjunto de módulos para producir un dispositivo de prueba integrado que puede recibir una muestra de entrada y proporcionar una señal indicativa de si la muestra contiene un organismo asociado con la enfermedad. Por ejemplo, en algunos ejemplos, un dispositivo de prueba de diagnóstico molecular puede incluir un módulo de entrada y/o preparación de muestra, un módulo de elución, un módulo de amplificación, uno o más módulos de reactivo y un módulo de detección. Tales dispositivos pueden ser, por ejemplo, dispositivos de un solo uso que pueden usarse en el marco de un punto de atención y/o en la casa de un usuario. Además, en algunos ejemplos, tales dispositivos pueden ser dispositivos de baja complejidad de CLIA y/o pueden funcionar según métodos de baja complejidad de CLIA.

Un ejemplo de un dispositivo de prueba integrado mostrado en la figura 7, el cual es un diagrama de bloques esquemático de un sistema de diagnóstico molecular 5000 (también denominado "sistema" o "unidad de prueba"), según un ejemplo. La unidad de prueba 5000 está configurada para manipular una muestra para producir una indicación óptica asociada con una célula diana según cualquiera de los métodos descritos en el presente documento. En algunos ejemplos, la unidad de prueba 5000 puede ser un dispositivo desechable de un solo uso que puede proporcionar una salida óptica sin la necesidad de ningún instrumento adicional para manipular o acondicionar de otro modo la unidad de prueba 5000. Dicho de otra manera, la unidad de prueba 5000 es un cartucho/instrumento integrado, y toda la unidad puede usarse para realizar un ensayo de diagnóstico y, después, desecharse. La unidad de prueba 5000 incluye un dispositivo de transferencia de muestra 5100, un módulo de preparación de muestra 5200, una cámara de inactivación 5300, un módulo de accionamiento fluido 5400, una cámara de mezclado 5500, un módulo de amplificación 5600, un módulo de almacenamiento de reactivo 5700, un módulo de detección 5800, un módulo de energía/componentes electrónicos 5900, y un módulo de control 5950. Más adelante se proporciona una breve descripción de los subsistemas principales de la unidad de prueba 5000.

El dispositivo de transferencia de muestra 5100 está configurado para transportar una muestra tal como, por ejemplo, una muestra de sangre, orina, especímenes uretrales masculinos, especímenes vaginales, especímenes de frotis cervical, y/o especímenes de frotis nasal recogidos usando un equipo de obtención de muestras disponible comercialmente, al módulo de preparación de muestra 5200. El equipo de obtención de muestras puede ser un equipo de obtención de orina o equipo de obtención de frotis. Los ejemplos no limitativos de tales equipos de obtención de muestra incluyen el Copan Mswab o BD ProbeTec Urine Preservative Transport Kit, # de Cat. 440928, de orina pura. El dispositivo de transferencia de muestra 5100 dispensa y/o transfiere de otro modo una cantidad

de muestra o muestra/medios al módulo de preparación de muestra 5200 a través de un orificio de entrada (no mostrado). El orificio de entrada puede taparse entonces. En algunos ejemplos, el dispositivo de transferencia de muestra 5100 puede bloquearse y/o acoplarse fijamente al módulo de preparación de muestra 5200 como parte de la operación de dispensación. De esta manera, la interfaz entre el dispositivo de transferencia de muestra 5100 y el módulo de preparación de muestra 5200 puede estar configurada para evitar la reutilización de la unidad de prueba 5000, transferencia de muestras adicionales, o similares. Aunque se muestra como si incluyera el dispositivo de transferencia de muestra 5100, en otros ejemplos, la unidad de prueba 5000 no necesita incluir un dispositivo de transferencia de muestra.

En algunos ejemplos, a través de una serie de acciones del usuario de una forma automatizada/semiautomatizada, el módulo de preparación de muestra 5200 está configurado para procesar la muestra. Por ejemplo, el módulo de preparación de muestra 5200 puede estar configurado para concentrar y lisar células en la muestra, permitiendo por lo tanto la extracción posterior de ADN. En algunos ejemplos, la muestra procesada/lisada se empuja y/o se transfiere de otro modo desde el módulo de preparación de muestra 5200 hasta la cámara de inactivación 5300, la cual está configurada para inactivar, en la muestra lisada, las proteínas usadas durante la lisis. En algunos ejemplos, el módulo de accionamiento fluido 5400 está configurado para aspirar la muestra desde la cámara de inactivación 5300, y está configurada además para llevar la muestra al módulo de amplificación 5600. El módulo de accionamiento fluido 5400 también está configurado para llevar la muestra y/o reactivos (por ejemplo, del módulo de almacenamiento de reactivo 5700) para realizar cualquiera de los métodos de pruebas de diagnóstico descritos en el presente documento. Dicho de manera similar, el módulo de accionamiento fluido 5400 está configurado para generar presión de fluido, flujo de fluido y/o llevar de otro modo la muestra de entrada S1 a través de los módulos del dispositivo. En algunos ejemplos, el módulo de accionamiento fluido 5400 puede ser un módulo de un solo uso que esté configurado para entrar en contacto con y/o recibir el flujo de muestra. La disposición de un solo uso elimina la probabilidad de contaminación del módulo de transferencia de fluido y/o que los otros módulos a los cuales el módulo de accionamiento fluido 5400 se acopla fluidicamente queden contaminados de ensayos anteriores, impactando por lo tanto de manera negativa en la exactitud de los resultados.

La cámara de mezclado 5500 mezcla la salida de la cámara de inactivación 5300 con los reactivos necesarios para realizar una reacción de PCR. En algunos ejemplos, la cámara de mezclado 5500 puede contener los reactivos de PCR en forma de una o más perlas de reactivo liofilizadas que contengan los cebadores y enzimas necesarias para la PCR. En tales ejemplos, la cámara de mezclado 5500 puede estar configurada para hidratar y/o reconstituir las perlas liofilizadas en un volumen de entrada dado, asegurado a la vez concentraciones locales de reactivos en la totalidad del volumen. La cámara de mezclado 5500 puede incluir cualquier mecanismo adecuado para producir la solución deseada, tal como, por ejemplo, un canal de mezclado de flujo continuo, un elemento de mezclado activo (por ejemplo, una varilla de agitación) y/o un elemento de mezclado vibratorio. La muestra mezclada se lleva entonces al módulo de amplificación 5600 (por ejemplo, por el módulo de accionamiento fluido 5400).

El módulo de amplificación 5600 está configurado para realizar la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) sobre la muestra para generar una muestra amplificada, de cualquier manera tal como se describe en el presente documento. Después de la PCR, la muestra amplificada se empuja, se transfiere o se lleva adicionalmente a un módulo de detección 5800. En algunos ejemplos, el módulo de detección 5800 está configurado para realizar y/o facilitar una reacción enzimática colorimétrica sobre la muestra amplificada. En particular, una serie de reactivos del módulo de almacenamiento de reactivo 5700 pueden llevarse por el módulo de accionamiento fluido 5400 para facilitar la salida óptica de la prueba. En algunos ejemplos, todos los diferentes módulos/subsistemas de la unidad de prueba principal 5000 se controlan y/o se alimentan por el módulo de alimentación/componentes electrónicos 5900 y el módulo de control 5950.

En algunos ejemplos, el módulo de control 5950 puede incluir uno o más módulos, y puede controlar automáticamente las válvulas, bombas, componentes de distribución de energía y/o cualquier otro de la unidad de prueba 5000 para facilitar las pruebas moleculares tal como se describe en el presente documento. El módulo de control 5950 puede incluir una memoria, un procesador, un módulo (o interfaz) de entrada/salida y cualquier otro módulo o software adecuado para realizar las funciones descritas en el presente documento.

La figura 8 ilustra una parte de las operaciones y/o características asociadas con una reacción enzimática, según un ejemplo, que pueden realizarse por o dentro del módulo de detección 5800, o cualquier otro módulo de detección descrito en el presente documento (por ejemplo, el módulo de detección 6800 descrito a continuación). En algunos ejemplos, la enzimática puede llevarse a cabo para facilitar la detección visual de un resultado de prueba de diagnóstico molecular usando el dispositivo 5000, el dispositivo 6000, o cualquier otro dispositivo o sistema descrito en el presente documento. La reacción, el módulo de detección 5800 y/o los componentes restantes dentro de las unidades de prueba 5000 pueden estar configurados colectivamente de modo que la unidad de prueba 5000 sea un dispositivo de un solo uso que pueda usarse en el marco de un punto de atención y/o en la casa de un usuario. Dicho de manera similar, en algunos ejemplos, la unidad de prueba 5000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede estar configurada para usarse en una instalación de prueba descentralizada. Además, en algunos ejemplos, la reacción mostrada en la figura 8 puede facilitar que la unidad de prueba 5000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) funcione con simplicidad y exactitud suficiente para ser un dispositivo de baja complejidad de CLIA. Dicho de

manera similar, en algunos ejemplos, la reacción mostrada en la figura 8 puede proporcionar la señal de salida OP1 de una forma que presente una probabilidad limitada de mal uso y/o que presente un riesgo limitado de peligro si se usa de manera inapropiada. En algunos ejemplos, la reacción puede completarse exitosamente dentro de la unidad de prueba 5000 (o cualquier otro dispositivo descrito en el presente documento) tras el accionamiento por un usuario con una mínima (o ninguna) formación científica, según métodos que requieran poco juicio del usuario, y/o en los cuales se controlen determinadas etapas de funcionamiento de manera fácil y/o automática.

Tal como se muestra, el módulo de detección 5800 incluye una superficie de detección 5821 dentro de un carril de lectura o canal de flujo. La superficie de detección 5821 se sitúa y/o se une covalentemente con una sonda de hibridación específica 5870, tal como un oligonucleótido. En algunos ejemplos, la sonda de hibridación 5870 es específica para un organismo y/o amplicón diana. La unión de la sonda de hibridación 5870 a la superficie de detección 5821 puede realizarse usando cualquier procedimiento o mecanismo adecuado. Por ejemplo, en algunos ejemplos, la sonda de hibridación 5870 puede unirse covalentemente a la superficie de detección 5821. La referencia S7 ilustra el amplicón biotinilado que se produce a partir de la etapa de amplificación por PCR tal como, por ejemplo, por el módulo de amplificación 5600 de la figura 7 (o cualquier otro módulo de amplificación descrito en el presente documento). La biotina puede incorporarse dentro de la operación de amplificación y/o dentro del módulo de amplificación 5600 de cualquier forma adecuada. Tal como se muestra por la flecha XX, la salida del módulo de amplificación, incluyendo el amplicón biotinilado S7 se lleva dentro del carril de lectura y a través de la superficie de detección 5821. La sonda de hibridación 5870 está formulada para hibridarse al amplicón diana S7 que está presente dentro del canal de flujo y/o cerca de la superficie de detección 5821. El módulo de detección 5800 y/o la superficie de detección 5821 se calienta para incluir el amplicón biotinilado S7 en el carril de lectura en presencia de la sonda de hibridación 5870 durante unos cuantos minutos permitiendo que se produzca la unión. De esta manera, el amplicón diana S7 se captura y/o se fija a la superficie de detección 5821, tal como se muestra. En algunos ejemplos, puede llevarse una primera solución de lavado (no mostrada en la figura 8) a través de la superficie de detección 5821 y/o dentro del canal de flujo para eliminar los productos de PCR no unidos y/o cualquier solución restante.

Tal como se muestra por la flecha YY, se lleva un reactivo de detección R4 dentro del carril de lectura y a través la superficie de detección 5821. El reactivo de detección R4 puede ser, por ejemplo, una enzima de peroxidasa de rábano picante (PRP) ("enzima") con un conector de estreptavidina. En algunos ejemplos, la estreptavidina y la PRP son reticuladas para proporcionar una doble funcionalidad. Tal como se muestra, el reactivo de detección se une al amplicón capturado S7. El módulo de detección 5800 y/o la superficie de detección 5821 se calienta para incubar el reactivo de detección R4 dentro del carril de lectura en presencia del amplicón biotinilado S7 durante unos cuantos minutos para facilitar la unión. En algunos ejemplos, una segunda solución de lavado (no mostrada en la figura 8) puede llevarse a través de la superficie de detección 5821 y/o dentro del canal de flujo para eliminar el reactivo de detección R4 no unido.

Tal como se muestra por la flecha ZZ, un reactivo de detección R6 se lleva dentro del carril de lectura y a través de la superficie de detección 5821. El reactivo de detección R4 puede ser, por ejemplo, un sustrato formulado para aumentar, catalizar y/o fomentar la producción de la señal OP1 desde el reactivo de detección R4. Específicamente, el sustrato está formulado de modo que tras el contacto con el reactivo de detección R4 (la PRP/estreptavidina) se desarrolle una señal de salida colorimétrica OP1 donde la PRP se une al amplicón. El color de la señal de salida OP1 indica la presencia del amplicón unido: si el patógeno diana, el amplicón diana y/o el organismo diana está presente, se forma el producto de color y, si el patógeno diana, el amplicón diana y/o el organismo diana no está presente, no se forma el producto de color.

Dicho de manera similar, después de completar la reacción, si el patógeno diana, amplicón diana y/u organismo diana está presente, el módulo de detección produce una señal OP1. Según la reacción descrita en la figura 8, la señal OP1 es una señal visual no fluorescente que el usuario puede ver (por ejemplo, a través de una abertura o ventana de detección definida por un dispositivo de alojamiento). Esta disposición permite que el dispositivo sea desprovisto de una fuente de luz (por ejemplo, láseres, diodos emisores de luz o similares) y/o cualquier detector de luz (tubo fotomultiplicador, fotodiodos, dispositivos CCD, o similares) para detectar y/o amplificar la señal OP1.

Dicho de otra manera, la reacción produce una señal de salida colorimétrica que es visible al usuario, y requiere poca o ninguna formación científica y/o tener poco juicio para determinar si el organismo diana está presente. En algunos ejemplos, los reactivos R4, R6 están formulados de modo que la señal OP1 visible siga presente durante al menos aproximadamente 30 minutos. En algunos ejemplos, los reactivos R4, R6 pueden almacenarse dentro de un alojamiento (no mostrado en la figura 8) de cualquier manera tal como se describe en el presente documento (por ejemplo, en un recipiente sellado, una forma liofilizada o similar).

La figura 9 es una ilustración esquemática de un dispositivo de prueba de diagnóstico molecular 6000 (también denominado "dispositivo de prueba" o "dispositivo"), según un ejemplo. La ilustración esquemática describe los componentes principales del dispositivo de prueba 6000 tal como se muestra en las figuras 10–66. Tal como se describe más adelante, el dispositivo de prueba 6000 es un dispositivo integrado (es decir, los módulos están contenidos dentro de un solo alojamiento) que es adecuado para usarse en el marco de un punto de atención (por ejemplo, la consulta del doctor, farmacia o similar), centro de pruebas descentralizado, o en la casa del usuario.

En algunos ejemplos, el dispositivo 6000 puede tener un tamaño, forma y/o peso de modo que el dispositivo 6000 pueda llevarse, sujetarse, usarse y/o manipularse en las manos de un usuario (es decir, que puede ser un dispositivo “portátil”). En otros ejemplos, el dispositivo de prueba 6000 puede ser un dispositivo autónomo de un solo uso. Dicho de manera similar, en algunos ejemplos, el dispositivo de prueba 6000 puede estar configurado con bloqueos u otros mecanismos para evitar la reutilización o intentos de reutilización del dispositivo.

Además, en algunos ejemplos, el dispositivo 6000 puede ser un dispositivo de baja complejidad de CLIA y/o puede funcionar según métodos de baja complejidad de CLIA. Dicho de manera similar, en algunos ejemplos, el dispositivo 6000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) está configurado para hacerse funcionar de una forma suficientemente sencilla, y puede producir resultados con exactitud suficiente para presentar una probabilidad limitada de mal uso y/o para presentar un riesgo limitado de peligro si se usa inapropiadamente. En algunos ejemplos, el dispositivo 6000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede hacerse funcionar por un usuario con una mínima (o ninguna) formación científica, según métodos que requieran poco juicio del usuario, y/o en los cuales se controlan determinadas etapas de funcionamiento de manera fácil y/o automática. En algunos ejemplos, el dispositivo de prueba de diagnóstico molecular 6000 puede estar configurado para el almacenamiento a largo plazo de una forma que presente una probabilidad limitada de mal uso (contaminación del/de los reactivo(s), caducidad del/de los reactivo(s), fuga del/de los reactivo(s), o similar). En algunos ejemplos, el dispositivo de prueba de diagnóstico molecular 6000 está configurado para almacenarse durante hasta aproximadamente 36 meses, hasta aproximadamente 32 meses, hasta aproximadamente 26 meses, hasta aproximadamente 24 meses, hasta aproximadamente 20 meses, hasta aproximadamente 18 meses, o cualquier valor entre estos.

El dispositivo de prueba 6000 está configurado para manipular una muestra de entrada S1 para producir una o más señales de salida OP1, OP2, OP3 (véase la figura 66) asociadas con una célula diana según cualquiera de los métodos descritos en el presente documento (por ejemplo, incluyendo la reacción enzimática descrita anteriormente con respecto a la figura 8). Las figuras 10 y 11 muestran vistas en perspectiva del dispositivo de prueba de diagnóstico molecular 6000. El dispositivo de prueba de diagnóstico 6000 incluye un alojamiento (que incluye una parte superior 6010 y una parte inferior 6030), dentro del cual están contenidos una variedad de módulos. Específicamente, el dispositivo 6000 incluye un módulo de preparación de muestra 6200, un módulo de inactivación 6300, un módulo de accionamiento fluido (o de transferencia de fluido) 6400, una cámara de mezclado 6500, un módulo de amplificación 6600, un módulo de detección 6800, un módulo de almacenamiento de reactivo 6700, una válvula de ventilación giratoria 6340, y un módulo de alimentación y control 6900. A continuación, hay una descripción de cada módulo y/o subsistema.

La figura 14 muestra el dispositivo 6000 con el alojamiento superior 6010 quitado de modo que pueda verse la colocación de los módulos. La figura 15 muestra el dispositivo 6000 con el alojamiento superior 6010, los botones de accionamiento, el módulo de amplificación 6600, y el módulo de detección 6800 quitados de modo que puedan verse los módulos subyacentes. Tal como se muestra en las figuras 12 y 13, el dispositivo 6000 incluye un alojamiento superior 6010, un alojamiento inferior 6030 y una placa inferior 6031. El alojamiento superior 6010 incluye protuberancias de conexión 6018, 6019 que corresponden a hendiduras, ranuras y/o aberturas definidas por el alojamiento inferior 6030 para facilitar el montaje del alojamiento y/o el dispositivo. El alojamiento superior define además una serie de aberturas de detección (o “estado”) que permiten al usuario inspeccionar visualmente la(s) señal(es) de salida producida(s) por el dispositivo 6000. Específicamente, el alojamiento superior 6010 define una primera abertura de detección 6011, una segunda abertura de detección 6012, una tercera abertura de detección 6013, una cuarta abertura de detección 6014, y una quinta abertura de detección 6015. Cuando el alojamiento superior 6010 se acopla al alojamiento inferior 6030, las aberturas de detección se alinean con las superficies de detección correspondientes del módulo de detección 6800 de modo que la señal producida por y/o sobre cada superficie de detección sea visible a través de la abertura de detección correspondiente. Específicamente, la primera abertura de detección 6011 corresponde a la primera superficie de detección 6821 (véase la figura 49), la segunda abertura de detección 6012 corresponde a la segunda superficie de detección 6822, la tercera abertura de detección 6013 corresponde a la tercera superficie de detección 6823, la cuarta abertura de detección 6014 corresponde a la cuarta superficie de detección 6824, y la quinta abertura de detección 6015 corresponde a la quinta superficie de detección 6825.

En algunos ejemplos, el alojamiento superior 6010 y/o la parte del alojamiento superior 6010 que rodea las aberturas de detección es opaco (o semiopaco), “encuadrando” o acentuando por lo tanto las aberturas de detección. En algunos ejemplos, por ejemplo, el alojamiento superior 6010 puede incluir marcas (por ejemplo, líneas gruesas, colores o similares) para resaltar las aberturas de detección. Por ejemplo, en algunos ejemplos, el alojamiento superior 6010 puede incluir indicaciones que identifiquen la abertura de detección para una enfermedad particular (por ejemplo, *Chlamydia trachomatis* (CT), *Neisseria gonorrhea* (NG) y *Trichomonas vaginalis* (TV)) o control. En otros ejemplos, el alojamiento superior 6010 puede incluir una serie de puntos de color que tengan un intervalo de colores asociado con un intervalo de colores que se produzca probablemente por las señales OP1, OP2, OP3, CTL 1 y/o CTL 2 para ayudar al usuario a determinar los resultados de la prueba. De esta manera, el diseño del alojamiento puede contribuir a reducir la cantidad de juicio del usuario requerido para leer exactamente la prueba.

El alojamiento inferior 6030 define un volumen 6032 dentro del cual se disponen los módulos y/o componentes del dispositivo 6000. Tal como se muestra en la figura 13, el alojamiento inferior 6030 incluye una parte de entrada de muestra 6160, una parte de preparación de muestra 6023, una parte de lavado 6025, y una parte de elución/reactivo 6029. Tal como se muestra en la figura 62, la parte de entrada de muestra 6160 define un volumen de recepción 6164, e incluye una tapa móvil 6152 y un elemento de entrada 6162. La tapa móvil 6152 puede girar alrededor del alojamiento inferior 6030 para proporcionar acceso al elemento de entrada 6162 y/o el volumen de recepción 6164. La tapa 6152 puede incluir sellos u otros elementos de bloqueo de modo que pueda sujetarse de manera segura al alojamiento inferior 6030 y/o cerrarse durante el envío, después de la distribución de una muestra a estos, o similar. En algunos ejemplos, la tapa del orificio de entrada 6152 puede incluir un bloqueo irreversible para evitar la reutilización del dispositivo 6000 y/o la adición de fluidos de muestra suplementarios. De esta manera, el dispositivo 6000 puede usarse de manera adecuada por individuos sin formación.

El elemento de entrada 6162 define un pasaje a través del cual la muestra se lleva hacia el volumen de recepción 6164. Tal como se muestra, el elemento de entrada 6162 tiene forma de embudo y está configurado para minimizar las salpicaduras cuando se transfiere la muestra desde el dispositivo de transferencia 6110 (descrito más adelante) al volumen de recepción 6164. En algunos ejemplos, el elemento de entrada de muestra 6162 puede incluir un filtro, tamiz o similar.

La parte de preparación de muestra 6023 recibe al menos una parte del módulo de entrada de muestra 6170. Tal como se describe con mayor detalle en el presente documento, el módulo de entrada de muestra 6170 se acciona por el accionador (o botón) de muestra 6050. La parte de preparación de muestra 6023 define una hendidura o abertura 6033 que recibe una pestaña de bloqueo 6057 del accionador de muestra 6050 después de que el accionador 6050 se haya desplazado para comenzar la operación de preparación de muestra (véanse, por ejemplo, las figuras 20 y 21). De esta manera, el accionador de muestra 6050 está configurado para evitar que el usuario reutilice el dispositivo después de que se haya intentado y/o completado un uso inicial.

La parte de lavado 6025 recibe al menos una parte del módulo de lavado 6210. El módulo de lavado 6210 se acciona por el accionador (o botón) de lavado 6060. La parte de lavado 6025 define una hendidura o abertura 6035 que recibe una pestaña de bloqueo 6067 del accionador de lavado 6060 después de que el accionador 6060 se haya desplazado para comenzar la operación de lavado (véase, por ejemplo, la figura 64). De esta manera, el accionador de lavado 6060 está configurado para evitar que el usuario reutilice el dispositivo después de que se haya intentado y/o completado un uso inicial.

La parte de elución/reactivo 6029 recibe al menos una parte del módulo de elución 6260 y una parte del módulo de reactivo 6700. La parte de elución/reactivo 6029 define una hendidura o abertura 6039 que recibe una pestaña de bloqueo 6087 del accionador del reactivo 6080 después de que el accionador 6080 se haya desplazado para comenzar la operación de abertura de elución y/o reactivo (véase, por ejemplo, la figura 65). De esta manera, el accionador del reactivo 6080 está configurado para evitar que el usuario reutilice el dispositivo después de que se haya intentado y/o completado un uso inicial. Mediante la inclusión de tales mecanismos de bloqueo, el dispositivo 6000 está configurado específicamente para una operación de un solo uso, y presenta un riesgo limitado de mal uso.

El alojamiento inferior 6030 del dispositivo 6000 incluye una estructura y elementos de montaje para retener los módulos dispuestos en el mismo. Por ejemplo, el alojamiento inferior 6030 incluye la estructura de montaje 6046 para retener el módulo de transferencia de fluido 6400. El alojamiento inferior 6030 también incluye el depósito de residuos 6205 dentro del cual se almacenan los productos y/o flujo residual.

Dispositivo de transferencia de muestra

En algunos ejemplos, el dispositivo de diagnóstico de prueba 6000 puede incluir y/o empaquetarse junto con un dispositivo de transporte de muestra 6110 (véase la figura 62) configurado para proporcionar una muestra al dispositivo 6000 y/o el módulo de preparación de muestra 6200. Tal como se muestra en la figura 62, el dispositivo de transferencia de muestra 6110 incluye una parte de extremo distal 6112 y una parte de extremo proximal 6113, y puede usarse para aspirar o extraer una muestra de un cubilete de muestra, recipiente o similar, y entonces suministrar una cantidad deseada de la muestra a una parte de entrada 6160 del dispositivo 6000. Específicamente, la parte de extremo distal 6112 incluye una parte tubular de inmersión que define un depósito 6115 que tiene un volumen deseado. La parte de extremo proximal 6113 incluye un accionador 6117 o perilla de goma que puede manipular el usuario para extraer la muestra hacia el depósito 6115. El dispositivo de transporte de muestra 6110 incluye un depósito de desbordamiento 6116 que recibe el exceso de flujo de la muestra durante la etapa de aspiración. El depósito de desbordamiento 6116 incluye un elemento de válvula que evita que la cantidad desbordada se lleve hacia fuera del dispositivo de transferencia 6110 cuando el accionador 6117 se manipule para depositar la muestra en la parte de entrada 6160 del dispositivo 6000. Esta disposición asegura que se suministre el volumen de muestra deseado al dispositivo 6000. Además, incluyendo un depósito de desbordamiento "valvulado" 6116, la probabilidad de mal uso durante la entrada de la muestra es limitada. Esta disposición también requiere una mínima (o ninguna) formación científica y/o o poco juicio del usuario para suministrar apropiadamente la muestra al dispositivo.

En algunos ejemplos, el dispositivo de transferencia de muestra 6110, o cualquier otro dispositivo de transferencia de muestra en el presente documento, puede usarse para aspirar fluido de un tubo o cubilete de transferencia que también se incluya como parte de un equipo dentro del cual se incluya el dispositivo 6000. En algunos ejemplos, el dispositivo de transferencia de muestra 6110 puede ser cualquier pipeta de transporte disponible comercialmente adecuada. Por ejemplo, en algunos ejemplos, el dispositivo de transferencia de muestra 6110 puede incluir el Pastette LW4790 (pipeta de Pasteur) de doble pera de 250 µL, de Alpha Industries, RU, el cual transfiere un volumen de muestra de 250 µL +/-10%. El sistema de prueba 6000 está configurado para acomodar tal variación (por ejemplo, +/-10%) en volumen pipeteado. Las pipetas de transferencia que contienen y/o suministran 500 µL y 1000 µL también pueden usarse con el dispositivo 6000. En algunos ejemplos, el dispositivo de transferencia de muestra 6110 (o cualquiera de los dispositivos de transferencia de muestra descritos en el presente documento) puede liberar un volumen de muestra de entre aproximadamente 250 y aproximadamente 500 µL.

En algunos ejemplos, el dispositivo de transferencia de muestra 6110 puede incluir una ventana o abertura de estado a través de la cual el usuario puede verificar visualmente para ver que se ha aspirado el volumen adecuado.

Aunque se muestra como si se usase en conjunto con y/o empaquetado con un dispositivo de transferencia de muestra externo (es decir, el dispositivo de transferencia de muestra 6110), en otros ejemplos, el dispositivo 6000 puede incluir una parte o dispositivo de transferencia de muestra integrado.

Módulo de preparación de muestra

El módulo de preparación de muestra 6200 se dispone al menos parcialmente dentro de la parte de preparación de muestra 6023 del alojamiento inferior 6030, y está configurado para recibir una muestra de entrada S1 del volumen de recepción 6164 de la parte de entrada de muestra 6160. Tal como se describe en el presente documento, el módulo de preparación de muestra 6200 está configurado para procesar la muestra S1 para facilitar la detección de un organismo en ella que esté asociado con una enfermedad. Eliminando la necesidad de preparación de muestra externa y un instrumento engorroso, el dispositivo 6000 es adecuado para usarse en el marco de un punto de atención (por ejemplo, la consulta del doctor, farmacia o similar) o en la casa del usuario, y puede recibir cualquier muestra adecuada S1. La muestra S1 (y cualquiera de las muestras de entrada descritas en el presente documento) puede ser, por ejemplo, sangre, orina, especímenes uretrales masculinos, especímenes vaginales, especímenes de frotis cervical, y/o especímenes de frotis nasal recogida usando un equipo de obtención de muestras disponible comercialmente.

En algunos ejemplos, el módulo de preparación de muestra 6200 está configurado para aceptar y permitir la contención a prueba de fugas de un volumen de líquido desde la parte de entrada de muestra 6160. Tal como se describe más adelante, el módulo de preparación de muestra 6200 está configurado para el almacenamiento incorporado de solución de lavado, solución de elución, y/o un control positivo (por ejemplo, *Aliivibrio fischeri*, *N.subflava*, o cualquier otro organismo adecuado). El control positivo puede almacenarse en forma líquida en la solución de lavado o almacenarse como una perla liofilizada que se hidrata posteriormente por la solución de lavado. En algunos ejemplos, el módulo de preparación de muestra 6200 está configurado para dispensar la mayoría del líquido de muestra (por ejemplo, aproximadamente un 80%) a través de un filtro, y almacenar el residuo generado de una forma segura (es decir, dentro del depósito de residuos 6205). En algunos ejemplos, el módulo de preparación de muestra 6200 está configurado para seguir la operación de dispensación de muestra con una operación de dispensación de lavado, dispensando por lo tanto el volumen de líquido almacenado (por ejemplo, aproximadamente un 80%). En algunos ejemplos, el módulo de preparación de muestra 6200 está configurado para que se produzca la elución a contraflujo para eliminar las partículas diana deseadas de la membrana de filtro y suministrar el volumen (por ejemplo, aproximadamente un 80%) del volumen eluido al destino diana (por ejemplo, el módulo de inactivación 6300, el módulo de amplificación 6600 o similar). En algunos ejemplos, el módulo de preparación de muestra 6200 está configurado para no hacer que la solución de salida se contamine por reactivos anteriores (por ejemplo, como la muestra o lavado). En algunos ejemplos, el módulo de preparación de muestra 6200 está configurado para facilitar la operación por un usuario no profesional, requiriendo pocos pasos, sencillos y no empíricos, y con una pequeña cantidad de fuerza de accionamiento.

El módulo de preparación de muestra 6200 incluye un módulo de entrada de muestra 6170 (figuras 16-21), un módulo de lavado 6210 (figuras 22-24), un módulo de elución 6260 (figuras 25-28), un montaje de filtro 6230 (figuras 32-35), y varios conductos fluidicos (por ejemplo, tubos, líneas, válvulas, etc.) conectando los diferentes componentes. Haciendo referencia a las figuras 16-21, el módulo de entrada de muestra 6170 incluye un alojamiento 6172 que define un volumen de muestra 6174, y un pistón 6180 que se dispone de manera móvil dentro del volumen de muestra 6174. El alojamiento 6172 define además un orificio de entrada de muestra 6175, un orificio de salida de muestra 6177, y un orificio de entrada de lavado 6176. En uso, la muestra de entrada se lleva de la parte de entrada de muestra 6160 al volumen de muestra 6174 mediante el orificio de entrada de muestra 6175. La muestra puede llevarse por alimentación por gravedad o por cualquier otro mecanismo adecuado. Tal como se muestra, el orificio de entrada de muestra 6175 se dispone hacia la parte superior del volumen de muestra 6174 de modo que después que el pistón 6180 se mueve hacia abajo para desplazar la muestra, el orificio de entrada de muestra 6175 se bloquea para evitar el contraflujo de la muestra de nuevo hacia

y/o hasta la parte de entrada de muestra 6160. En otros ejemplos, el orificio de entrada de muestra 6175 puede incluir cualquier dispositivo de control de flujo adecuado, tal como válvulas de retención, válvulas de pico de pato, o similares.

5 Tal como se muestra en la figura 21, cuando el pistón 6180 se desplaza hacia abajo dentro del volumen de muestra 6174, la muestra dentro del volumen de muestra 6174 se lleva hacia el montaje de filtro 6230 mediante el orificio de salida de muestra 6177. El flujo de la muestra de entrada hacia el montaje de filtro 6230 se muestra por la flecha S2 en la figura 9. El orificio de salida de muestra 6177 puede incluir cualquier dispositivo de control de flujo, tal como válvulas de retención, válvulas de pico de pato, o similares, para evitar el flujo del filtro de regreso de nuevo
10 hacia y/o hasta el volumen de muestra 6174.

El módulo de entrada de muestra 6170 se acciona por la accionador (o botón) de muestra 6050. El accionador de muestra 6050 se acopla de manera móvil a la parte de preparación de muestra 6023 del alojamiento 6030, e incluye una pared lateral 6054 que define un volumen interno 6055 que puede recibir una parte del módulo de entrada de muestra 6170. El accionador de muestra 6050 incluye una protuberancia 6056 que se alinea con y puede desplazar
15 el pistón 6180 cuando el módulo de entrada de muestra 6170 se accione. El accionador de muestra 6050 incluye además una pestaña de bloqueo 6057 que se recibe de manera fija dentro de la hendidura o abertura 6033 para fijar el accionador de muestra 6050 en su segunda posición o posición "accionada", tal como se describió anteriormente.

20 En uso, después de que la muestra de entrada S1 se ha colocado en la parte de entrada de muestra 6160 y la parte deseada de la muestra se ha llevado al volumen 6174, la operación de entrada de muestra puede iniciarse por el movimiento hacia abajo del accionador de muestra 6050 en relación con el alojamiento inferior 6030 (esto se muestra por la flecha PP en la figura 63; véase también la figura 21). El movimiento del pistón 6180 dentro del volumen 6174 incrementa la presión interna, y de este modo hace que la muestra en el mismo fluya a través del
25 orificio de salida 6177 hacia el montaje de filtro 6230. El accionador de muestra 6050 permanece bloqueado en su segunda posición o posición "accionada" por la interfaz entre la pestaña de bloqueo 6057 y la hendidura 6033. Cuando el accionador de muestra 6050 está en la posición bloqueada, el pistón 6180 se separa de la superficie inferior que define el volumen de muestra 6174 para permitir alguna cantidad de "volumen muerto" a través del
30 cual puedan fluir las composiciones de lavado.

Haciendo referencia a las figuras 22-23, el módulo de lavado 6210 incluye un pistón 6220 y el alojamiento 6212 que define un volumen de lavado 6214. Tal como se muestra por la línea discontinua en la figura 23, el volumen de lavado 6214 contiene una primera composición de lavado W1 y una segunda composición de lavado W2. De manera más particular, la primera composición de lavado W1 es un gas (por ejemplo, nitrógeno, aire, u otro gas inerte), y la segunda composición de lavado W2 es un lavado líquido. De esta manera, la operación de lavado puede incluir una "limpieza de aire" del montaje de filtro 6230, tal como se describe con mayor detalle en el presente documento.

40 El pistón 6220 se dispone de manera móvil dentro del volumen de lavado de muestra 6214, y define un orificio de salida de lavado 6216. El orificio de salida de lavado 6216 se acopla fluidicamente al orificio de entrada de lavado 6176 del módulo de entrada de muestra 6170. Además, el orificio de salida de lavado 6216 puede incluir cualquier dispositivo de control de flujo adecuado, tal como válvulas de retención, válvulas de pico de pato, o similares para evitar el regreso del flujo hacia y/o hasta el volumen de lavado 6214. La disposición del orificio de salida de lavado 6216 permite que las composiciones de lavado (por ejemplo, W1 y W2) se lleven del volumen de lavado 6174 hacia el "volumen muerto" restante del volumen de muestra 6174 y hacia el montaje de filtro 6230 cuando el accionador de lavado 6060 se accione. De manera más particular, incluyendo el orificio de salida de lavado 6216 sobre el pistón 6220, el movimiento del pistón 6220 hacia abajo producirá un flujo en serie de la primera composición de lavado W1 seguida por la segunda composición de lavado W2. Incluyendo primero un lavado de gas (o aire) (la primera composición de lavado W1), puede reducirse la cantidad de constituyentes líquidos de la muestra de entrada que se ha llevado hacia el montaje de filtro 6230 (indicado por el flujo S2 en la figura 9). Dicho de otra manera, después de la distribución de la muestra de entrada al montaje de filtro 6230 por el accionamiento del módulo de entrada de muestra 6170, el montaje de filtro 6230 retendrá las células de muestra deseadas y alguna cantidad de líquido residual. Forzando la primera composición de lavado gaseosa W1 a través del filtro (es decir, un "lavado de aire"), puede minimizarse la cantidad de líquido residual. Esta disposición puede reducir la cantidad de lavado líquido (por ejemplo, la segunda composición de lavado W2) necesaria para preparar suficientemente las partículas de muestra. La reducción del volumen del líquido contribuye a la reducción del tamaño del dispositivo 6000 y también reduce la probabilidad de tensión de cizalladura potencialmente peligrosa cuando el lavado líquido W2 fluya a través del montaje de filtro.

60 El módulo de lavado 6210 se acciona por el accionador (o botón) de lavado 6060. El accionador de lavado 6060 se acopla de manera móvil a la parte de lavado 6025 del alojamiento inferior 6030, e incluye una pared lateral 6064 que define un volumen interno 6065 que puede recibir una parte del módulo de lavado 6210. El accionador de lavado 6060 incluye una protuberancia 6066 que se alinea con y puede desplazar el pistón 6220 cuando el módulo de lavado 6210 se accione. El accionador de lavado 6060 incluye además una pestaña de bloqueo 6067 que se recibe de manera fija dentro de la hendidura o abertura 6035 para fijar el accionador de lavado 6060 en su segunda
65

posición o posición “accionada”, tal como se describió anteriormente.

En uso, después de que se ha llevado la muestra de entrada S1 del módulo de entrada de muestra 6170 al montaje de filtro (indicado por la flecha S2), la operación de lavado puede iniciarse por el movimiento hacia abajo del accionador de lavado 6060 en relación con el alojamiento inferior 6030 (esto se muestra por la flecha QQ en la figura 64). El movimiento del pistón 6220 dentro del volumen 6214 incrementa la presión interna, y de este modo hace que la primera composición de lavado W1 y la segunda composición de lavado W2 fluyan a través del orificio de salida 6216 hacia el módulo de entrada de muestra 6170, tal como se indica por la flecha S3 en la figura 9. El accionador de lavado 6060 permanece bloqueado en su segunda posición o posición “accionada” por la interfaz entre la pestaña de bloqueo 6067 y la hendidura 6035.

Tal como se describió anteriormente, cuando el pistón 6220 se desplaza hacia abajo, la primera composición de lavado W1 (es decir, el lavado de aire) fluye a través del “volumen muerto” restante en el módulo de entrada de muestra 6170, a través del orificio de salida de muestra 6177, y hacia el montaje de filtro 6230. La segunda composición de lavado W2 (es decir, el lavado líquido) fluye entonces a través del “volumen muerto” restante en el módulo de entrada de muestra 6170, a través del orificio de salida de muestra 6177, y hacia el montaje de filtro 6230. El flujo del primer y segundo lavado se muestra en la figura 9 por la flecha S3 mostrada a través del montaje de filtro 6230. La primera composición de lavado W1, la segunda composición de lavado W2, y cualquier otro producto residual que pase a través de del montaje de filtro 6230 se llevan al depósito de residuos 6205. Tal como se describe con mayor detalle más adelante, el montaje de filtro 6230 incluye una válvula 6280 que controla el flujo de la muestra y el lavado a través del montaje de filtro 6230.

En algunos ejemplos, el accionador de lavado 6060 y/o el accionador de muestra 6050 pueden interconectarse o pueden incluir de otro modo elementos de bloqueo que limiten el movimiento de los accionadores fuera de servicio. Por ejemplo, en algunos ejemplos, el accionador de muestra 6050 puede incluir una protuberancia que entre en contacto con una parte de la protuberancia de bloqueo 6067 del accionador de lavado 6060, evitando por lo tanto el movimiento del accionador de bloqueo 6060 cuando el accionador de muestra 6050 esté en su primera posición. De esta manera, los accionadores pueden estar configurados para reducir la probabilidad de accionarse fuera de servicio.

Aunque se muestra y se describe como si incluyera una primera composición de lavado W1 (es decir, un gas) y una segunda composición de lavado W2 (es decir, un líquido), en otros ejemplos, el módulo de lavado 6210 puede incluir únicamente una sola composición de lavado.

El montaje de filtro 6230 se muestra en las figuras 14, 15 y 32–35. El montaje de filtro 6230 incluye un montaje de alojamiento de filtro 6250, una primera placa de válvula 6233, una segunda placa de válvula 6243, y un cuerpo de válvula 6290. Tal como se describe en el presente documento, el montaje de filtro 6230 está configurado para filtrar y preparar la muestra de entrada (mediante la operación de entrada de muestra y la operación de lavado de muestra), y para permitir una operación de elución a contracorriente para liberar las partículas capturadas de la membrana de filtro 6254 y liberar el volumen eluido hacia el destino diana (por ejemplo, hacia el módulo de amplificación 6600).

El montaje de alojamiento de filtro 6250 incluye una primera placa 6251, una segunda placa 6252, y una membrana de filtro 6254. La primera placa 6251 define un orificio de entrada/salida 6255 a través del cual las soluciones de muestra y lavado fluyen (hacia el depósito de residuos 6205), tal como se indica por la flecha EE en la figura 32, y a través del cual la solución de elución y partículas de muestra fluyen (hacia la cámara de inactivación 6300), tal como se indica por la flecha FF en la figura 34. El orificio de entrada/salida 6255 se coloca de manera selectiva en comunicación fluida con las aberturas de válvula 6237 y 6238 para controlar el flujo a su través. La segunda placa 6252 define un orificio de entrada/salida 6256 a través del cual las soluciones de muestra y lavado fluyen (hacia el depósito de residuos 6205), tal como se indica por la flecha EE en la figura 32, y a través del cual la solución de elución y partículas de muestra fluyen (hacia la cámara de inactivación 6300), tal como se indica por la flecha FF en la figura 34. El orificio de entrada/salida 6256 se coloca de manera selectiva en comunicación fluida con las aberturas de válvula 6247 y 6248 para controlar el flujo a su través.

La membrana de filtro 6254 captura el organismo/entidad diana permitiendo a la vez que el volumen de líquido dentro de la muestra, la primera composición de lavado W1, y la segunda composición de lavado W2 fluyan a su través hacia el tanque de residuos 6230. La membrana de filtro 6254 (y cualquiera de las membranas de filtro descritas en el presente documento) puede ser cualquier membrana y/o combinación de membranas adecuada. Por ejemplo, en algunos ejemplos, la membrana de filtro 6254 es una membrana de filtro de nailon tejida con un tamaño de poro de aproximadamente 1 μm (por ejemplo, 0,8 μm , 1,0 μm , 1,2 μm) encerrada entre una primera placa 6251 y la segunda placa 6252 de modo que exista un volumen muerto mínimo. En tales ejemplos, la captura de la partícula puede lograrse principalmente a través de un acontecimiento de unión. Tales tamaños de poros y construcción de filtro pueden conducir a una presión de fluido reducida durante las operaciones de distribución de la muestra, lavado y elución. Tales diseños, sin embargo, también pueden permitir que los organismos diana fluyan a través de la membrana de filtro 6254, dando como resultado potencialmente menor eficacia de captura. Además, el organismo diana puede ser más difícil de eliminar en la etapa de elución (por ejemplo, el lavado a contracorriente).

debido a la naturaleza de la unión. Sin embargo, la solución de eluyente resultante es “más limpia” cuanto más material indeseable se lave a través de la membrana de filtro 6254. De este modo, la membrana de filtro 6254 y el tamaño de la misma pueden seleccionarse de modo que sean suplementarios a y/o compatibles con el organismo diana. Por ejemplo, la membrana de filtro 6254 puede construirse y/o formularse para capturar especímenes diana a través de cualquier exclusión por tamaño (donde a cualquier cosa más pequeña que el organismo diana se le permita fluir a través de la membrana), o mediante unión de la diana a la membrana de filtro a través de una interacción química (y eliminación posterior de la diana de la membrana con la solución de elución).

Por ejemplo, en algunos ejemplos, la membrana de filtro 6254 puede ser un filtro de acetato de celulosa con un tamaño de poro de aproximadamente 0,35 μm , y puede construirse para lograr la captura de la partícula por exclusión por tamaño. Tal construcción del filtro, sin embargo, puede tender a obstruirse más fácilmente, generando de este modo presiones más altas durante las operaciones de distribución de la muestra, lavado y elución. En algunos ejemplos, la presión interna puede reducirse alterando el diámetro de la membrana de filtro 6254 y/o reduciendo el volumen total de la muestra que va a llevarse a través del montaje de filtro 6230.

La primera placa de válvula 6233 define una ranura de válvula 6234 en comunicación fluida con el orificio de entrada/salida 6255. De este modo, la primera placa de válvula 6233 proporciona acceso fluídico a la membrana de filtro 6254 (mediante el cuerpo de válvula 6290). La segunda placa de válvula 6243 define una ranura de válvula 6244 en comunicación fluida con el orificio de entrada/salida 6256. De este modo, la segunda placa de válvula 6244 proporciona acceso fluídico a la membrana de filtro 6254 (mediante el cuerpo de válvula 6290).

El cuerpo de válvula 6290 incluye una parte de accionamiento 6291, una primera pata de válvula 6232, y una segunda pata de válvula 6242. La primera pata de válvula 6232 y la segunda pata de válvula 6242 se acoplan a la parte de accionamiento 6291, de modo que el movimiento deslizante de la parte de accionamiento 6291 haga que la primera pata de válvula 6232 se deslice dentro la ranura 6243 y la segunda pata de válvula 6242 se deslice dentro la ranura 6244. La primera pata de válvula 6232 incluye las aberturas de válvula 6237 y 6238, y un par de juntas tóricas (no mostradas) que sellan alrededor de cada una de las aberturas. La segunda pata de válvula 6242 incluye las aberturas de válvula 6247 y 6248, y un par de juntas tóricas 6253 que sellan alrededor de cada una de las aberturas. De este modo, dependiendo de la posición del cuerpo de válvula 6290 dentro de las ranuras 6234, 6244, un par de las aberturas puede alinearse selectivamente con las aberturas 6255 de la segunda placa 6251 y la abertura 6256 de la segunda placa 6252 para bloquear una trayectoria de flujo particular, o permitir el flujo de fluido a su través. De esta manera, el montaje de válvula 6230 puede controlar el flujo de fluido durante las operaciones de flujo de muestra, flujo de lavado y flujo de elución.

La figura 32 muestra el montaje de filtro 6230 en su primera configuración (o “lavado de muestra”). Cuando en esta primera configuración, la abertura de válvula 6237 y la abertura de válvula 6247 se alinean ambas con el orificio de entrada/salida 6255 y con el orificio de entrada/salida 6256. La abertura de válvula 6237 recibe el flujo de muestra del orificio de salida de muestra 6177, y la abertura de válvula 6247 se acopla fluídicamente al depósito de residuos 6205. De este modo, cuando el montaje de filtro 6230 está en su primera configuración, la muestra S2 puede llevarse a través de la membrana de filtro 6254 (con la parte de lavado yendo hacia el depósito de residuos 6205) tal como se muestra por la flecha EE. Además, las composiciones de lavado S3 pueden llevarse a través de la membrana de filtro 6254 (con la parte de lavado yendo hacia el depósito de residuos 6205) tal como se muestra por la flecha EE. Además, se evita que los flujos de muestra y/o lavado (S2 y S3, respectivamente) fluyan a través de la membrana de filtro 6254 y hacia el módulo de elución 6260 debido a que la abertura de válvula 6248 se sella con la segunda pata de válvula 6242. Esto se representa por la flecha FF en la figura 32. También se evita que los flujos de muestra y/o lavado (S2 y S3, respectivamente) se desvíen de la membrana de filtro 6254 y fluyan hacia la cámara de inactivación 6300 debido a que la abertura de válvula 6238 se sella con la primera pata de válvula 6232.

La figura 34 muestra el montaje de filtro 6230 en su segunda configuración (o “elución”). Cuando está en la segunda configuración, la abertura de válvula 6238 y la abertura de válvula 6248 se alinean ambas con el orificio de entrada/salida 6255 y con el orificio de entrada/salida 6256. La abertura de válvula 6248 recibe el flujo de elución del módulo de elución 6260 (descrito más adelante), y la abertura de válvula 6238 se acopla fluídicamente a la cámara de inactivación 6300. De este modo, cuando el montaje de filtro 6230 está en su segunda configuración, el flujo de elución (indicado por la flecha S4 en la figura 9) puede llevarse de regreso a través de la membrana de filtro 6254 tal como se muestra por la flecha FF. Además, se evita que el flujo de elución S4 fluya a través de la membrana de filtro 6254 y hacia el módulo de entrada de muestra 6170 debido a que la abertura de válvula 6237 se sella con la primera pata de válvula 6232. Esto se representa por la flecha EE en la figura 34. También se evita que el flujo de elución S4 se desvíe de la membrana de filtro 6254 y fluya hacia el depósito de residuos 6205 debido a que la abertura de válvula 6247 se sella con la segunda pata de válvula 6242.

Tal como se describe más adelante, el cuerpo de válvula 6290 se acciona por el movimiento del accionador del reactivo 6080. En particular, la rampa 6088 definida por la protuberancia 6086 del accionador del reactivo 6080 entra en contacto con la parte de accionamiento 6291 y desplaza el cuerpo de válvula 6290 hacia dentro, tal como se muestra por la flecha GG en la figura 34 para desplazar el montaje de filtro 6230 de su primera configuración (figura 32) a su segunda configuración (figura 34).

El módulo (o montaje) de elución 6260 del módulo de preparación de muestra 6200 se muestra en las figuras 25–28. El módulo de elución 6260 está contenido, junto con el módulo de reactivo 6700, en la parte de reactivo 6029 del alojamiento. Además, el módulo de elución 6260 y el accionamiento inicial del módulo de reactivo 6700 se accionan ambos por el movimiento de un solo accionador manual (el accionador del reactivo 6080). El módulo de elución 6260 se describe inmediatamente a continuación, mientras que el módulo de reactivo 6700 se describe con mayor detalle más adelante.

El módulo de elución 6260 está contenido dentro del alojamiento de reactivo 6740 (también denominado “cuerpo de tanque” o “cuerpo de reactivo”), e incluye un pistón 6270 (véase la figura 28). El alojamiento de reactivo 6740 define un volumen de elución 6264 dentro del cual se almacena una composición de elución. La composición de elución puede incluir proteinasa K, lo cual permite la liberación de cualquier célula unida y/o ADN de la membrana de filtro 6254. El alojamiento de reactivo 6740 define además un orificio de entrada (o llenado) 6265 y un orificio de salida de elución 6266. El orificio de salida de elución 6266 se acopla fluidicamente a la abertura de válvula 6248 de la segunda pata de válvula 6242, y puede colocarse selectivamente en comunicación fluida con el montaje de filtro 6230, tal como se describió anteriormente. El orificio de salida de elución 6266 puede incluir cualquier dispositivo de control de flujo adecuado, tal como válvulas de retención, válvulas de pico de pato, o similares para evitar el regreso del flujo hacia y/o hasta el volumen de elución 6264.

El módulo de elución 6210 se acciona por el accionador (o botón) de reactivo 6080 (véase la figura 30). El accionador del reactivo 6080 se acopla de manera móvil a la parte de reactivo 6029 del alojamiento inferior 6030, e incluye una pared lateral 6084 que define un volumen interno 6065 que puede recibir una parte del módulo de elución 6260. El volumen interno 6065 también recibe el elemento superior 6735 del módulo de reactivo 6700, el cual incluye una protuberancia que se alinea con y puede desplazar el pistón 6270 cuando el accionador del reactivo 6080 se desplaza. El accionador del reactivo 6080 incluye además una pestaña de bloqueo 6087 que se recibe fijamente dentro de la hendidura o abertura 6039 para fijar el accionador del reactivo 6080 en su segunda posición o posición “accionada”, tal como se describió anteriormente.

En uso, el montaje de filtro 6230 recupera los organismos diana con cierta eficiencia, de un volumen inicial dado. La operación de lavado elimina entonces el material indeseado, sin eliminar los organismos diana (que puedan permanecer presentes sobre la membrana de filtro 6254). La operación de elución elimina entonces el organismo diana de la membrana de filtro 6254, diluyendo la cantidad total de organismos capturados en el volumen de la solución de elución, comprendiendo de este modo el eluyente. Modificando el volumen de salida total de eluyente, puede alcanzarse una concentración mayor o menor de ambos organismos diana y cualquier materia de inhibición potencial. En algunos ejemplos, puede lograrse una dilución adicional, si se desea, mezclando la solución de eluyente con otro reactivo después de la preparación de la muestra inicial. Dado un volumen conocido de eluyente, y un volumen conocido de diluyente, puede obtenerse un factor de dilución correcto, a través del mantenimiento de la fiabilidad del sistema se evitan factores de dilución muy altos.

Módulo de reactivo

Tal como se describe en el presente documento, el método de detección incluye un suministro secuencial de los reactivos de detección (reactivos R3 – R6) y otras sustancias dentro del dispositivo 6000. Además, el dispositivo 6000 está configurado para ser un producto “en existencia” para usarse en un lugar de punto de atención (u otro lugar descentralizado), y está configurado de este modo para el almacenamiento a largo plazo. En algunos ejemplos, el dispositivo de prueba de diagnóstico molecular 6000 está configurado para almacenarse durante hasta aproximadamente 36 meses, hasta aproximadamente 32 meses, hasta aproximadamente 26 meses, hasta aproximadamente 24 meses, hasta aproximadamente 20 meses, hasta aproximadamente 18 meses, o cualquier valor entre estos. En consecuencia, el módulo de almacenamiento de reactivo 6700 está configurado por pasos sencillos no empíricos para que el usuario elimine los reactivos de sus recipientes de almacenamiento a largo plazo, y elimine todos los reactivos de sus recipientes de almacenamiento usando una sola acción del usuario. En algunos ejemplos, el módulo de almacenamiento de reactivo 6700 y la válvula de selección giratoria 6340 (descrita más adelante) están configurados para permitir que los reactivos se usen en el módulo de detección 6800, uno a uno, sin intervención del usuario.

Específicamente, el dispositivo 6000 está configurado de modo que la última etapa de la operación del usuario inicial (es decir, la pulsación del accionador del reactivo 6080) da como resultado la dispensación de los reactivos almacenados. Tal como se describe más adelante, esta acción aplasta y/o abre los recipientes de reactivo sellados presentes en el montaje y reubica el líquido para la distribución. Una válvula selectora de ventilación giratoria 6340 (véanse las figuras 50-62) permite que todo el módulo de reactivo 6700 se ventile en esta etapa, y esto permite la abertura de los recipientes de reactivo, pero cierra la ventilación a los tanques una vez que concluye este proceso. Los reactivos permanecen en el módulo de reactivo 6700 hasta que sea necesario en el módulo de detección 6800. Cuando sea necesario un reactivo particular, la válvula giratoria 6340 abre la trayectoria de ventilación apropiada hacia el módulo de reactivo 6700, y el módulo de accionamiento fluido 6400 aplica vacío al orificio de salida del módulo de reactivo 6700 (mediante el módulo de detección 6800), llevando de este modo el reactivo desde el módulo de reactivo 6700.

Tal como se ilustra en las figuras 9 (esquemáticamente) y 25-31, el módulo de almacenamiento de reactivo 6700 almacena reactivos empaquetados, identificados en el presente documento como reactivo R3 (una primera solución de lavado), reactivo R4 (un reactivo enzimático), reactivo R5 (una segunda solución de lavado), y reactivo R6 (un sustrato), y que permite un desembalaje y uso fáciles de esos reactivos en el módulo de detección 6800. Tal como se muestra en las figuras 15-17, el módulo de almacenamiento de reactivo 6700 incluye un primer bote de reactivo 6701 (que contiene el primer reactivo R3), un segundo bote de reactivo 6702 (que contiene el segundo reactivo R4), y un cuarto bote de reactivo 6704 (que contiene el cuarto reactivo R6), un alojamiento (o tanque) de reactivo 6740, un elemento (o tapa) superior 6735, y elemento (o salida) inferior 6780. Tal como se describió anteriormente, el alojamiento de reactivo 6740 también contiene y/o forma una parte del módulo de elución 6260.

Cada uno de los botes de reactivo incluye sellos frágiles en los extremos superior e inferior de los mismos para definir un recipiente sellado adecuado para el almacenamiento a largo plazo de la sustancia en él. Por ejemplo, haciendo referencia a la figura 29, el segundo bote de reactivo 6702 incluye un primer sello frágil (o superior) 6718 y un segundo sello frágil (o inferior) 6717. Tal como se describe más adelante, los sellos frágiles se perforan al accionar el módulo de reactivo 6700 para configurar o "preparar" el reactivo dentro de cada bote para usarse dentro del módulo de detección 6800. Los sellos frágiles pueden ser, por ejemplo, una película BOPP sellada con calor (o cualquier otra película termoplástica adecuada). Tales películas tienen excelentes propiedades de barrera, las cuales evitan la interacción entre los fluidos dentro del bote y la humedad externa, pero también tienen propiedades estructurales débiles, que permiten que las películas se rompan fácilmente cuando sea necesario. Cuando el bote de reactivo se empuja hacia los elementos aplastantes o perforadores, tal como se describe más adelante, la película BOPP se rompe, permitiendo que el líquido dentro del bote fluya cuando se ventile. Cada uno de los botes de reactivo también incluye dos juntas tóricas que aíslan fluidicamente el bote dentro de su orificio del alojamiento de reactivo 6740. Por ejemplo, tal como se muestra en la figura 29, el segundo bote de reactivo 6702 incluye una primera junta tórica (o superior) 6716 y una segunda junta tórica (o inferior) 6719. Estas juntas tóricas sellan el segundo bote de reactivo 6702 dentro del orificio 6746 del alojamiento de reactivo 6740.

El alojamiento de reactivo 6740 define un conjunto de orificios cilíndricos dentro de los cuales está contenido un bote de reactivo correspondiente de manera móvil. Tal como se muestra en la figura 27, un primer orificio contiene el primer bote de reactivo 6701, un segundo orificio (el cual se identifica como el orificio 6746 en la figura 29) contiene el segundo bote de reactivo 6702, un tercer orificio contiene el tercer bote de reactivo 6703, y un cuarto orificio contiene el cuarto bote de reactivo 6704. El alojamiento de reactivo 6740 incluye un perforador en la parte inferior de cada orificio configurado para perforar el segundo sello frágil del bote respectivo cuando el bote se desplaza hacia abajo dentro del alojamiento de reactivo 6740. Dicho de manera similar, el alojamiento de reactivo 6740 incluye un conjunto de perforadores que perforan cada uno un sello frágil correspondiente para abrir un bote de reactivo cuando el módulo de reactivo 6700 se acciona. Además, cada perforador define una trayectoria de flujo que coloca el volumen interno del bote de reactivo en comunicación fluida con un orificio de salida del módulo de reactivo 6700 después de que se perfora el sello frágil. Por ejemplo, haciendo referencia a las figuras 29 y 31, el segundo orificio 6746 incluye un perforador 6747 que define una trayectoria de flujo del perforador 6748. La trayectoria de flujo del perforador 6748 está en comunicación fluida con el segundo orificio de salida 6792 mediante el pasaje 6782.

El alojamiento de reactivo 6740 también define el volumen de elución 6264 (descrito anteriormente) y un orificio guía 6706. El orificio guía 6706 recibe el perno o protuberancia correspondiente 6737 del elemento superior 6735 para guiar el movimiento del elemento superior 6735 en relación con el alojamiento de reactivo 6740.

El elemento inferior 6780 se acopla a la parte inferior del alojamiento de reactivo 6740 y define los orificios de salida de reactivo que están en comunicación fluida con cada uno de los orificios de reactivo. Específicamente, el elemento inferior 6780 define un primer orificio de salida 6791 que está en comunicación fluida con el primer orificio, y a través del cual el primer reactivo R3 puede fluir. El elemento inferior 6780 define un segundo orificio de salida 6792 que está en comunicación fluida con el segundo orificio 6746, y a través del cual el segundo reactivo R4 puede fluir (mediante la trayectoria de flujo del perforador 6748 y el pasaje 6782, tal como se muestra en la figura 29). El elemento inferior 6780 define un tercer orificio de salida 6793 que está en comunicación fluida con el tercer orificio, y a través del cual el tercer reactivo R5 puede fluir. El elemento inferior 6780 define un cuarto orificio de salida 6794 que está en comunicación fluida con el cuarto orificio, y a través del cual el cuarto reactivo R6 puede fluir.

El elemento superior 6735 está configurado para desplazarse en relación con el alojamiento de reactivo 6740 cuando el módulo de reactivo 6700 se acciona. El elemento superior 6735 incluye un conjunto de rebordes, incluyendo cada uno un perforador, y cada uno de los cuales corresponde a uno de los botes de reactivo. Dicho de manera similar, el elemento superior 6735 incluye un conjunto de rebordes, incluyendo cada uno un perforador, y cada uno de los cuales se alinea con y está configurado para desplazarse al menos parcialmente dentro de un orificio correspondiente definido por el alojamiento de reactivo 6740. Haciendo referencia a las figuras 29 y 31, por ejemplo, el elemento superior 6735 incluye un primer reborde 6762 que corresponde al primer bote de reactivo 6701 (y el primer orificio) y un segundo reborde 6767 que corresponde al segundo bote de reactivo 6702 (y el segundo orificio 6746). El primer reborde 6762 incluye un primer perforador 6761 y el segundo reborde 6767 incluye

un segundo perforador 6766. Además, cada perforador del elemento superior 6735 define una trayectoria de flujo que coloca el volumen interno del bote de reactivo en comunicación fluida con el orificio de ventilación del módulo de reactivo 6700 después de que el sello frágil superior se perfora. Por ejemplo, haciendo referencia a las figuras 29 y 31, el segundo perforador 6766 define una trayectoria de flujo del perforador 6732 que sirve como el orificio de ventilación 6732 (véanse los orificios de ventilación de salida en la figura 26). Específicamente, el primer bote 6701 y/o primer orificio se ventila mediante el primer orificio de ventilación 6731, el segundo bote 6702 y/o segundo orificio 6746 se ventila mediante el segundo orificio de ventilación 6732, el tercer bote 6703 y/o tercer orificio se ventila mediante el tercer orificio de ventilación 6733, y el cuarto bote 6704 y/o cuarto orificio se ventila mediante el cuarto orificio de ventilación 6734. Tal como se describe más adelante, cada uno de los orificios de ventilación se acopla fluidicamente a la válvula giratoria 6340 para permitir la ventilación selectiva y/o secuencial de cada bote para controlar el flujo de los reactivos hacia el módulo de detección 6800.

La parte de ventilación 6736 del elemento superior 6735 también está configurada para acoplarse con el conmutador 6906 para accionar el módulo de alimentación y control 6900 cuando el módulo de reactivo 6700 (y el módulo de elución 6260) se acciona. El elemento superior 6735 incluye además el perno guía (o protuberancia) 6737 que se desplaza dentro del orificio guía 6706 del alojamiento de reactivo 6740 durante el uso.

Cuando el módulo de reactivo 6700 está en su primera configuración (o almacenamiento) (por ejemplo, figura 29), los sellos frágiles 6717, 6718 aíslan fluidicamente el volumen interior del segundo bote 6702, manteniendo de este modo el reactivo R2 en condiciones para el almacenamiento. El módulo de reactivo 6700 se acciona cuando el elemento superior 6735 se desplaza hacia abajo de su primera posición (figura 29) a su segunda posición (figura 31). Específicamente, el módulo de reactivo 6700 se acciona junto con el módulo de elución 6210 por el accionador (o botón) de reactivo 6080 (véase la figura 30). El accionador del reactivo 6080 permite que el usuario accione manualmente el sistema apretando el accionador 6080 hacia abajo (véase la flecha RR en la figura 65).

Cuando el accionador del reactivo 6080 y el elemento superior 6735 se desplazan hacia abajo en relación con el alojamiento de reactivo 6740, los perforadores superiores perforan el sello frágil superior de cada uno de los recipientes de reactivo. Específicamente, tal como se muestra en la figura 31, el segundo perforador 6768 perfora el sello frágil superior 6718 colocando por lo tanto el volumen interior del segundo bote de reactivo 6702 en comunicación fluida con el orificio de ventilación 6732. Además, el movimiento hacia abajo del elemento superior 6735 causa que los rebordes del elemento superior 6735 se acoplen a cada bote respectivo y desplacen el bote hacia abajo en su orificio respectivo. Esto hace que los perforadores inferiores (del alojamiento de reactivo 6740) perforen los sellos frágiles inferiores. Específicamente, tal como se muestra en la figura 31, el reborde 6767 empuja el segundo bote 6702 hacia abajo dentro del orificio 6746, haciendo de este modo que el perforador 6747 perfora el sello frágil inferior 6717. Esto pone el volumen interior del segundo bote de reactivo 6702 en comunicación fluida con el orificio de salida 6792.

Cuando el módulo de reactivo 6700 está en la segunda configuración, los reactivos están "listos" para usarse (es decir, se liberan de los botes sellados). Los reactivos, sin embargo, permanecen dentro de sus botes y/u orificios respectivos hasta el momento en el que se accionan por la operación del montaje de válvula giratoria 6340, la cual abre selectivamente los orificios de ventilación 6731, 6732, 6733, y 6734 para permitir que los reactivos fluyan fuera del montaje de reactivo 6700 mediante los orificios de salida 6791, 6792, 6793 y 6794.

El módulo de reactivo 6700 y la válvula giratoria 6340 permiten que los reactivos se preparen y se lleven secuencialmente hacia el módulo de detección 6800 de una forma sencilla, y por un usuario con una mínima (o ninguna) formación científica, según métodos que requieren poco juicio. De manera más particular, la preparación de los reactivos requiere solo apretar manualmente un botón (el accionador del reactivo 6080). La adición secuencial de los reactivos se controla automáticamente por la válvula giratoria 6340. Esta disposición contribuye a que el dispositivo 6000 sea un dispositivo de baja complejidad de CLIA y/o se haga funcionar según métodos de baja complejidad de CLIA.

Cámara de inactivación

Tal como se muestra por la flecha S4 en la figura 9, la solución de elución y las células y/u organismos capturados se llevan durante la operación de elución de regreso a través del montaje de filtro 6230, y hacia el módulo (o "cámara") de inactivación 6300. El módulo de inactivación 6300 está configurado para acoplarse fluidicamente a y recibir la muestra eluida S4 del módulo de preparación de muestra 6200. En algunos ejemplos, el módulo de inactivación 6300 está configurado para lisis del fluido de entrada recibido. En algunos ejemplos, el módulo de inactivación 6300 está configurado para desactivar las enzimas presentes en el fluido de entrada después de que se produzca la lisis. En algunos ejemplos, el módulo de inactivación 6300 está configurado para evitar la contaminación cruzada entre el fluido de salida y el fluido de entrada.

Haciendo referencia a las figuras 36 y 37, el módulo de inactivación 6280 incluye un alojamiento 6310, una tapa 6318, un calentador 6330, así como interconexiones fluidicas y eléctricas (no mostradas) a otros módulos. El alojamiento 6310 define una cámara de inactivación 6311, un orificio de entrada 6212, un orificio de salida 6313, y una ventilación 6314. Tal como se muestra en la figura 37, la cámara de inactivación 6311 se construye para

permitir llenarse con la muestra del módulo de preparación de muestra 6200, seguido por el calentamiento de todo el líquido recibido. Esto se logra haciendo que el orificio de entrada 6212 y el orificio de salida 6313 tengan trayectorias de flujo más arduas y tortuosas que las del orificio de ventilación 6314. De esta manera, cuando el líquido se manipula, o cuando el líquido se expande al calentarse, el flujo de líquido avanza hacia o se aleja del orificio de ventilación 63214, en lugar de hacia cualquiera de los conductos conectados al orificio de entrada 6212 y/o el orificio de salida 6313.

Tal como se muestra en la figura 37, la tapa 6318 (o cubierta) se acopla al alojamiento 6310 por medio de una capa adhesiva 6319. En otros ejemplos, el módulo de inactivación 6300 puede construirse usando cualquier mecanismo adecuado.

El montaje de calentador 6330 puede ser cualquier construcción de calentador adecuada, y puede incluir conexiones eléctricas 6332 para acoplar eléctricamente el calentador 6330 al controlador 6950, la fuente de alimentación 6905 o similares. En algunos ejemplos, el calentador 6330 puede integrar un esparcidor de calor sencillo y una capa calentadora resistente con un detector de temperatura integrado (no mostrados). La tapa 6318 del alojamiento 6310 se construye de una membrana de plástico delgada, y el montaje de calentador 6330 puede unirse a ella por cualquier mecanismo adecuado. Esta disposición de acoplamiento directo permite una buena conducción térmica desde el montaje de calentador 6330 hacia el líquido dentro de la cámara de inactivación 6311. El calentador 6330 se controla por el módulo electrónico (por ejemplo, el controlador electrónico 6950, o cualquier otro controlador adecuado) para controlar y/o mantener el calentador 6330 a una cierta temperatura. A través de la caracterización del módulo, se desarrolla una desviación de esta temperatura de control hacia la temperatura del líquido dentro de una cámara de inactivación 6311.

En uso, la muestra se deposita en/se transfiere a la cámara de inactivación 6311 del módulo de preparación de muestra 6200 mediante el orificio de entrada 6312, tal como se muestra por la flecha HH. En algunos ejemplos, el orificio de ventilación hidrofóbico permanentemente abierto 6314 permite que la cámara de inactivación 6311 se llene pasivamente; es decir, sin la necesidad de intervención de un usuario (por ejemplo, una operación manual) o módulo de control (por ejemplo, activación de una bomba de pistón de adición). Una vez que se termina de llenar y el módulo de inactivación 6300 se enciende, el montaje de calentador 6330 calienta el líquido en la cámara de inactivación 6311 para permitir que los reactivos de lisis contenidos en el eluyente funcionen a la máxima eficiencia. Este proceso lisa las células del organismo diana capturadas en el módulo de preparación de muestra 6200 y libera el ADN presente en la diana. En algunos ejemplos, la muestra puede calentarse a aproximadamente 56°C durante aproximadamente 1 minuto. Después de una cantidad de tiempo asignada, el calentador 6330 calienta el líquido a alta temperatura para desactivar las enzimas de lisis así como cualquier otra enzima presente. En algunos ejemplos, la muestra puede calentarse a aproximadamente 95°C durante aproximadamente 3 minutos. El líquido se retiene entonces en la cámara de inactivación 6311 hasta que el módulo de accionamiento fluido 6400 lo desplaza.

Módulo de mezclado

Tal como se ilustra (esquemáticamente) en las figuras 9, 38, y 39, el módulo de mezclado (también denominado sencillamente cámara de mezclado) 6500 mezcla la salida del módulo de inactivación 6300 con los reactivos (por ejemplo, R1 y R2) para realizar una reacción de PCR exitosa. Dicho de manera similar, el módulo de mezclado 6500 está configurado para reconstituir los dos reactivos R1 y R2 en un volumen de entrada dado, asegurando a la vez incluso concentraciones locales de reactivos en todo el volumen. En algunos ejemplos, el módulo de la cámara de mezclado 6500 está configurado para producir y/o llevar un volumen suficiente de líquido al módulo de amplificación 6600 para proporcionar un volumen de salida suficiente al módulo de detección 6800.

El módulo de mezclado 6500 incluye un primer alojamiento 6520, un segundo alojamiento (o cubierta) 6570, y una perla de reactivo liofilizado que contiene dos reactivos (identificados como reactivos R1 y R2). El módulo de mezclado 6500 también incluye la tubería, interconexiones y otros componentes para acoplar el módulo de mezclado 6500 a la cámara de inactivación 6300, el módulo de accionamiento de fluido 6400, y el montaje de válvula giratoria 6340. El primer alojamiento 6520 define un depósito de mezclado 6530, un orificio de entrada 6540, un orificio de salida 6550 y un orificio de ventilación 6556. El primer alojamiento 6520 también define una abertura 6523 dentro de la cual el perno de unión 6522 puede disponerse para acoplar el primer alojamiento 6520 al segundo alojamiento 6570.

El orificio de entrada (o llenado) 6540 se acopla fluidicamente al orificio de salida 6313 del módulo de inactivación 6300, y está configurado para recibir un flujo desde el módulo de inactivación 6300 tal como se muestra por la flecha JJ en la figura 38. El orificio de salida 6550 se acopla fluidicamente al módulo de transferencia de fluido 6400, y está configurado para producir un flujo hacia el módulo de accionamiento fluido 6400 (y hacia el módulo de amplificación 6600), tal como se muestra por la flecha KK en la figura 38. El orificio de entrada 6540 y el orificio de salida 6550 pueden incluir cualquier dispositivo de control de flujo adecuado, tal como válvulas de retención, válvulas de pico de pato, o similares para controlar el flujo hacia dentro y/o hacia fuera del depósito de mezclado 6530. Aunque el módulo de mezclado 6500 se muestra como dispuesto aguas arriba del módulo de transferencia de fluido 6400, en otros ejemplos, el módulo de mezclado 6500 puede disponerse entre el módulo de transferencia

de fluido 6400 y el módulo de amplificación 6500 (es decir, el módulo de mezclado 6500 puede estar aguas abajo del módulo de transferencia de fluido 6400).

El segundo alojamiento 6570 define una parte del depósito de mezclado 6530, y se acopla al primer alojamiento 6520 por el perno 6522 y cualquier otro mecanismo de sellado (tal como el laminado 6524). De este modo, el primer alojamiento 6520 y el segundo alojamiento 6570 en conjunto definen el depósito de mezclado 6530 que tiene la geometría deseada para fomentar el mezclado fluidico, tal como se describe en el presente documento. Específicamente, el depósito de mezclado 6530 y/u otras partes del módulo de mezclado 6500 están configurados para incrementar el efecto de difusión del líquido incrementando el área de contacto total entre segmentos de líquido con áreas de concentraciones locales bajas y altas de reactivos. Esto se logra permitiendo que la parte inicial de líquido entre en la cámara para entrar en contacto con la parte posterior de las otras partes de líquido y/o estructura, y manteniendo entonces el líquido en el depósito de mezclado 6530 durante un tiempo suficiente para la difusión igualar la concentración. En algunos ejemplos, el primer alojamiento 6520 y/o el segundo alojamiento 6570 pueden incluir una o más estructuras de flujo, álabes o similares (no mostradas) configurados para influir, impactar y/o cambiar el flujo de fluido dentro del depósito de mezclado 6520. Tales estructuras de flujo producen áreas de recirculación, áreas de flujo turbulento, y similares.

Aunque el módulo de mezclado 6500 se muestra como un módulo pasivo (es decir, que depende únicamente del flujo de fluido para conseguir el mezclado y difusión deseados), en otros ejemplos, un módulo de mezclado puede incluir un enfoque de mezclado activo. Por ejemplo, en algunos ejemplos, el módulo de mezclado puede incluir una varilla de agitación o mezclador vibratorio.

En uso, cuando el fluido fluye de la cámara de inactivación 6300 (como resultado del accionamiento del módulo de transferencia de fluidos 6400), la parte inicial (o primera parte) del líquido extraída hacia el depósito de mezclado 6530 reconstituye las perlas liofilizadas R1, R2 en el volumen total del depósito de mezclado 6530. En algunos ejemplos, el depósito de mezclado puede incluir estructuras que limiten el flujo de fluido fuera del depósito de mezclado 6530 durante un periodo de tiempo hasta que esté completamente lleno. De esta manera, la concentración total puede conseguirse y/o mantenerse antes de que la muestra se lleve al módulo de amplificación 6600. Las características estructurales del depósito de mezclado 6530, combinadas con la detención/inicio controlado de flujo del módulo de transferencia del líquido 6400 permiten que se consigan las concentraciones locales correctas antes de que el líquido fluya fuera de la cámara de mezclado hacia el módulo de amplificación 6600.

Los reactivos R1 y R2 son cada uno gránulos liofilizados que tienen una forma sustancialmente semiesférica, y se disponen juntos en la parte esférica del depósito de mezclado 6530. Esta disposición permite que los dos gránulos se hidraten juntos y/o de manera sustancialmente simultánea cuando el flujo de solución de la cámara de inactivación 6300 se reciba dentro del depósito de mezclado 6530. Dicho de manera similar, los dos gránulos liofilizados se forman para encajar de manera acoplada dentro del depósito de mezclado 6530. En otros ejemplos, sin embargo, los dos gránulos liofilizados pueden formarse esféricamente, y pueden colocarse dentro del depósito de mezclado 6530.

El módulo de mezclado 6500 es también un lugar de almacenamiento para las dos perlas liofilizadas R1, R2, las cuales, una vez reconstituidas y mezcladas, forman una mezcla maestra para la etapa de amplificación posterior. Los reactivos R1 y R2 pueden ser cualquier reactivo de PCR adecuado, tal como cebadores, nucleótidos (por ejemplo, dNTP) y ADN polimerasa. En algunos ejemplos, el reactivo R1 y/o el reactivo R2 pueden incluir ADN polimerasa KAPA2G rápida, la cual incluye una función de inicio en caliente. Esta disposición permite el termociclado muy rápido y muy poca formación de dímero cebador. En algunos ejemplos, el reactivo R1 y/o el reactivo R2 pueden incluir los cebadores de PCR diseñados para hacer diana en *Chlamydia trachomatis* (CT), *Neisseria gonorrhoea* (NG) y *Trichomonas vaginalis* (TV). Además, el reactivo R1 y/o el reactivo R2 pueden incluir un conjunto de cebadores para un organismo gramnegativo no diana (*Aliivibrio fischeri*) para actuar como un organismo de control positivo. Todos los cebadores se diseñan con valores de Tm de aproximadamente 60°C. De esta manera, la reacción de PCR realizada por el dispositivo es una reacción múltiple que contiene los cuatro conjuntos de cebadores. Específicamente, en algunos ejemplos, el conjunto de cebadores *C. trachomatis* hace diana del plásmido endógeno de 7,5 kpb y produce un amplicón de 101 pb. En algunos ejemplos, el conjunto de cebadores para *N. gonorrhoeae* hace diana en el gen opa y produce un amplicón de 70 pb. En algunos ejemplos, el conjunto de cebadores para *T. vaginalis* hace diana en un fragmento de ADN repetitivo en el genoma y produce un amplicón de 65 pb. En algunos ejemplos, el conjunto de cebadores para *A. fischeri* hace diana en el locus hvnC y produce un amplicón de 107 pb.

En algunos ejemplos, el reactivo R1 puede contener los cebadores y pares de bases brutos para la reacción, y el reactivo R2 puede incluir las enzimas necesarias para la amplificación por PCR. Además, puesto que el dispositivo 6000 puede estar configurado para un solo uso en el marco de un punto de atención, los reactivos R1 y R2 pueden estar formulados para y/o empaquetarse dentro del módulo de mezclado 6500 para mejorar el almacenamiento a largo plazo. En consecuencia, en algunos ejemplos, los reactivos R1 y R2 y/o el dispositivo 6000 pueden estar configurados para tener una duración de conservación de hasta aproximadamente 36 meses, de hasta aproximadamente 32 meses, de hasta aproximadamente 26 meses, de hasta aproximadamente 24 meses, de

hasta aproximadamente 20 meses, de hasta aproximadamente 18 meses, o cualquier valor entre ellos.

Por ejemplo, separando los dos constituyentes principales de la solución de mezcla maestra (los cebadores y las enzimas) puede lograrse una duración de conservación y estabilidad de los reactivos alta. En otros ejemplos, sin embargo, el módulo de mezclado 6500 puede incluir cualquier número de gránulos o perlas liofilizadas, conteniendo cada uno cualquier reactivo adecuado para la reacción de PCR. Adicionalmente, el primer alojamiento define el orificio de ventilación 6556, el cual se acopla fluidicamente a un área desecada del dispositivo, y que se acopla a la línea de ventilación 6356 del montaje de válvula giratoria 6340. De esta manera, la humedad puede llevarse lejos de los reactivos R1, R2 durante el almacenamiento y envío. Específicamente, tal como se describe con mayor detalle más adelante, cuando el montaje de válvula giratoria 6340 está en la condición de "envío", el orificio de ventilación 6556 está abierto a la atmósfera, y el secante está en línea entre el orificio de ventilación 6556 y el montaje de válvula 6340. Durante el uso, el montaje de válvula 6340 cierra el orificio de ventilación 6556 para asegurar el flujo de fluido y mezclado apropiado, tal como se describió anteriormente.

15 **Módulo de accionamiento fluidico**

Las figuras 40-42 muestran el módulo de accionamiento fluidico 6400 (también denominado módulo de transferencia de fluido 6400). El módulo de transferencia de fluido 6400 puede ser cualquier módulo adecuado para manipular la muestra dentro del dispositivo 6000. Dicho de manera similar, el módulo de transferencia de fluido 6400 está configurado para generar presión de fluido, flujo de fluido y/o llevar de otro modo la muestra de entrada S1, y todo el reactivo a través de los diferentes módulos del dispositivo 6000. Tal como se describe más adelante, el módulo de transferencia de fluido 6400 está configurado para entrar en contacto y/o recibir el flujo de muestra en él. De este modo, en algunos ejemplos, el dispositivo 6000 está configurado específicamente para un solo uso para eliminar la probabilidad de contaminación del módulo de transferencia de fluido 6400 y/o de que el módulo de preparación de muestra 6200 quede contaminado de ensayos previos, impactando por lo tanto de manera negativa la exactitud de los resultados.

Tal como se describe en el presente documento, el módulo de transferencia de fluido 6400 está configurado para aspirar y dispensar a velocidades constantes con exactitud y precisión extremadamente altas, en un formato pequeño, ligero, construido de manera sencilla y fabricado de manera barata. Además, el módulo de transferencia de fluido 6400 está diseñado para desecharse después de un solo uso, y permite que todos los componentes se dispongan en flujos de residuos comunes por todo el mundo sin la necesidad de desmontar y eliminar componentes específicos para el tratamiento especial después del uso. El diseño básico emplea una serie de bombas de pistón individuales, cada una con un montaje de émbolo y barril, accionado por un accionador común compuesto de un armazón, motor y tornillo de avance, para desplazar fluidos hacia diferentes módulos dentro del cartucho de prueba de diagnóstico. Cada carrera, ya sea de aspiración o dispensación, combinada con el posicionamiento dirigido de elementos de válvula pasivos, tal como válvulas de retención de los tipos de charnela, de sombrilla o de pico de pato, desplaza fluido de modo que ningún movimiento del accionador se desaproveche.

Ventilando selectivamente trayectorias de fluido específicas se logra el control total sobre todo el movimiento del fluido durante carreras de potencia. Las ventajas ofrecidas por el uso de múltiples pistones incluyen la capacidad de tratar una amplia gama de volúmenes de fluido, el uso de una sola longitud de carrera para llevar una amplia gama de volúmenes de fluido, el uso de un solo accionador para accionar múltiples pistones, la capacidad de proporcionar flujo mediante múltiples trayectorias de fluido simultáneamente, una reducción en las válvulas entre trayectorias de fluido, la capacidad de producir gradientes de presión diferencial y sintonizable complejos dentro de un solo circuito de fluido (por ejemplo, colocando múltiples pistones en comunicación fluida con cada circuito).

Tal como se ilustra en la figura 14, el módulo de transferencia de fluido 6400 se dispone dentro del alojamiento 6030 y está configurado para manipular la muestra y cualquiera de los reactivos descritos en el presente documento para llevar, mezclar y transferir de otra forma los fluidos dentro del dispositivo 6000, tal como se describe en el presente documento. Haciendo referencia a la figura 40, el módulo de transferencia de fluido 6400 incluye un alojamiento 6405 que incluye una primera parte de barril 6410 y una segunda parte de barril 6440. El módulo de transferencia de fluido 6400 también incluye un solo motor de accionamiento 6910 y un tornillo de avance 6480 que está configurado para accionar ambas partes del barril. El módulo de transferencia de fluido 6400 también incluye varios conductos fluidicos (por ejemplo, tubos, líneas, válvulas, etc.) que conectan el módulo de transferencia de fluido 6400 al módulo de mezclado 6500, al módulo de amplificación 6600, al módulo de detección 6800 y cualquier otro componente dentro del dispositivo 6000.

El alojamiento 6405 sirve como el armazón total para el módulo de transferencia de fluido 6400 para anclar todos los componentes en él al alojamiento 6030. El diseño del alojamiento 6405 (o armazón) es en forma de "U", e incluye la primera parte de barril 6410 que se dispone separada de la segunda parte de barril 6440, con el motor de accionamiento 6910 localizado entre ellas. El alojamiento 6405 incluye una parte de montaje 6406 en el centro de la forma de "U" que incluye alojamientos para alojar un montaje de cojinete (no mostrado) y un conjunto de orificios de montaje para el montaje del motor de accionamiento 6910. La parte de montaje 6406 también define una abertura que proporciona paso para el tornillo de avance 6480. El alojamiento 6405 puede construirse de material que ofrezca flexibilidad y adaptabilidad siendo a la vez capaz de mantener tolerancias ajustadas y

mantener la rigidez. Además, debido a que el alojamiento 6405 define al menos un orificio (por ejemplo, el canal 6441 dentro del cual la muestra está contenida durante la transferencia), el alojamiento 6405 también se construye a partir de un material biocompatible. Por ejemplo, en algunos ejemplos, el alojamiento 6405 puede construirse a partir de policarbonato, copolímero de olefina cíclica (COC), o ciertos grados de polipropileno.

La primera parte de barril 6410 (también denominada primer montaje de barril) incluye una primera parte de extremo 6413 y una segunda parte de extremo 6414 y define un canal 6411 (u orificio) en ella. El orificio 6411 tiene una longitud definida y una superficie interna de diámetro definido, y de este modo puede definir un “volumen de barrido” para el control del flujo de la muestra y/o reactivos. La segunda parte de extremo 6414 del orificio 6411 tiene una parte de diámetro reducido, y está en comunicación fluida con el orificio de entrada 6420 y el orificio de salida 6430. El extremo opuesto del orificio 6411 recibe la parte de sellado 6417 del primer émbolo de pistón 6415. Cuando el primer émbolo de pistón 6415 se inserta en el cilindro, se forma una cámara interna de volumen variable la cual sigue la fórmula:

$$V(z) = \pi r^2 z$$

donde z es la distancia lineal recorrida por el primer émbolo de pistón 6415 y r es el radio del orificio 6411.

La segunda parte de extremo 6414 de la primera parte de barril 6410 incluye el orificio de entrada 6420 y el orificio de salida 6430. El orificio de entrada 6420 incluye un primer accesorio 6422, una válvula 6424, y sellos o juntas tóricas. El orificio de entrada 6420 está configurado para recibir flujo de fluido hacia el orificio 6411 (por ejemplo, del módulo de mezclado 6500), tal como se muestra por la flecha LL en la figura 40. La válvula 6424 puede ser cualquier válvula adecuada (por ejemplo, válvula de pico de pato, válvula de retención o similares) que permite el flujo de entrada cuando el primer émbolo de pistón 6415 se desplace fuera del orificio 6411 (un ciclo de presión negativa, tal como se muestra en la figura 40), pero que evite el flujo de fluido hacia fuera cuando el primer émbolo de pistón 6415 se desplace hacia el orificio 6411 (un ciclo de presión positiva). El orificio de salida 6430 incluye un accesorio 6432, una válvula 6434, y sellos o juntas tóricas. El orificio de salida 6430 está configurado para llevar flujo de fluido hacia fuera del orificio 6411 (por ejemplo, hacia el módulo de amplificación 6600), tal como se muestra por la flecha MM en la figura 40 (véase también la flecha CC en la figura 9, que muestra el flujo hacia el módulo de amplificación 6600). La válvula 6434 puede ser cualquier válvula adecuada (por ejemplo, válvula de pico de pato, válvula de retención o similares) que evite cualquier flujo de entrada (o inverso) cuando el primer émbolo de pistón 6415 se desplace fuera del orificio 6411 (un ciclo de presión negativa, tal como se muestra en la figura 40), pero que permite flujo de fluido hacia fuera cuando el primer émbolo de pistón 6415 se desplace hacia el orificio 6411 (un ciclo de presión positiva).

Aunque el orificio de entrada y el orificio de salida se muestran como dos orificios separados, en otros ejemplos, el primer montaje de barril 6410 puede estar equipado con un módulo de control de flujo integrado. Ya sea como orificios separados (tal como se muestra) o como una unidad integrada, el control de flujo (por ejemplo, el orificio de entrada 6420 y el orificio de salida 6430) están configurados para dirigir y/o controlar la dirección de flujo de fluido durante un ciclo de presión negativa o positiva. Una función secundaria del orificio de entrada 6420 y el orificio de salida 6430 es limitar el volumen muerto reduciendo el aire capturado. Cuando la presión de aire se incrementa o disminuye sobre el lado de un elemento de válvula en relación con el lado opuesto, se hace que el fluido pase a través del elemento o permanezca en un lado específico del elemento. Dependiendo de la orientación del elemento de válvula y su posición en el orificio de entrada 6420 o el orificio de salida 6430, puede actuar como una válvula de flujo de detención durante una carrera de presión o pasar a través del orificio.

La primera parte de barril 6410 incluye el primer émbolo de pistón 6415 que se dispone de manera móvil dentro del orificio 6411. El primer émbolo de pistón 6415 tiene una forma cilíndrica larga, e incluye una primera parte de extremo (o “cabeza”) 6416, una parte central (o “eje”), y la segunda parte de extremo (o “punta de sellado”) 6417. La estructura básica del cuerpo puede estar hecha de cualquier material formable con la rigidez apropiada tal como plásticos o metales. La primera parte de extremo 6416 se acopla a la placa de accionamiento 6472 la cual a su vez se une a y/o se acciona por el tornillo de avance 6480. En algunos ejemplos, la primera parte de extremo 6416 tiene un diámetro más grande que el del eje y la segunda parte de extremo 6417. El eje es más pequeño en diámetro que la punta de sellado y es más pequeño en dimensión que el diámetro interno del orificio 6411, para permitir el pasaje sin restricciones. El ajuste del diámetro del eje al barril del pistón es un parámetro importante para guiar apropiadamente el montaje de émbolo durante la operación. La punta de sellado 6417 se localiza opuesta a la cabeza 6416, y es responsable de atravesar uniformemente el diámetro interno ligeramente forzado del orificio 6411 manteniendo a la vez un sello capaz de resistir ambas condiciones de presión negativa y positiva a través de su carrera completa. La punta de sellado 6417 incluye un material elastomérico y tiene una o más superficies que entran en contacto con el diámetro interno del orificio 6411 para formar el sello. La forma de la punta de sellado 6417 está diseñada para acoplarse con las superficies internas del primer montaje de barril 6410 para proporcionar un volumen muerto mínimo al final de la carrera.

La segunda parte de barril 6440 (también denominado segundo montaje de barril) incluye una primera parte de extremo 6443 y una segunda parte de extremo 6444 y define un canal 6441 (u orificio) en ella. El orificio 6441 tiene

una longitud definida y una superficie interna de diámetro definido y de este modo puede definir un “volumen de arrastre” para controlar el flujo de aire, muestra y/o reactivos. La segunda parte de extremo 6444 del orificio 6441 tiene una parte de diámetro reducido, y está en comunicación fluida con el orificio de flujo 6450. El extremo opuesto del orificio 6441 recibe la parte de sellado 6447 del segundo émbolo de pistón 6445. Cuando el segundo émbolo de pistón 6445 se inserta en el orificio 6441, se forma una cámara interna de volumen variable la cual sigue la fórmula:

$$V(z) = \pi r^2 z$$

donde z es la distancia lineal recorrida por el segundo émbolo de pistón 6445 y r es el radio del orificio 6441.

La segunda parte de extremo 6444 de la segunda parte de barril 6440 incluye el orificio de flujo 6450. El orificio de flujo 6450 incluye un accesorio 6452 y sellos o juntas tóricas, y está configurado para recibir flujo de fluido hacia y llevar el flujo de fluido fuera del orificio 6441 (por ejemplo, produciendo un vacío dentro del módulo de detección 6800). En algunos ejemplos, el orificio de flujo 6450 puede incluir cualquier válvula adecuada (por ejemplo, válvula de pico de pato, válvula de retención o similar) que controla el flujo de entrada cuando el segundo émbolo de pistón 6445 se desplaza fuera del orificio 6441 (un ciclo de presión negativa, tal como se muestra en la figura 40), y el flujo de fluido de salida fuera cuando el segundo émbolo de pistón 6445 se desplaza hacia el orificio 6441 (un ciclo de presión positiva).

Adicionalmente, el flujo de entrada puede estar controlado por la línea de ventilación 6355, la cual puede colocarse selectivamente en comunicación fluida con la atmósfera mediante el montaje de válvula giratorio 6340, tal como se describe más adelante. En particular, la ventilación 6355 puede abrirse permitiendo por lo tanto que cualquier aire o fluido dentro del orificio 6441 se expulse hacia la atmósfera durante un ciclo de presión positiva, en lugar de fluir a través del módulo de detección 6800. La ventilación 6355 puede cerrarse durante el ciclo de presión negativa para extraer un vacío a través del módulo de detección 6800, tal como se muestra por la flecha DD en la figura 9.

La segunda parte de barril 6440 incluye el segundo émbolo de pistón 6445 que se dispone de manera móvil dentro del orificio 6441. El segundo émbolo de pistón 6445 tiene una forma cilíndrica larga, e incluye una primera parte de extremo (o “cabeza”) 6446, una parte central (o “eje”), y la segunda parte de extremo (o “punta de sellado”) 6447. La estructura básica del cuerpo puede estar hecha de cualquier material formable con la rigidez apropiada tal como plásticos o metales. La primera parte de extremo 6446 se acopla a la placa de accionamiento 6472 la cual a su vez está unida a y/o se acciona por el tornillo de avance 6480. En algunos ejemplos, la primera parte de extremo 6446 tiene un diámetro más grande que el del eje y la segunda parte de extremo 6447. El eje es más pequeño en diámetro que la punta de sellado y es más pequeño en dimensión que el diámetro interno del orificio 6441, para permitir el pasaje sin restricción. El ajuste del diámetro del eje al barril del pistón es un parámetro importante para la guía apropiada del montaje de émbolo durante la operación. La punta de sellado 6447 está ubicada opuesta a la cabeza 6446, y es responsable de atravesar uniformemente el diámetro interno ligeramente forzado del orificio 6441 manteniendo a la vez un sello capaz de resistir ambas condiciones de presión negativa y positiva a través de su carrera completa. La punta de sellado 6447 incluye un material elastomérico y tiene una o más superficies que entran en contacto con el diámetro interno del orificio 6441 para formar el sello. La forma de la punta de sellado 6447 está diseñada para acoplarse con la superficie interna del primer montaje de barril 6440 para proporcionar un volumen muerto mínimo al final de la carrera.

La placa de accionamiento 6472 enlaza el tornillo de avance 6480 al primer émbolo de pistón 6415 y el segundo émbolo de pistón 6445. En algunos ejemplos, la placa de accionamiento 6572 puede incluir un orificio roscado o tuerca de accionamiento cautiva (no mostrada) en acoplamiento con el tornillo de avance 6480. De esta manera, el orificio roscado o tuerca de accionamiento cautiva puede convertir el movimiento rotacional del tornillo de avance 6480 en movimiento lineal. La placa de accionamiento 6472 y cualquier parte roscada o tuerca de accionamiento en ella puede estar construida de materiales y/o fabricada a una tolerancia de tal manera que minimicen la fricción y unión durante su tránsito. En algunos ejemplos, una tuerca de accionamiento cautiva (no mostrada) puede estar configurada para algún movimiento rotacional (o no axial) para superar la tendencia a la unión bajo fuerzas asimétricas derivadas de la carga no uniforme de los dos pistones durante la operación.

El tornillo de avance 6480 suministra el empuje requerido para trasladar la placa de accionamiento 6472 y desplazar el primer émbolo de pistón 6415 y el segundo émbolo de pistón 6445. El tornillo de avance se asegura a, o parte de, el motor 6910. En algunos ejemplos, el extremo distal del tornillo de avance 6480 puede incluir un elemento de acoplamiento concéntrico al eje longitudinal del tornillo y diseñado para proporcionar restricción en ambas direcciones axial y radial. Un elemento de acoplamiento de este tipo sobre el tornillo de avance puede funcionar de manera conjunta con un montaje de cojinete (no mostrado). Puede usarse una variedad de materiales para hacer el tornillo de avance, incluyendo plásticos y plásticos con materiales de relleno para alterar las propiedades de cojinete así como varios metales. La separación de rosca es predeterminada y ajusta las velocidades de flujo de fluido del módulo de transferencia de fluido 6400.

En algunos ejemplos, el módulo de transferencia de fluido 6400 lleva el fluido a través del dispositivo 6000 según

un protocolo establecido que incluye múltiples partes. Cuando se inicia, la primera parte del protocolo (el “método de mezclado”) señala al motor 6910 para desplazarse en una primera dirección que hace que el primer montaje de barril 6410 desarrolle presión negativa en el orificio de entrada 6420 extrayendo por lo tanto fluido de la cámara de inactivación 6300, la cual está a presión atmosférica, y hacia el módulo de mezclado 6500. La velocidad de flujo y/o tiempo de espera de la muestra dentro del módulo de mezclado 6500 puede controlarse modificando la velocidad rotacional del motor 6910 y/o incluyendo periodos de espera durante el movimiento del motor 6910. De esta manera, pueden establecerse o mantenerse las características de flujo de fluido deseadas dentro del módulo de mezclado 6500 para asegurar el mezclado deseado. El método de mezclado incluye el movimiento continuo del motor 6910 en la primera dirección extrayendo por lo tanto fluido del módulo de mezclado 6500, a través del orificio de entrada 6420, y hacia el orificio 6411 del primer montaje de barril 6410. El transporte de fluido continúa hacia el orificio 6411 hasta que se ha llenado según lo establecido. Una vez lleno, el módulo de control 6950 señala al motor 6910 que invierta la dirección rotacional, produciendo el desarrollo de presión positiva dentro del orificio 6411 (el “método de distribución de fluido”). La presión positiva actúa sobre la válvula 6424, cerrando de manera eficaz el orificio de entrada 6420. A medida que se acumula presión positiva, el flujo fluye a través del orificio de salida 6430, a través de la tubería y entonces hacia el módulo de amplificación 6600. Esto se muestra esquemáticamente por la flecha CC en la figura 9. El movimiento continuo del motor 6910 en la segunda dirección empuja la muestra a través del módulo de amplificación 6600 a la velocidad de flujo deseada, y hacia el módulo de detección 6800. Durante esta primera parte del protocolo (es decir, el método de mezclado y el método de distribución de fluido), el orificio 6441 dentro del segundo montaje de barril 6440 se mantiene a presión atmosférica mediante la línea de ventilación 6355, la cual se controla a través de una serie de acciones de ventilación iniciadas por el módulo de control 6950 y realizadas por la válvula de ventilación giratoria 6340.

La segunda parte del protocolo de transferencia de fluido (el “método de detección”) se inicia por un avance de la válvula de ventilación giratoria 6340, la cual intercambia de manera eficaz el control sobre los movimientos de fluido del primer montaje de barril 6410 al segundo montaje de barril 6440. El protocolo del “método de detección” invierte la dirección del motor por segunda vez (es decir, el motor 6910 comienza a girar en la primera dirección). Esto hace que la placa de accionamiento 6472 y, de este modo, el segundo émbolo de pistón 6445, se retiren haciendo que se desarrolle una presión negativa dentro de la cámara del segundo montaje de barril 6440 (debido a que la línea de ventilación 6355 está cerrada). La caída de presión creada entre el módulo de detección 6800 y el orificio 6441 da como resultado una presión mayor sobre el lado de entrada del módulo de detección 6800, entonces sobre el lado de salida del módulo de detección 6800 creando una dirección preferida de flujo hacia el orificio 6441 del segundo montaje de barril 6440. Esto se muestra esquemáticamente por la flecha DD en la figura 9. Después de que la muestra se ha llevado del módulo de amplificación 6600 a través del módulo de detección 6800, puede usarse la retirada continua del segundo émbolo de pistón 6445, en conjunto con el montaje de válvula 6340, para hacer fluir de manera secuencial los reactivos de detección a través del módulo de detección 6800. La operación del montaje de válvula 6340 se describe más adelante.

El motor 6910 puede ser cualquier motor de dirección variable adecuado para proporcionar energía al módulo de transferencia de fluido 6400 con el par motor adecuado para accionar el tornillo de avance 6480. La separación del tornillo de avance 6480 también se determina para proporcionar la exactitud y velocidades de flujo deseadas. Existe una multitud de factores y parámetros que requieren consideración y control para mantener una carga equilibrada durante los ciclos de extensión y compresión, y para mantener la precisión y exactitud deseadas. Una carga equilibrada alrededor del tren de accionamiento presenta un desafío significativo para un sistema de múltiples pistones con un solo motor de accionamiento (por ejemplo, el motor 6910) puesto que existe una carga variable continuamente debido a la presión (positiva o negativa) de cabeza cambiante a medida que el fluido fluye a través de los elementos de los circuitos. Para lograr un equilibrio en la carga, debe controlarse la compresión en las puntas de sellado dentro de los barriles de pistón, junto con la cantidad de área superficial en contacto con el barril debido a la compresión. Adicionalmente, debe considerarse la cantidad de forzado o ahogado en la fabricación de los barriles de pistón, puesto que los sellos de diámetro pequeño y grande tienen un comportamiento diferente bajo las condiciones de compresión creciente y decreciente. No considerar el problema del equilibrio de carga da como resultado un perfil de velocidad de fluido no uniforme el cual dará como resultado de manera interna ineficiencias durante la amplificación e inconsistencias durante la detección.

El dimensionamiento del componente para el control de la velocidad de flujo y volumen de la cámara en un sistema de módulo de transferencia de fluido de doble pistón se muestra en las tablas 1-5 más adelante. Del cálculo en las tablas, se determinan las especificaciones para un motor y los requisitos de control para el motor 6910. Por ejemplo, en algunos ejemplos, debe considerarse que el primer montaje de barril 6410 (también denominado “pistón de amplificación” en la tabla 1 más adelante) tiene el requisito de proporcionar fluido a una velocidad de entre 0,3 $\mu\text{L}/\text{seg}$ y 0,5 $\mu\text{L}/\text{seg}$. Dado el diámetro nominal de 4,65 mm para el primer orificio 6411, una primera carrera completa de 60 mm, y una separación del tornillo de avance de 0,5 mm/rev, se requiere que el motor 6910 funcione con suficiente par motor entre aproximadamente 2,12 rpm y aproximadamente 6,53 rpm. El segundo montaje de barril 6440 (también denominado “pistón de detección” en la tabla 1 más adelante) tiene el requisito de proporcionar fluido a una velocidad de entre 15 $\mu\text{L}/\text{seg}$ y 60 $\mu\text{L}/\text{seg}$. Dado el diámetro nominal de 8,5 mm para el segundo orificio 6441, una carrera completa de 60 mm, y una separación del tornillo de avance de 0,5 mm/rev, se requiere que el motor 6910 funcione con suficiente par motor entre aproximadamente 61,7 rpm y aproximadamente 63,44 rpm. El intervalo total de velocidades para que un motor 6910 cumpla los requisitos especificados es por lo tanto de desde

aproximadamente 2 rpm hasta aproximadamente 64 rpm, con suficiente par motor para superar tanto la contrapresión del fluido como el arrastre debido a los sellos del pistón.

TABLA 1

5

Pistón de amplificación 1			Pistón de detección 2		
0,3	velocidad de flujo (mín)	uL/seg	15	velocidad de flujo (mín)	uL/seg
0,5	velocidad de flujo (máx)	uL/seg	30	velocidad de flujo (máx)	uL/seg
4,65	diámetro de barril	mm	8,5	diámetro de barril	mm
30	carrera del pistón	mm	30	carrera del pistón	mm
0,5	separación del tornillo de avance	mm/rev	0,5	separación del tornillo de avance	mm/rev
60	Rev/Carrera Total		60	Rev/Carrera Total	
Vol/Carrera	509,47	uL	Vol/Carrera	1702,35	uL
Vol/Rev	8,49	uL	Vol/Rev	28,37	uL
velocidad de flujo (mín)	0,04	rev/seg	velocidad de flujo (mín)	0,53	rev/seg
velocidad de flujo (mín)	2,12	rev/min	velocidad de flujo (mín)	31,72	rev/min
velocidad de flujo (máx)	0,06	rev/seg	Velocidad de flujo (máx)	1,06	rev/seg
velocidad de flujo (máx)	3,53	rev/min	Velocidad de flujo (máx)	63,44	rev/min

La cantidad de par motor que es suficiente para lograr las velocidades de flujo requeridas pueden determinarse a través de una evaluación de datos tabulados durante mediciones repetidas de la fuerza lineal necesaria para comprimir y extender el primer émbolo de pistón 6415 y el segundo émbolo de pistón 6445, tal como se indica a continuación en las tablas 2-4.

TABLA 2

15

Compresión del pistón 1 (individual)			Extensión del pistón 1 (individual)		
# Medida	Fisura (N)	Accionamiento (N)	# Medida	Fisura (N)	Accionamiento (N)
1	0,40 (0,09 lbF)	0,18 (0,04 lbF)	1	0,85 (0,19 lbF)	0,27 (0,06 lbF)
2	0,62 (0,14 lbF)	0,22 (0,05 lbF)	2	0,44 (0,01 lbF)	0,31 (0,07 lbF)
3	0,85 (0,19 lbF)	0,09 (0,02 lbF)	3	0,31 (0,07 lbF)	0,36 (0,08 lbF)
4	0,31 (0,07 lbF)	0,09 (0,02 lbF)	4	0,44 (0,1 lbF)	0,31 (0,07 lbF)
5	0,36 (0,06 lbF)	0,13 (0,03 lbF)	5	0,58 (0,13 lbF)	0,22 (0,05 lbF)
6	0,40 (0,09 lbF)	0,18 (0,04 lbF)	6	0,40 (0,09 lbF)	0,18 (0,04 lbF)
Promedio	0,49 (0,11 lbF)	0,13 (0,03 lbF)	Promedio	0,49 (0,11 lbF)	0,27 (0,06 lbF)

TABLA 3

Compresión del pistón 2 (individual)			Extensión del pistón 2 (individual)		
# Medida	Fisura (N)	Accionamiento (N)	# Medida	Fisura (N)	Accionamiento (N)
1	1,51 (0,34 lbF)	0,49 (0,11 lbF)	1	0,93 (0,21 lbF)	0,62 (0,14 lbF)
2	1,78 (0,4 lbF)	0,40 (0,09 lbF)	2	0,67 (0,15 lbF)	0,58 (0,13 lbF)
3	2,14 (0,48 lbF)	0,18 (0,04 lbF)	3	0,85 (0,19 lbF)	0,67 (0,15 lbF)

Compresión del pistón 2 (individual)			Extensión del pistón 2 (individual)		
# Medida	Fisura (N)	Accionamiento (N)	# Medida	Fisura (N)	Accionamiento (N)
4	1,47 (0,33 lbF)	0,22 (0,05 lbF)	4	0,85 (0,19 lbF)	0,18 (0,04 lbF)
5	1,42 (0,32 lbF)	0,71 (0,16 lbF)	5	1,02 (0,23 lbF)	0,49 (0,11 lbF)
6	1,51 (0,34 lbF)	0,49 (0,11 lbF)	6	0,76 (0,17 lbF)	0,62 (0,14 lbF)
Promedio	1,65 (0,37 lbF)	0,40 (0,09 lbF)	Promedio	0,85 (0,19 lbF)	0,53 (0,12 lbF)

TABLA 4

Compresión del pistón doble			Extensión del pistón doble		
# Medida	Fisura (N)	Accionamiento (N)	# Medida	Fisura (N)	Accionamiento (N)
1	2,40 (0,54 lbF)	1,69 (0,38 lbF)	1	2,05 (0,46 lbF)	0,53 (0,12 lbF)
2	2,14 (0,48 lbF)	1,96 (0,44 lbF)	2	1,07 (0,24 lbF)	0,62 (0,14 lbF)
3	1,20 (0,27 lbF)	2,05 (0,46 lbF)	3	1,25 (0,28 lbF)	0,85 (0,19 lbF)
4	1,42 (0,32 lbF)	2,18 (0,49 lbF)	4	0,89 (0,2 lbF)	0,98 (0,22 lbF)
5	1,56 (0,35 lbF)	2,27 (0,51 lbF)	5	1,33 (0,3 lbF)	0,44 (0,1 lbF)
6	1,73 (0,39 lbF)	1,65 (0,37 lbF)	6	1,38 (0,31 lbF)	0,62 (0,14 lbF)
Promedio	1,73 (0,39 lbF)	1,96 (0,44 lbF)	Promedio	1,33 (0,30 lbF)	0,67 (0,15 lbF)

- 5 El par motor requerido para lograr una fuerza de accionamiento lineal específica en el tornillo de avance 6480 acoplado al sistema está en función de parámetros que incluyen la separación del tornillo de avance y eficiencia del tornillo de avance. La eficiencia del tornillo de avance es en sí una función de muchos factores incluyendo la velocidad de rotación y selección del material tanto para la parte roscada como para la placa de accionamiento 6472 (y cualquier tuerca de accionamiento en ella) y el tornillo de avance 6480. El par motor requerido puede representarse usando la fórmula:

$$\tau(F) = F(p/2\pi\eta)$$

- 15 En la fórmula, $\tau(P)$ es la torsión como función de la fuerza, F es la fuerza medida, p es la separación del tornillo de avance, π es la constante "pi", y η es la eficiencia del tornillo de avance. De los datos tabulados puede determinarse el par motor máximo requerido para llevar a cabo la función de transferencia de fluido. Adicionalmente, estos valores calculados se usan para especificar el motor 6910 de modo que pueda manejar el máximo requerido para la carga que se experimentará durante las carreras de compresión y extensión del módulo de transferencia de fluido 6400. Por ejemplo, el par motor máximo experimentado durante la transferencia de fluido se produce durante la carrera de compresión del pistón doble combinado y su valor es de 1,45 Nmm (0,211 oz-in) (mostrado en la tabla 5).

TABLA 5

Cálculos del par motor			
40%	Eficiencia del tornillo de avance	η	
0,5	Separación del tornillo de avance	p	
3,14	π	π	
Fuerza (N)	Descripción de la medición	Par motor (Nmm)	Par motor (Nmm)
0,02 (0,02 lbF)	Fuerza de accionamiento-compresión mín. del pistón 1	10,69 (0,109 kg-cm)	0,06 (0,008 oz-in)
0,19 (0,19 lbF)	Fuerza de ruptura-compresión máx. del pistón 1	101,20 (1,032 kg-cm)	0,52 (0,074 oz-in)
0,04 (0,04 lbF)	Fuerza de accionamiento-extensión mín. del pistón 1	21,28 (0,217 kg-cm)	0,11 (0,016 oz-in)

0,19 (0,19 lbF)	Fuerza de ruptura-extensión máx. del pistón 1	101,20 (1,032 kg-cm)	0,52 (0,074 oz-in)
0,04 (0,04 lbF)	Fuerza de accionamiento-compresión mín. del pistón 2	21,28 (0,217 kg-cm)	0,11 (0,015 oz-in)
0,48 (0,48 lbF)	Fuerza de ruptura-compresión máx. del pistón 2	255,75 (2,608 kg-cm)	1,33 (0,188 oz-in)
0,04 (0,04 lbF)	Fuerza de accionamiento-extensión mín. del pistón 2	21,28 (0,217 kg-cm)	0,11 (0,016 oz-in)
0,23 (0,23 lbF)	Fuerza de ruptura-extensión máx. del pistón 2	122,58 (1,250 kg-cm)	0,64 (0,090 oz-in)
0,54 (0,54 lbF)	Fuerza-compresión máx. del pistón doble	287,73 (2,934 kg-cm)	1,49 (0,211 oz-in)
0,46 (0,46 lbF)	Fuerza- extensión máx. del pistón doble	245,07 (2,499 kg-cm)	1,27 (0,180 oz-in)
	Par motor máx. para la transferencia del fluido	287,73 (2,934 kg-cm)	1,49 (0,211 oz-in)

Puede usarse cualquier motor adecuado para accionar el módulo de transferencia de fluido para lograr las velocidades de flujo deseadas y el consumo de energía objetivo tal como se describe en el presente documento. Por ejemplo, basándose en las velocidades de flujo máxima y mínima para el ensayo, puede seleccionarse la separación del tornillo de avance 6480 y se calcula el par motor máximo requerido. En ejemplos, el motor 6910 puede ser el # de artículo de Pololu 1596 (fuente: <https://www.pololu.com/category/60/micro-metal-gearmotors>). Este motor 6910 puede suministrar el rendimiento deseado (14RPM, par a velocidad crítica de 0,494 Nm (70 oz/in), reducción de transmisión de 986,41:1).

10 Módulo de amplificación

Tal como se ilustra en las figuras 9 (esquemáticamente) y 43-45, el módulo de amplificación 6600 está configurado para realizar una reacción de PCR sobre una entrada de ADN diana mezclado con los reactivos requeridos (del módulo de mezclado 6500, descrito anteriormente). En algunos ejemplos, el módulo de amplificación 6600 está configurado para realizar una amplificación por PCR rápida de una diana de entrada. En algunos ejemplos, el módulo de amplificación 6600 está configurado para generar un número de copias de salida que alcanza o excede el umbral de sensibilidad del módulo de detección 6800.

El módulo de amplificación 6600 incluye un elemento de flujo 6610, un sustrato 6614 y una tapa (o cubierta) 6615. Tal como se muestra en la figura 45, el módulo de amplificación también incluye un montaje de calentador 6630 e interconexiones eléctricas (no mostradas) para conectar el módulo de amplificación 6600 a los módulos circundantes. Los componentes del módulo de amplificación 6600 pueden acoplarse entre sí de cualquier manera adecuada, tal como, por ejemplo, por medio de abrazaderas, tornillos, adhesivos o similares. En algunos ejemplos, el elemento de flujo 6610 se acopla fijamente al montaje de calentador 6630. Dicho de otra manera, en algunos ejemplos, el elemento de flujo 6610 no está diseñado para eliminarse y/o desacoplarse del montaje de calentador 6630 durante el uso normal. Por ejemplo, en algunos ejemplos, el montaje de calentador 6630 se acopla al elemento de flujo 6610 por una serie de abrazaderas, sujetadores y material de relleno. En otros ejemplos, el montaje de calentador 6630 se acopla al elemento de flujo 6610 por una unión adhesiva. Esta disposición facilita un dispositivo desechable de un solo uso 6000.

El elemento de flujo 6610 incluye un orificio de entrada 6611, y orificio de salida 6612, y define una trayectoria (o canal) de flujo de amplificador 6618. Tal como se muestra, la trayectoria de flujo de amplificador tiene un patrón curvo, de retroceso o serpenteante. De manera más específica, el elemento de flujo (o chip) 6610 tiene dos patrones serpenteantes moldeados en él: el patrón de amplificación y el patrón de arranque en caliente 6621. El patrón de amplificación permite que la PCR se produzca mientras el patrón de arranque en caliente 6621 facilita las condiciones de arranque en caliente de la enzima de la PCR.

La disposición serpenteante proporciona una longitud de flujo grande manteniendo a la vez el tamaño total del dispositivo dentro de los límites deseados. Además, la forma serpenteante permite que la trayectoria de flujo 6618 se cruce con el montaje de calentador 6630 en múltiples lugares. Esta disposición puede producir "zonas de calentamiento" diferentes por toda la trayectoria de flujo 6618, de modo que el módulo de amplificación 6600 pueda realizar una PCR "a través del flujo" cuando la muestra fluya a través de múltiples regiones de temperatura diferentes. Específicamente, tal como se muestra en la figura 44, el montaje de calentador 6630 se acopla al elemento de flujo 6610 para establecer tres zonas de temperatura identificadas por las líneas discontinuas: una primera zona de temperatura 6622, una segunda (o central) zona de temperatura 6623, y una tercera zona de temperatura 6624. En uso, la primera zona de temperatura 6622 y la tercera zona de temperatura 6624 pueden mantenerse a una temperatura de aproximadamente 60 grados Celsius (y/o a temperaturas de superficie de modo que el fluido que fluya a su través alcance una temperatura de aproximadamente 60 grados Celsius). La segunda zona de temperatura 6623 puede mantenerse a una temperatura de aproximadamente 90 grados Celsius (y/o a

temperaturas de superficie de modo que el fluido que fluya a su través alcance una temperatura de aproximadamente 90 grados Celsius).

Tal como se muestra, el patrón serpenteante establece 40 zonas diferentes de “frío a caliente a frío;” o 40 ciclos de amplificación. En otros ejemplos, sin embargo, el elemento de flujo 6610 (o cualquiera de los otros elementos de flujo descritos en el presente documento) puede definir cualquier número adecuado de ciclos de retroceso o amplificación para asegurar la sensibilidad de prueba deseada. En algunos ejemplos, el elemento de flujo puede definir al menos 30 ciclos, al menos 34 ciclos, al menos 36 ciclos, al menos 38 ciclos, o al menos 40 ciclos.

Las dimensiones del canal de flujo 6618 en el elemento de flujo 6610 determinan las condiciones de temperatura de la PCR y dictan las dimensiones totales del chip, y de este modo impactan sobre el consumo total de energía. Por ejemplo, un canal más profundo, más estrecho desarrollará un gradiente más grande en la temperatura del lado más cercano a la tapa 6615 a la parte inferior (dando como resultado una menor eficiencia de la PCR). Esta disposición, sin embargo, requiere menos espacio total puesto que los canales ocuparán menos área superficial total orientada hacia el montaje de calentador 6630 (y de este modo requiere menos energía para calentar). Lo opuesto es cierto para un canal ancho y poco profundo. En algunos ejemplos, la profundidad del canal de flujo 6618 es de aproximadamente 0,15 mm y el ancho del canal de flujo 6618 es de entre aproximadamente 1,1 mm y aproximadamente 1,3 mm. De manera más particular, en algunos ejemplos, el canal de flujo 6618 tiene un ancho de aproximadamente 1,1 mm en las secciones “estrechas” (que están dentro de la primera zona de temperatura 6622 y la tercera zona de temperatura 6624) y de aproximadamente 1,3 mm en la sección “ancha” (que cae dentro de la segunda zona de temperatura 6623). En algunos ejemplos, la longitud total de la trayectoria es de aproximadamente 960 mm (incluyendo tanto la parte de amplificación como la parte de arranque en caliente 6621). En tales ejemplos, la longitud total de la trayectoria de la parte de amplificación es de aproximadamente 900 mm. Esto produce un volumen total del canal de flujo 6618 de aproximadamente 160 μ L (incluyendo la parte de arranque en caliente 6621) y aproximadamente 150 μ L (sin la parte de arranque en caliente 6621). En algunos ejemplos, la separación entre cada trayectoria paralela es de entre aproximadamente 0,4 mm y aproximadamente 0,6 mm.

Cuando el fluido pasa a través del canal de flujo serpenteante 6618, se mezcla inherentemente debido a las “vueltas en u” en el patrón. El líquido cerca del exterior de las paredes del canal 6618 toma una trayectoria de desplazamiento larga, mientras que el líquido en el interior de la vuelta toma una trayectoria más corta. A medida que el flujo se desplaza hacia las secciones rectas del canal 6618, las dos áreas de líquido que no estaban previamente adyacentes pueden quedar mezcladas. Esto evita el agotamiento localizado de reactivos así como la homogenización de las concentraciones de ADN diana. Si se dejan sin gestionar completamente, este efecto también puede hacer que una parte del líquido tenga un tiempo de espera frío reducido - el líquido sobre la trayectoria más corta no pasa tanto tiempo en la zona fría.

Creando una zona de espera fría que permita incluso que la trayectoria interior mantenga la espera fría mínima es una solución a este problema. La otra es “apretar” las áreas de las vueltas en un intento por forzar que todo el líquido tenga la misma distancia para desplazarse forzando de este modo que todo el líquido tenga el mismo tiempo de espera en frío.

El elemento de flujo 6610 puede construirse de cualquier material adecuado, y puede tener cualquier grosor adecuado. Por ejemplo, en algunos ejemplos, el elemento de flujo 6610 (y cualquiera de los elementos de flujo descritos en el presente documento) puede moldearse a partir de plástico COC (copolímero de olefina cíclica), el cual tiene propiedades inherentes de barrera y baja interacción química. En otros ejemplos, el elemento de flujo 6610 (y cualquiera de los elementos de flujo descritos en el presente documento) puede construirse a partir de un material basado en grafito (para propiedades térmicas mejoradas). El grosor total del elemento de flujo 6610 puede ser menor de aproximadamente 0,5 mm, menor de aproximadamente 0,4 mm, menor de aproximadamente 0,3 mm o menor de aproximadamente 0,2 mm.

El elemento de flujo 6610 se tapa con una tapa de plástico delgado 6615 y un sustrato 6614, los cuales se unen con un adhesivo sensible a la presión (no identificado en la figura). La tapa 6615 permite un flujo fácil de energía térmica desde el montaje de calentador 6630. En algunos ejemplos, el elemento de flujo 6610 también contiene accesorios para permitir que otras partes del montaje (por ejemplo, el montaje de calentador 6630) se alineen correctamente con los accesorios sobre el elemento de flujo 6610, así como accesorios para permitir que las conexiones fluidicas se conecten correctamente. El adhesivo usado para unir la tapa 6615 se selecciona por ser “seguro para la PCR” y está formulado para no agotar el reactivo o concentraciones de organismo diana en la reacción de PCR.

En algunos ejemplos, el volumen de salida del módulo de amplificación 6600 es suficiente para llenar completamente la cámara de detección en el módulo de detección 6800.

El calentador 6630 (y cualquiera de los calentadores descritos en el presente documento) puede ser de cualquier diseño adecuado. Por ejemplo, en algunos ejemplos, el calentador 6630 pueden ser un calentador de resistencia, un dispositivo termoeléctrico (por ejemplo, un dispositivo de Peltier), o similares. En algunos ejemplos, el montaje de calentador 6630 puede incluir uno o más “calentadores de banda” lineales dispuestos de modo que la trayectoria

de flujo 6618 cruce los calentadores en múltiples puntos diferentes para definir las zonas de temperatura tal como se describió anteriormente.

En algunos ejemplos, el montaje de calentador 6630 puede incluir múltiples construcciones de calentador/detector/difusor de calor diferentes (no mostradas). La configuración y alineación por acoplamiento de estas determina las áreas de las zonas de temperatura 6622, 6623 y 6624 sobre el elemento de flujo 6610. Las construcciones (o calentadores de banda) de calentador individuales pueden controlarse en un punto fijo predeterminado por el módulo de componentes electrónicos 1950. En algunos ejemplos, cada construcción puede incluir un calentador de resistencia con un elemento detector integrado el cual, cuando se conecta al módulo de componentes electrónicos 1950, permite que la temperatura del difusor de calor conectado se regule al punto fijo correcto.

En algunos ejemplos, el módulo de amplificación 6800 está configurado para consumir energía mínima, permitiendo de este modo que el dispositivo 6000 se alimente por baterías por la fuente de alimentación 6905 (por ejemplo, por una batería de 9 V). En algunos ejemplos, por ejemplo, la fuente de alimentación 6905 es una batería que tiene un voltaje nominal de aproximadamente 9 VCC y una capacidad de menos de aproximadamente 1200 mAh.

En uso, el fluido se lleva al módulo de amplificación 6600 por el módulo de transferencia de fluido 6400 tal como se describió anteriormente. La amplificación se realiza por el movimiento del fluido a través de la trayectoria de flujo serpenteante 6618 sujetado en contacto con el montaje de calentador 6630, durante el cual el fluido dentro del chip pasa a través de zonas de temperatura alternadas. La velocidad de flujo y la temperatura de las zonas, así como la distribución de la trayectoria de flujo de amplificación 6618, puede determinar la intensidad y la duración de las diferentes condiciones de temperatura así como el número total de ciclos de PCR. Después de que la trayectoria de flujo 6618 se llene con líquido, cualquier líquido que surja del lado de salida ha experimentado PCR (siempre que el volumen total del líquido recolectado de la salida sea menor que o igual al volumen de "salida"). La salida del módulo fluye directamente hacia el módulo de detección 6800. En algunos ejemplos, por ejemplo, la velocidad de flujo a través de la trayectoria de amplificación 6618 puede ser de aproximadamente 0,35 µL/segundo, y las zonas de temperatura pueden hacer fluctuar la temperatura entre aproximadamente 95 C y aproximadamente 60 C. La longitud y/o áreas de flujo pueden ser tales que la muestra se mantenga a aproximadamente 95 C durante aproximadamente 1,5 segundos, y pueden mantenerse a aproximadamente 60 C durante aproximadamente 7 segundos. En otros ejemplos, la velocidad de flujo a través de la trayectoria de amplificación 6618 puede ser de al menos 0,1 µL/segundo. En otros ejemplos, la velocidad de flujo a través de la trayectoria de amplificación 6618 puede ser de al menos 0,2 µL/segundo.

Módulo de detección

Tal como se ilustra en las figuras 9 (esquemáticamente) y 46-49, el módulo de detección 6800 está configurado para recibir la salida del módulo de amplificación 6600 y los reactivos del módulo de reactivo 6700 para producir un cambio colorimétrico para indicar la presencia o ausencia del organismo diana en la muestra de entrada inicial. El módulo de detección 6800 también produce una señal colorimétrica para indicar la operación correcta general de la prueba (control positivo y control negativo). Tal como se describe en el presente documento, el módulo de detección 6800 está configurado para la reacción de detección ligada a enzima que da como resultado un cambio colorimétrico en la cámara de detección. De este modo, las salidas (por ejemplo, OP1, OP2, OP3 mostradas en la figura 66) son señales no fluorescentes. Esta disposición permite que el dispositivo 6000 sea desprovisto de una fuente de luz (por ejemplo, láseres, diodos emisores de luz o similares) y/o cualquier detector de luz (tubo fotomultiplicador, fotodiodos, dispositivos de CCD, o similares) para detectar y/o amplificar la salida producida por el módulo de detección. En algunos ejemplos, un cambio de color inducido por la reacción es fácil de leer y binario, sin requisito de interpretación de matiz o tono.

En algunos ejemplos, la lectura de salida del módulo de detección 6800 es fácil de leer y permanece así durante un tiempo suficiente. Por ejemplo, en algunos ejemplos, las señales de salidas OP1, OP2, y/u OP3 mostradas en la figura 66 pueden seguir presentes durante al menos aproximadamente 30 minutos. Además, en algunos ejemplos, el dispositivo 6000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede estar configurado para producir las señales OP1, OP2, y/u OP3 en un tiempo de menos de aproximadamente 25 minutos desde que se recibe la muestra S1. En otros ejemplos, el dispositivo 6000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede estar configurado para producir la señal OP1, OP2, y/o OP3 en un tiempo de menos de aproximadamente 20 minutos desde que se introduce la muestra S1, menos de aproximadamente 18 minutos desde que se introduce la muestra S1, menos de aproximadamente 16 minutos desde que se introduce la muestra S1, menos de aproximadamente 14 minutos desde que se introduce la muestra S1, y todos los intervalos entre estos.

El módulo de detección 6600 incluye una célula (o "alojamiento") de flujo de detección 6810, una ventana (o tapa) de observación 6802, un montaje de calentador/detector 6840, e interconexiones fluidicas y eléctricas (no mostradas). La célula de flujo de detección 6810 define una cámara/canal de detección 6812 que tiene una primera parte de entrada 6813, una segunda parte de entrada 6817, una parte de detección 6820 y una parte de salida

6828. La primera parte de entrada 6813 incluye un primer orificio de entrada 6814, un segundo orificio de entrada 6815 y un tercer orificio de entrada 6815. El primer orificio de entrada 6814 se acopla fluidicamente a la salida del módulo de amplificación 6600 y recibe la muestra amplificada (indicada por la flecha S7 en la figura 47). El segundo orificio de entrada 6815 se acopla fluidicamente al módulo de reactivo 6700 y recibe el primer reactivo, el cual es un primer lavado (indicado por la flecha R3 en la figura 47). El tercer orificio de entrada 6816 se acopla fluidicamente al módulo de reactivo 6700 y recibe el segundo reactivo, el cual puede ser, por ejemplo, una enzima peroxidasa de rábano picante (PRP) con un conector de estreptavidina (indicado por la flecha R4 en la figura 47).

La segunda parte de entrada 6817 incluye un cuarto orificio de entrada 6818, y un quinto orificio de entrada 6819. El cuarto orificio de entrada 6818 se acopla fluidicamente al módulo de reactivo 6700 y recibe el tercer reactivo, el cual es un segundo lavado (indicado por la flecha R5 en la figura 47). El quinto orificio de entrada 6819 se acopla fluidicamente al módulo de reactivo 6700 y recibe el cuarto reactivo, el cual puede ser, por ejemplo, un sustrato formulado para mejorar, catalizar, y/o fomentar la producción de la señal del reactivo de detección R4 (indicado por la flecha R6 en la figura 47). En algunos ejemplos, por ejemplo, el reactivo R4 puede ser un sustrato de tetrametilbencidina (TMB). La segunda parte de entrada 6817 está separada de la primera parte de entrada 6813 para asegurar que cualquier área aguas abajo dentro de la trayectoria 6810 hacia la cual el sustrato (reactivo R6) puede fluir se haya lavado perfectamente de enzima (reactivo R4). Dicho de manera similar, la segunda parte de entrada 6817 está separada de la primera parte de entrada 6813 para minimizar la interacción entre el sustrato y la enzima. La interacción no deseada podría causar cambio de color, y potencialmente resultados positivos falsos.

La parte de detección (o "carril de lectura") 6820 del canal de detección 6812 se define, al menos en parte por, y/o incluye una superficie de detección. Específicamente, la parte de detección 6820 incluye una primera superficie (o punto) de detección 6821, una segunda superficie (o punto) de detección 6822, una tercera superficie (o punto) de detección 6823, una cuarta superficie (o punto) de detección 6824, y una quinta superficie (o punto) de detección 6825. Cada una de las superficies de detección están modificadas químicamente para contener sondas de hibridación (es decir, secuencias de ácido nucleico monocatenario que capturan la hebra complementaria del ácido nucleico diana) para capturar hebras complementarias del ácido nucleico amplificado. La primera superficie de detección 6821 incluye una sonda de hibridación específica para *Neisseria gonorrhea* (NG). La segunda superficie de detección 6822 incluye una sonda de hibridación específica para *Chlamydia trachomatis* (CT). La tercera superficie de detección 6823 incluye una sonda de hibridación específica para *Trichomonas vaginalis* (TV). La cuarta superficie de detección 6824 incluye una sonda de hibridación para un control positivo (*A. fischeri*, *N. subflava*, o similar). La quinta superficie de detección 6825 incluye una sonda no diana para un control negativo.

La superficie de control positivo 6824 incluye cualquier organismo adecuado, tal como, por ejemplo, *Aliivibrio fischeri*. Este organismo es adecuado debido a que es gramnegativo, no patógeno, con un nivel de bioseguridad de 1, sin peligro para el ambiente, y es extremadamente poco probable que se encuentre en un humano. La superficie de control positivo 6824 contiene sondas de captura tanto para el organismo de control (por ejemplo, *A. fischeri*) como para cada uno de los organismos diana. Esta disposición asegura que la superficie de control positivo 6824 siempre produzca color si el dispositivo funciona correctamente. Si únicamente estuviera presente el organismo de control, uno positivo muy fuerte para uno de los organismos diana podría "abrumar" o "competir" por la amplificación del organismo de control durante la PCR. Bajo esas circunstancias, el punto de control positivo no produciría un cambio de color lo cual sería confuso para el usuario. Esta disposición facilita el método de detección y la puesta en funcionamiento del dispositivo 6000 por un usuario con una mínima (o ninguna) formación científica, según métodos que requieren poco juicio.

La parte de control positivo del ensayo está diseñada para ser sensible a la inhibición. De manera más particular, esto se logra optimizando el número de organismos de control agregados al sistema (por ejemplo, mediante los reactivos liofilizados u otro vehículo de liberación adecuado), así como la concentración de los cebadores usados para amplificar el organismo de control. De esta manera, el organismo de control no sería amplificado si no existiera suficiente inhibición de PCR para evitar la amplificación de un organismo diana. Si se ha inhibido una señal positiva débil para uno de los organismos diana entonces el sistema deberá registrar un ensayo "no válido" (debido a la ausencia de señal del punto de control positivo) en lugar de leerse como falso negativo. El orden de las superficies de la sonda de captura asegura que una señal de control positiva sea válida debido a que los puntos diana debieron haberse expuesto primero a los mismos reactivos.

La superficie de control negativo 6825 incluye una sonda no diana y siempre deberá aparecer blanca (sin color). La colocación de la superficie de control negativa 6825 como el último punto se prefiere porque esta disposición muestra si los volúmenes de reactivo, el movimiento fluido y las etapas de lavado se trabajaron apropiadamente.

El área de los puntos sobre las superficies de detección (y de este modo el ancho de las superficies de detección dentro del canal de flujo 6812) se selecciona basándose en la facilidad de manipulación puesto que el área tiene poco efecto de la visibilidad del punto (hasta un cierto límite inferior en el cual la creación del punto se vuelve un problema). El volumen del líquido por encima del punto (es decir, la profundidad del canal de flujo 6812), sin embargo, no afecta la intensidad del color generado. Un volumen (o profundidad) más grande generará un color más oscuro, mientras que un volumen menor generará un color más pálido. Después del flujo de la muestra y los reactivos, puede tener lugar la difusión, y el color de los puntos puede migrar hacia áreas fuera del punto designado.

La cantidad total de tiempo requerida para que el color de un punto migre y haga que el punto cercano parezca positivo afecta el periodo de lectura máximo de la prueba. Una célula de flujo de volumen más grande con colores más intensos también vuelve la migración de colores más intensa. Puesto que el volumen más grande también hace que el módulo de amplificación tarde más tiempo en completar su proceso, es preferible un canal de flujo de volumen menor. En algunos ejemplos, la profundidad de la parte de detección 6820 es de entre aproximadamente 0,135 mm y aproximadamente 0,165 mm.

La tapa (o "ventana de observación") 6802 permite que las ubicaciones de los puntos dentro del canal de flujo 6812 puedan verse a través del alojamiento principal 6010 del dispositivo 6000. Específicamente, tal como se muestra en la figura 66, cada una de las superficies de detección se alinea con y/o puede verse a través de las aberturas de detección correspondientes definidas por el elemento de alojamiento superior 6010. La ventana de observación 6802 es una pieza coloreada sencilla de plástico que proporciona contraste a las ubicaciones de los puntos sobre las superficies de detección y oscurece cualquier lugar diferente del punto en el canal de detección 6812. La ventana de observación 6820 puede tener una óptica de plástico moldeada sencilla para permitir al observador ver el punto desde cualquier ángulo, y hacer el resultado más fácil de leer.

La célula de flujo 6810 puede construirse de cualquier material adecuado. Por ejemplo, en algunos ejemplos, la célula de flujo 6810 puede moldearse en plástico COC y entonces acoplarse a la tapa 6802 para formar el canal de flujo 6812. El plástico COC se usa para la construcción de la célula de flujo de detección debido a sus propiedades de barrera y química. Las propiedades de barrera son necesarias para mantener el compuesto químico almacenado sobre la superficie de la parte con el tiempo. El plástico COC es suficientemente activo desde el punto de vista químico para aceptar la modificación química necesaria para los puntos de las zonas de detección, pero no suficientemente activa para inducir la unión no específica de los reactivos. En algunos ejemplos, la célula de flujo moldeada 6810 puede incluir trampas instantáneas u otras construcciones geométricas para facilitar el montaje de la tapa 6802 a la célula de flujo 6810 (véase, por ejemplo, la figura 48). Además, el canal de detección 6812 está formado para permitir que el líquido lo llene uniformemente y sin formar burbujas de aire a medida que el líquido se introduce a la cámara.

La construcción del calentador 6840 es un calentador de resistencia con un detector integrado. El calentador 6840 está unido a la célula de flujo de detección 6810 para permitir el flujo fácil de la energía térmica hacia el fluido contenido en el canal 6812. El calentador 6840 está conectado eléctricamente al módulo electrónico para permitir que lo controle a las temperaturas fijas deseadas.

En uso, la solución de postamplificación fluye hacia la célula de flujo de detección 6810 desde el módulo de amplificación 6600. Después de que la muestra esté en la célula de flujo 6810, las hebras de ADN en la solución de postamplificación enlazan las zonas premanchadas complementarias sobre las superficies de detección 6821, 6823, 6824 y 6825. Las zonas premanchadas están configuradas y/o formuladas para unirse únicamente a sus dianas de ADN específicas, las cuales son diferentes para cada zona basándose en el organismo diana que represente la zona. Una vez que ha transcurrido una cantidad de tiempo suficiente, la solución de amplicón se lava desde la célula de flujo 6810 con una solución de lavado (reactivo R3), y una solución de enzima (reactivo R4) se hace fluir hacia y se mantiene dentro del canal de flujo 6812. Durante el tiempo de espera, la enzima se une a cualquier hebra de ADN que todavía permanezca en la célula de flujo (las cuales están ahora unidas a superficies de detección específica 6821, 6822, 6823, 6824 y 6825). Después de que se haya producido la unión de la enzima, la célula de flujo 6810 se lava con un segundo lavado (reactivo R5), y entonces se llena nuevamente con una solución de sustrato (reactivo R6). Las enzimas (también unidas a las superficies de detección específicas 6821, 6822, 6823, 6824 y 6825) interactúan con el sustrato, lo cual hace que el sustrato cambie de color. Debido a que las enzimas se unen localmente solo en algunas áreas, el cambio de color también se localiza con respecto a las superficies de detección específicas 6821, 6822, 6823, 6824 y 6825. La ventana de observación 6802 y/o las aberturas de detección del alojamiento superior 6010 limitan la observación del usuario para mostrar únicamente las superficies de detección específicas 6821, 6822, 6823, 6824 y 6825 resaltando los resultados de la prueba. La construcción del calentador 6840 media la temperatura en la célula de flujo para permitir niveles de actividad enzimática mayor, y de este modo tiempos de espera requeridos menores.

Válvula giratoria

Tal como se describe en el presente documento, el método de detección incluye la distribución secuencial de los reactivos de detección (reactivos R3 – R6) y otras sustancias dentro del dispositivo 6000. Además, el dispositivo 6000 está configurado para ser un producto "en existencia" para usarse en un lugar de punto de atención (u otro lugar descentralizado), y está configurado de este modo para el almacenamiento a largo plazo. En algunos ejemplos, el dispositivo de prueba de diagnóstico molecular 6000 está configurado para almacenarse durante hasta aproximadamente 36 meses, hasta aproximadamente 32 meses, hasta aproximadamente 26 meses, hasta aproximadamente 24 meses, hasta aproximadamente 20 meses, hasta aproximadamente 18 meses, o cualquier valor entre estos. En consecuencia, el módulo de almacenamiento de reactivo 6700 está configurado para pasos sencillos no empíricos para que el usuario elimine los reactivos de su recipiente de almacenamiento a largo plazo, y elimine todos los reactivos de sus recipientes de almacenamiento usando una sola acción del usuario. En algunos ejemplos, el módulo de almacenamiento de reactivo 6700 está configurado para permitir que los reactivos se usen

en el módulo de detección, uno a uno, sin intervención del usuario.

La adición secuencial de los reactivos de detección y/o lavado (incluyendo la cantidad de cada reactivo respectivo y el tiempo de adición de cada reactivo) se controla automáticamente por la válvula de ventilación giratoria 6340.

- 5 De esta manera, el método de detección y el dispositivo 6000 pueden hacerse funcionar por un usuario con una mínima (o ninguna) formación científica, según métodos que requieren poco juicio.

La válvula de ventilación giratoria 6340 se muestra en las figuras 9 (esquemáticamente) y 50-53. Las figuras 54-61 muestran la válvula de ventilación giratoria 6340 en cada una de ocho configuraciones de operación diferentes.

- 10 La válvula de ventilación giratoria 6340 incluye un alojamiento de ventilación 6342, un cuerpo (o disco) de válvula 6343, un elemento de accionamiento 6344, un retén 6345 y un motor 6930. El alojamiento de ventilación 6342 define una cavidad de válvula 6358 dentro de la cual el disco de válvula 6343 se dispone de manera giratoria. El alojamiento de ventilación 6342 incluye una parte de trayectoria de flujo 6360 que define siete trayectorias de flujo de ventilación. La parte de la trayectoria de flujo 6360 se muestra con la cubierta de extremo quitada de modo que cada una de las trayectorias de ventilación pueda verse fácilmente. Una descripción de cada trayectoria de ventilación es la siguiente: la trayectoria de ventilación 6357 se acopla fluidicamente a la atmósfera. La trayectoria de ventilación 6356 se acopla fluidicamente al orificio de ventilación 6556 del módulo de mezclado 6500. La trayectoria de ventilación 6355 se acopla fluidicamente al orificio de salida 6828 del módulo de detección 6800 y/o el orificio de salida 6450 del módulo de transferencia de fluido 6400. La trayectoria de ventilación 6354 está asociada con el cuarto reactivo R6, y se acopla fluidicamente al orificio de ventilación del reactivo 6734 del módulo de reactivo 6700. La trayectoria de ventilación 6353 se asocia con el tercer reactivo R5, y se acopla fluidicamente al orificio de ventilación del reactivo 6733 del módulo de reactivo 6700. La trayectoria de ventilación 6352 se asocia con el segundo reactivo R4, y se acopla fluidicamente al orificio de ventilación del reactivo 6732 del módulo de reactivo 6700. La trayectoria de ventilación 6351 se asocia con el primer reactivo R3, y se acopla fluidicamente al orificio de ventilación del reactivo 6731 del módulo de reactivo 6700. Tal como se muestra en la figura 51, el alojamiento de ventilación 6342 incluye una parte de trayectoria de flujo 6350 que incluye partes de conexión donde cada una de las trayectorias de ventilación puede acoplarse a los módulos respectivos mediante la tubería, interconexiones y similares (no mostradas).

- 30 Tal como se muestra en la figura 53, cada uno de los orificios de ventilación descritos anteriormente se abre hacia la cavidad de válvula 6358. Específicamente, cada uno de los orificios de ventilación tiene una abertura dentro de la cavidad de válvula 6358 que está separada del centro de la cavidad de válvula 6358 por un radio específico y también en una posición angular diferente. Específicamente, la trayectoria de ventilación 6357 (hacia la atmósfera) se localiza en el centro. De esta manera, cuando el cuerpo de válvula 6343 gira alrededor del centro de la cavidad de válvula 6358 (tal como se muestra por la flecha NN), el canal de ranura 6370 del cuerpo de válvula 6343 puede conectar el orificio central, la trayectoria de ventilación atmosférica 6357 a los otros orificios dependiendo de su posición radial y angular. El uso de múltiples radios permite que se ventilen no solo un único orificio, sino múltiples orificios a la vez dependiendo de la configuración.

- 40 El cuerpo de válvula 6343 incluye el canal de ranura 6370 y una serie de sellos 6372. El canal de ranura 6370 es ahusado, y de este modo tiene una tolerancia angular amplia, permitiendo que la válvula se haga funcionar en un régimen de baja precisión. Los sellos 6372 se alinean con las aberturas de la trayectoria de ventilación dentro de la cavidad de válvula 6358 para mantener el sello cuando esas ventilaciones no se seleccionen. El cuerpo de válvula 6343 se presiona hacia la cavidad de válvula 6358 por el retén 6346, y se acopla al motor de accionamiento 6930 por el elemento de accionamiento 6344, el cual incluye una serie de lengüetas 6345.

El montaje de válvula 6340 puede desplazarse entre ocho configuraciones diferentes, dependiendo de la posición angular del cuerpo de válvula 6343 dentro de la cavidad de válvula 6358. La figura 54 muestra el montaje en la primera configuración (con el cuerpo de válvula 6343 en la "posición 0"). En la configuración cero, no están abiertas ventilaciones, y el cuerpo de válvula 6343 reposa contra un tope duro. La configuración cero se usa para localizar la válvula únicamente. La figura 55 muestra el montaje en la primera configuración (con el cuerpo de válvula 6343 en la "posición 1"). En la primera configuración, todas las ventilaciones están abiertas, y de este modo, el accionador del reactivo 6080 puede apretarse manualmente permitiendo que los botes de reactivo se perforen, tal como se describió anteriormente. La primera configuración también permite que los reactivos secos (por ejemplo, los reactivos R1 y R2 dentro de la cámara de mezclado 6500) se desequen apropiadamente. La primera configuración es la configuración de "envío" y almacenamiento.

- 60 Después de que el dispositivo 6000 se "encienda" mediante el accionamiento del conmutador 6906 cuando se aprieta el accionador del reactivo 6080, el módulo de alimentación y control 6900 puede mover de manera creciente el cuerpo de válvula 6343. La figura 56 muestra el montaje en la segunda configuración (con el cuerpo de válvula 6343 en la "posición 2"). En la segunda configuración, la ventilación 6355 (hacia el orificio de salida 6828 del módulo de detección 6800 y/o el orificio de salida 6450 del módulo de transferencia de fluido 6400) está abierta. Además, la ventilación 6356 hacia el módulo de mezclado 6500 está cerrada. De este modo, la cámara de inactivación 6311 y el módulo de mezclado 6500 pueden vaciarse y llenarse tal como se describió anteriormente.
- 65 La muestra también puede llevarse mediante el módulo de transferencia de fluido 6400 hacia el módulo de PCR 6600. La figura 57 muestra el montaje en la tercera configuración (con el cuerpo de válvula 6343 en la "posición

3"). En la tercera configuración, la ventilación 6351 (hacia el primer reactivo R3) está abierta. De este modo, cuando el módulo de transferencia de fluido 6400 produce un vacío a través del módulo de detección 6800, el primer reactivo R3 (el lavado) puede desplazarse libremente a través del módulo de detección 6800 cuando el montaje está en la tercera configuración. Debido a que los otros orificios de ventilación de reactivo están sellados, los reactivos restantes R4, R5 y R6 no se llevan a través del módulo de detección 6800 cuando el montaje de válvula 6340 está en la tercera configuración.

La figura 58 muestra el montaje en la cuarta configuración (con el cuerpo de válvula 6343 en la "posición 4"). En la cuarta configuración, la ventilación 6352 (hacia el segundo reactivo R4) está abierta. De este modo, cuando el módulo de transferencia de fluido 6400 produce un vacío a través del módulo de detección 6800, el segundo reactivo R4 (la enzima) puede desplazarse libremente a través del módulo de detección 6800 cuando el montaje está en la cuarta configuración. Debido a que los otros orificios de ventilación de reactivo están sellados, los reactivos restantes R3, R5 y R6 no se llevan a través del módulo de detección 6800 cuando el montaje de válvula 6340 está en la cuarta configuración.

La figura 59 muestra el montaje en la quinta configuración (con el cuerpo de válvula 6343 en la "posición 5"). En la quinta configuración, la ventilación 6352 (hacia el tercer reactivo R5) está abierta. De este modo, cuando el módulo de transferencia de fluido 6400 produce un vacío a través del módulo de detección 6800, el tercer reactivo R5 (el segundo lavado) puede desplazarse libremente a través del módulo de detección 6800 cuando el montaje está en la quinta configuración. Debido a que los otros orificios de ventilación de reactivo están sellados, los reactivos restantes R3, R4 y R6 no se llevan a través del módulo de detección 6800 cuando el montaje de válvula 6340 está en la quinta configuración.

La figura 60 muestra el montaje en la sexta configuración (con el cuerpo de válvula 6343 en la "posición 6"). En la sexta configuración, la ventilación 6352 (hacia el reactivo R6) está abierta. De este modo, cuando el módulo de transferencia de fluido 6400 produce un vacío a través del módulo de detección 6800, el cuarto reactivo R6 (el sustrato) puede desplazarse libremente a través del módulo de detección 6800 cuando el montaje está en la sexta configuración. Debido a que los otros orificios de ventilación de reactivo están sellados, los reactivos restantes R3, R4 y R5 no se llevan a través del módulo de detección 6800 cuando el montaje de válvula 6340 está en la sexta configuración.

La figura 61 muestra el montaje en la séptima configuración (con el cuerpo de válvula 6343 en la "posición 7"). En la séptima configuración, todas las ventilaciones están cerradas. Esta es la configuración de eliminación.

Incluyendo una válvula de ventilación para controlar el flujo de reactivo, el número de partes móviles se minimiza, y de este modo la simplicidad del dispositivo 6000 se mejora. Además, este enfoque elimina la posibilidad de contaminación de la válvula debido a que únicamente pasa aire, y no fluido, siempre a través de la válvula.

Administración y control de alimentación

El sistema 6000 (o cualquier otro sistema mostrado y descrito en el presente documento) incluye un módulo de control 6900 que incluye una fuente de alimentación 6905, un procesador (el cual puede ser similar al procesador 4950 mostrado y descrito anteriormente), y un sistema de circuito electrónico. El sistema de circuito electrónico (no mostrado) puede incluir cualquier componente electrónico adecuado, tal como, por ejemplo, tarjetas de circuitos impresos, conmutadores, resistencias, capacitores, diodos, chips de almacenamiento de memoria o similares dispuestos de tal manera que controlen la operación del dispositivo 6000, tal como se describe en el presente documento.

La fuente de alimentación 6905 puede ser cualquier fuente de alimentación adecuada que proporcione energía al sistema de circuito electrónico (incluyendo el procesador) y cualquiera de los módulos (por ejemplo, calentadores, motores, y similares) dentro del dispositivo 6000. Específicamente, la fuente de alimentación 6905 puede proporcionar energía al módulo de amplificación 6600 y/o el calentador 6630 para facilitar la finalización de la PCR sobre la muestra de entrada S1. En algunos ejemplos, la fuente de alimentación 6905 puede ser una o más baterías de CC, tal como, por ejemplo, múltiples células de 1,5 VCC (por ejemplo, baterías alcalinas AAA o AA). En otros ejemplos, la fuente de alimentación 6905 puede ser una batería de 9 VCC que tenga una capacidad de menos de aproximadamente 1200 mAh. En algunos ejemplos, la fuente de alimentación 6905 puede ser una batería alcalina (por ejemplo, una batería alcalina de 9 VCC), la cual presenta una alta densidad de energía a un bajo coste. Esta disposición facilita que el dispositivo 6000 sea una prueba de diagnóstico portátil, desechable, de un solo uso. Estas fuentes de alimentación se consideran agotadas cuando los voltajes entre terminales caen por debajo de 5 V, un voltaje de nivel lógico común. Regulando la señal del controlador digital directamente desde la batería, es posible un voltaje de control estable durante el tiempo de vida de la batería.

El consumidor principal de energía en el sistema 6000 serán los calentadores de resistencia mostrados y descritos anteriormente (por ejemplo, para el módulo de inactivación 6300, el módulo de amplificación 6600 y el módulo de detección 6800). Especificando la resistencia del calentador de inactivación y el calentador de detección de modo que sean suficientemente bajos de tal manera que la densidad de energía requerida pueda obtenerse de una

batería casi agotada, estos calentadores pueden encenderse desde la fuente de batería no regulada.

El procesador usado para controlar el dispositivo 6000 (y cualquiera de los procesadores mostrados en el presente documento) puede ser un dispositivo de procesamiento disponible comercialmente dedicado a realizar una o más tareas específicas. Por ejemplo, en algunos ejemplos, el dispositivo 6000 puede incluir y estar controlado por un microcontrolador PIC de 8 bits, el cual controlará la energía proporcionada a varios componentes del sistema. Este microcontrolador puede contener también código para y/o estar configurado para minimizar los requisitos de energía instantánea sobre la batería. El mayor consumo de energía se produce cuando se eleva la temperatura del calentador de amplificación 6630, el calentador de inactivación 6330 y el calentador de detección 6840. Programando estos tiempos de calentamiento durante periodos de bajo consumo de energía, los requisitos de energía sobre la batería 6905 se reducen a expensas del consumo de energía incrementado. Con la alta densidad de energía de la batería alcalina, existe un intercambio favorable. Cuando múltiples cargas requieren energía simultáneamente, el controlador contiene código para y/o está configurado para asegurar que cada carga reciba la energía promedio necesaria minimizando a la vez el tiempo en el cual se alimentan simultáneamente múltiples cargas. Esto se logra intercalando las señales PWM para cada carga de modo que los periodos en los cuales ambas señales están involucradas en un estado se mantengan en un mínimo.

Por ejemplo, en algunos ejemplos, el módulo de alimentación y control 6900 puede regular los módulos dentro del dispositivo 6000 para funcionar dentro de un presupuesto de energía que es suficiente para permitir que el dispositivo se alimente por la fuente de alimentación 6905 que es una batería de 9 VCC que tiene una capacidad de aproximadamente 1200 mAh. La figura 67 muestra una gráfica de un presupuesto de energía como función del tiempo transcurrido para el dispositivo 6000 funcionando en un protocolo de prueba según un ejemplo. Tal como se muestra, la línea identificada como 6990 indica la salida de energía de la fuente de alimentación 6905 (es decir, la batería de 9 VCC) en mW. La línea identificada como 6991 indica un umbral del voltaje mínimo permitido (en mV) de la batería 6905. La línea identificada como 6992 indica el voltaje consumido (en mV) durante tres ensayos prueba. Tal como se muestra, debido a que el voltaje consumido no cae por debajo del voltaje mínimo permitido (línea 6991), las pruebas se realizaron exitosamente usando la batería de 9 VCC como la fuente de alimentación 6905.

En algunos ejemplos, la carga eléctrica total consumida por un ciclo de operación puede ser de aproximadamente 550 mAh. En tales ejemplos, el dispositivo 6000 puede incluir como la fuente de alimentación 6905 una batería de 9 VCC que tiene una capacidad de menos de aproximadamente 1200 mAh, lo cual puede permitir un margen de seguridad de aproximadamente 650 mAh. En particular, la tabla 6 enumera el consumo de carga aproximado para cada operación principal en el proceso de detección.

TABLA 6

Módulo/Operación	Carga aproximada consumida (mAh)
Preparación de la muestra	100
Amplificación	300
Detección	50
Motores/Microcontrolador	100
TOTAL	550

Aunque el sistema 6000 se muestra y se describe como si incluyera una batería alcalina de 9 voltios 6905, en otros ejemplos, el dispositivo 6000 puede incluir múltiples fuentes de alimentación y/o dispositivos de almacenamiento de energía. Por ejemplo, el módulo de alimentación y control 6900 puede incluir supercapacitores en paralelo con la batería 6905 para proporcionar energía adicional. En tales ejemplos, el capacitor estará cargando continuamente durante periodos de bajo consumo de energía y ayudará a la batería 6905 a proporcionar energía durante el ensayo. El incremento de esta capacitancia incrementa la energía almacenada y, en consecuencia, el tiempo durante el cual el sistema puede funcionar a niveles de energía elevada. Los supercapacitores requieren corrientes de irrupción grandes, de modo que este capacitor estará limitado por corriente para evitar que el voltaje de la batería caiga por debajo del voltaje del nivel lógico requerido mientras el capacitor esté cargando, dando como resultado un reinicio del microcontrolador.

Tal como se describió anteriormente, el sistema 6000 requiere control de motores de CC de escobillas 6910 y 6930, lo cual puede lograrse, en algunos ejemplos, usando codificadores giratorios (no mostrados). En otros ejemplos, el procesador puede incluir código para y/o estar configurado para implementar un método de bucle cerrado para seguir la posición del motor verificando la corriente consumida por los motores 6910 y 6930. De manera más particular, debido a la naturaleza reactiva de las bobinas de motor, la corriente consumida por el motor de CC de escobillas no es constante. Verificando la corriente a través de una resistencia en derivación de baja impedancia, el procesador puede detectar un componente de CC superpuesto con un componente de CA. El componente de CC representa la energía requerida para accionar el motor bajo su carga actual y el componente

de CA se debe a la autoinductancia de cada bobina de motor, la inductancia mutua entre bobinas de motor, y la resistencia al cambio de los devanados de rotor cuando las escobillas se mueven a través de los devanados de inducido durante la rotación. Esta resistencia al cambio es el contribuyente principal a esta corriente alterna y está relacionada directamente con la posición angular del motor.

En algunos ejemplos, el sistema de circuito electrónico y/o el procesador pueden determinar y aislar este componente de CA pequeño, filtrar este componente y entonces amplificarlo a una señal de nivel lógico. Este procesador puede incluir un módulo de control de motor que mantiene el seguimiento del tiempo entre cada pulso. Estos valores de tiempo pueden filtrarse (por ejemplo, usando un filtro digital IIR de un solo polo) y usarse entonces como una entrada para un controlador de PID dentro del módulo de control de motor. El controlador PID controla la energía de entrada al motor, regulando la energía de modo que el tiempo entre los pulsos de motor mantenga un valor predeterminado basado en la velocidad de flujo deseada. Contando el número de pulsos procedentes de este circuito de retroalimentación, un motor de CC de escobillas puede aspirar o dispensar un volumen conocido de la jeringa de accionamiento o mover la válvula giratoria a posiciones conocidas.

Tal como se describe en el presente documento, el dispositivo 6000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede estar configurado para producir las señales OP1, OP2 y/o OP3 en un tiempo de menos de aproximadamente 25 minutos desde que se recibe la muestra S1. En otros ejemplos, el dispositivo 6000 (y cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede estar configurado para producir la señal OP1, OP2 y/o OP3 en un tiempo de al menos aproximadamente 20 minutos a partir de que se introduzca la muestra S1, de menos de aproximadamente 18 minutos a partir de que se introduzca la muestra S1, de menos de aproximadamente 16 minutos a partir de que se introduzca la muestra S1, de menos de aproximadamente 14 minutos a partir de que se introduzca la muestra S1, y todos los intervalos entre estos.

De manera más particular, el dispositivo 6000, el módulo de control 6900 y los otros módulos dentro del dispositivo 6000 están configurados colectivamente para producir velocidades de flujo de muestra y volúmenes de muestra totales en cantidades y para lograr el consumo de energía y las especificaciones de tiempo de distribución expuestas en el presente documento. De esta manera, el dispositivo 6000 puede hacerse funcionar de una forma suficientemente sencilla, y puede producir resultados con exactitud suficiente para presentar una posibilidad limitada de mal uso y/o presentar un riesgo limitado de daño si se usa inapropiadamente. Por ejemplo, en algunos ejemplos, el dispositivo 6000 está configurado para producir los volúmenes en cada operación expuestos en la tabla 6 a continuación. El tiempo nominal para cada operación también se incluye en la tabla 7.

TABLA 7

Etapas	Tarea	Volumen inicial (ml)	Volumen resultante (ml)	Rendimiento	Tiempo (min)
1	Adición de la muestra	0,5 – 1,0	--		
2	Lavado del filtro	0,5	--		0,1
3	Retrolavado/elución	0,2	0,2	0,5	0,1
4	Inactivación (37 C)	0,15	0,15		1
5	Inactivación (95 C)	0,15	0,15	0,2	5
6	Mezcla maestra y eluyente de preparación de la muestra	0,085	0,085		0,16
7	40 ciclos de PCR	0,085	0,085	10^{10}	8
8	Listo para Detección				
9	Flujo de amplicón	0,075	0,075	n/a	0,5
10	Hibridación del amplicón	0,075	0,075	10^{-3}	3
11	Primer lavado	0,5	0,5	n/a	0,5
12	Flujo de enzima e incubación	0,1	0,1	80	2
13	Segundo lavado	0,5	0,5	n/a	0,5
14	Flujo de sustrato e incubación	0,1	0,1	$1,2 \times 10^5$	3
15	Listo para leer				

Métodos de uso

Las figuras 68A-68C ilustran un diagrama de flujo de proceso detallado de un método 6000' para una prueba de diagnóstico según un ejemplo, tal como una ejecutada/realizada por el dispositivo de prueba de diagnóstico 6000

(o cualquier otro sistema descrito en el presente documento). En la etapa 6010', el método 6000' incluye dispensar una muestra en un orificio de entrada del sistema de prueba. El orificio de entrada está tapado y la muestra se empuja a través de un filtro, seguido por un amortiguador de lavado en la etapa 6020'. En algunos ejemplos, este botón como una última acción abre una válvula que permite la elución de la muestra desde el filtro en la etapa 6030'. En la etapa 805', un amortiguador de lisis de elución se empuja a través del filtro para retrolavar los contenidos del filtro, llenando una cámara de inactivación. En algunos ejemplos, el método 6000' incluye, además, en la etapa 6040', abrir una serie de tanques de reactivo para usarlos posteriormente en el método. En la etapa 6050', el método incluye encender/activar los dispositivos electrónicos y calentadores contenidos dentro del sistema de prueba, tal como, por ejemplo, por un operador conectando un paquete de baterías al sistema de prueba. En algunos ejemplos, la operación de encendido puede realizarse automáticamente y/o en conjunto con una etapa de abertura de reactivo (por ejemplo, la operación 6040'). De manera alternativa, si la batería se almacena dentro del cartucho/sistema, en algunos ejemplos, el operador puede empujar un botón de alimentación para arrancar los dispositivos electrónicos y calentadores contenidos en el sistema de prueba. En algunos ejemplos, un indicador de luz en el sistema de prueba se ilumina para notificar al operador que el sistema está funcionando.

En la etapa 6060A', una vez que la prueba se enciende, el calentador de inactivación y/o lisis se alimenta y se deja aumentar hasta su temperatura de referencia. Este calentador se controla por un circuito digital (por ejemplo, similar al módulo de control electrónico 6900 descrito anteriormente) para asegurar que la temperatura o temperaturas de referencia se mantengan dentro de la tolerancia, en la etapa 6070'. De manera sustancialmente simultánea, en la etapa 6060B', los dispositivos electrónicos de control verifican continuamente el sistema de prueba para asegurar que no se produzca una condición de fallo. Una condición de fallo puede incluir, por ejemplo, una condición de fuera de temperatura, condición de fuera de voltaje, condición de fuera de presión, etc. Si se detecta una condición de fallo en la etapa 6080', en algunos ejemplos, una luz indicadora cambia de estado para notificar al operador, y el método procede a la etapa 6300' (descrita más adelante). En algunos ejemplos, la presencia de una condición de fallo hará que el dispositivo no pueda funcionar (por ejemplo, hará que el cartucho/sistema deje de funcionar), minimizando de este modo el riesgo de que un usuario reciba un resultado inexacto.

Una vez que se ha(n) alcanzado el/los punto(s) fijo(s) de referencia de temperatura de la cámara de inactivación, el volumen de lisis de elución, el cual ahora ha experimentado lisis celular, se incuba para inactivar la enzima PK/reactivo de la lisis en la etapa 6090'. Este tiempo de incubación, en algunos ejemplos, puede ser del orden de aproximadamente 5 minutos. Una vez que se ha completado esta incubación, el calentador de inactivación se apaga en 6100', y en 6110', se activa una bomba de jeringa para aspirar el eluyente listo para dispensarlo a una cámara de mezclado. En la etapa 6120', la válvula giratoria se acciona para ventilar el circuito fluido de PCR y el canal de flujo de detección. De esta manera, las trayectorias fluidicas se preparan para permitir la transmisión de los fluidos deseados a su través, tal como se describe más adelante. En la etapa 6130A', la bomba de jeringa invierte la dirección para dispensar el eluyente hacia una cámara de mezclado donde hidrata un gránulo/perla liofilizada que contiene los cebadores y enzimas necesarias para la PCR. En algunos ejemplos, esta hidratación se produce durante aproximadamente 2 minutos para permitir el mezclado completo de los reactivos. En algunos ejemplos, la operación de mezclado puede producirse antes y/o aguas arriba de la bomba de jeringa.

En la etapa 6130B', los calentadores de PCR se encienden y se llevan hasta sus temperaturas de referencia. En algunos ejemplos, los calentadores de PCR pueden activarse sustancialmente al mismo tiempo que cuando la bomba de jeringa dispensa el eluyente hacia la cámara de mezclado. En la etapa 6140', los dispositivos electrónicos de control aseguran que los calentadores de PCR se controlen dentro de sus tolerancias de referencia. En las etapas 6150A' y 6160', el calentador de detección se enciende y se deja calentar para su uso posterior. De manera sustancialmente simultánea, en la etapa 6150B', la bomba de jeringa continúa empujando fluido a través de la cámara de mezclado hacia el circuito fluido de PCR, donde la muestra lisada y la polimerasa mezcladas se ciclan térmicamente entre aproximadamente 59°C y aproximadamente 95°C durante 40 ciclos. Cuando se produce el volumen amplificado deseado, los calentadores se apagan para conservar energía en la etapa 6170. Esta bomba de jeringa continúa empujando fluido desde el módulo de PCR al módulo de detección. En la etapa 6180', el amplicón se incuba en un canal de flujo durante aproximadamente 6-5 minutos para realizar la hibridación del amplicón. El canal de flujo se calienta a aproximadamente 65°C para esta etapa de incubación. En la etapa 6190', el calentador de detección se apaga.

La válvula giratoria del sistema de prueba se acciona a la primera posición del lavado en la etapa 6200'. La válvula giratoria puede ser cualquier válvula giratoria adecuada, tal como aquellas descritas en el presente documento. La bomba de jeringa invierte la dirección y se empuja un vacío sobre el reactivo de lavado, y en la etapa 6210', el amplicón no unido se lava desde el canal seguido por un volumen de aire. En la etapa 6220', la válvula giratoria se acciona a la posición de la enzima PRP. En la etapa 6230', la enzima PRP se lleva dentro del canal de flujo y, en la etapa 6240, se incuba durante 6-5 minutos. La enzima se elimina seguida por una bala de aire. En la etapa 6250', la válvula giratoria se acciona a la posición de lavado 2. En la etapa 6260', el amortiguador de lavado se empuja sobre el canal de flujo para lavar la enzima no unida seguida por un volumen de aire. En la etapa 6270', la válvula giratoria se acciona a la posición de sustrato. En la etapa 6280', el sustrato se extrae hacia el canal de flujo y se detiene. En la etapa 6290', la válvula giratoria se acciona a la posición de "todos los orificios cerrados". En algunos ejemplos, se ilumina un indicador de luz para notificar al operador que los resultados de prueba están

listos. En la etapa 6300', todos los calentadores y motores se apagan y/o se interrumpen.

En la etapa 6310', se determina si se detectó un error tal como, por ejemplo, si se produjo un fallo en la etapa 6080'. Si se detecta un fallo, se indica el código de error apropiado sobre los LED de error del sistema de prueba en 6320'. Si no se detecta error, entonces en la etapa 6330, cuando el marco de lectura expira después de aproximadamente 20 minutos, el indicador de luz de "prueba lista" se apaga para indicar que ha transcurrido el marco de lectura y la prueba se completó en la etapa 6340'.

Las operaciones descritas anteriormente pueden realizarse por el sistema de prueba de diagnóstico 6000 (o cualquier otro sistema descrito en el presente documento). En algunos ejemplos, el sistema (o unidad) de prueba puede incluir una serie de módulos configurados para interactuar con otros módulos para manipular la muestra para producir una prueba de diagnóstico.

La figura 69 es un diagrama de flujo de un método 10 de prueba de diagnóstico molecular, según un ejemplo. El método 10 puede realizarse en el dispositivo 6000 o cualquier otro dispositivo y/o sistema mostrado y descrito en el presente documento. El método incluye llevar una muestra hacia un módulo de preparación de muestra dispuesto dentro de un alojamiento de un dispositivo de diagnóstico, en 12. La muestra puede ser cualquier muestra tal como se describe en el presente documento, y puede llevarse al dispositivo usando cualquier método tal como se describe en el presente documento (por ejemplo, usando un dispositivo de transferencia tal como el dispositivo 6100). El método incluye entonces accionar el dispositivo, en 14, para: A) extraer, dentro del módulo de preparación de muestra, una molécula diana (en 15); B) hacer fluir una solución que contiene la molécula diana dentro de una trayectoria de flujo de amplificación definida por un módulo de amplificación de modo que la solución se cicle térmicamente por un calentador acoplado al módulo de amplificación (en 16); C) llevar la solución de una salida del módulo de amplificación hacia un canal de detección de un módulo de detección, incluyendo el módulo de detección una superficie de detección dentro del canal de detección, la superficie de detección configurada para retener la molécula diana (en 17); y D) llevar un reactivo hacia el canal de detección de modo que, cuando el reactivo reaccione con una molécula de señal asociada con un amplicón diana, se produzca una señal óptica visible asociada con la superficie de detección (en 18). El método incluye observar la superficie de detección mediante una abertura de detección del alojamiento, en 19.

Aplicaciones

La prueba de diagnóstico/sistema de prueba 6000 (y todos los otros dispositivos y sistemas descritos en el presente documento) es una plataforma para la detección de una enfermedad infecciosa a partir de fluidos biológicos. En algunos ejemplos, el sistema de diagnóstico detecta agentes infecciosos diana (por ejemplo, bacterias y virus) cambiando los tipos de cebadores dentro de la plataforma consumible para amplificar y detectar la secuencia de ácido nucleico deseada de interés. Aunque el sistema de diagnóstico 6000 se ha diseñado para la obtención de muestras ya sea de muestras de orina o frotis y la detección de un panel ITS cuádruple (es decir, uno triple más un control positivo), en otros ejemplos, el sistema de diagnóstico 6000 (o cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) pueden extenderse fácilmente a otros paneles de diagnóstico. Por ejemplo, puede considerarse un panel de infección del tracto urinario el cual permite la detección de *E.coli*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus*, y *P.aeruginosa*. El módulo de preparación de muestra se ha mostrado para aislar el patógeno deseado y lisar estos organismos con la adición de reactivos (por ejemplo, lisozima y proteinasa K) y calor. Posteriormente, sería necesario agregar cebadores específicos del patógeno a la cámara de mezclado para permitir la amplificación de estas secuencias de genes patógenos diana. Finalmente, la sonda de hibridación unida al carril de lectura en el módulo de detección necesitaría cambiar para unir estos nuevos dianas amplificados específicos. Todos los otros aspectos del cartucho de prueba pueden permanecer sin cambios.

En algunos ejemplos, un dispositivo (tal como el dispositivo 6000, o cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede estar configurado para detectar un ensayo inmunoabsorbente de reactivo universal (URI). En algunos ejemplos, un dispositivo (tal como el dispositivo 6000, o cualquiera de los otros dispositivos mostrados y descritos en el presente documento) puede estar configurado para detectar una prueba de inhibición de hemaglutinación (HAI).

Para dianas virales, el módulo de preparación de muestra 6200 (y cualquiera de los módulos de preparación de muestras descritos en el presente documento) puede modificarse de cualquier forma adecuada. Por ejemplo, en algunos ejemplos, un módulo de preparación de muestra puede estar configurado para aislar virus de fluidos biológicos usando un material en fase sólida tal como un filtro de material quimioadsorbente específico con un tamaño de poro propicio para hacer fluir y capturar partículas virales. Las partículas virales capturadas se lavan y se eluyen a partir del filtro hacia una cámara de calentamiento donde las partículas virales se lisan y cualquier inhibidor de PCR se neutraliza. Los cebadores específicos del patógeno y la mezcla maestra se agregan al ácido nucleico viral para la amplificación. Para dianas de ARN viral, la transcripción inversa tiene lugar en la cámara de calentamiento antes de la PCR. Después de la amplificación por PCR, los amplicones se capturan por sondas de hibridación específicas de la secuencia en el carril de lectura para la detección.

Aunque el sistema de diagnóstico molecular 6000 se muestra y se describe anteriormente como si incluyera ciertos módulos dispuestos dentro de un alojamiento en una disposición particular, en otros ejemplos, un dispositivo no necesita incluir todos los módulos identificados en el dispositivo 6000. Además, en algunos ejemplos, las funciones descritas como realizadas por dos módulos pueden realizarse por un solo dispositivo y/o estructura. Por ejemplo, en algunos ejemplos un dispositivo no necesita incluir un módulo de mezclado separado, sino que puede realizar la operación de mezclado descrita anteriormente, con respecto al módulo de mezclado 6500 dentro de otro módulo (tal como el módulo de inactivación o el módulo de transferencia de fluido). Además, en otros ejemplos, un dispositivo puede incluir los módulos dispuestos dentro de un alojamiento en cualquier disposición adecuada. Por ejemplo, las figuras 70–72 muestran vistas en perspectiva de un dispositivo de prueba de diagnóstico molecular 7000 según un ejemplo. El dispositivo de diagnóstico de prueba 7000 incluye un alojamiento (que incluye una parte superior 7010 y una parte inferior 7030), dentro de las cuales está contenida una variedad de módulos. Específicamente, el dispositivo 7000 incluye un módulo de preparación de muestra 7200, un módulo de inactivación 7300, un módulo de accionamiento fluido (o de transferencia de fluidos) 7400, una cámara de mezclado 7500, un módulo de amplificación 7600, un módulo de detección 7800, un módulo de almacenamiento de reactivo 7700, una válvula de ventilación giratoria 7340, y un módulo de alimentación y control 7900. El dispositivo 7000 puede ser similar al dispositivo 6000, y de este modo los componentes internos y la funcionalidad no se describen con detalle en el presente documento.

La figura 71 muestra el dispositivo 7000 con el alojamiento superior 7010 quitado de modo que pueda verse la colocación de los módulos. La figura 72 muestra el dispositivo 7000 con el alojamiento superior 7010, los botones de accionamiento, el módulo de amplificación 7600, y el módulo de detección 7800 quitados de modo que puedan verse los módulos subyacentes. Tal como se muestra, el dispositivo 7000 incluye un alojamiento superior 7010 y un alojamiento inferior 7030. El alojamiento superior 7010 define una abertura (o “estado”) de detección 7011 que permite al usuario inspeccionar visualmente la(s) señal(es) de salida producida(s) por el dispositivo 7000. Cuando el alojamiento superior 7010 se acopla al alojamiento inferior 7030, la abertura de detección 7011 se alinea con las superficies de detección correspondientes del módulo de detección 7800 de modo que la señal producida por y/o sobre cada superficie de detección es visible a través de la abertura de detección correspondiente.

En algunos ejemplos, el alojamiento superior 7010 y/o la parte del alojamiento superior 7010 que rodea la abertura de detección 7011 es opaco (o semiopaco), “enmarcando” o acentuando por lo tanto las aberturas de detección. En algunos ejemplos, por ejemplo, el alojamiento superior 7010 puede incluir marcas (por ejemplo, líneas gruesas, colores o similares) para resaltar las aberturas de detección. Por ejemplo, en algunos ejemplos, el alojamiento superior 7010 puede incluir indicaciones que identifiquen la abertura de detección con una enfermedad particular (por ejemplo, *Chlamydia trachomatis* (CT), *Neisseria gonorrhea* (NG) y *Trichomonas vaginalis* (TV)) o control.

El alojamiento inferior 7030 define un volumen dentro del cual se disponen los módulos y/o componentes del dispositivo 7000. Por ejemplo, la parte de preparación de muestra recibe al menos una parte del módulo de entrada de muestra 7170. El módulo de entrada de muestra 7170 se acciona por el accionador de muestra (o botón) 7050. El alojamiento define una hendidura o abertura 7033 que recibe una pestaña de bloqueo 7057 del accionador de muestra 7050 después de que el accionador 7050 se haya desplazado para comenzar la operación de preparación de muestra. De esta manera, el accionador de muestra 7050 está configurado para evitar que el usuario reutilice el dispositivo después de que se haya intentado y/o completado un uso inicial.

La parte de lavado del alojamiento recibe al menos una parte del módulo de lavado 7210. El módulo de lavado 7210 se acciona por el accionador de lavado (o botón) 7060. El alojamiento define una hendidura o abertura 7035 que recibe una pestaña de bloqueo 7067 del accionador de lavado 7060 después de que el accionador 7060 se haya desplazado para comenzar la operación de lavado. De esta manera, el accionador de lavado 7060 está configurado para evitar que el usuario reutilice el dispositivo después de haber intentado y/o completado un uso inicial.

La parte de elución del alojamiento recibe al menos una parte del módulo de elución 7260. El módulo de elución 7260 se acciona por el accionador de elución (o botón) 7070. El alojamiento define una hendidura o abertura 7037 que recibe una pestaña de bloqueo 7077 del accionador de elución 7070 después de que el accionador 7070 se haya desplazado para comenzar la operación de lavado. De esta manera, el accionador de elución 7070 está configurado para evitar que el usuario reutilice el dispositivo después de haber intentado y/o completado un uso inicial.

La parte de reactivo del alojamiento recibe al menos una parte del módulo de reactivo 7700. El alojamiento define una hendidura o abertura 7039 que recibe una pestaña de bloqueo 7087 del accionador de reactivo 7080 después de que el accionador 7080 se haya desplazado para comenzar la operación de abertura de reactivo. De esta manera, el accionador de reactivo 7080 está configurado para evitar que el usuario reutilice el dispositivo después de haber intentado y/o completado un uso inicial. Incluyendo tales mecanismos de bloqueo, el dispositivo 7000 está configurado específicamente para una operación de un solo uso, y presenta un riesgo limitado de mal uso.

Tal como se muestra en las figuras 73 y 74, el módulo de reactivo 7700 puede incluir un tanque de contención 7740 que define una serie de orificios 7741 dentro de los cuales se almacenan botes de reactivo, y también una

serie de depósitos de contención 7761 a los cuales los reactivos fluyen tras los accionamientos. El módulo de reactivo incluye un elemento superior 7735 que incluye una serie de orificios de ventilación que funcionan de manera similar a los orificios de ventilación descritos anteriormente con respecto al módulo de reactivos 6700.

Las figuras 75-82 ilustran un ejemplo de un aparato 8000 para la prueba de diagnóstico que puede ser estructural y/o funcionalmente similar al aparato 6000 y/o el aparato 7000. Tal como se ilustra mejor en la figura 75, el aparato 8000 incluye un alojamiento 8010, un orificio de entrada de muestra 8020 (que incluye una tapa), tres émbolos 8030/4040/4050, y una pestaña de tracción 8060, indicadores/luces de estado 8070, un carril de lectura (y/o aberturas de detección) 8080, un alojamiento de batería 8090, y una etiqueta 8110.

Tal como se ilustra en la figura 76, en algunos ejemplos, las dimensiones totales del aparato 8000 en una vista frontal pueden ser de aproximadamente 101 mm (dimensión A') x aproximadamente 73 mm (dimensión B'), o cualquier otro valor escalado adecuado. Una dimensión de los émbolos 8030, 8040, 8050, y la pestaña 8060 puede ser de aproximadamente 22 mm (dimensión C'), o cualquier otro valor escalado en relación con el resto del aparato 8000. Tal como se ilustra mejor en la figura 77, en algunos ejemplos, las dimensiones del aparato 8000 en una vista lateral pueden ser de aproximadamente 82 mm (dimensión D') x aproximadamente 26 mm (dimensión E'), o cualquier valor escalado adecuado. En algunos ejemplos, el alojamiento 8010 incluye una superficie superior clara para facilitar la observación por el usuario. En algunos ejemplos (no mostrados), el alojamiento 8010 puede incluir un módulo de preparación y un módulo de lectura. El módulo de preparación (no mostrado) está configurado para guiar intuitivamente al usuario en la preparación de una muestra para análisis/prueba mientras que el módulo de lectura (no mostrado) está configurado para guiar intuitivamente al usuario en la lectura de los resultados de prueba.

En algunos ejemplos, tal como se ilustra, el orificio de entrada 8020, los émbolos 8030/4040/4050, y la pestaña de tracción 8060 tienen indicadores "1", "2", etc., para guiar un usuario en la secuencia correcta de pasos para el uso del aparato 8000. En algunos ejemplos, durante el uso, el orificio de entrada de muestra 8020 está configurado para recibir una muestra, tal como una muestra de paciente (véase la figura 78). En algunos ejemplos, la tapa está unida al orificio y/o cualquier otra parte del aparato 8000 para evitar su desplazamiento. En algunos ejemplos, el orificio 8020 está configurado para usarse con pipetas estándar. En algunos ejemplos, el orificio 8020 puede retener hasta aproximadamente 700 µL de muestra. En algunos ejemplos, la estructura de orificio y tapa puede resistir hasta 345 kPa (50 psi) de presión. En algunos ejemplos (no mostrados), el orificio 8020 incluye uno o más indicadores visuales (por ejemplo, LED) para verificar que se ha dispensado el volumen correcto.

En algunos ejemplos, tal como se ilustra mejor en la figura 79, el émbolo 8030 está configurado para empujar la muestra en el orificio 8020 a través de un filtro, de manera similar a la operación del módulo de preparación de muestra 6200 descrito anteriormente. El émbolo 8030 también está configurado para llevar un volumen de aire seguido por un amortiguador de lavado, a través del filtro. En algunos ejemplos, el émbolo 8030 se bloquea en un lugar una vez que el usuario lo oprime de manera sustancialmente completa. En algunos ejemplos, el bloqueo del émbolo 8030 es irreversible.

En algunos ejemplos, el émbolo 8040 está configurado para lavar el filtro con eluyente, de manera similar a la operación del módulo de preparación de muestra 1200 descrito al principio. El émbolo 8040 también está configurado para empujar eluyente hacia la cámara de inactivación. En algunos ejemplos, el émbolo 8040 se bloquea en su lugar una vez que el usuario lo oprime de manera sustancialmente completa. En algunos ejemplos, el bloqueo del émbolo 8040 es irreversible.

En algunos ejemplos, el émbolo 8050 "revienta" el tanque de reactivo, o libera reactivos desde el tanque de reactivo, de manera similar a la operación del módulo de reactivo 6700 descrito al principio. En algunos ejemplos, el émbolo 8050 se bloquea en su lugar una vez que el usuario lo oprime de manera sustancialmente completa. En algunos ejemplos, el bloqueo del émbolo 8060 es irreversible.

En algunos ejemplos, tal como se ilustra mejor en la figura 80, la pestaña 8060 está configurada de modo que, cuando se arranca por el usuario, se completa un circuito eléctrico interno, el cual comienza una o más pruebas de diagnóstico en la muestra, tal como, por ejemplo, iniciar la operación del módulo de amplificación (el cual puede ser similar al módulo de amplificación 6600). En algunos ejemplos, la pestaña 8060 es desprendible y desechable, de modo que un usuario puede desechar la pestaña 8060 después de la retirada del aparato 8000.

En algunos ejemplos, el orificio de entrada 8020, los émbolos 8030/4040/4050, y la pestaña de tracción 8060 están configurados para una operación irreversible. Dicho de otra manera, cada uno de estos elementos está configurado para "bloquear" y/o deshabilitar la inversión una vez desplegada apropiadamente por el usuario. De esta manera, se evita que un usuario use de manera inapropiada el dispositivo. En algunos ejemplos, el orificio de entrada 8020, los émbolos 8030/4040/4050, y la pestaña de tracción 8060 incluyen uno o más mecanismos de bloqueo para evitar que el usuario complete pasos/use el aparato 8000 en mal estado.

En algunos ejemplos, las luces de estado 8070 son indicadores visuales, tales como luces LED, que están configurados para proporcionar retroalimentación al usuario sobre uno o más estados del aparato 8000 incluyendo,

pero sin limitarse a, cuando se arranca la pestaña 8060, cuando la prueba de diagnóstico esté siendo procesada (después de que se arranque la pestaña 8060), cuando la prueba de diagnóstico esté lista para que el usuario la revise, cuando está presente un estado de error, y/o similares. Por ejemplo, en algunos ejemplos, puede emplearse alguna variación en el número de LED iluminados, el patrón de iluminación de los LED, la duración de iluminación de los LED, y/o el color de la iluminación de los LED, para representar cada estado del aparato 8000.

En algunos ejemplos, el carril de lectura y/o abertura de detección 8080 está configurada para permitir la interpretación de los resultados de prueba por el usuario. En algunos ejemplos, el carril de lectura 8080 incluye un sustrato que produce un indicador de color, según los métodos descritos en el presente documento (por ejemplo, la reacción enzimática descrita anteriormente con referencia a la figura 8). En otros ejemplos, el carril de lectura 8080 incluye una tira de color o papel absorbente configurado para producir una salida colorimétrica asociada con una diana. En algunos ejemplos, el alojamiento 8010 enmascara parcialmente el carril de lectura 8080. De esta manera, el alojamiento 8010 puede etiquetarse para conveniencia del usuario. En algunos ejemplos, tal como se observa en la figura 75, el carril de lectura 8080 puede incluir uno o más puntos o "manchas". En algunos ejemplos, algunos puntos están configurados para indicar los resultados de prueba, mientras que algunos puntos están configurados para indicar resultados de control. La figura 75 ilustra un escenario a modo de ejemplo con tres puntos como un panel de prueba y dos puntos como un panel de control para el análisis del usuario.

Tal como se ilustra mejor en las figuras 75 y 81, el alojamiento de batería 8090 está configurado para contener una fuente de baterías, tal como, por ejemplo, una batería de 9 V, para alimentar el aparato 8000. Un botón 8100 está configurado para permitir a un usuario desprender de manera extraíble una batería montada, tal como, por ejemplo, para sustitución y/o eliminación. Tal como se ilustra mejor en la figura 82, en algunos ejemplos, el aparato 8000 puede estar configurado para usarse con una unidad de baterías recargable 8120. De esta manera, en lugar de eliminar todo el aparato 8000 después de su uso, el usuario retiene la unidad de baterías 8120 para recargarla y reutilizarla con un nuevo cartucho (es decir, donde un "cartucho", para propósitos de este ejemplo, es el aparato 8000 sin la unidad de baterías 8120).

En otros ejemplos, la fuente de alimentación en cualquiera de los dispositivos mostrados y descritos en el presente documento puede ser cualquier elemento de almacenamiento/conversión de energía adecuado, tal como un capacitor, un sistema de almacenamiento magnético, una celda de combustible o similar. En otros ejemplos más, cualquiera de los dispositivos mostrados y descritos en el presente documento, incluyendo el dispositivo 6000, puede estar configurado para funcionar con una corriente de CA. De este modo, en algunos ejemplos, un dispositivo puede incluir una clavija configurada para colocarse dentro de una toma de CA. En tales ejemplos, el módulo de alimentación y control (por ejemplo, el módulo 6900) puede incluir los convertidores de voltaje y/o corriente necesarios para alimentar la corriente apropiada a cada uno de los módulos en él. En algunos ejemplos, la clavija de CA también puede servir como un mecanismo para asegurar que el dispositivo esté orientado apropiadamente (por ejemplo, en un nivel y orientación plana) durante el uso.

Aunque el dispositivo 6000 se muestra como si incluyera un dispositivo de transferencia de fluido separado 6110, en otros ejemplos, un dispositivo puede incluir un dispositivo de transferencia de muestra que se acopla con y/o se acopla de manera extraíble al alojamiento total. Por ejemplo, las figuras 83-87 muestran un dispositivo de prueba de diagnóstico molecular 9000 según un ejemplo. El dispositivo de prueba de diagnóstico 9000 está contenido dentro de un alojamiento 9010, e incluye una variedad de módulos. Específicamente, el dispositivo 9000 incluye un módulo de preparación de muestra (similar al módulo de preparación de muestra 6200), un módulo de inactivación (similar al módulo de inactivación 6300), un módulo de accionamiento fluido (o de transferencia de fluido) (similar al módulo de transferencia de fluido 6400), una cámara de mezclado (similar al módulo de mezclado 6500), un módulo de amplificación (similar al módulo de amplificación 6600), un módulo de detección (similar al módulo de detección 6800), un módulo de almacenamiento de reactivo (similar al módulo de reactivo 6700), un módulo de válvula (similar al módulo de válvula 6340), y un módulo de alimentación y control (similar al módulo de alimentación y control 6900). El dispositivo 9000 puede ser similar al dispositivo 6000, y de este modo los componentes internos y la funcionalidad no se describen con detalle en el presente documento. El dispositivo 9000 difiere del dispositivo 6000, sin embargo, en que el dispositivo 9000 incluye un elemento de transferencia de interconexión 9110, tal como se describe más adelante.

La figura 83 muestra una vista desde arriba del dispositivo 9000, e ilustra el alojamiento 9010 y el dispositivo de transferencia de muestra 9110 acoplado a y/o dispuesto dentro del alojamiento 9010. El alojamiento 9010 define una abertura (o "estado") de detección 9011 que permite que el usuario inspeccione visualmente la(s) señal(es) de salida producida(s) por el dispositivo 9000. La abertura 9011 se alinea con y permite observar cinco superficies de detección del módulo de detección contenidas en él. En particular, la abertura 9011 permite observar una señal producida por una primera superficie de detección 9821, una segunda superficie de detección 9822, una tercera superficie de detección 9823, una cuarta superficie de detección 9824, y una quinta superficie de detección 9825. Estas superficies de detección pueden producir señales para la detección de una enfermedad de una forma similar tal como se describió anteriormente con respecto al módulo de detección 6800.

El alojamiento 9010 y/o la parte del alojamiento 9010 que rodea la abertura de detección 9011 es opaco (o semiopaco), "enmarcando" o acentuando por lo tanto las aberturas de detección. En algunos ejemplos, el

alojamiento 9010 puede incluir marcas (por ejemplo, líneas gruesas, colores o similares) para resaltar las aberturas de detección. Adicionalmente, el alojamiento 9010 puede incluir indicaciones 9017 que identifiquen la abertura de detección para una enfermedad particular (por ejemplo, *Chlamydia trachomatis* (CT), *Neisseria gonorrhoea* (NG) y *Trichomonas vaginalis* (TV)) o control. El alojamiento 9010 también incluye un código de barras 9017'.

5

El dispositivo 9000 se empaqueta junto con y/o incluye un dispositivo de transporte de muestra 9110 configurado para llevar una muestra S1 al dispositivo 9000 y/o el módulo de preparación de muestra en él. Tal como se muestra en la figura 84, el dispositivo de transferencia de muestra 9110 incluye una parte de extremo distal 9112 y una parte de extremo proximal 9113, y puede usarse para aspirar o extraer una muestra S1 de una copa de muestra 9101. El dispositivo de transferencia de muestra 9110 proporciona entonces una cantidad deseada de la muestra S1 a una parte de entrada 9160 del dispositivo 9000. Específicamente, la parte de extremo distal 9112 incluye una parte tubular de inmersión, y en algunos ejemplos, puede definir un depósito que tiene un volumen deseado y/o predeterminado.

10

La parte de extremo proximal 9113 incluye un alojamiento 9130 y un accionador 9117. El accionador 9117 puede manipularse por el usuario para extraer la muestra hacia la parte de extremo distal 9112. El alojamiento 9130 incluye una ventana de estado 9131 o abertura a través de la cual el usuario puede verificar visualmente para ver que se ha aspirado el volumen adecuado. En algunos ejemplos, el dispositivo de transporte de muestra 9110 incluye un depósito de desbordamiento que recibe el exceso de flujo de la muestra durante la etapa de aspiración. El depósito de desbordamiento incluye un elemento de válvula que evita que la cantidad desbordada se lleve fuera del dispositivo de transferencia 9110 cuando el accionador 9117 se manipule para depositar la muestra en la parte de entrada 9160 del dispositivo 9000. Esta disposición asegura que el volumen de muestra deseado se suministre al dispositivo 9000. Además, incluyendo un dispositivo de transferencia de muestra "valvulado" 9110, se limita la probabilidad de mal uso durante la entrada de muestra. Esta disposición también requiere una mínima (o ninguna) formación científica y/o poco juicio del usuario para suministrar apropiadamente la muestra al dispositivo.

20

En uso, el dispositivo de transferencia de muestra 9110 se quita del alojamiento 9010 y la parte de extremo distal 9112 se dispone dentro de la copa de muestra 9101. El accionador 9117 se manipula para extraer una parte de la muestra S1 al dispositivo de transferencia de muestra 9110. Durante el uso, el operador puede inspeccionar la ventana de estado 9131 para asegurar que la muestra S1 sea visible, indicando por lo tanto que la operación de aspiración de muestra fue exitosa. Tal como se muestra en la figura 86, el dispositivo de transferencia de muestra 9110 se coloca entonces en la parte de recepción 9160 del alojamiento 9010, tal como se indica por la flecha SS. En algunos ejemplos, el dispositivo de transferencia de muestra 9110, el alojamiento 9130 y/o el alojamiento 9010 pueden incluir mecanismos de bloqueo, tales como protuberancias de acoplamiento, rebajos y similares que eviten la retirada del dispositivo de transferencia de muestra 9110 después de que se haya bloqueado en su lugar.

30

35

Para iniciar una prueba, el accionador 9117 se desplaza tal como se muestra por la flecha TT en la figura 87, para empujar la muestra hacia el módulo de preparación de muestra del dispositivo 9000.

Aunque el dispositivo 6000 se muestra como si incluyera un módulo de lavado 6210 que se incluye dentro del alojamiento, y que está separado del dispositivo de transferencia de muestra 6110, en otros ejemplos, un dispositivo puede incluir un dispositivo de transferencia de muestra que incluya el lavado en él. En tales ejemplos, el movimiento de un accionador para suministrar la muestra (por ejemplo, para llevar la muestra a través de un filtro dentro del dispositivo) también puede usarse para llevar una solución de lavado (incluyendo un lavado de aire) contenido dentro del dispositivo de transferencia de muestra a través del filtro. Por ejemplo, las figuras 88 y 89 son ilustraciones esquemáticas de un dispositivo de transferencia de muestra 9110' según un ejemplo. El dispositivo de transferencia de muestra 9110' puede usarse en conjunto con cualquiera de los dispositivos de prueba de diagnóstico molecular mostrados y descritos en el presente documento.

40

45

El dispositivo de transferencia de muestra 9110' incluye un alojamiento 9130' que tiene una parte de extremo distal y una parte de extremo proximal, y puede usarse para aspirar o extraer una muestra de una copa de muestra (no mostrada). El dispositivo de transferencia de muestra 9110' suministra entonces una cantidad deseada de la muestra a una parte de entrada de un dispositivo de prueba de diagnóstico molecular de los tipos mostrados y descritos en el presente documento. El alojamiento 9130' define un depósito de muestra 9115' (para recibir una muestra), y un depósito de lavado 9214' (que contiene una solución de lavado). El depósito de muestra 9115' y el depósito de lavado 9214' están separados (y/o aislados fluidicamente uno del otro) por un tapón (o retén elastomérico) 9132'.

55

La parte de extremo distal del alojamiento incluye un tubo de inmersión 9112'. La parte de extremo proximal del alojamiento incluye un accionador 9117'. En uso, el accionador 9117' se desplaza y/o se manipula por el usuario para extraer la muestra a través del tubo de inmersión 9112' y hacia el depósito de muestra 9115'. Para transferir la muestra al dispositivo (no mostrado), el tubo de inmersión 9112' y/o una parte del alojamiento 9130' se coloca en y/o adyacente al dispositivo, y el accionador 9117' se desplaza distalmente (tal como se indica por la flecha en la figura 89). El movimiento del accionador 9117' empuja la muestra fuera del tubo de inmersión 9112', y también desplaza el tapón 9132' hacia abajo hacia el perforador 9133'. Después de dispensar la muestra, el perforador 9133' perfora el tapón 9132' permitiendo por lo tanto que la solución de lavado fluya del depósito de lavado 9214'.

60

65

al depósito de muestra 9115' y/o fuera del tubo de inmersión 9112'.

Aunque el dispositivo 6000 se muestra y se describe como si incluyera un módulo de lavado 6210 que está separado del (y/o en un alojamiento diferente del) módulo de elución 6260, en otros ejemplos, cualquiera de los módulos de transferencia de muestra, entrada de muestra, lavado y/o elución descritos en el presente documento pueden construirse juntos como unidades integrales o mantenerse como componentes distintos. Dicho de manera similar, cualquiera de los componentes en cualquiera de los módulos de preparación de muestras descritos en el presente documento puede estar en cualquier forma adecuada. Por ejemplo, en algunos ejemplos los componentes individuales pueden incluir modificaciones y cambios. Por ejemplo, en algunos ejemplos un módulo de preparación de muestra puede incluir una parte de distribución de muestra, una parte de lavado, una parte de elución y una parte de filtro e (incluyendo un montaje de válvula de flujo) dentro de un alojamiento común. Las figuras 90-92 muestran un módulo de preparación de muestra 10200 según un ejemplo. Tal como se ilustra en la figura 90, el módulo de preparación de muestra 10200 está configurado para recibir una muestra de entrada en relación con cualquier dispositivo adecuado (tal como los dispositivos de prueba de diagnóstico 6000, 7000, 8000, 9000 o cualquier otro dispositivo mostrado y descrito en el presente documento), y procesa la muestra para usarla en los módulos posteriores. El módulo de preparación de muestra 10200 incluye un depósito 10210 para recibir y contener la muestra, un montaje de filtro 10220, un tanque de residuos 10230, una válvula normalmente cerrada 10240, dos montajes de almacenamiento y dispensación (10250 y 10260, véanse también las figuras 91 y 92, respectivamente), y varios conductos fluidicos (por ejemplo, el conducto de salida 10241) conectando los diferentes componentes.

En algunos ejemplos, el módulo de preparación de muestra 10200 está configurado para aceptar y permitir la contención a prueba de derrames de un volumen de un líquido del módulo de transferencia de muestra (no mostrado). En algunos ejemplos, el módulo de preparación de muestra 10200 está configurado para el almacenamiento incorporado de la solución de lavado, solución de elución, y un control positivo. El control positivo puede almacenarse en forma líquida en la solución de lavado o almacenarse como una perla liofilizada que se hidrata posteriormente por la solución de lavado. En algunos ejemplos, el módulo de preparación de muestra 10200 está configurado para dispensar el volumen del líquido de muestra (~80%) a través de un filtro, almacenando a la vez los residuos generados de manera segura. En algunos ejemplos, el módulo de preparación de muestra 10200 está configurado para seguir la misma dispensación con un dispensador de lavado, dispensando por lo tanto el volumen del líquido almacenado (por ejemplo, aproximadamente 80%). En algunos ejemplos, el módulo de preparación de muestra 10200 está configurado para evitar que se produzca la elución a contraflujo de la membrana de filtro y suministrar el volumen (por ejemplo, aproximadamente 80%) del volumen eluido al destino diana. En algunos ejemplos, el módulo de preparación de muestra 10200 está configurado para no hacer que la solución de salida se contamine por reactivos anteriores (por ejemplo, como la muestra o lavado). En algunos ejemplos, el módulo de preparación de muestra 10200 está configurado para facilitar la operación por un usuario, requiriendo pocos pasos, sencillos, no empíricos, y con una cantidad de fuerza de accionamiento baja.

El módulo de preparación de muestra 10200 acepta primero una muestra de entrada a través del orificio de entrada 10211. Una tapa de orificio de entrada de muestra 10212 se coloca sobre el orificio de entrada 10211 para contener la muestra en su depósito 10210, para evitar derrames, y para permitir la manipulación exacta. En algunos ejemplos, la tapa del orificio de entrada 10212 puede incluir un bloqueo irreversible para evitar la reutilización del dispositivo y/o la adición de fluidos de muestra suplementarios. De esta manera, el módulo de preparación de muestra 10200 y/o el dispositivo dentro del cual se incluye el módulo puede usarse de manera adecuada por individuos sin formación.

Para accionar el módulo de preparación de muestra 10200, el usuario final empuja hacia abajo sobre un mango 10251, el cual es una parte de un montaje de almacenamiento y dispensación de reactivo de lavado 10250. El montaje 10250 desplaza todo el montaje del émbolo hacia el fondo del depósito de la muestra 10210 y de este modo fuerza la muestra a través de una serie de conductos hacia un montaje de filtro 10220. Una membrana de filtro 10221 captura el organismo/entidad diana permitiendo a la vez que el líquido restante fluya a su través hacia el tanque de lavado 10230. Una vez que se vacía sustancialmente toda la muestra desde el depósito de muestra 10210, la solución de lavado fluye a través del montaje de filtro 10220 en virtud del movimiento continuo del montaje de almacenamiento y dispensación 10250. La solución de lavado elimina tanto material no diana restante como es posible de la membrana de filtro 10221 y fluye hacia el tanque de residuos 10230. Después de completar el lavado, se acciona una válvula de empuje 10240 para abrir un conducto de salida 10241. El segundo montaje de almacenamiento y dispensación 10260 se acciona entonces usando el mango 10261. El movimiento inicial cierra el conducto que conecta el montaje de filtro 10220 al tanque de residuo 10230, y el movimiento continuo hace fluir la solución de elución a través del filtro 10220 y elimina el organismo diana de la membrana de filtro 10221, enviando la solución hacia un conducto de salida 10241 conectado a un módulo posterior (por ejemplo, un módulo de inactivación, no mostrado).

Haciendo referencia a las figuras 90 y 91, en algunos ejemplos, el montaje de almacenamiento y dispensación de reactivo de lavado 10250 incluye dos discos de sellado 10253 (disco de sellado superior), 10254 (disco de sellado inferior) alojados en un orificio cilíndrico 10252 para formar un depósito sellado. Una abertura formada como un orificio de llenado 10255 en el lado del orificio entre los dos sellos permite que el depósito se llene. La

abertura/orificio 10255 se sella con una película de sellado térmico (no mostrada) después de que se llene el depósito. Otra abertura formada como un orificio de salida 10257 debajo de los discos de sellado 10253, 10254 sirve como la salida para el reactivo almacenado. Un mango 10251 se coloca encima del disco de sellado superior 10253, de modo que cuando el mango 10251 se accione hacia abajo ambos sellos 10253, 10254 (y el líquido atrapado entre ellos) se desplazan hacia abajo en un orificio 10252 debido a la incompresibilidad del líquido. Una vez que el disco de sellado inferior 10254 se mueve más allá del orificio de salida 10257, sin embargo, se abre una nueva trayectoria para que el líquido escape, y en lugar de desplazar todo el montaje hacia abajo, el disco de sellado superior 10253 se desplaza, comprimiendo de este modo el depósito del líquido, y forzando al líquido hacia el orificio de salida 10257.

Haciendo referencia a las figuras 90 y 92, el montaje de almacenamiento y dispensación del reactivo de eluyente 10260 contiene al menos algunos de los mismos componentes que el montaje de almacenamiento y dispensación de reactivo de lavado 10250, pero difiere al menos en el sentido de que el montaje 10260 almacena el reactivo de eluyente aguas abajo del montaje de filtro 10220. El sello de disco inferior (10254') sobre el lado de elución del montaje 10260 también actúa como una válvula normalmente abierta para el filtro hacia el conducto fluido de residuos. Una vez que este sello inferior se desplaza a lo largo del orificio de salida 10241' en su orificio 10252', sirve para segregar la trayectoria fluida entre el conducto de salida y el lugar de residuos más alejado en el orificio.

A través de la manipulación de las posiciones de partida iniciales de los sellos de disco (10253', 10254'), el volumen total de cada uno de los depósitos de reactivo puede modificarse. La manipulación de volumen de llenado para cada uno de los reactivos, y del volumen transferido por el módulo de preparación de muestra puede permitir también minimizar o maximizar el volumen de aire en el depósito. Combinada con la orientación del módulo durante la operación, esta puede usarse para crear una "purga de aire" del filtro 10221 en cualquier etapa deseada, o usarse para eliminar sustancialmente la interacción del aire con el filtro 10221.

En algunos ejemplos, el módulo 10200 puede hacerse funcionar con la abertura de llenado/orificio de entrada de muestra 10211 orientado hacia arriba, de modo que cualquier aire restante en el depósito de entrada de muestra 10210 quede atrapado en la parte superior de la cavidad de entrada cuando el módulo se haga funcionar. El volumen de reactivos dispensados hacia los depósitos de almacenamiento puede calibrarse para dejar tan poco volumen de aire como sea posible en aquellas cámaras. De esta manera, el módulo de preparación de muestra 10200 puede usarse de tal manera que minimice el volumen de aire.

En otros ejemplos, (por ejemplo, aquellos dirigidos a maximizar el volumen de aire), el módulo 10200 puede usarse con los mangos de operación 10251 orientados hacia arriba (la muestra puede aún introducirse desde cualquier orientación). Con los volúmenes involucrados, esto forzaría al aire hacia la parte superior de cada uno de los depósitos de reactivo, y esto permitiría que sustancialmente todo el reactivo se dispense primero antes de que se empuje una bala de aire a su través. Para los reactivos almacenados, el volumen de llenado sería ajustado para dejar una cantidad apropiada de volumen de aire en el depósito.

Haciendo referencia a la figura 90, el montaje de filtro 10220 incluye cualquier membrana adecuada 10221. La membrana puede ser cualquier material de membrana adecuada, y puede construirse de cualquier manera tal como se describe en el presente documento. En algunos ejemplos, los alojamientos 10222, 10223 pueden soldarse ultrasónicamente en conjunto para tensar correctamente la membrana de filtro 10221. Los alojamientos 10222, 10223 también están configurados para dispensar el líquido hacia fuera sobre toda el área de la membrana de filtro 10221, en lugar de permitir que el líquido fluya directamente a través del centro. El alojamiento superior 10223 incluye un conducto (no mostrado) para devolver el líquido nuevamente al plano del alojamiento inferior después de pasar a través de la membrana de filtro 10221.

Aunque el montaje del calentador 6630 del módulo de amplificación 6600 se describió anteriormente como si incluyera un solo elemento o construcción (que puede incluir cualquier número de elementos de calentamiento para producir las zonas de calentamiento deseadas tal como se describió anteriormente), en otros ejemplos, un montaje de calentador puede construirse de múltiples calentadores, abrazaderas, dispersadores de calor, sujetadores o similares. Por ejemplo, las figuras 93-95 muestran un módulo de amplificación 10600 según un ejemplo. El módulo de amplificación 10600 puede recibir una muestra de entrada en relación con cualquier dispositivo adecuado (tal como los dispositivos de prueba de diagnóstico 6000, 7000, 8000, 9000 o cualquier otro dispositivo mostrado y descrito en el presente documento), y amplificar la muestra para usarse en los módulos posteriores.

Tal como se ilustra en las figuras 93-95, el módulo de amplificación 10600 está configurado para realizar una reacción de PCR sobre una entrada del ADN diana mezclado con los reactivos requeridos. El módulo de amplificación 10600 incluye un chip fluido de patrón serpenteante 10610, una construcción de placa caliente 10620, una construcción de disipación de calor 10630, estructura de soporte y sujeción 10640 para montar todos los componentes, e interconexiones fluidas y eléctricas (no mostradas) para conectarse a los módulos circundantes.

En algunos ejemplos, el módulo de amplificación 10600 está configurado para realizar la amplificación por PCR rápida de una diana de entrada. En algunos ejemplos, el módulo de amplificación 10500 está configurado para generar un número de copias de salida que alcance o exceda el umbral de sensibilidad del módulo de detección 10600, tal como se describe en el presente documento. En algunos ejemplos, el volumen de salida es suficiente para llenar completamente la cámara de detección en el módulo de detección 10600. En algunos ejemplos, el módulo de amplificación 10600 emplea un esquema de control de punto fijo constante – por ejemplo, los calentadores se alimentan para controlar un punto fijo y el punto fijo no cambia a través del proceso. La amplificación se realiza siempre que los reactivos estén presentes y la velocidad de flujo de entrada sea correcta. En algunos ejemplos, el módulo de amplificación 10600 consume energía mínima, permitiendo que todo el dispositivo 10000 se alimente por baterías (por ejemplo, por una batería de 9 V), de manera similar al dispositivo 6000 descrito anteriormente.

En uso, la amplificación se realiza por el movimiento del fluido a través de un chip fluido serpenteante 10610 mantenido en contacto con una construcción de placa caliente 10620 durante lo cual el fluido dentro del chip pasa a través de zonas de temperatura alternadas. En algunos ejemplos, el chip fluido serpenteante 10610 está en contacto fijo con la construcción de placa caliente 10620, mientras que en otros ejemplos, el chip fluido serpenteante 10610 está en contacto extraíble con la construcción de placa caliente 10620.

La construcción de placa caliente 10620 calienta las zonas para corregir las temperaturas, mientras que la construcción de disipación de calor 10630 lleva energía térmica lejos de las áreas cerca de las zonas calientes, permitiendo de este modo que el líquido se enfríe tras su salida. Una vez que el chip 10610 se llena con líquido, cualquier líquido que emerja del lado de salida ha experimentado PCR (siempre que el volumen total de líquido recogido de la salida sea menor o igual al volumen de “salida”). La salida del módulo fluye directamente hacia el módulo de detección (por ejemplo, el módulo de detección 6800 descrito anteriormente).

Tal como con el elemento de flujo 6610 descrito anteriormente, el chip fluido serpenteante 10610 tiene dos patrones serpenteantes moldeados en él – el patrón de amplificación y el patrón de arranque en caliente. El chip 10610 está tapado con una tapa de plástico delgado 10613 (“tapa de chip serpenteante”) la cual se une con un adhesivo sensible a la presión (no identificada en la figura). La tapa 10613 permite el flujo fácil de energía térmica desde la placa caliente 10620. El chip 10610 también contiene elementos para permitir que otras partes del montaje (como la placa caliente) se alineen correctamente con los elementos sobre el chip, así como elementos para permitir que las conexiones fluidas se unan correctamente.

El montaje de placa caliente 10620 está hecho de cuatro construcciones de calentador/detector/dispersador de calor diferentes 10621 (una construcción), 10622 (una construcción), 10623 (dos construcciones). La configuración y alineación por acoplamiento de esas determina las áreas de las zonas de temperatura sobre el chip fluido 10610. Las construcciones de calentador individuales se controlan a un punto fijo predeterminado por el módulo electrónico. Cada construcción tiene un calentador de resistencia con un elemento detector integrado el cual, cuando se conecta al módulo electrónico, permite que la temperatura del dispersador de calor unido se regule al punto fijo correcto. Existen dos construcciones “calientes” -la construcción de zona de arranque en caliente 10621, y la construcción de la zona central 10622, y dos construcciones “frías” – las dos construcciones de zonas laterales idénticas 10623.

La construcción de disipación de calor 10630 incluye piezas de material conductor unidas al lado del chip serpenteante opuesto a la placa caliente. Tal como se ilustra mejor en la ilustración esquemática de la figura 94, estas permiten que algo de la energía térmica que el líquido lleva de la zona caliente central se disipe, permitiendo de este modo que la temperatura en la zona “fría lateral” se regule.

Aunque el módulo de transferencia de fluidos 6400 se muestra y se describe anteriormente como si incluyera dos partes de barril dentro de un alojamiento construido monolíticamente, en otros ejemplos, un módulo de transferencia de fluido puede incluir dos montajes de barril construidos por separado que se acoplan juntos mediante un elemento de armazón. En otros ejemplos más, un módulo de transferencia de fluido puede incluir un solo diseño de barril, en el cual el único barril funciona para desplazar la muestra a través de los módulos de mezclado y amplificación, y también funciona para extraer el vacío a través del módulo de detección (tal como se describió anteriormente). Por ejemplo, las figuras 96-99 muestran un módulo de transferencia de fluido 11400 según un ejemplo. El módulo de transferencia de fluido 11400 funciona para aspirar una muestra de fluido, almacenar el fluido durante un periodo de incubación en caliente, eliminar el gas residual del barril de la jeringa, y entonces dispensar el fluido (por ejemplo, a un módulo de amplificación) a una velocidad constante contra una presión de cabeza variable.

En uso, un accionador lineal se conecta al émbolo 11415 o el reborde 11462 para accionar el “pistón” hacia dentro y hacia fuera del barril 11410. La secuencia de acciones para usar el dispositivo son las siguientes: inicialmente, el pistón 11415 se dispone en el barril de jeringa 11410. Cuando el pistón 11415 se retrae, se crea un vacío dentro del barril de jeringa 11410 haciendo que entre fluido a través del orificio de entrada de muestra 11420 desde una cámara de mezclado, una cámara de inactivación, un filtro o cualquier otra parte aguas arriba del módulo de preparación de muestra. Una vez que el pistón 11415 está retraído completamente (véase la figura 98) y el barril

11410 se llena con muestra, se detiene el movimiento. En algunos ejemplos, el calentador de cámara 11495 lleva la muestra a 95C inactivando efectivamente la enzima de lisado. Después de la incubación, se interrumpe el calor y el accionador lineal (no mostrado) cambia de dirección y el pistón 11415 se mueve nuevamente hacia el barril de jeringa 11410. La cabeza de émbolo 11417 empuja sobre el fluido en el barril 11410 y cualquier gas atrapado en él se fuerza a través de una válvula de retención del tipo de charnela de presión de ruptura baja 11491 y que sale a través de un filtro de ventilación hidrofóbico 11492 montado en el alojamiento de válvula de filtro 11464. Tan pronto como el fluido entra al filtro 11492, la naturaleza hidrofóbica del material evita que el líquido pase a su través y quede efectivamente bloqueado. Cuando el pistón 11415 se acciona aún más hacia el barril 11410 (véase la figura 99), todo el gas dentro de la muestra se empuja hacia fuera y la muestra líquida se fuerza ahora a través de la válvula de retención de pico de pato de presión de ruptura mayor 11424 montada dentro de la cabeza de émbolo 11417, y que sale de la jeringa a través del eje de accionamiento de pistón hueco 11415 y hacia el conector del tubo de PCR 11430 y sobre el módulo de amplificación (no mostrado).

Después del ciclo de dispensación de PCR, el módulo de transferencia de fluido 11400 se usa nuevamente para producir un vacío dirigido para desplazar fluidos a través del módulo de detección (no mostrado), de una forma similar a la descrita anteriormente. Para redirigir el vacío hacia el módulo de detección, la válvula deslizante en forma de hueso de perro normalmente cerrada 11454 se abre en el orificio de entrada de vacío 11450. Este orificio permanece abierto durante el resto de la prueba. Tal como se describió anteriormente, un sistema de válvula (por ejemplo, el sistema de válvula 6340) puede aplicar secuencialmente el vacío a los reactivos para producir el flujo deseado a través del módulo de detección.

Aunque se han descrito varias modalidades anteriormente, deberá comprenderse que se han presentado a modo de ejemplo únicamente, y sin limitación. Donde los métodos y/o esquemas descritos anteriormente indican ciertos acontecimientos y/o patrones de flujo que se producen en cierto orden, el orden de ciertos acontecimientos y/o patrones de flujo puede modificarse. Aunque los ejemplos se han mostrado y descrito de manera particular, deberá comprenderse que pueden realizarse varios cambios en la forma y detalles.

Los dispositivos y métodos descritos en el presente documento no se limitan a realizar una prueba de diagnóstico molecular sobre muestras humanas. En algunos ejemplos, cualquiera de los dispositivos y métodos descritos en el presente documento puede usarse con muestras veterinarias, muestras de alimentos y/o muestras ambientales.

Aunque los montajes de transferencia de fluidos se muestran y se describen en el presente documento como si incluyeran una bomba de pistón (o jeringa), en otros ejemplos, puede usarse cualquier otra bomba adecuada. Por ejemplo, en algunos ejemplos cualquiera de los montajes de transferencia de fluidos descritos en el presente documento puede incluir cualquier dispositivo de transferencia de fluido de desplazamiento positivo adecuado, tal como una bomba de engranajes, una bomba de paletas, y/o similares.

Aunque el montaje de filtro 6230 mostrado y descrito anteriormente incluye una válvula de control integral (por ejemplo, que incluye un brazo de válvula 6290), en otros ejemplos, un dispositivo puede incluir un montaje de filtro y un montaje de válvula que se construyen por separado y/o están separados.

Algunos ejemplos descritos en el presente documento se refieren a un producto de almacenamiento informático con un medio legible por ordenador no transitorio (también puede denominarse medio legible por un procesador, no transitorio) que tiene instrucciones o código informático en él para realizar varias operaciones implementadas por ordenador. El medio legible por ordenador (o medio legible por un procesador) no es transitorio en el sentido de que no incluye señales de propagación transitorias *per se* (por ejemplo, una onda electromagnética que se propague que lleve información sobre un medio de transmisión tal como el espacio o un cable). Los medios y código informático (también pueden denominarse código) pueden ser aquellos diseñados y contruidos para el propósito o propósitos específicos. Los ejemplos de medios legibles por ordenador no transitorios incluyen, pero no se limitan a: medio de almacenamiento magnético tal como discos duros, discos flexibles, y cinta magnética; medios de almacenamiento ópticos tales como disco compacto/discos de vídeo digital (CD/DVD), memorias de solo lectura de disco compacto (CD-ROM), y dispositivos holográficos, medios de almacenamiento magnetoópticos tales como discos ópticos; módulos de procesamiento de señales de onda portadora; y dispositivos de hardware que se configuren especialmente para almacenar y ejecutar código de programa, tal como circuitos integrados para aplicaciones específicas (ASIC), dispositivos lógicos programables (PLD), dispositivos de memoria de solo lectura (ROM) y de memoria de acceso aleatorio (RAM).

Los ejemplos de código informático incluyen, pero no se limitan a, microcódigo o microinstrucciones, instrucciones de máquina, tal como las producidas por un compilador, código usado para producir un servicio de red, y archivos que contienen instrucciones de nivel más alto que se ejecutan por un ordenador usando un intérprete. Por ejemplo, los ejemplos pueden implementarse usando lenguajes de programación imperativos (por ejemplo, C, Fortran, etc.), lenguajes de programación funcionales (Haskell, Erlang, etc.), lenguajes de programación lógicos (por ejemplo, Prolog), lenguajes de programación orientados a objetos (por ejemplo, Java, C++, etc.) u otros lenguajes de programación y/o herramientas de desarrollo adecuadas. Los ejemplos adicionales de código informático incluyen, pero no se limitan a, señales de control, código encriptado, y código comprimido.

El organismo de control positivo puede almacenarse en cualquier parte adecuada de cualquiera de los dispositivos mostrados y descritos en el presente documento. Por ejemplo, haciendo referencia al dispositivo 6000, en algunos ejemplos, el organismo de control positivo puede ser una perla liofilizada que se localice en el volumen de muestra 6174 y se rehidrate a medida que se agrega la muestra. En tales ejemplos, el organismo de control no se usa para verificar la idoneidad de la muestra. En su lugar, la idoneidad de la muestra se verificaría visualmente por el usuario verificando el volumen de muestra en la pipeta de muestra 1110, tal como se describió anteriormente. En otros ejemplos, el gránulo de organismo de control positivo puede colocarse en una trayectoria fluidica que conduzca hacia fuera del volumen de muestra 6174 en un lugar específico. En tales ejemplos, si está presente más de una cantidad deseada de muestra (por ejemplo, aproximadamente 300 μL), entonces una parte de la muestra rehidratará el gránulo de control apropiadamente. Si, por ejemplo, está presente menos de la cantidad deseada de muestra (por ejemplo, aproximadamente 300 μL), entonces el gránulo de control no se rehidratará y dará como resultado una señal no válida (sin control sobre el punto de control positivo) al final del ensayo (a menos que se detecte uno de los organismos diana). De esta manera, la localización del organismo de control puede verificar la idoneidad del volumen de muestra. En otros ejemplos más, el gránulo de organismo de control puede colocarse en un dispositivo de transferencia de muestra (por ejemplo, el dispositivo 1100) de tal manera o en una posición que si es menor que una cantidad deseada de muestra (por ejemplo, aproximadamente 300 μL), se transfiera al gránulo de modo que no se rehidrate suficientemente. Esta disposición también dará como resultado una señal no válida (sin color sobre el punto de control positivo) al final del ensayo (a menos que se detecte uno de los organismos diana).

Aunque se han descrito varios ejemplos como si tuvieran elementos y/o combinaciones de componentes, son posibles otros ejemplos que tengan una combinación de cualquier elemento y/o componentes de cualquiera de los ejemplos comentados anteriormente.

Por ejemplo, cualquiera de los dispositivos mostrados y descritos en el presente documento pueden incluir un procesador (tal como el procesador 4950 mostrado y descrito anteriormente), y pueden incluir un dispositivo de memoria configurado para recibir y almacenar información, tal como una serie de instrucciones, código legible por un procesador, una señal digitalizada, o similar. El dispositivo de memoria puede incluir uno o más tipos de memoria. Por ejemplo, el dispositivo de memoria puede incluir un componente de memoria de solo lectura (ROM) y un componente de memoria de acceso aleatorio (RAM). El dispositivo de memoria también puede incluir otros tipos de memoria adecuados para almacenar datos de una forma recuperable por el procesador, por ejemplo, memoria de solo lectura programable electrónicamente (EPROM), memoria de solo lectura programable electrónicamente borrrable (EEPROM), o memoria flash.

Tal como otro ejemplo, cualquiera de los dispositivos mostrados y descritos en el presente documento puede incluir una luz indicadora, tal como la luz indicadora de LED mostrada y descrita anteriormente con respecto al dispositivo 8000. El indicador de luz puede incluir, por ejemplo, dos LED (uno verde y uno rojo) que se iluminen para indicar varias operaciones, incluyendo un acontecimiento de "encendido" exitoso, notificación de que la prueba está en proceso; notificación de que la prueba se completó y/o que puede leerse el dispositivo; y/o un mensaje de error.

REIVINDICACIONES

1. Dispositivo de prueba de diagnóstico molecular portátil (1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000), que comprende:
5 un alojamiento (6010) que define una abertura de detección (6011);
un módulo de amplificación (6600) configurado para recibir una muestra de entrada, incluyendo el módulo de amplificación un elemento de flujo (6610) y un calentador (6630), definiendo el elemento de flujo una trayectoria de flujo (6618), el módulo de amplificación configurado para realizar una reacción en cadena de la polimerasa para amplificar un ácido nucleico diana dentro de la muestra de entrada para producir un amplicón diana; y
10 un módulo de reactivo (6700) dispuesto dentro del alojamiento, conteniendo el módulo de reactivo un reactivo (R4, R6) formulado para producir una señal visible (OP1) que indica una presencia del amplicón diana;
15 un módulo de detección (6800) que define un canal de detección (6612) que recibe una salida producida por el módulo de amplificación, incluyendo el módulo de detección una superficie de detección (6821) configurada para retener el amplicón diana de modo que, cuando el módulo de detección contiene el reactivo, la señal visible se produce desde la superficie de detección, caracterizado porque:
20 el calentador está acoplado al elemento de flujo de modo que el calentador y la trayectoria de flujo se cruzan en múltiples lugares;
25 el dispositivo de prueba de diagnóstico molecular portátil es un dispositivo autónomo para detectar el ácido nucleico diana;
30 el módulo de amplificación está dentro del alojamiento; y
el módulo de detección se sitúa dentro del alojamiento de modo que la señal visible desde la superficie de detección pueda verse mediante la abertura de detección del alojamiento.
35 2. Dispositivo de prueba de diagnóstico molecular portátil según la reivindicación 1, en el que el módulo de detección incluye una célula de flujo de detección (6810) y un calentador de resistencia (6840) que está acoplado a la célula de flujo de detección y tiene un detector integrado, definiendo la célula de flujo de detección el canal de detección (6812) a través del cual la salida producida por el módulo de amplificación fluye a través de la superficie de detección.
40 3. Dispositivo de prueba de diagnóstico molecular portátil según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el dispositivo de prueba de diagnóstico molecular portátil es un dispositivo desechable de un solo uso para detectar el ácido nucleico diana.

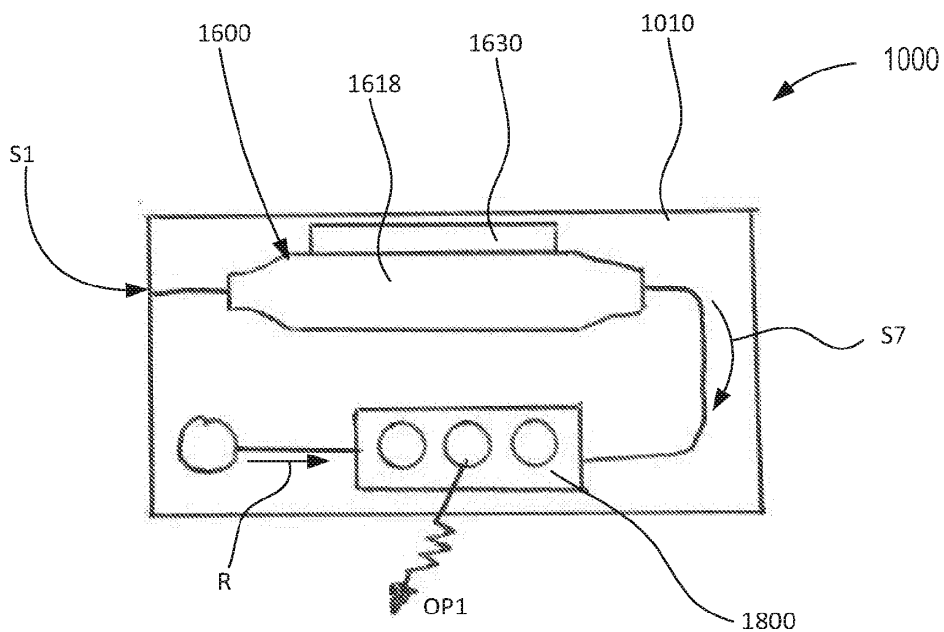


FIG. 1

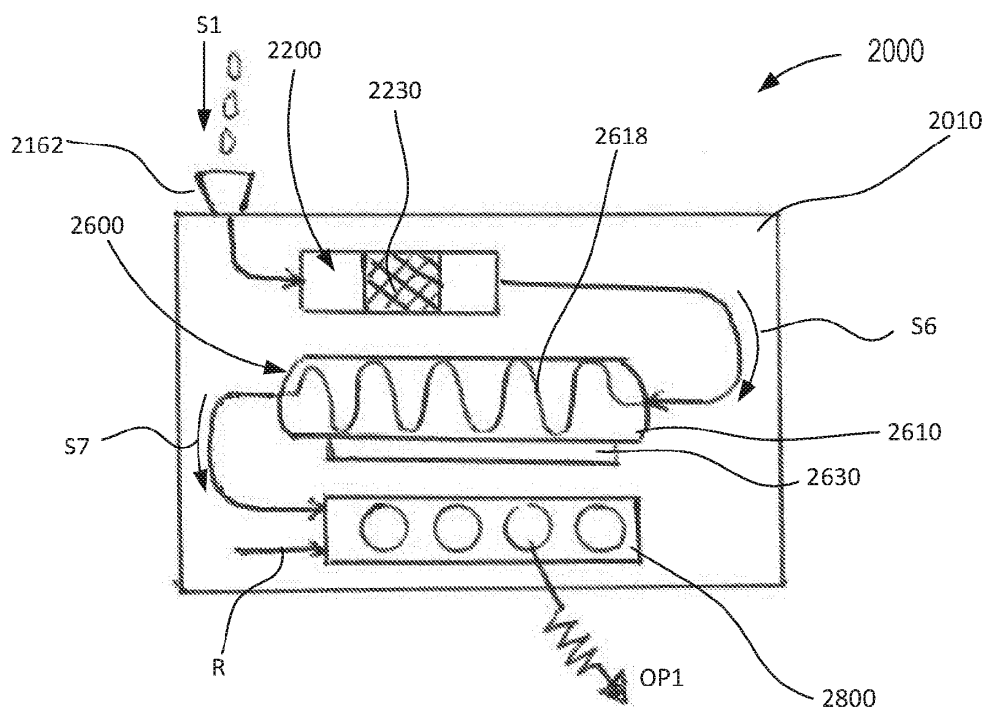
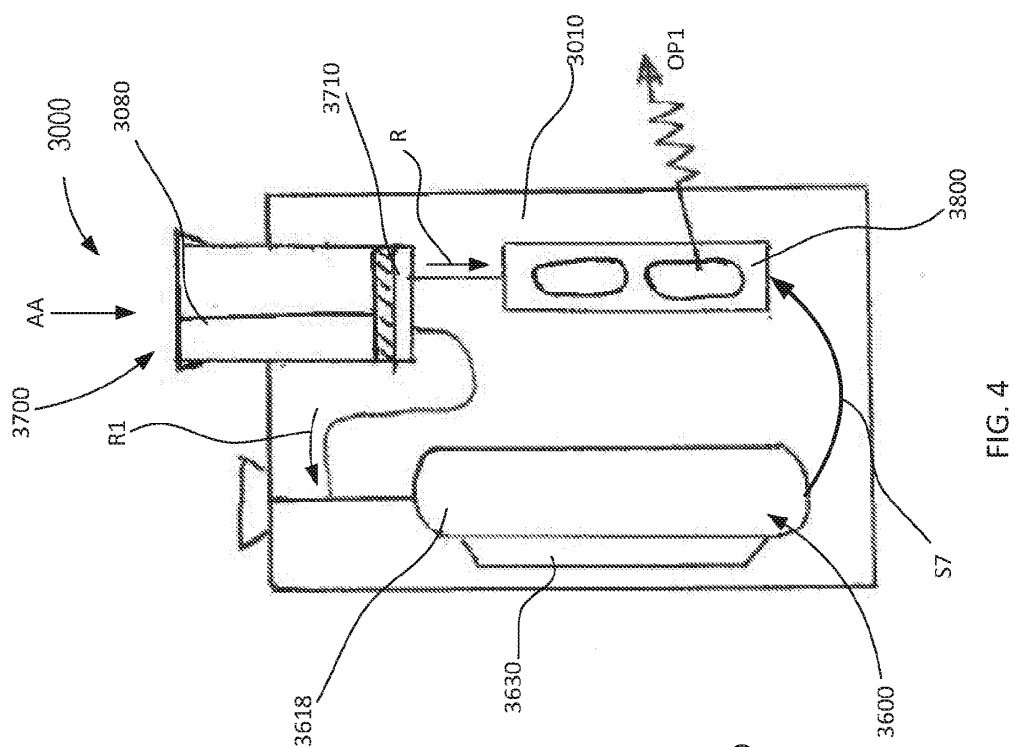
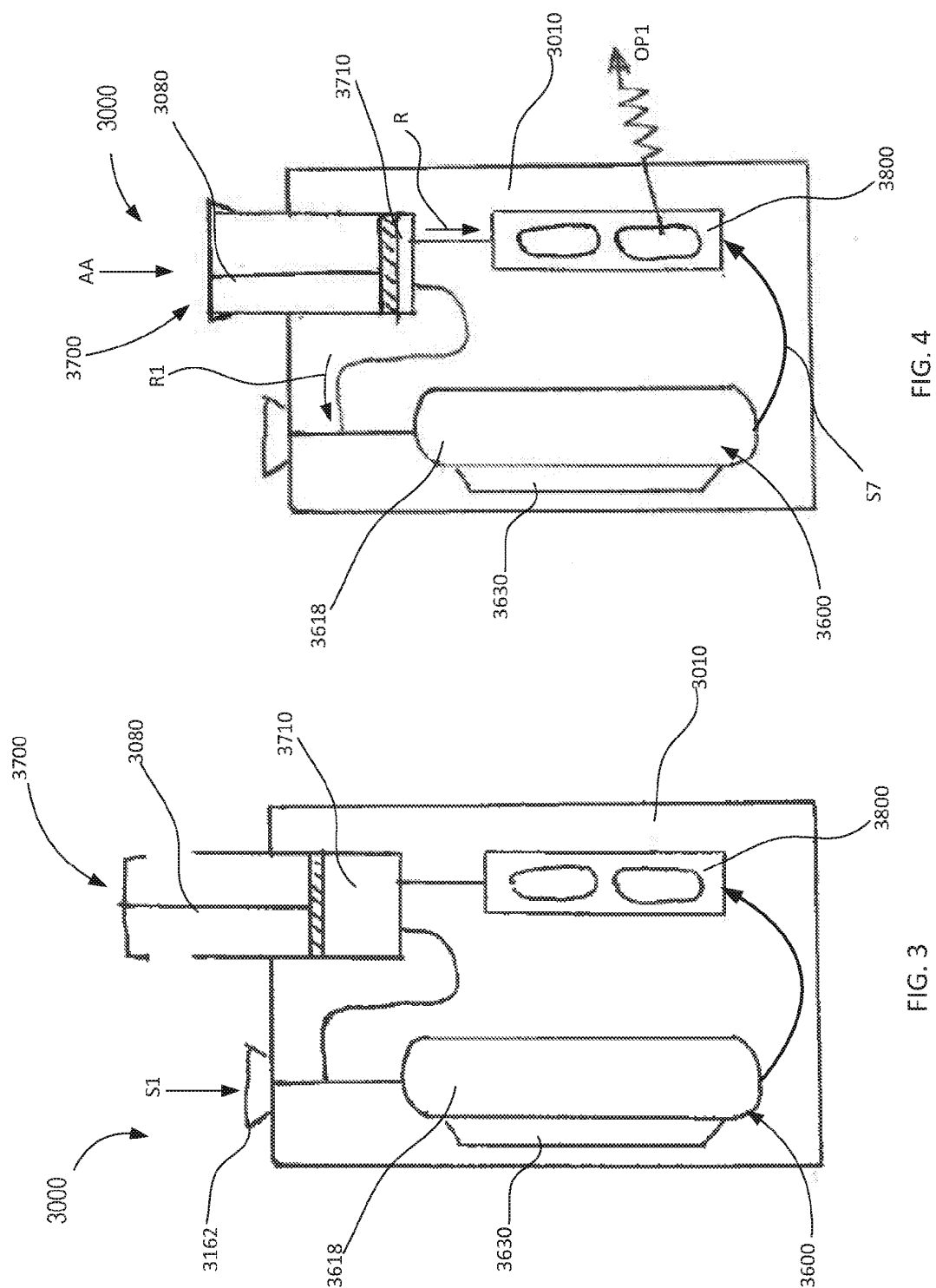


FIG. 2



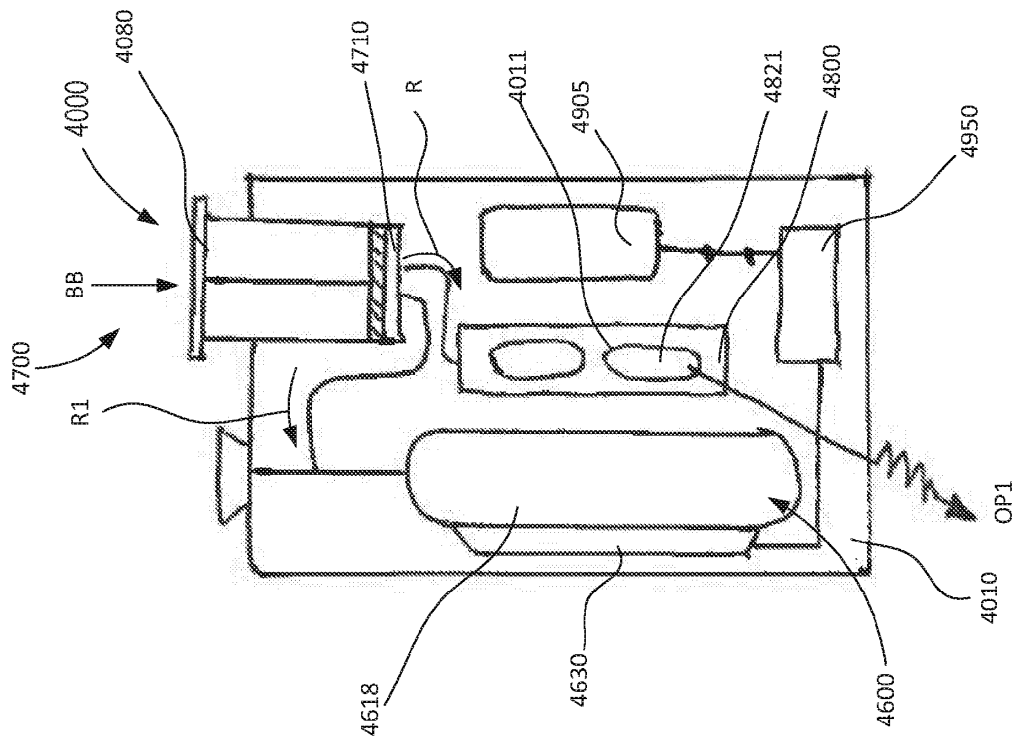


FIG. 6

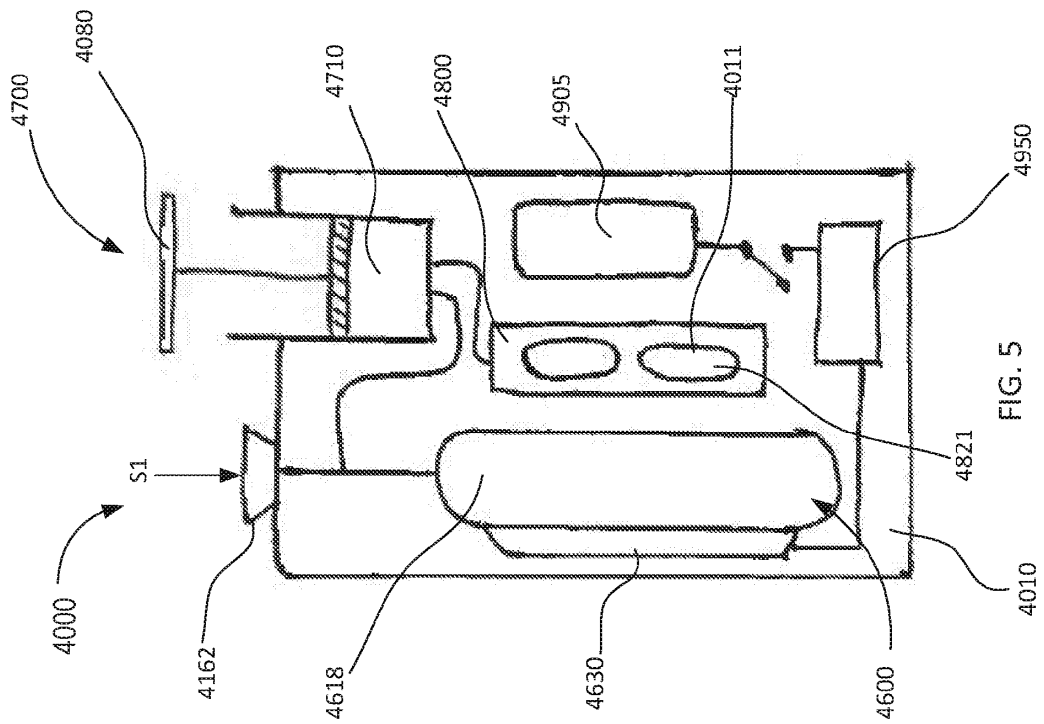


FIG. 5

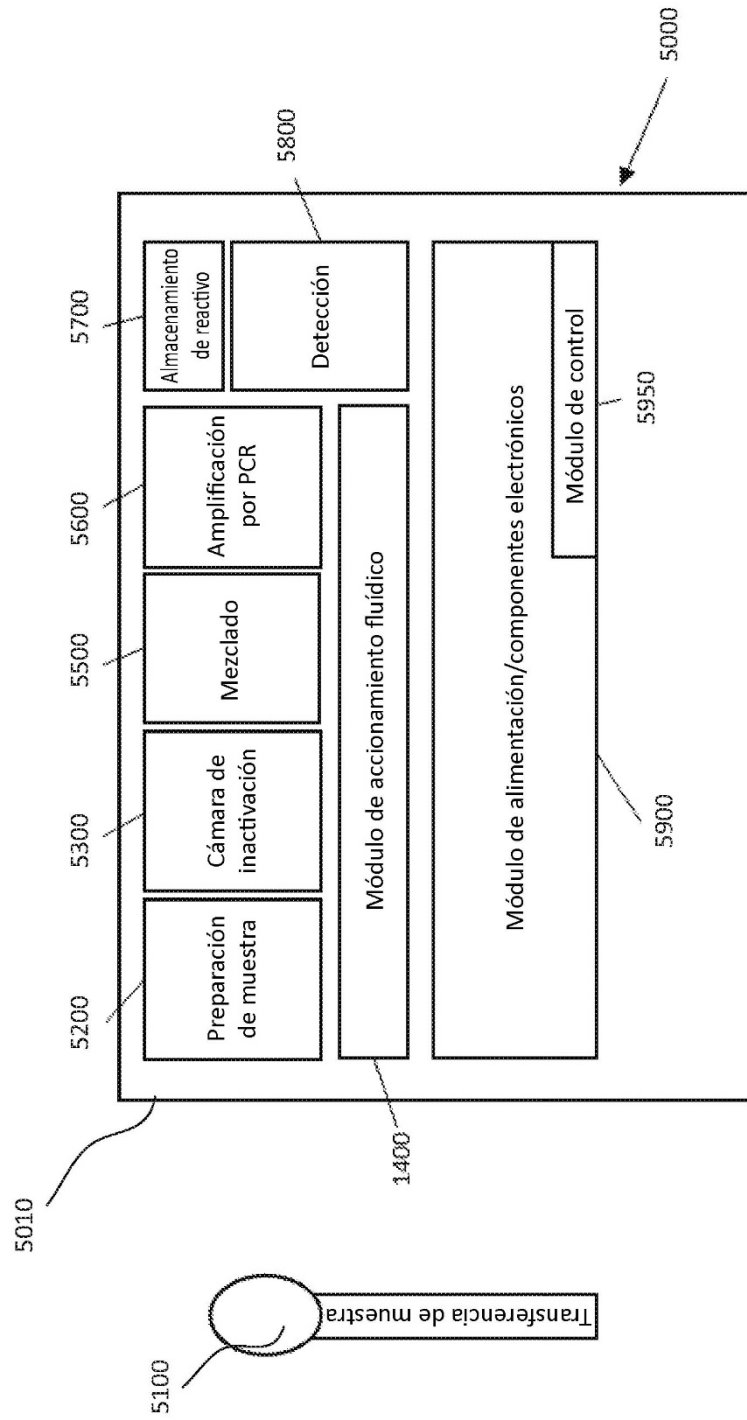


FIG. 7

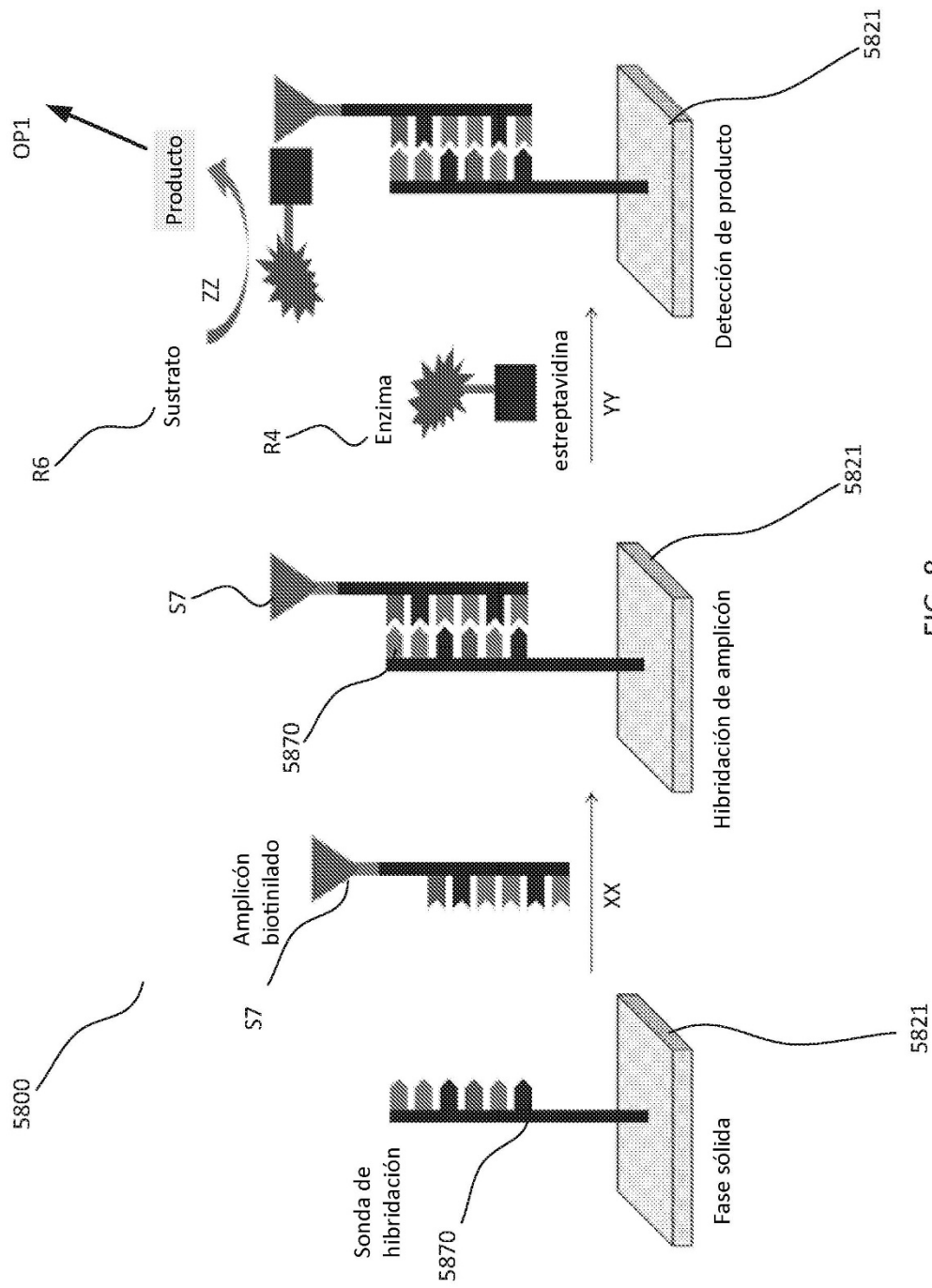


FIG. 8

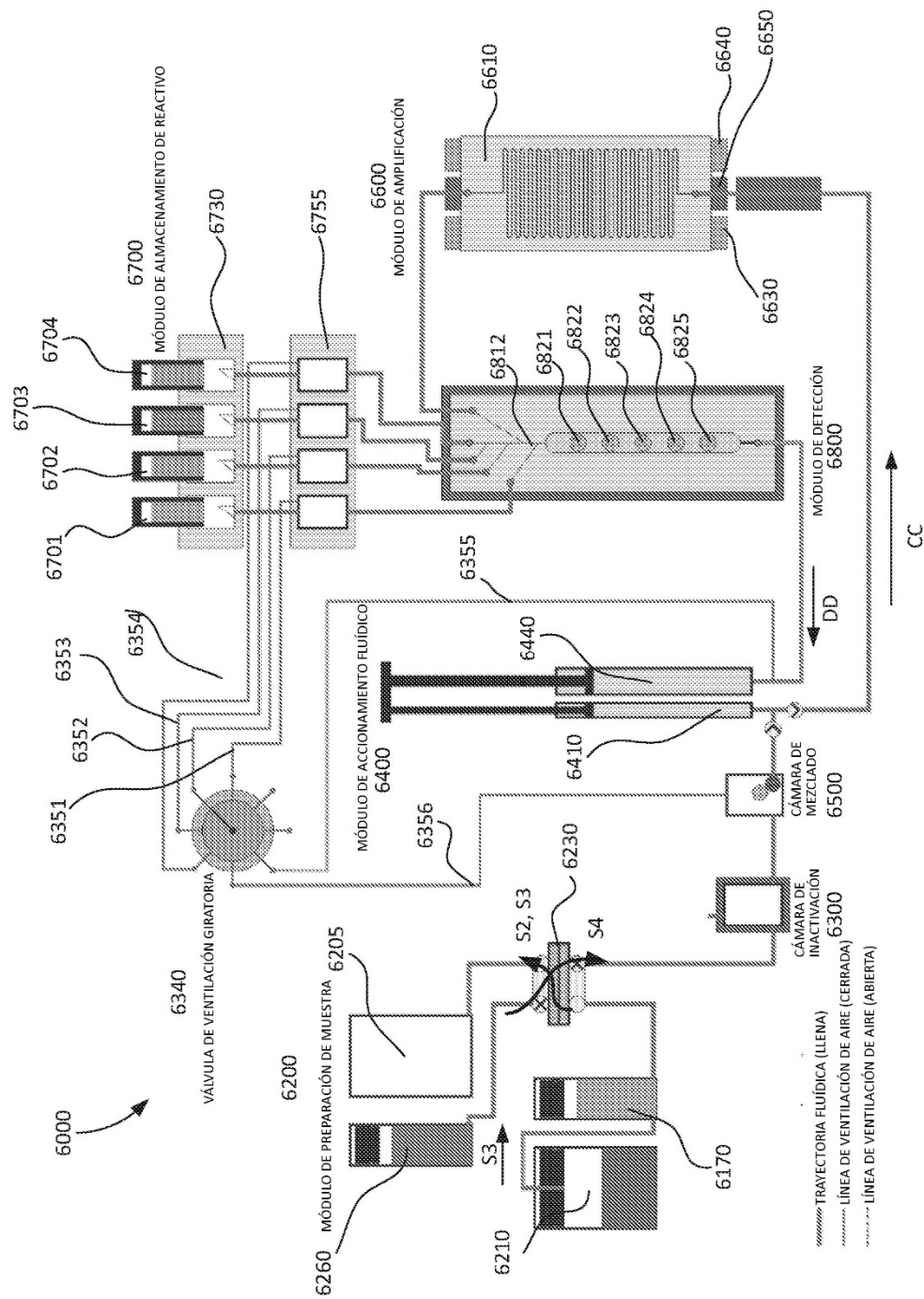
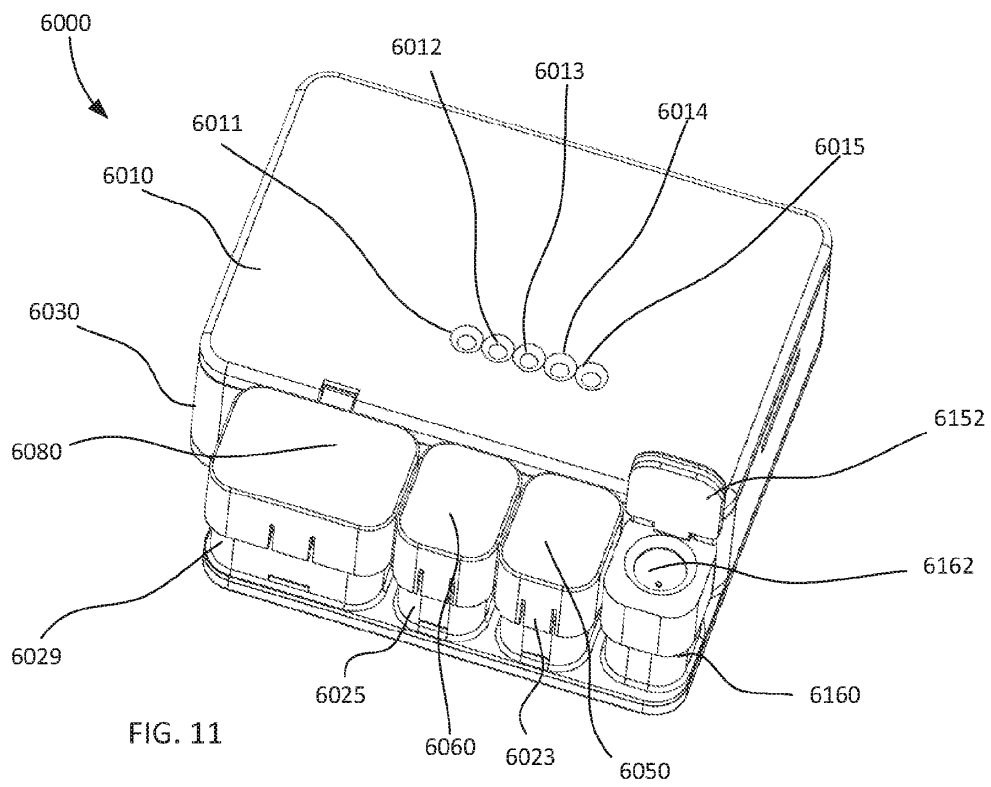
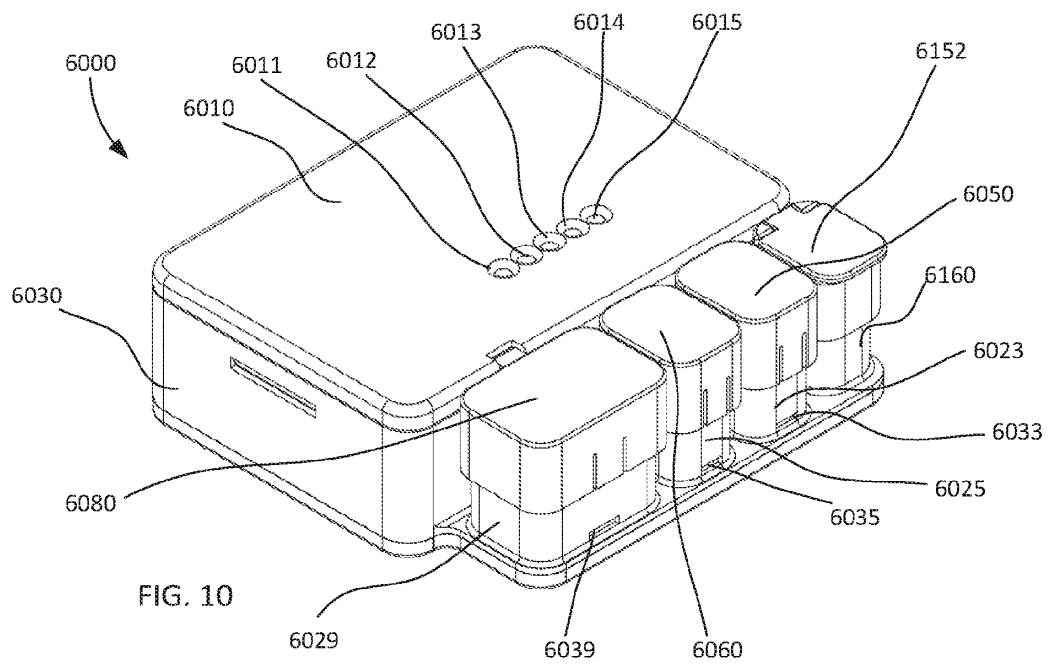
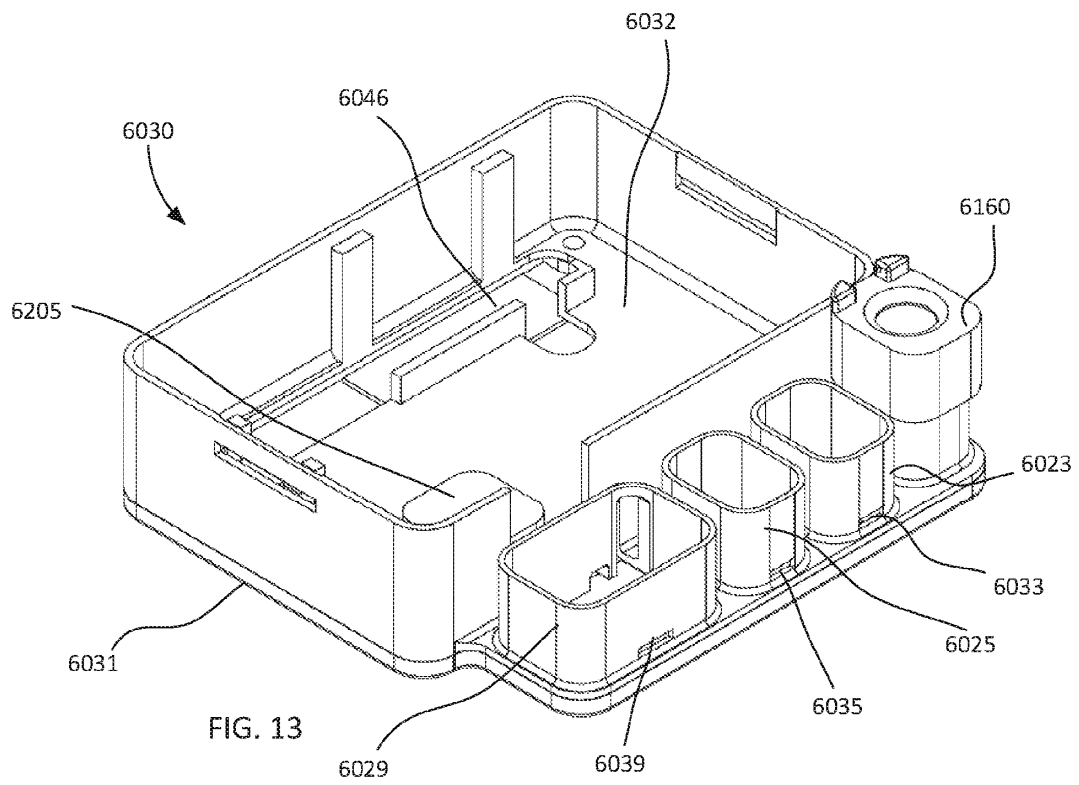
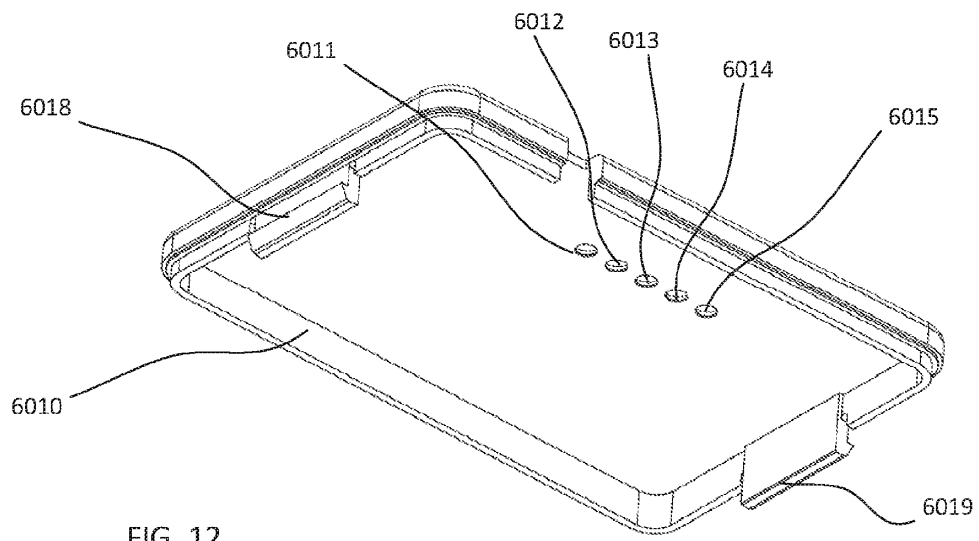


FIG. 9





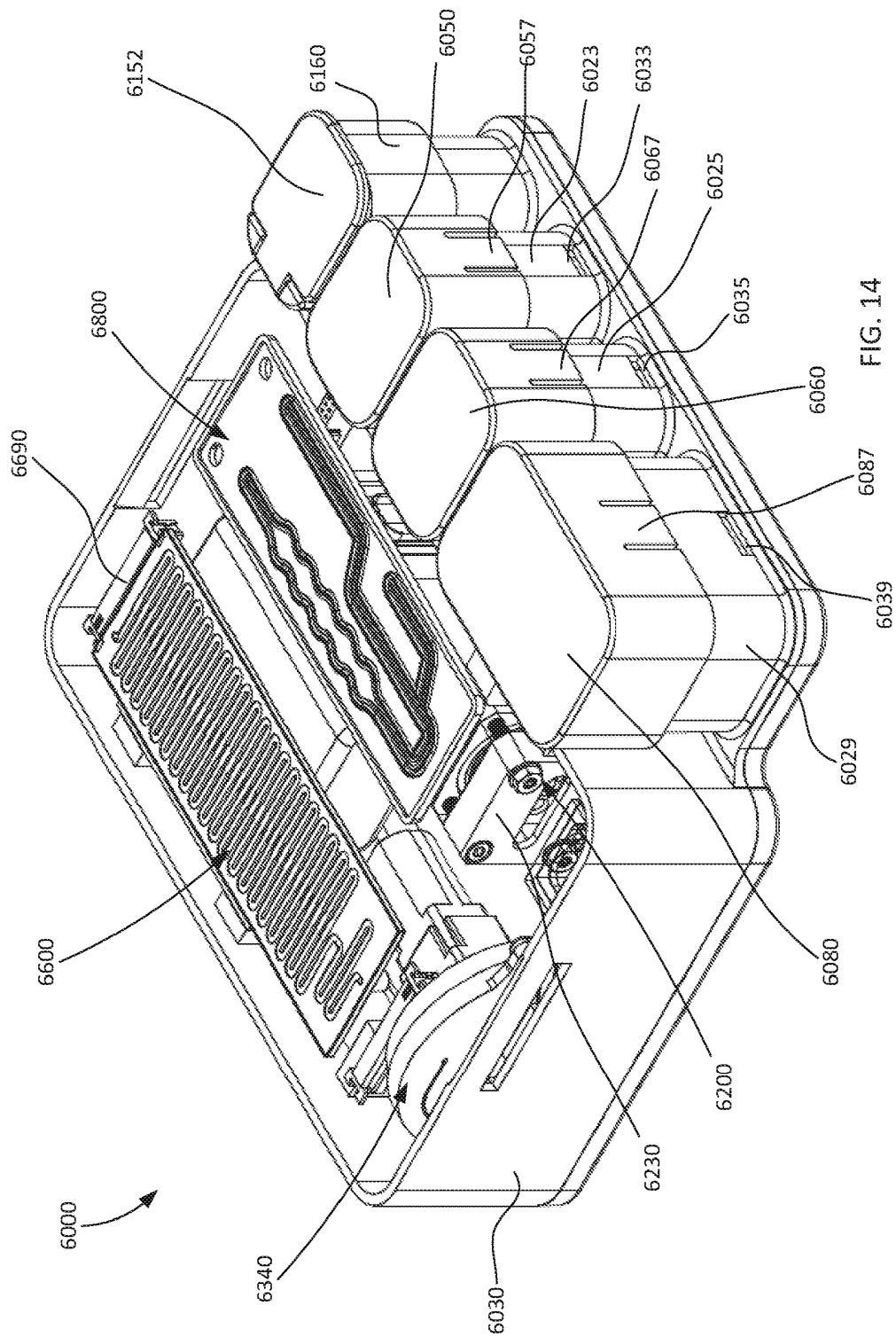


FIG. 14

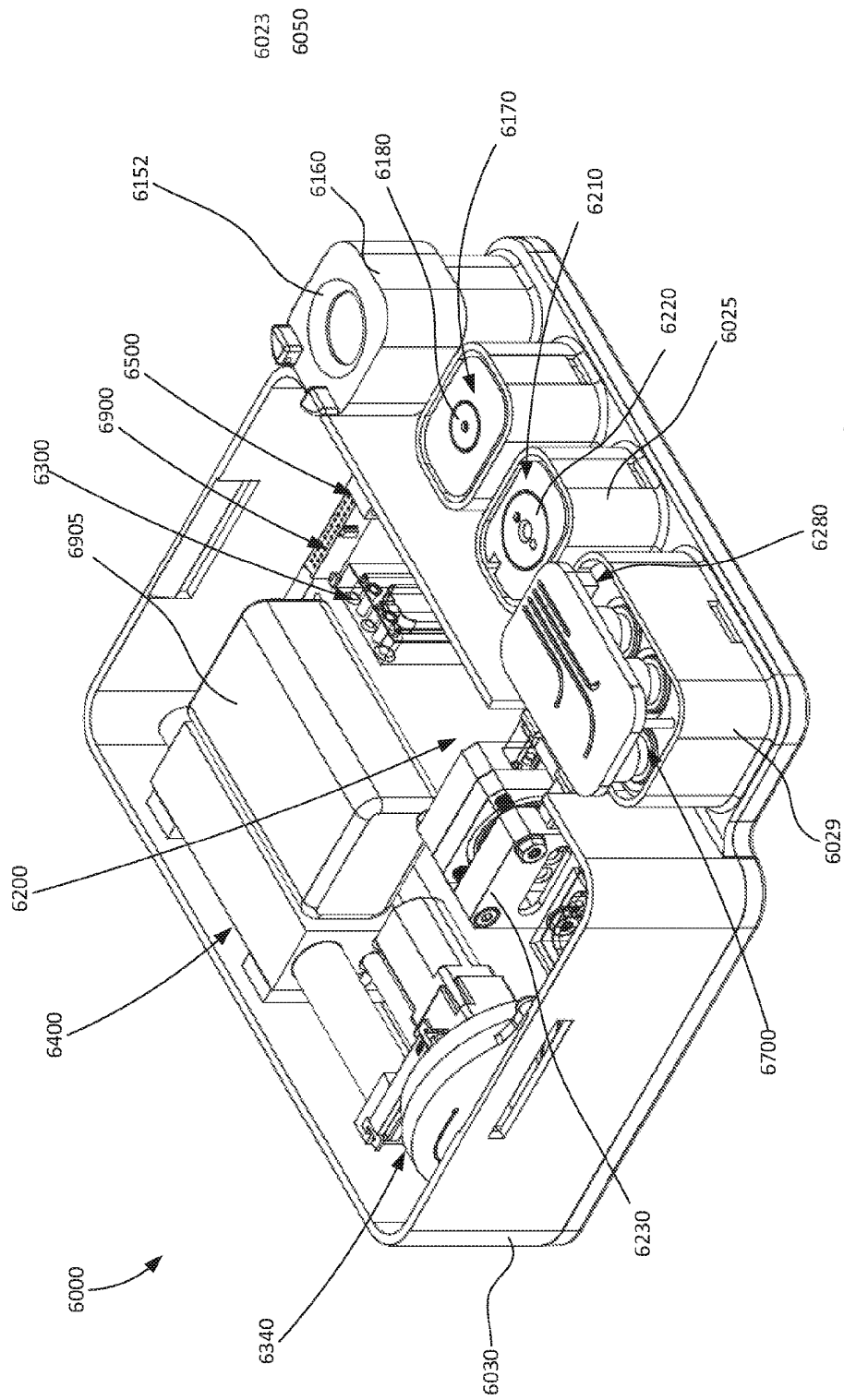


FIG. 15

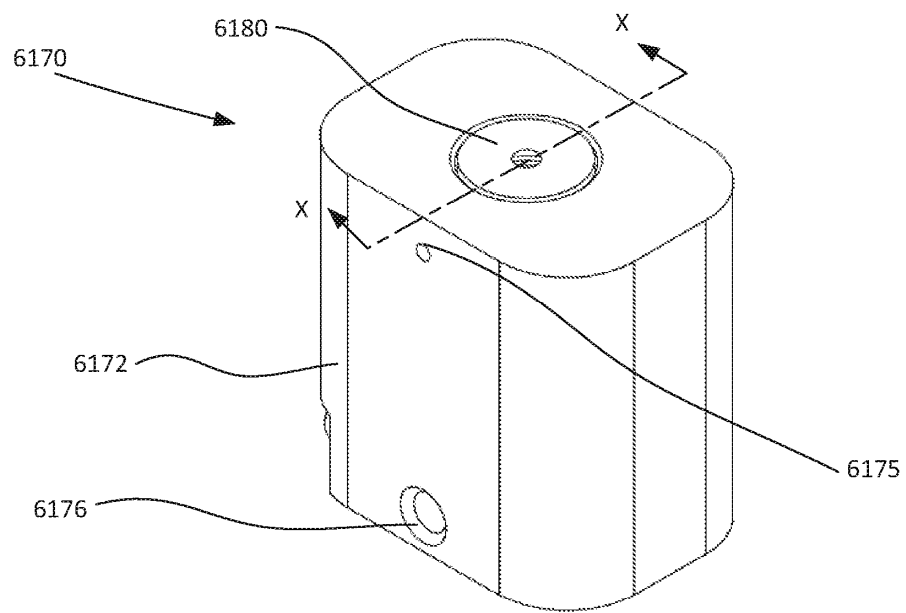


FIG. 16

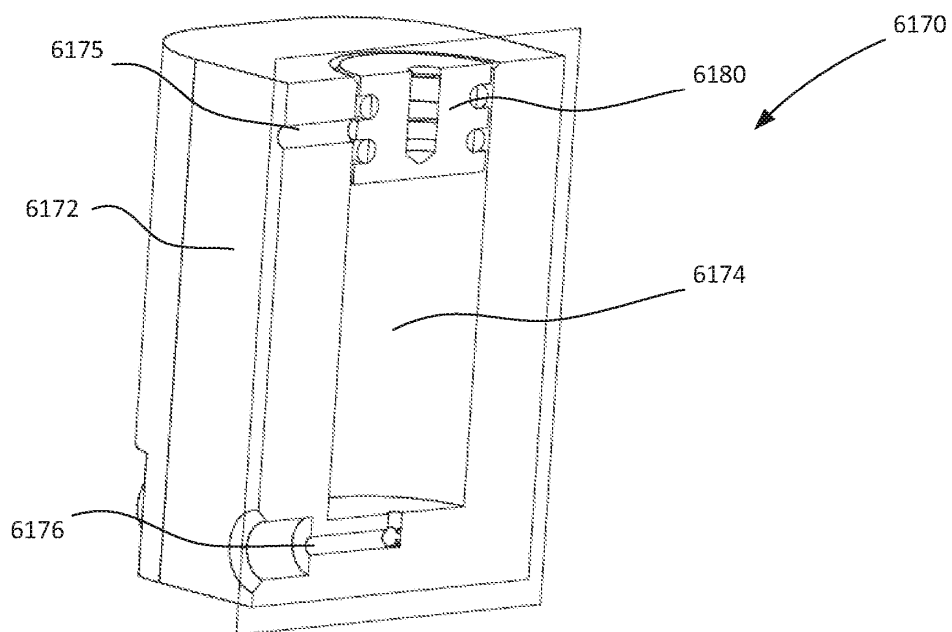


FIG. 17

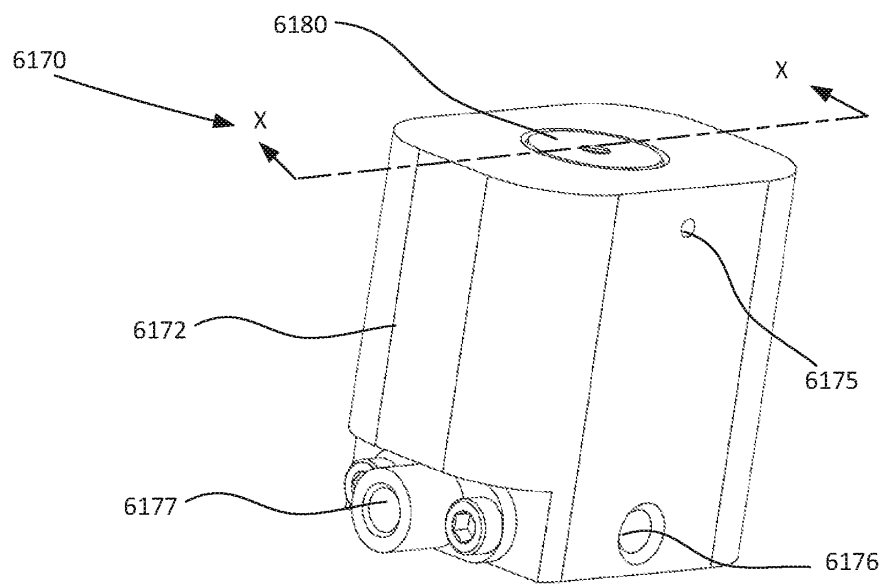


FIG. 18

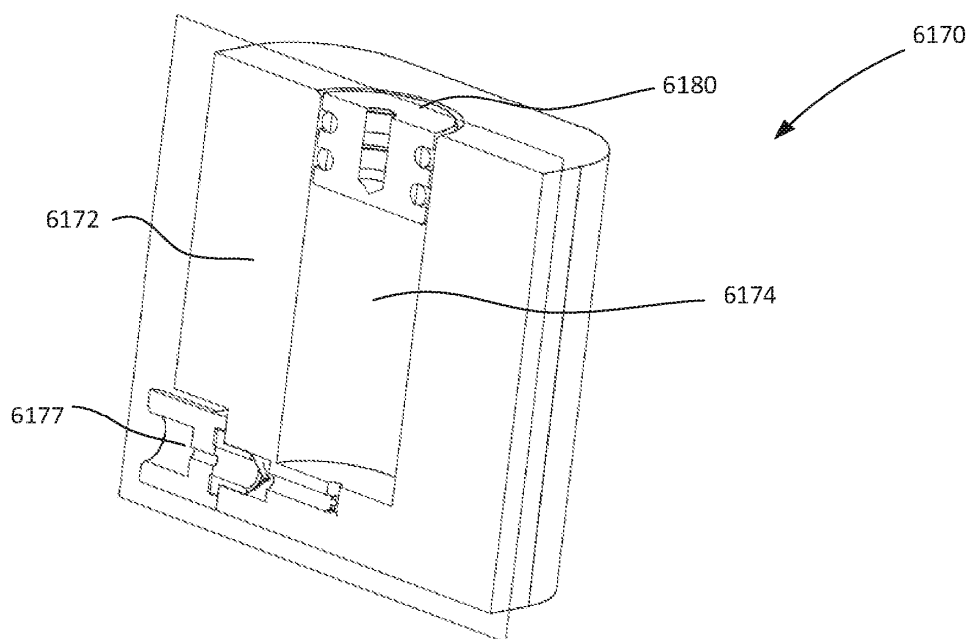


FIG. 19

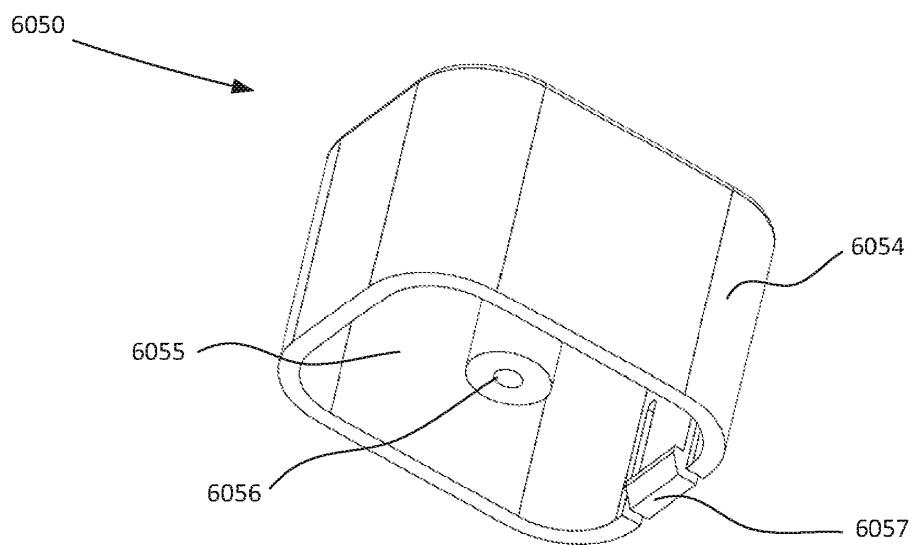


FIG. 20

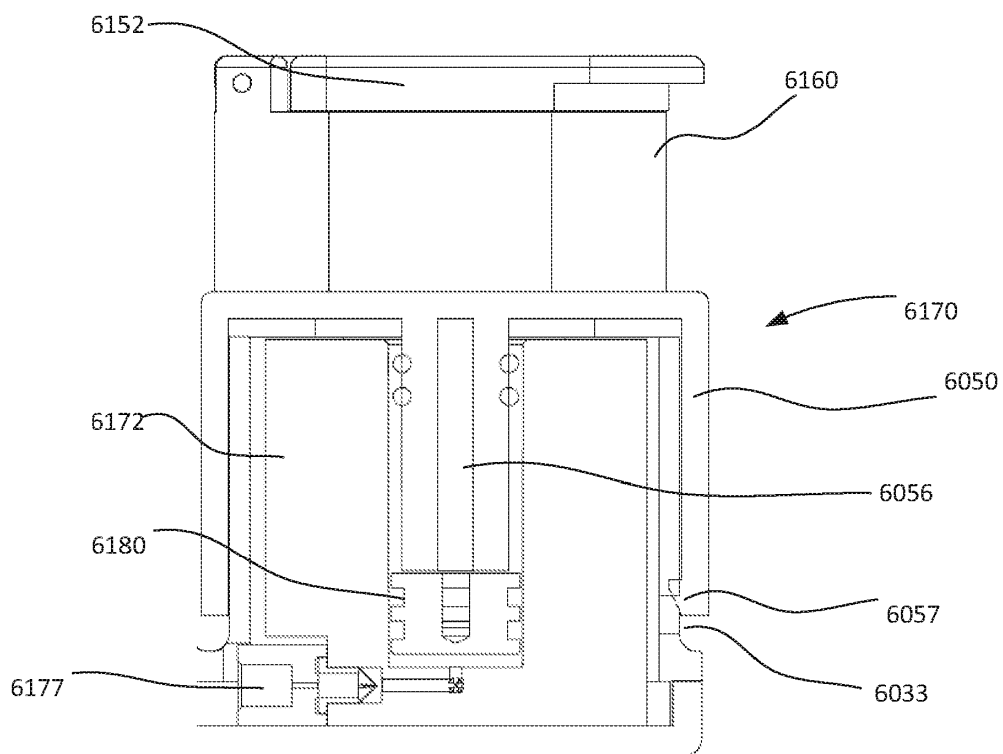


FIG. 21

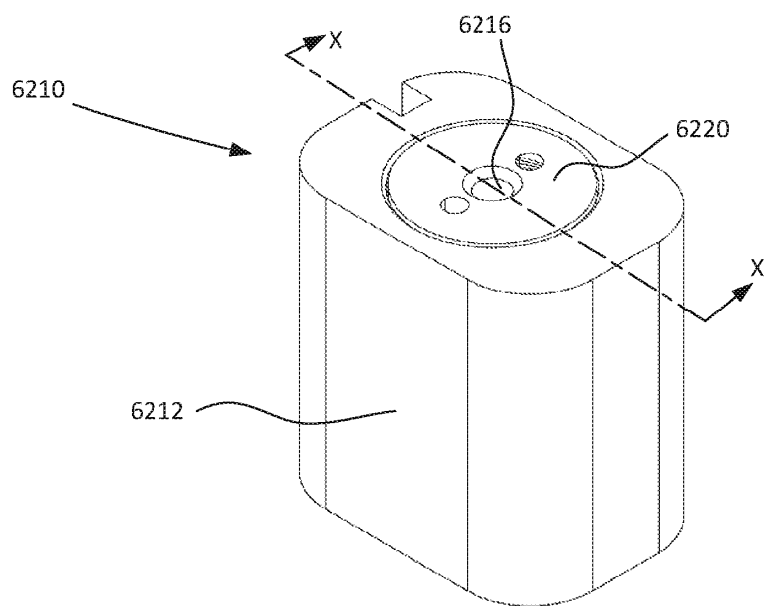


FIG. 22

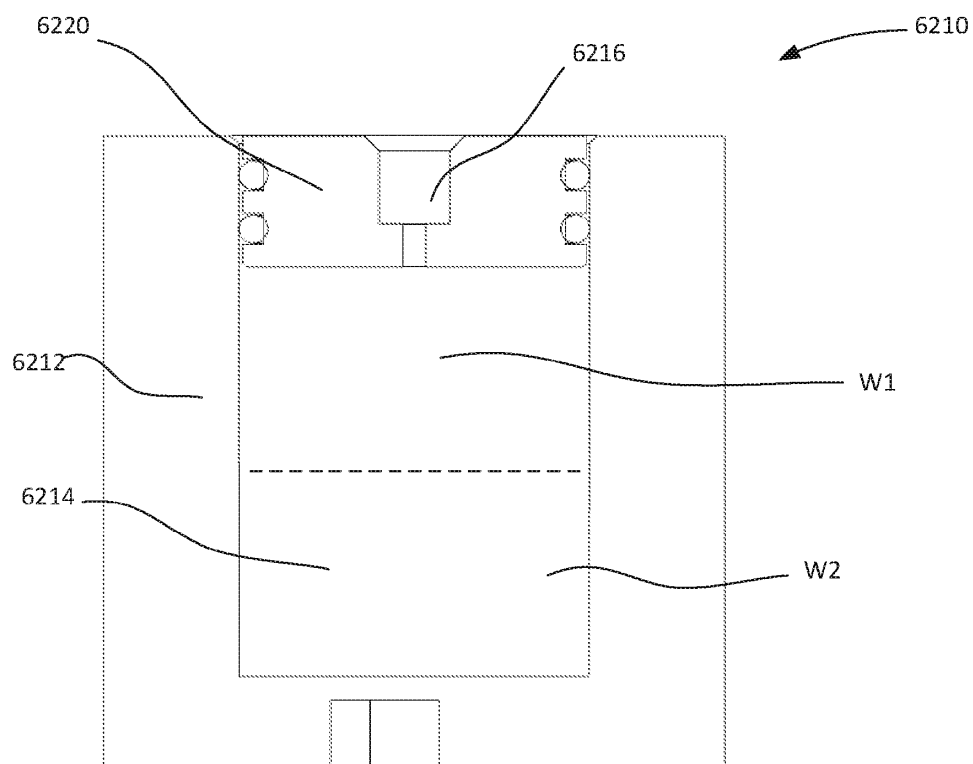


FIG. 23

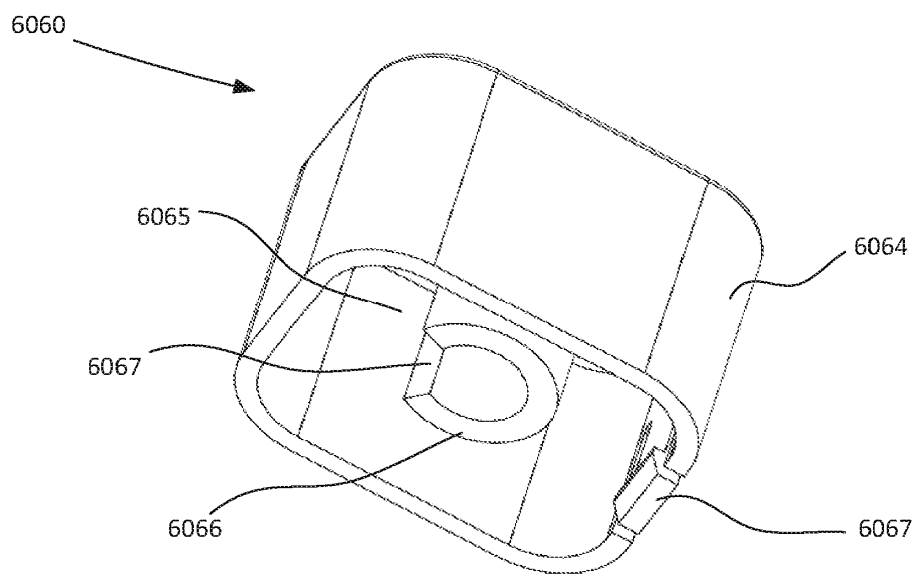


FIG. 24

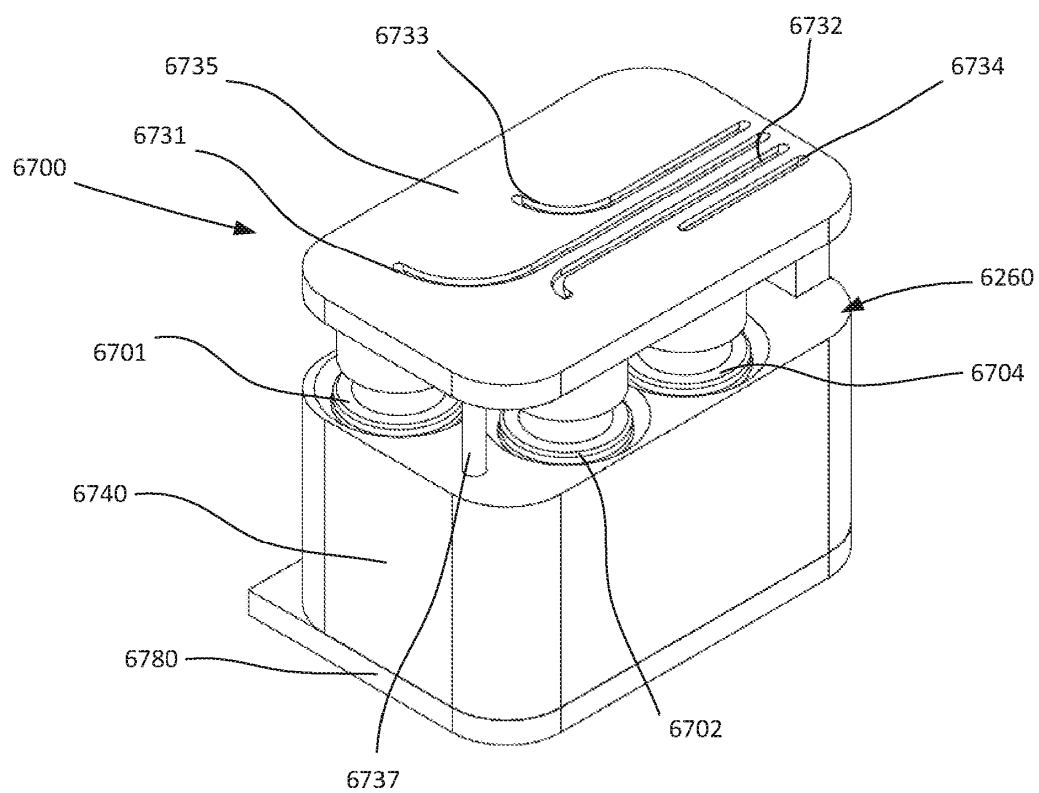
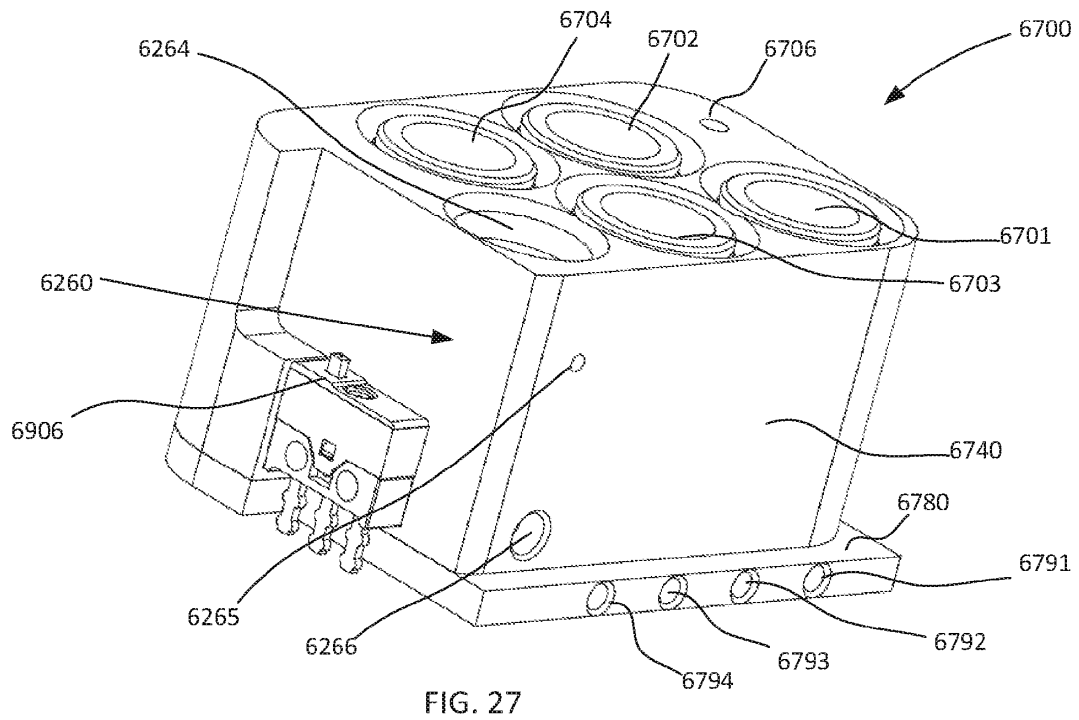
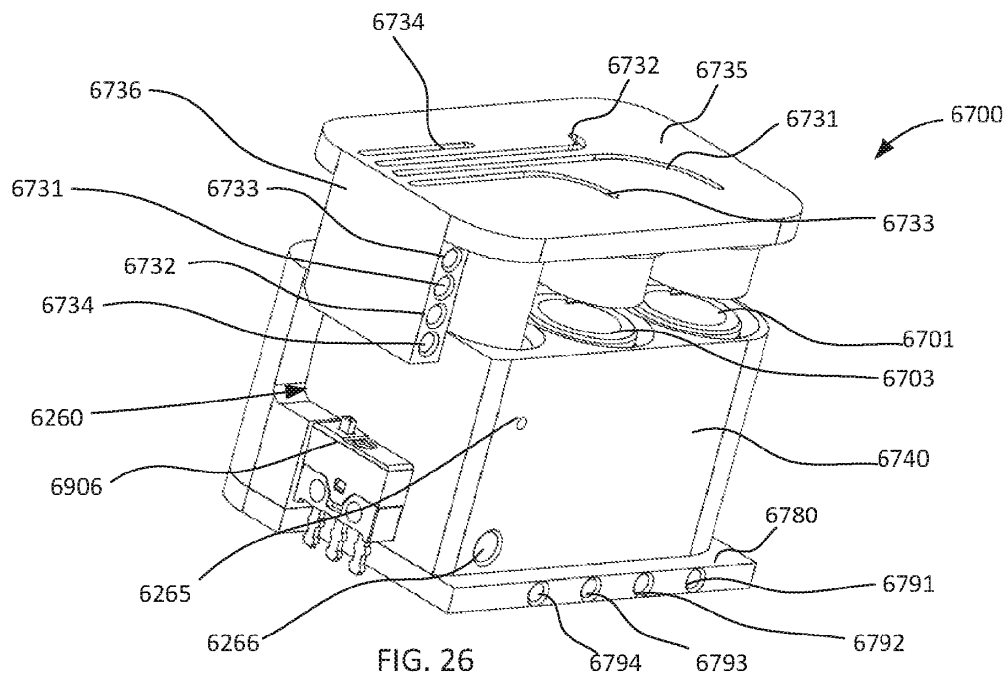
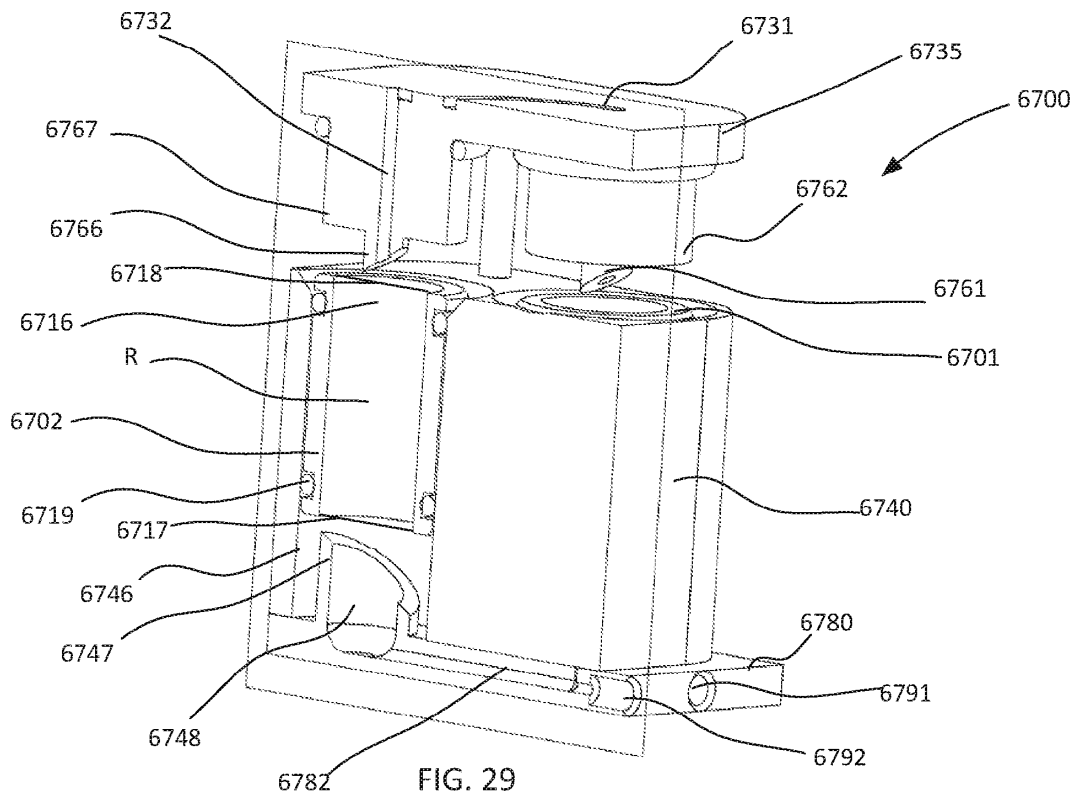
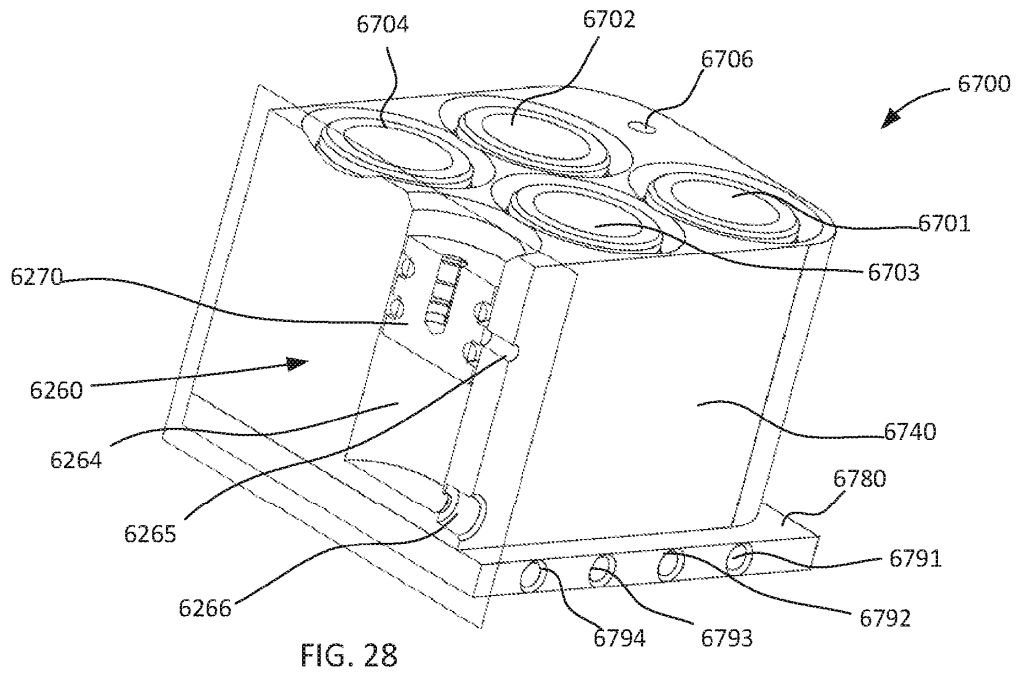


FIG. 25





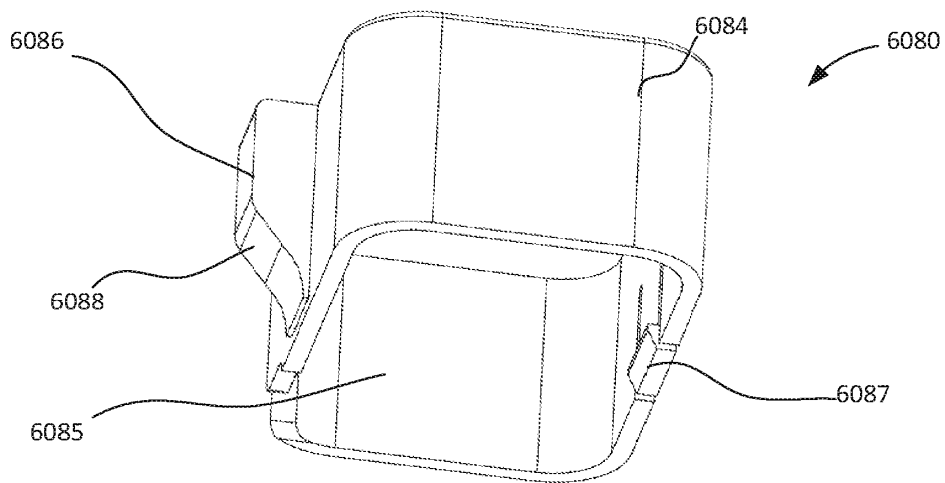


FIG. 30

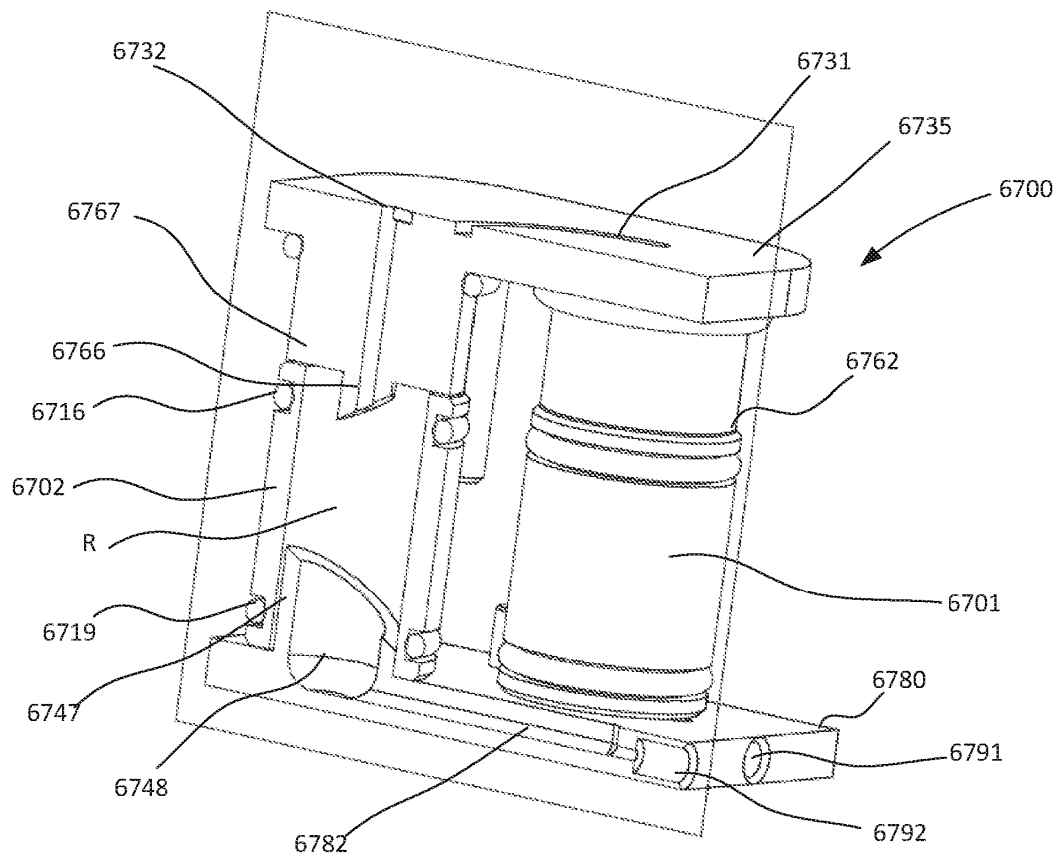
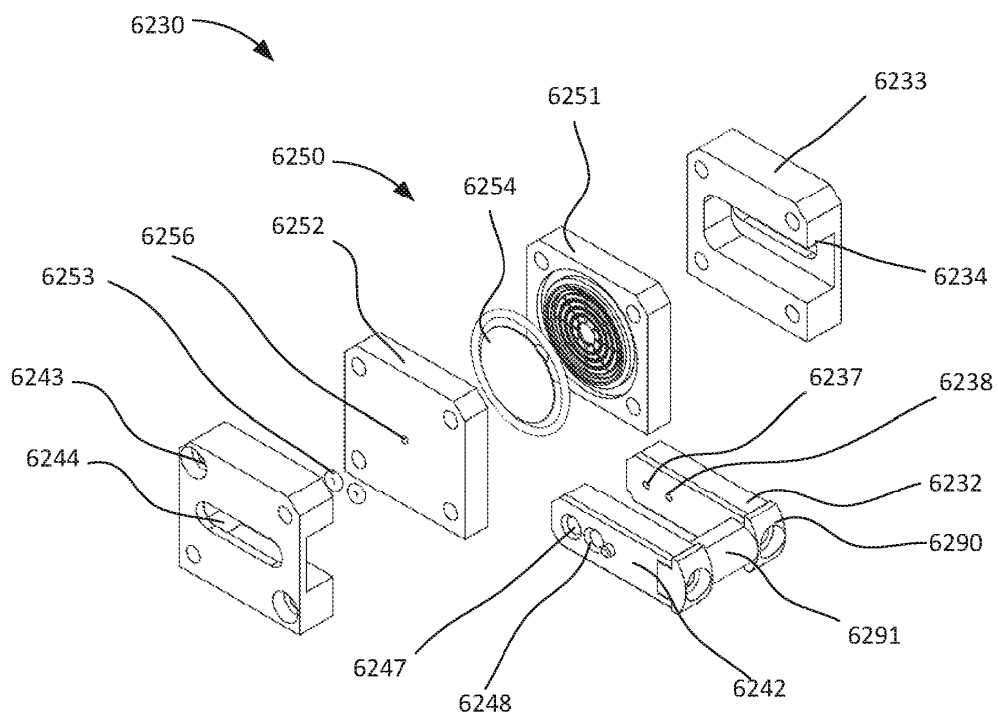
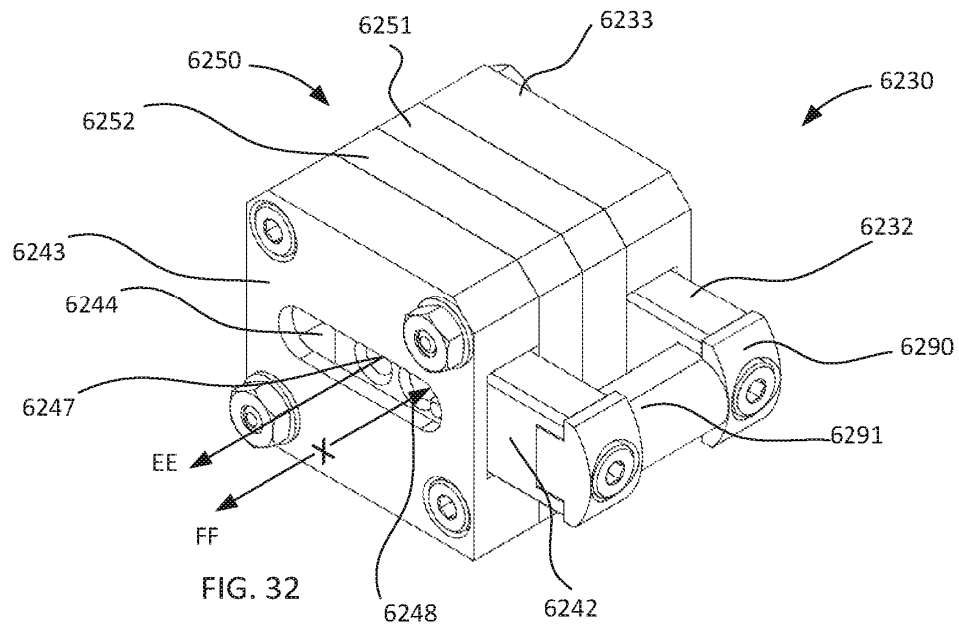
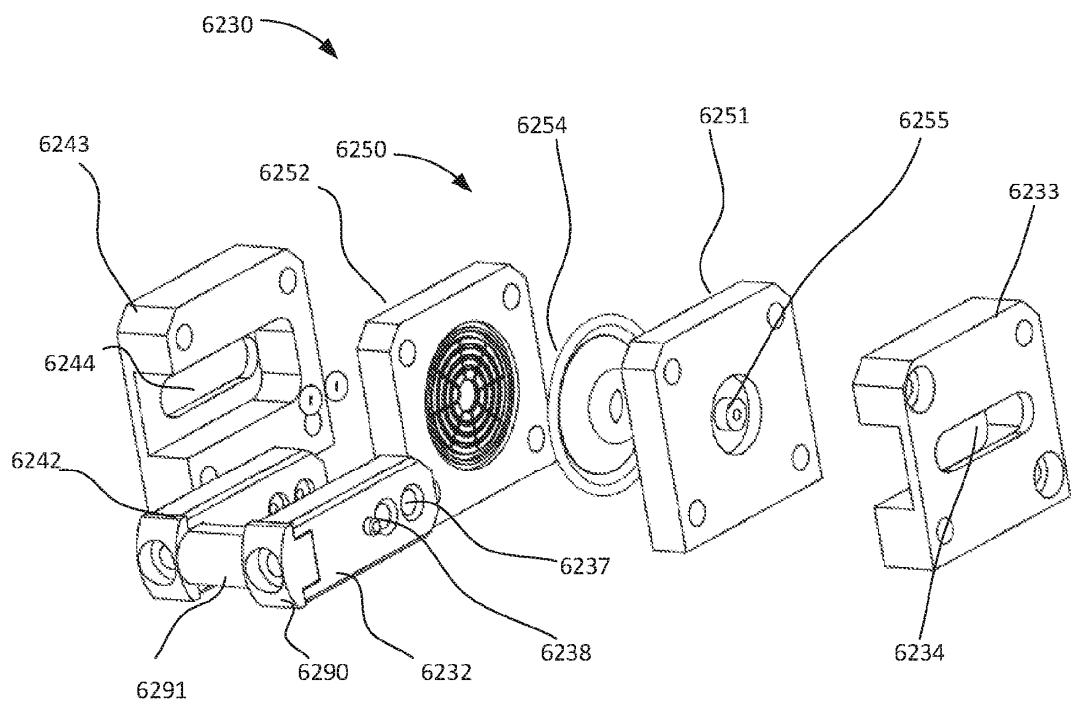
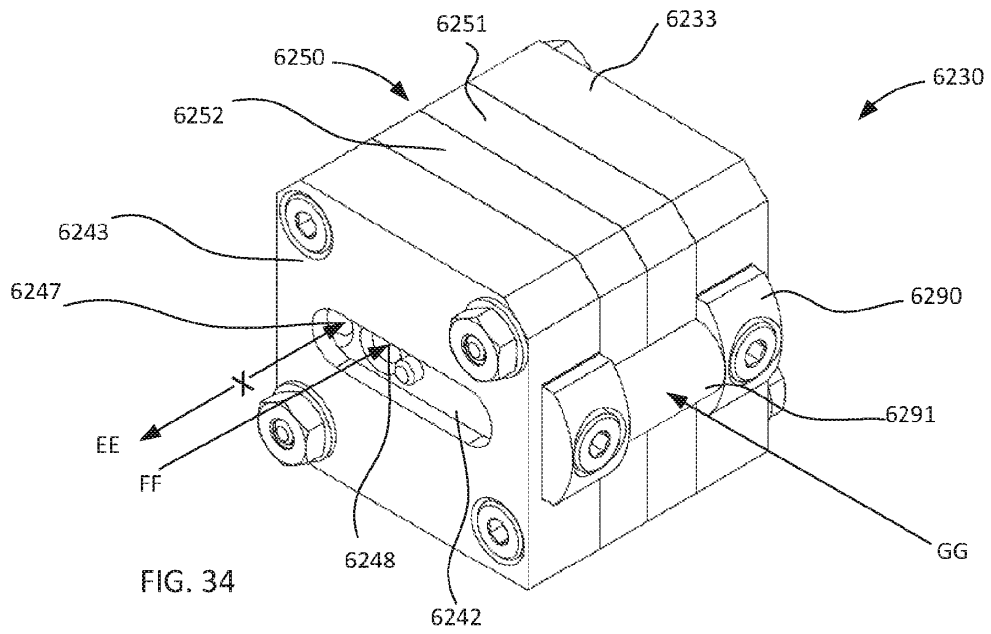
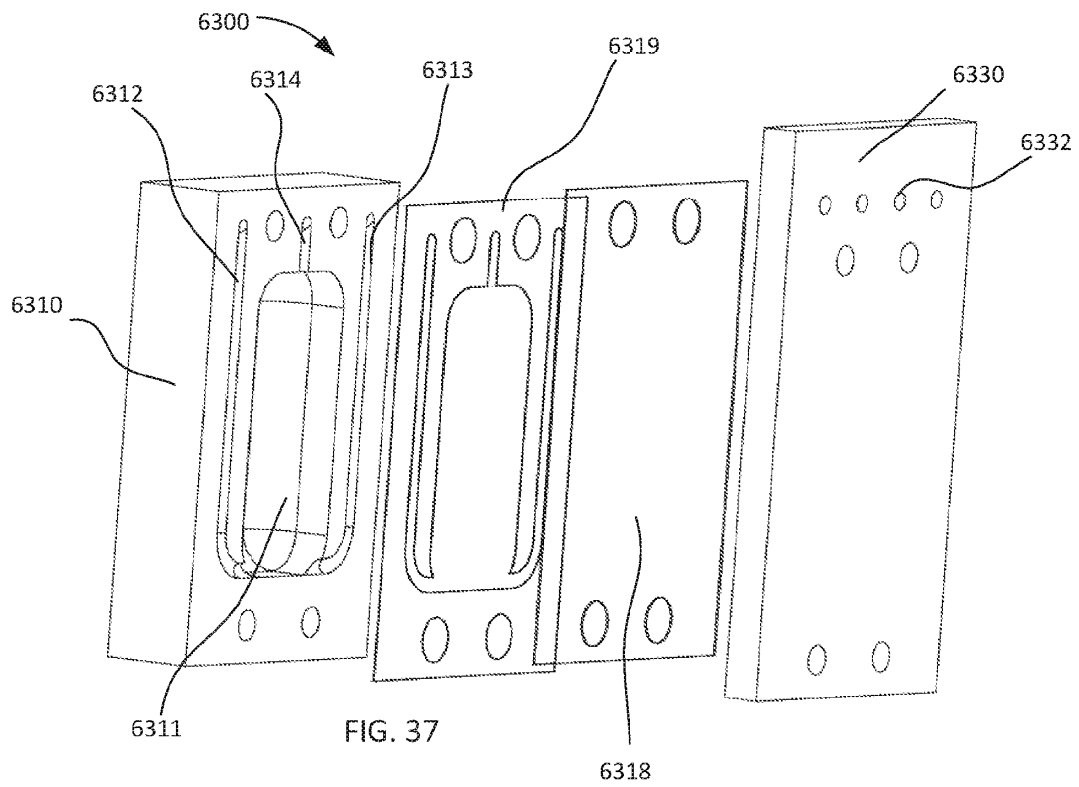
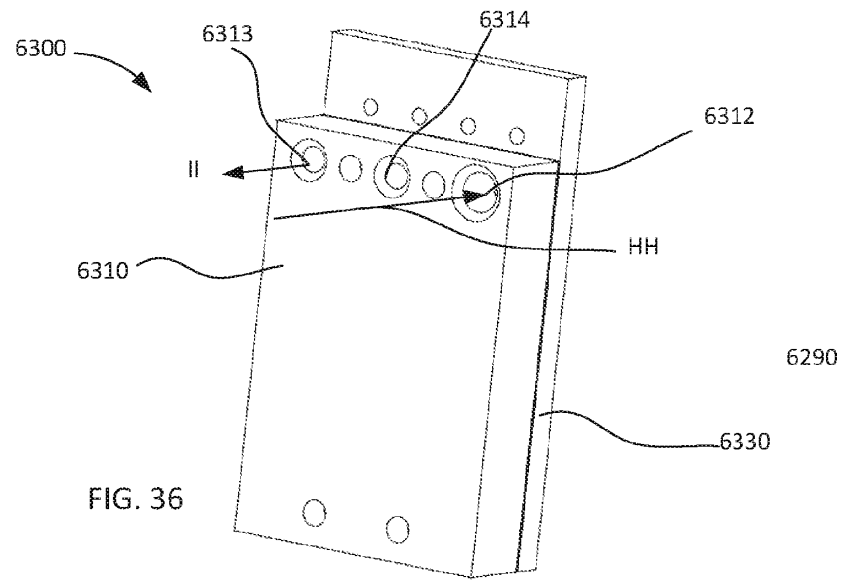
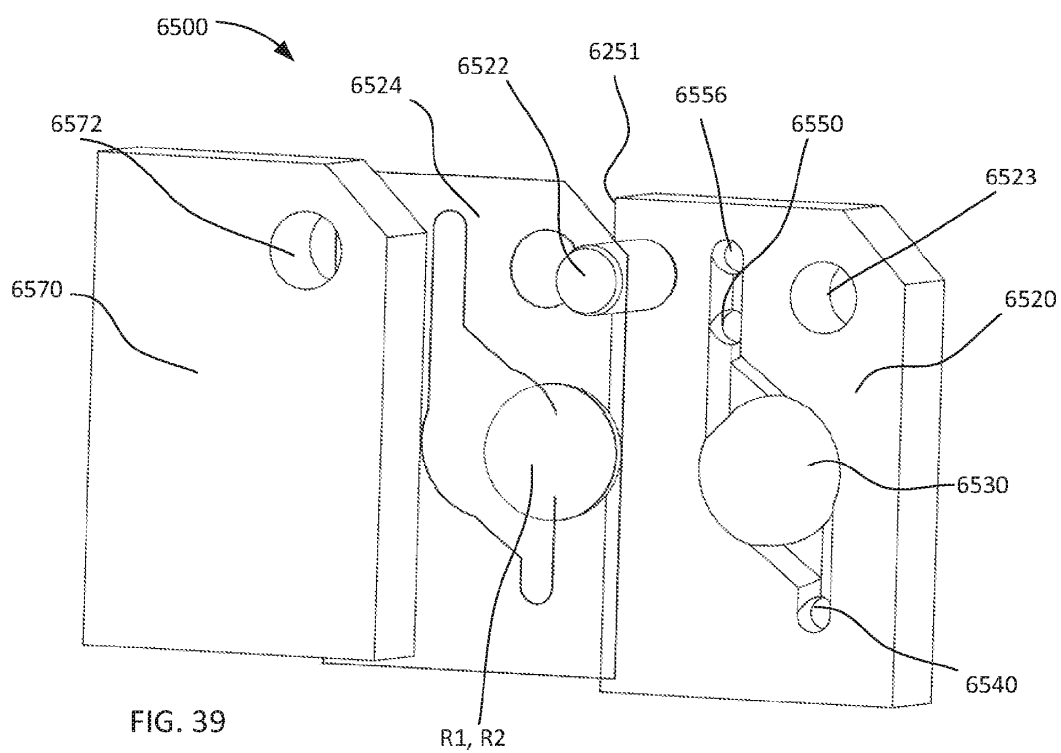
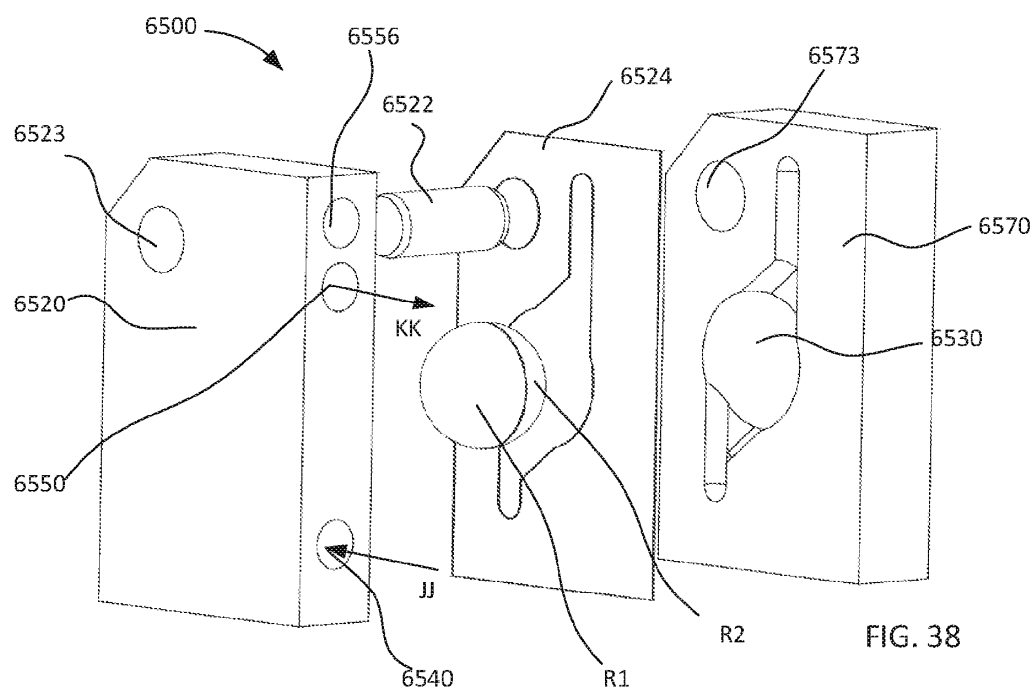


FIG. 31









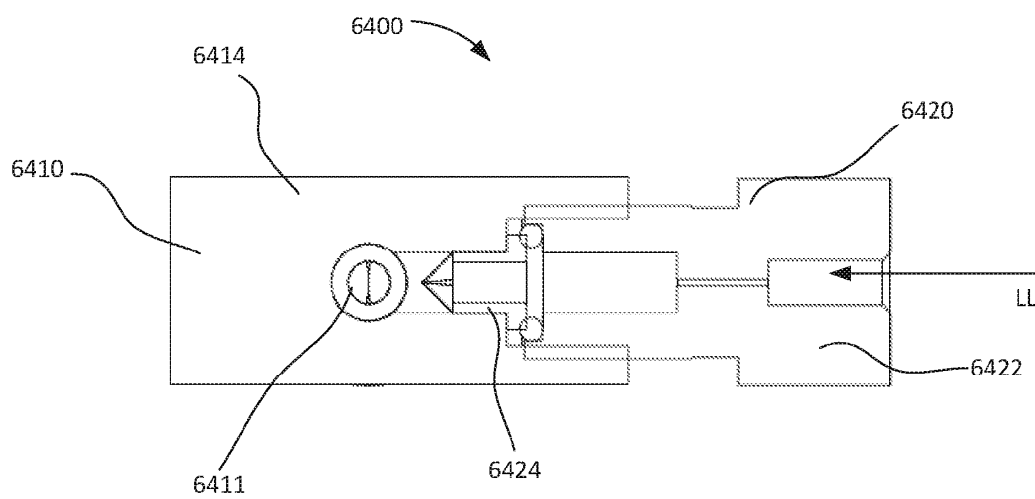
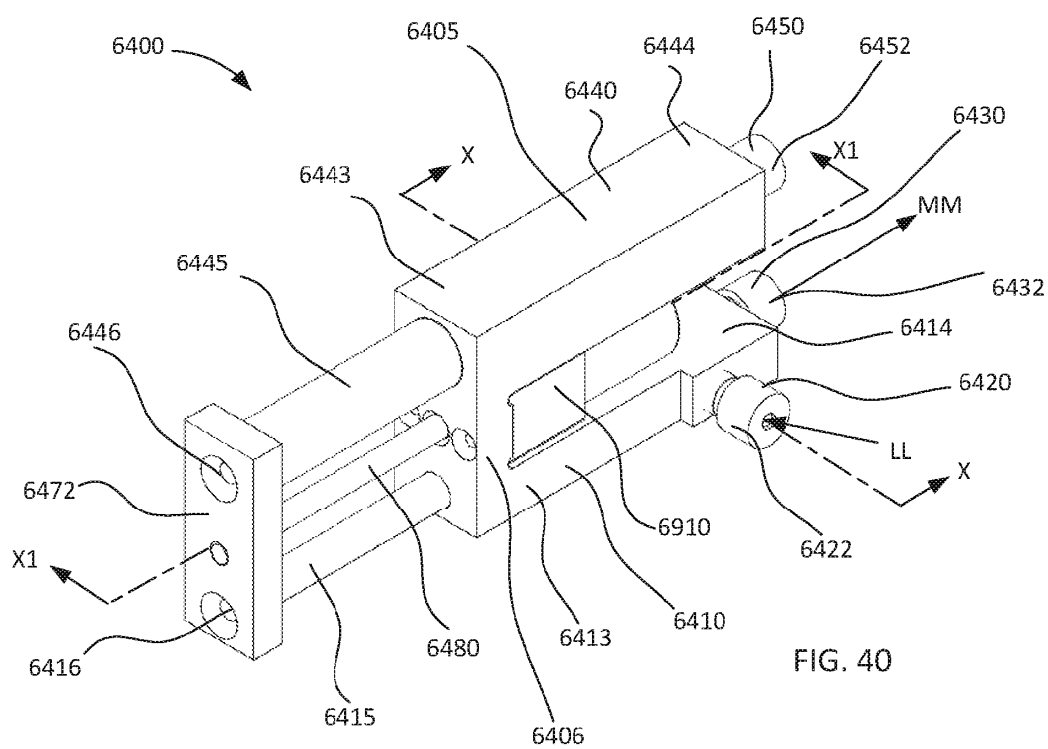


FIG. 41

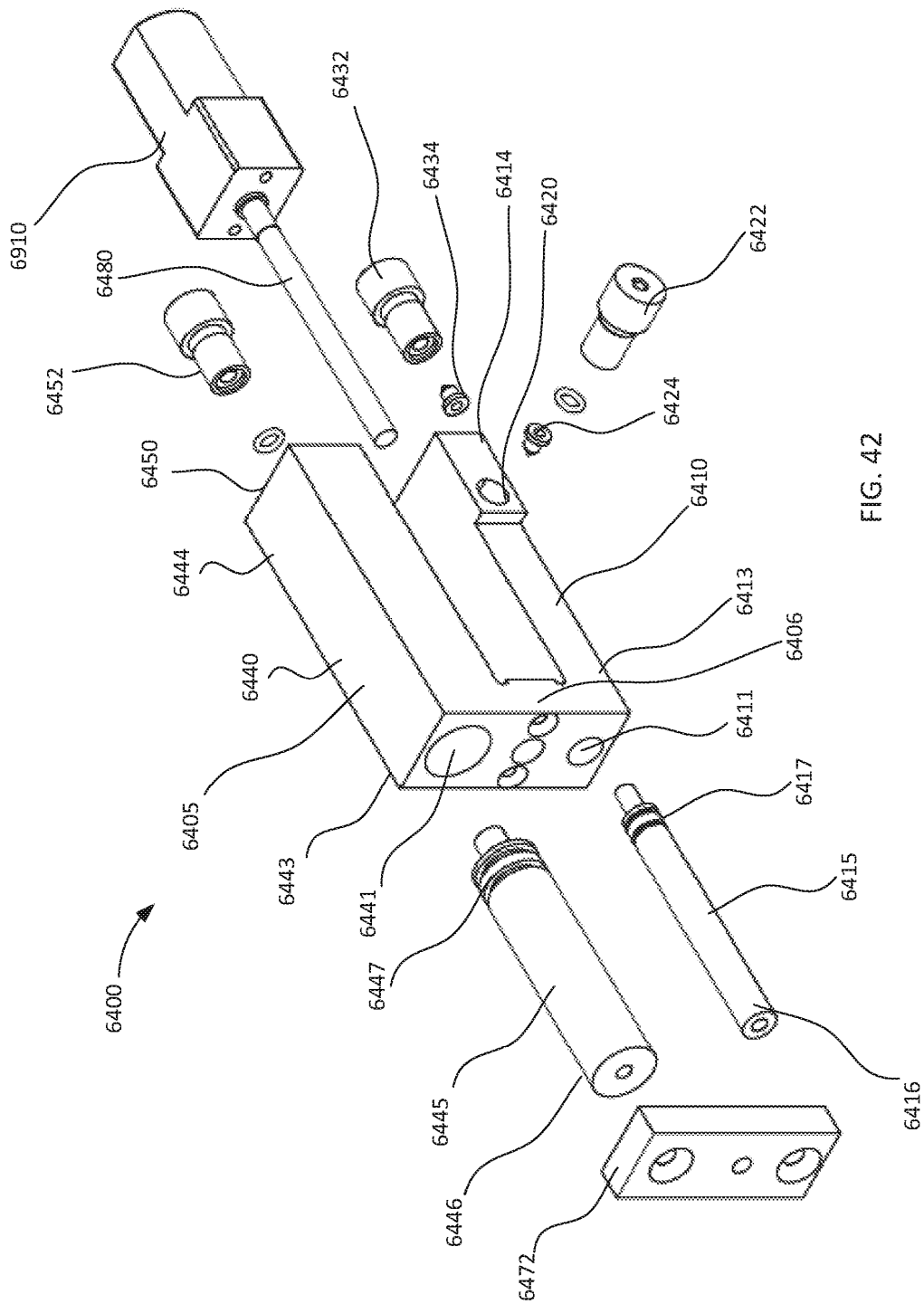


FIG. 42

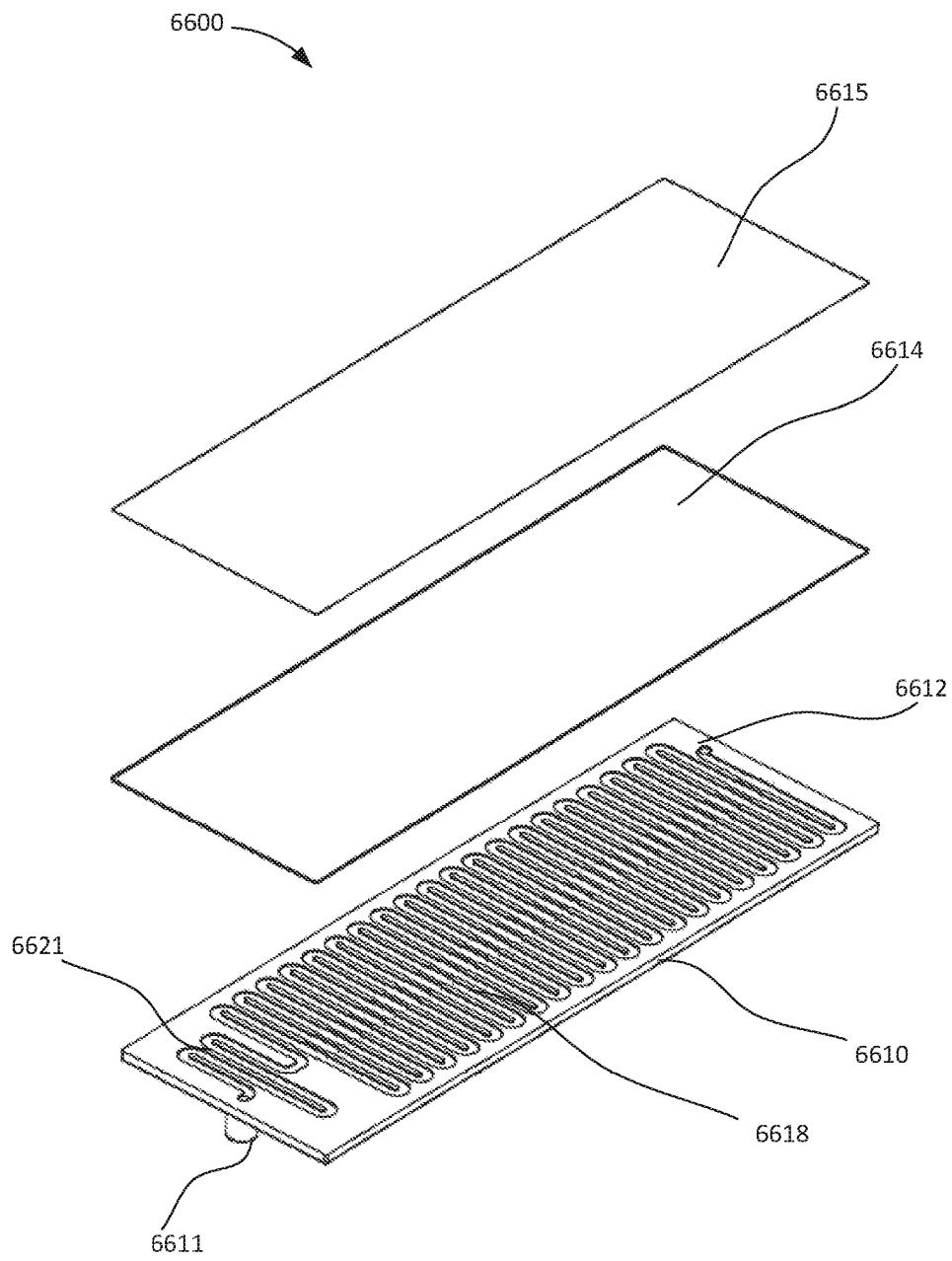


FIG. 43

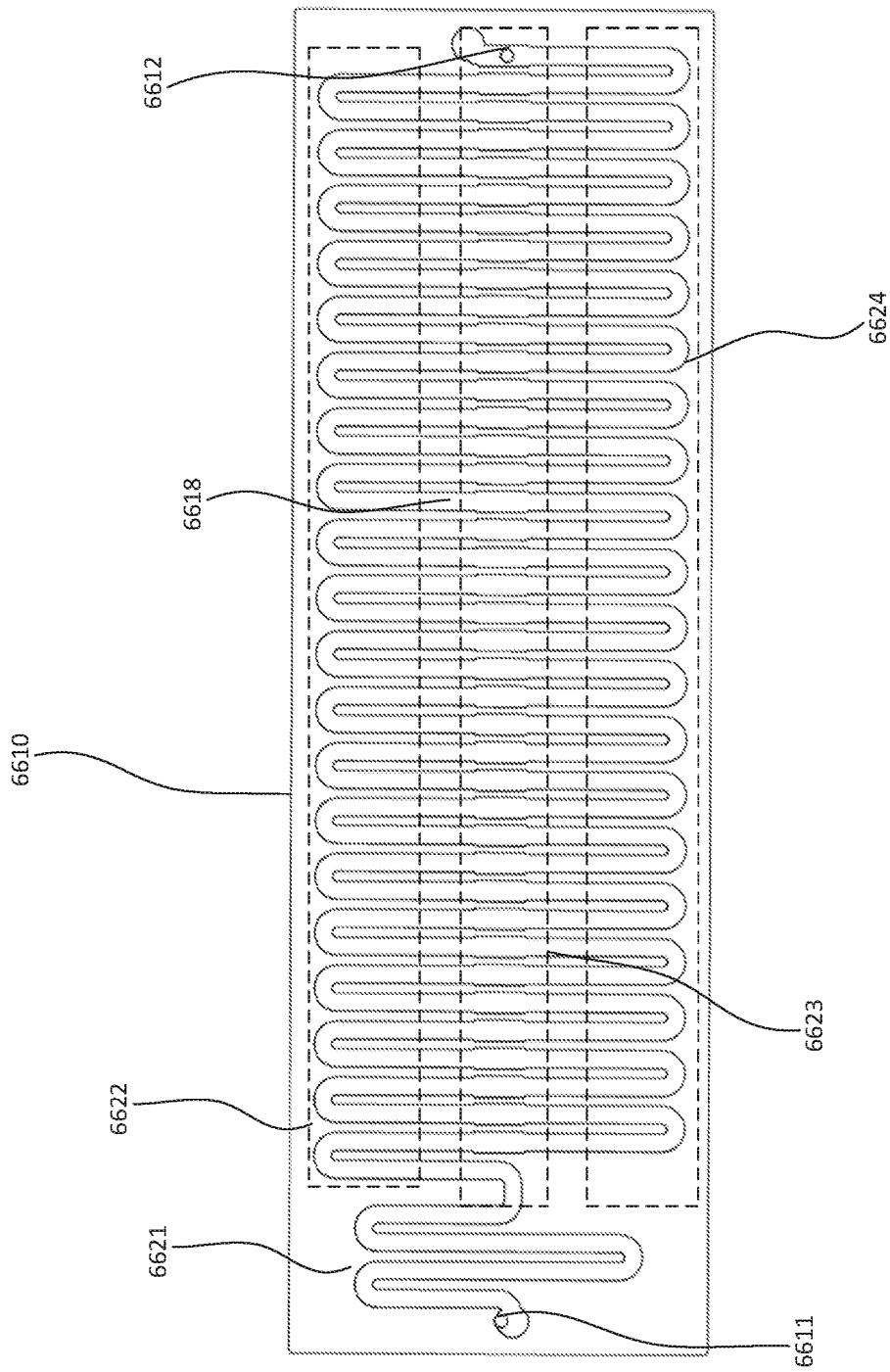


FIG. 44

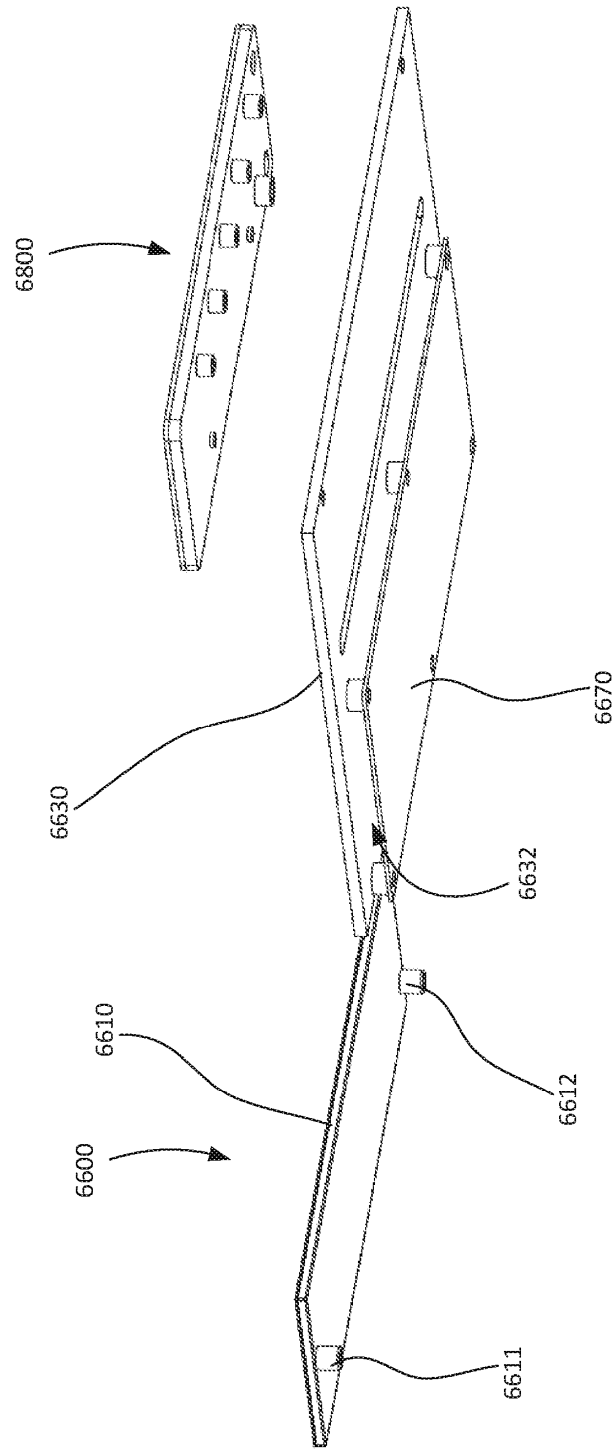


FIG. 45

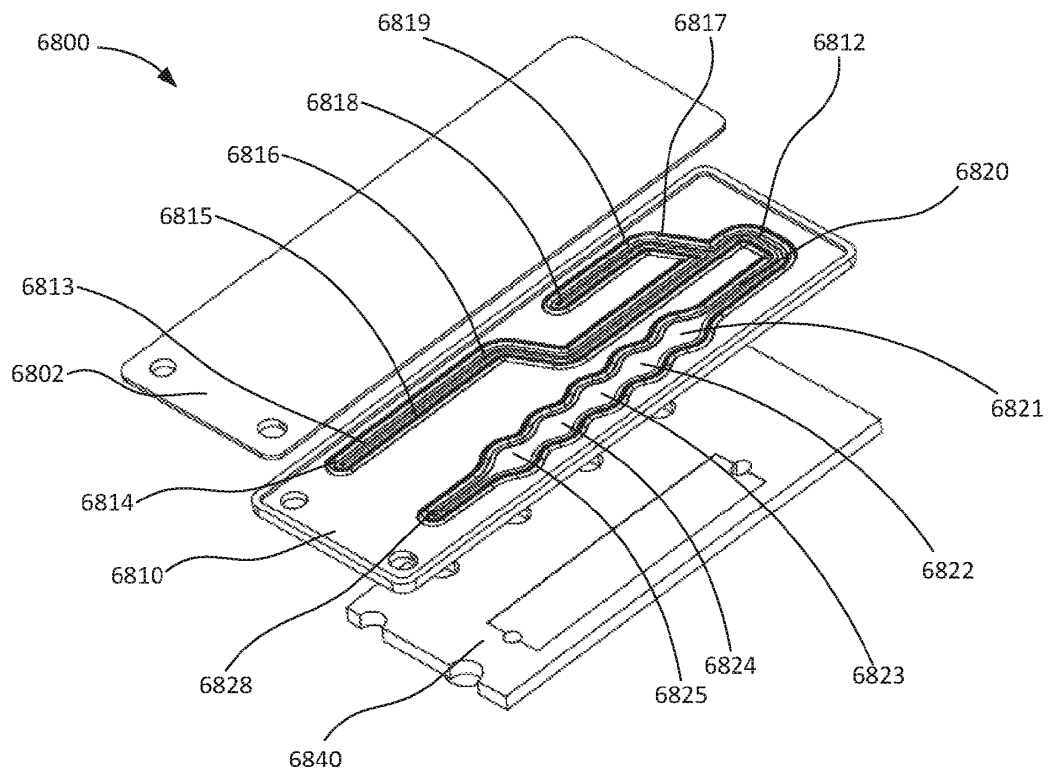


FIG. 46

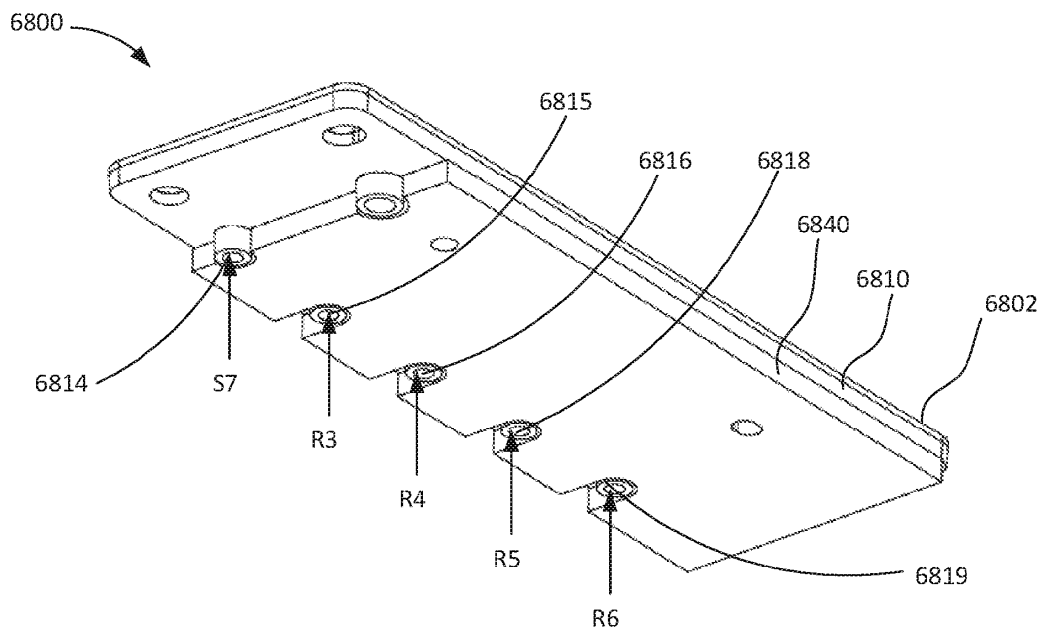
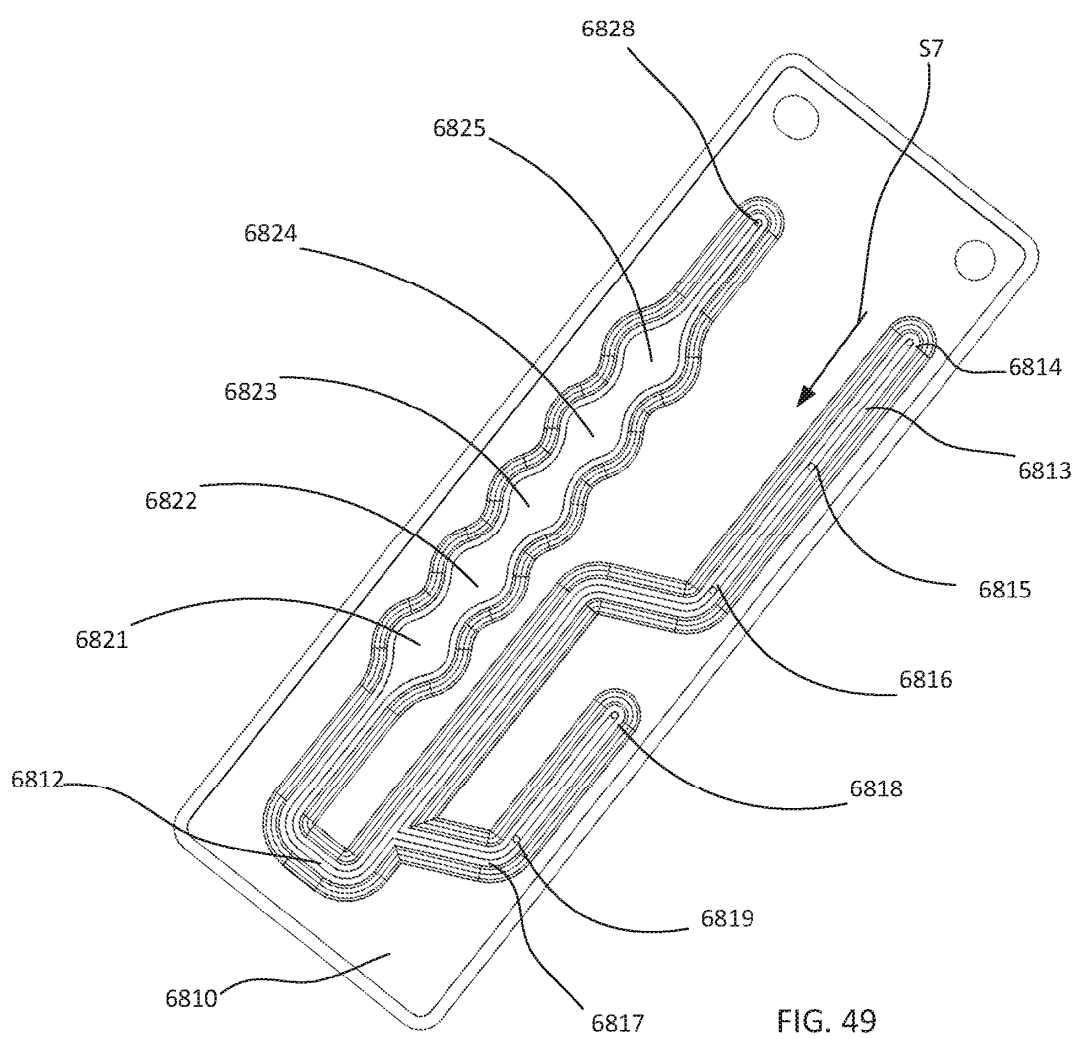
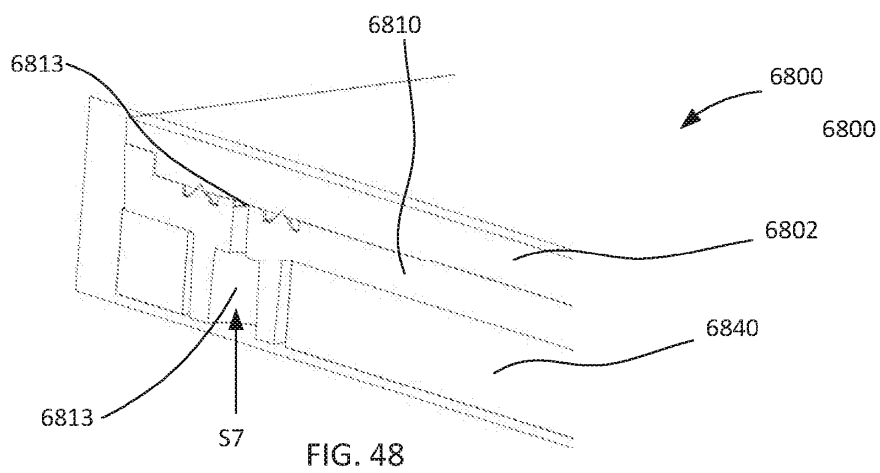
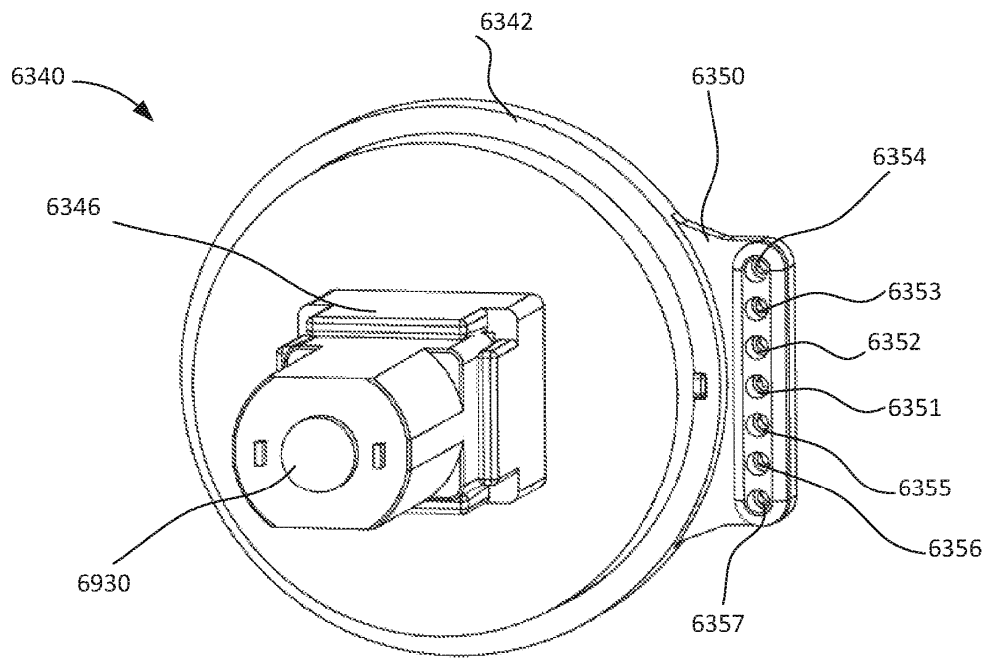
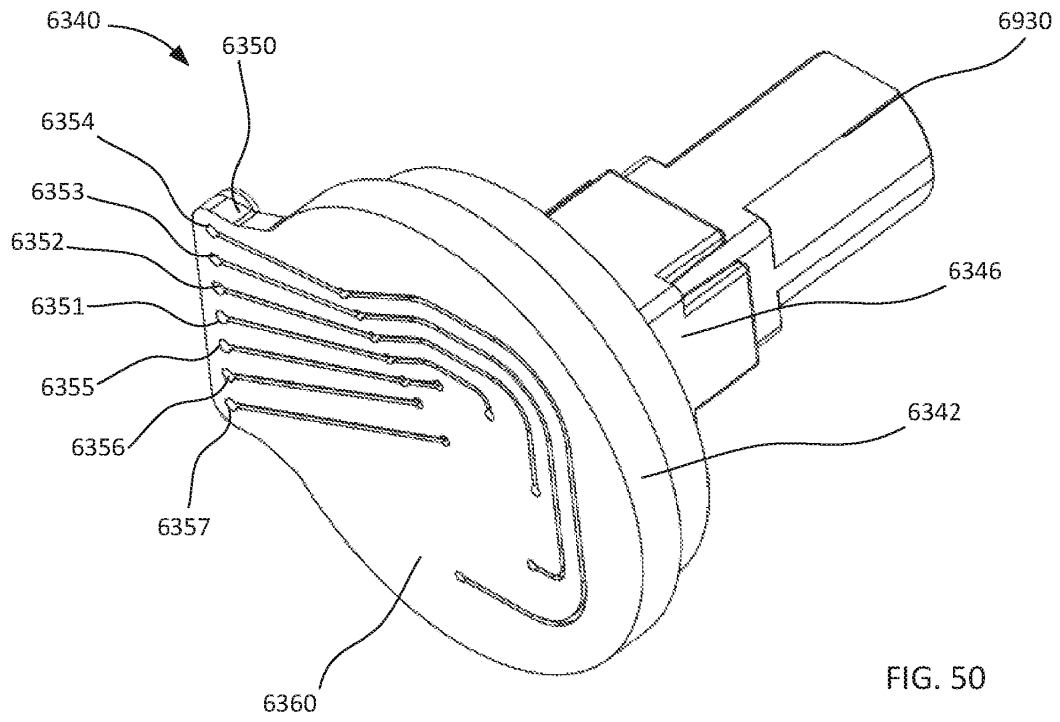


FIG. 47





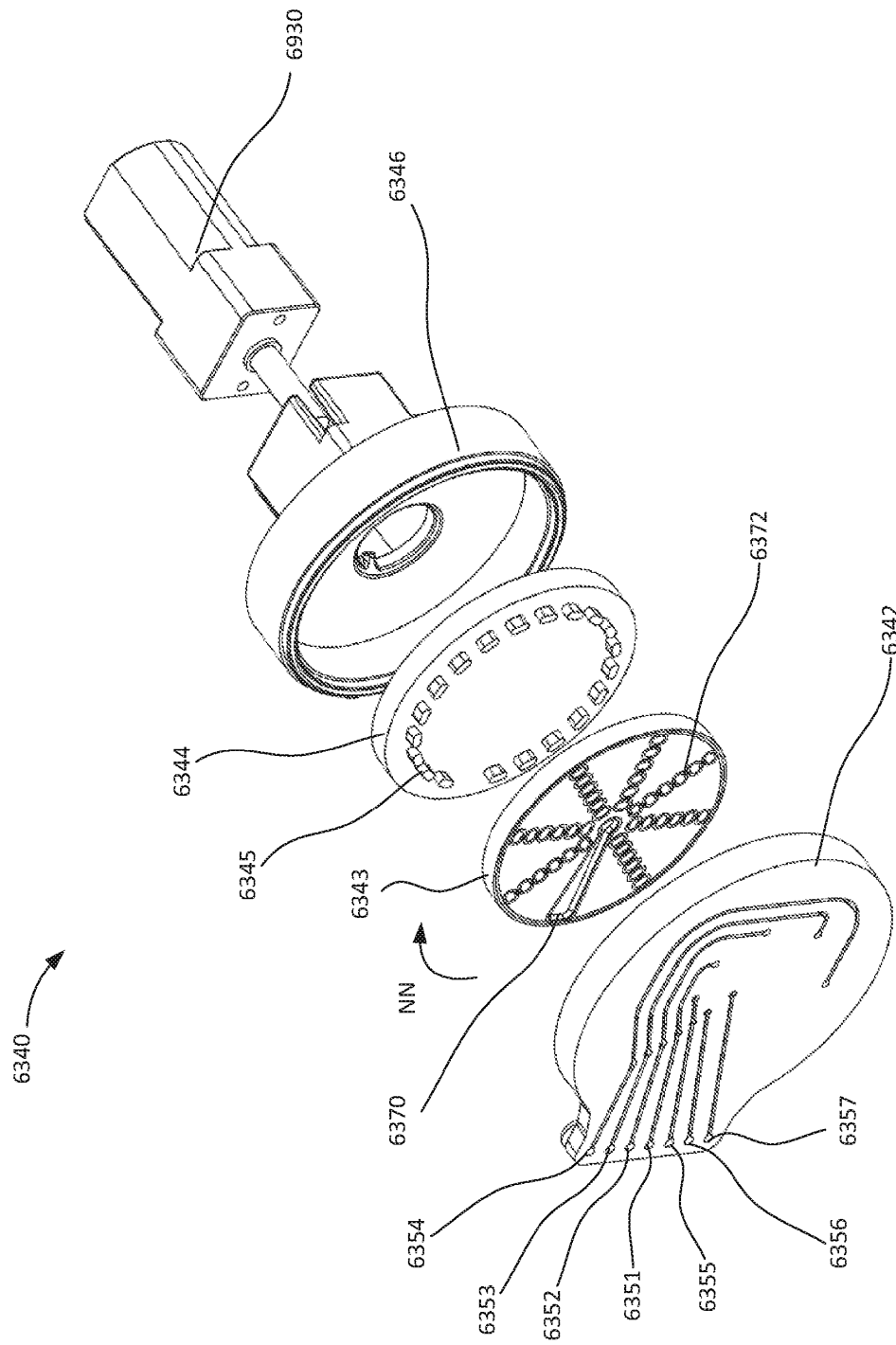


FIG. 52

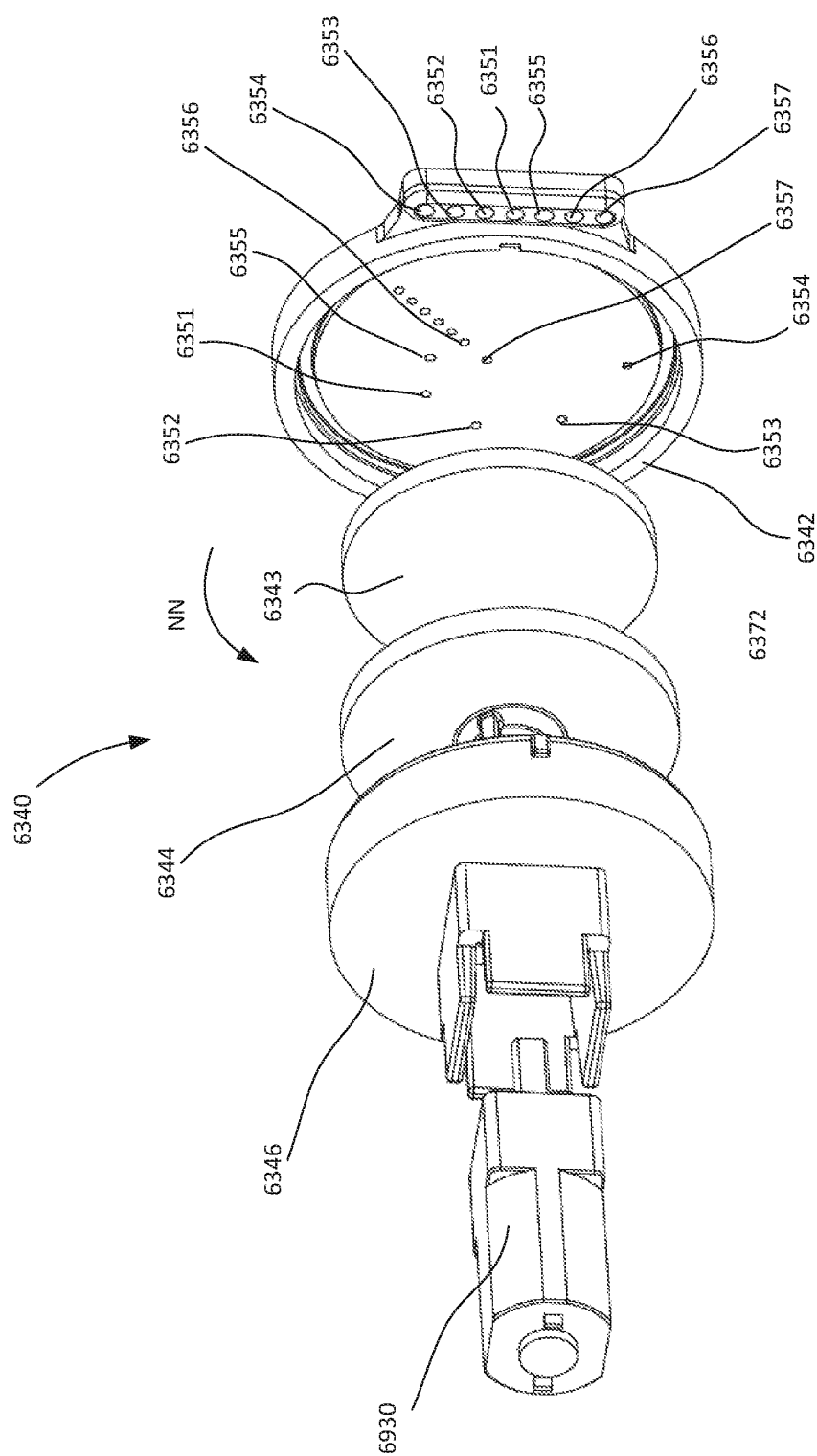


FIG. 53

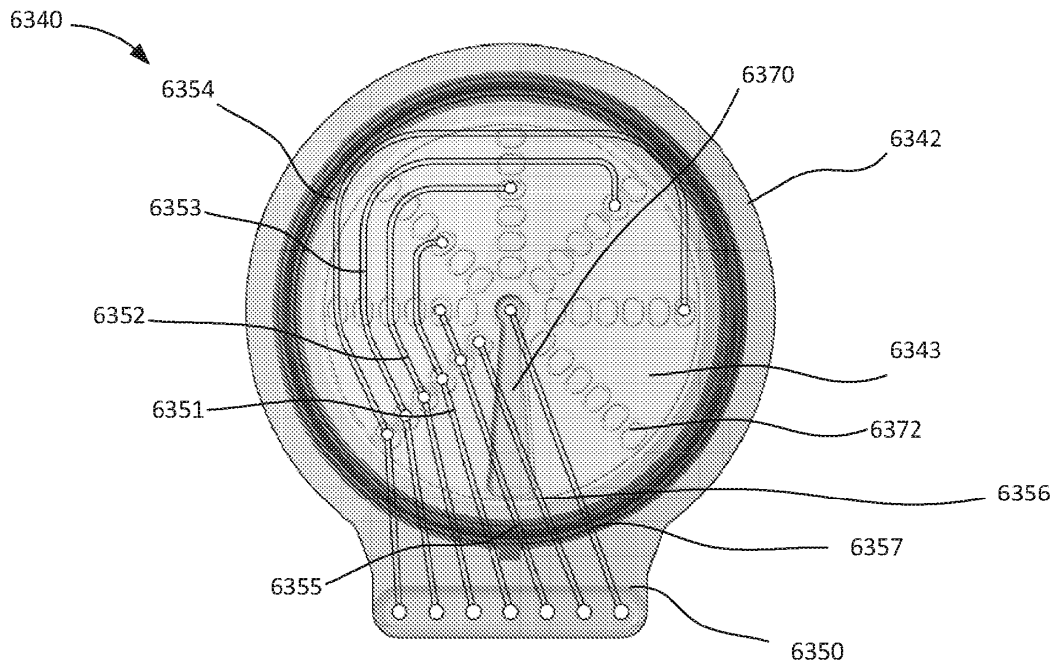


FIG. 54

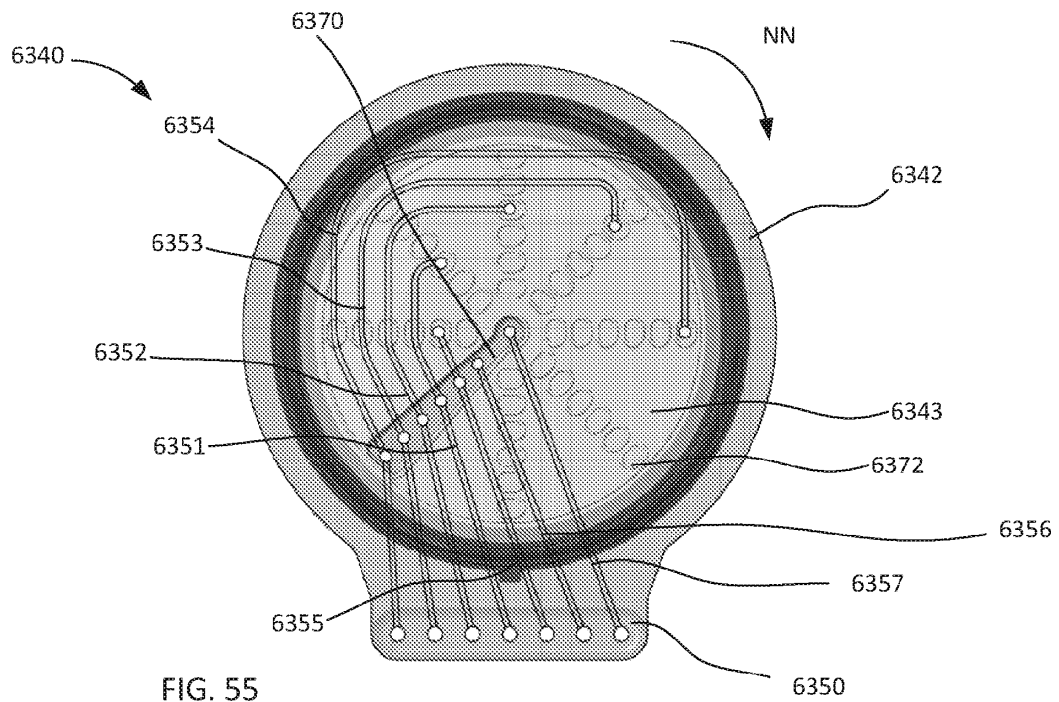
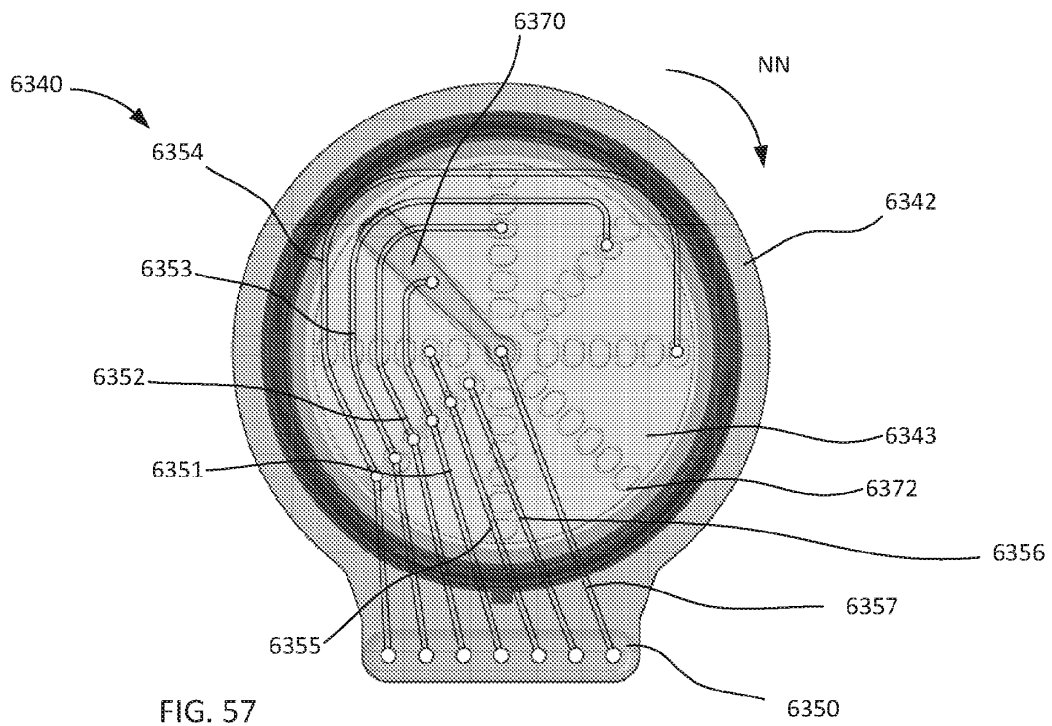
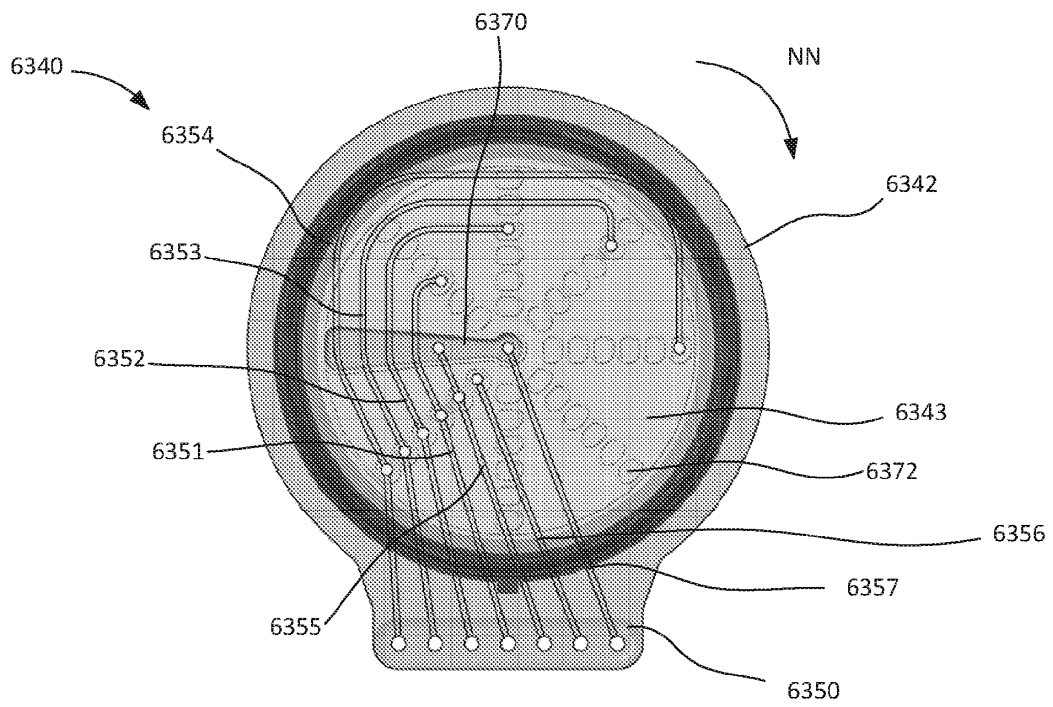
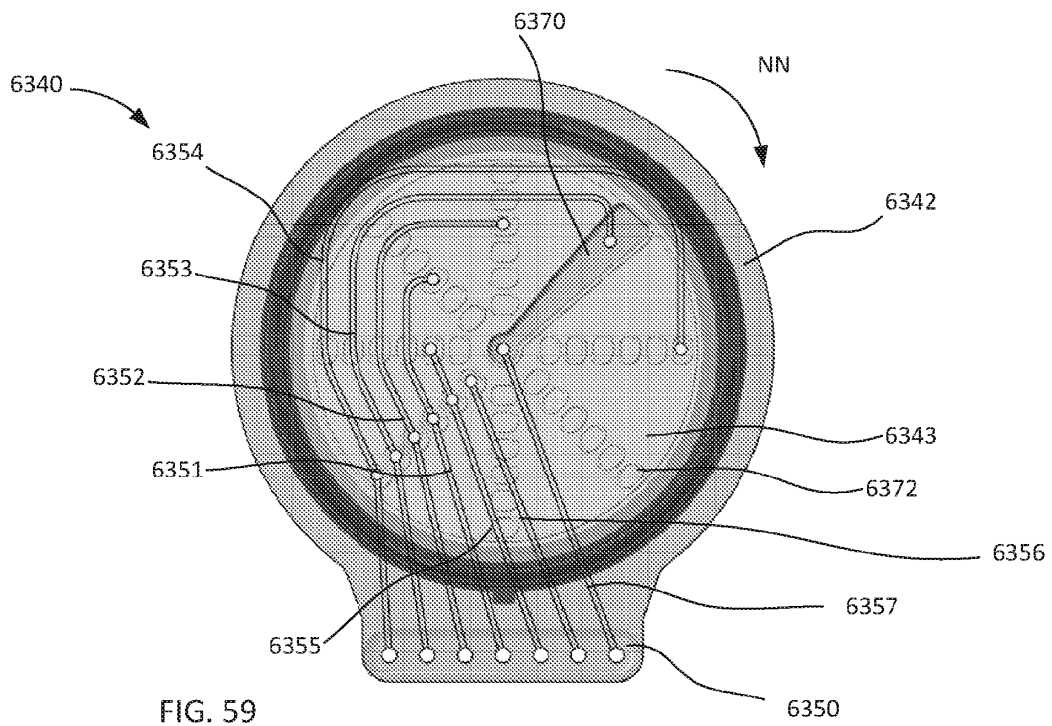
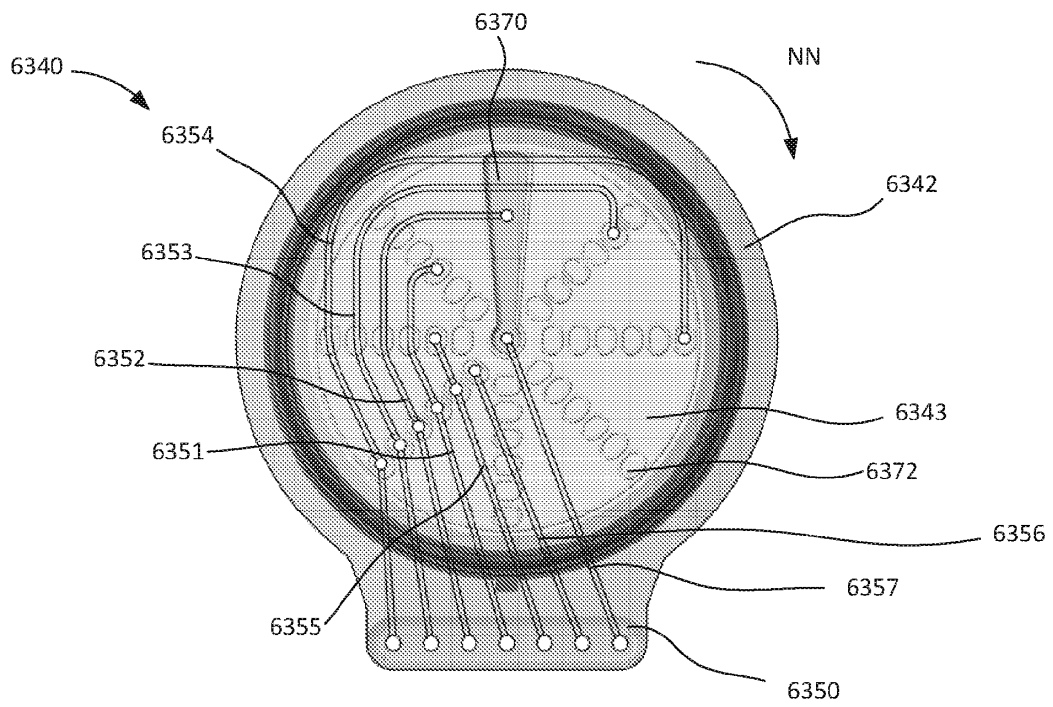


FIG. 55





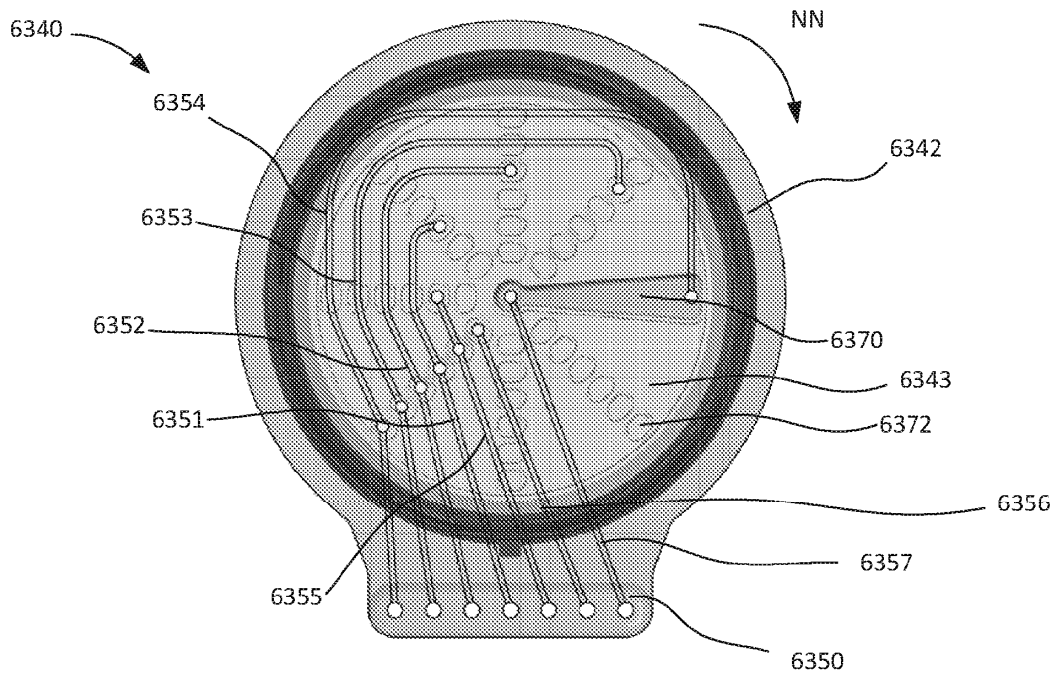


FIG. 60

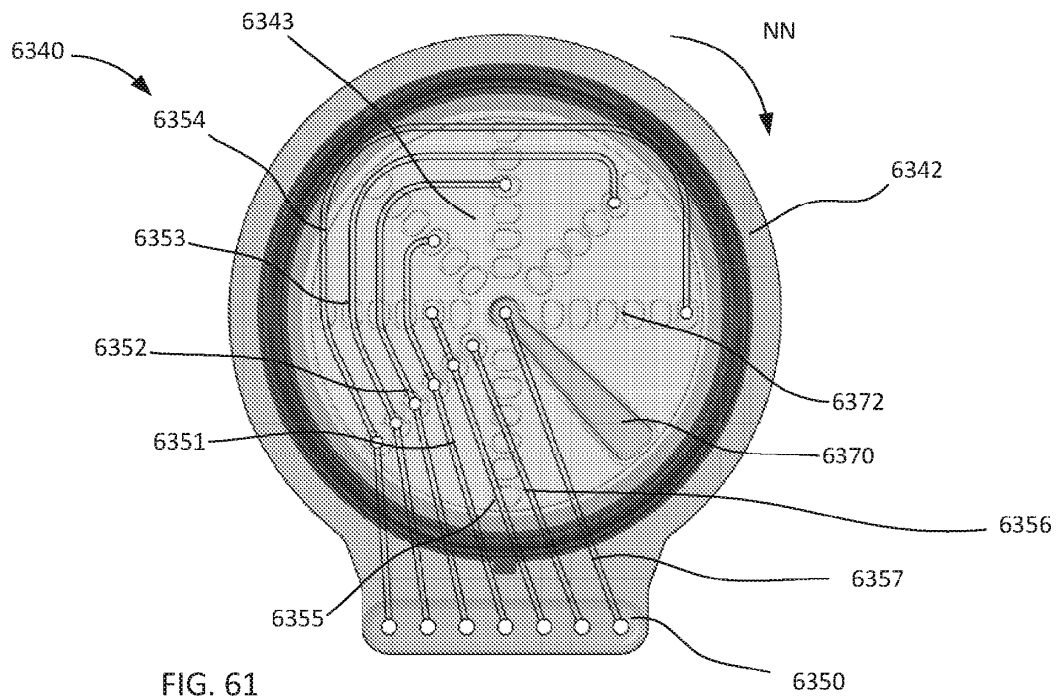


FIG. 61

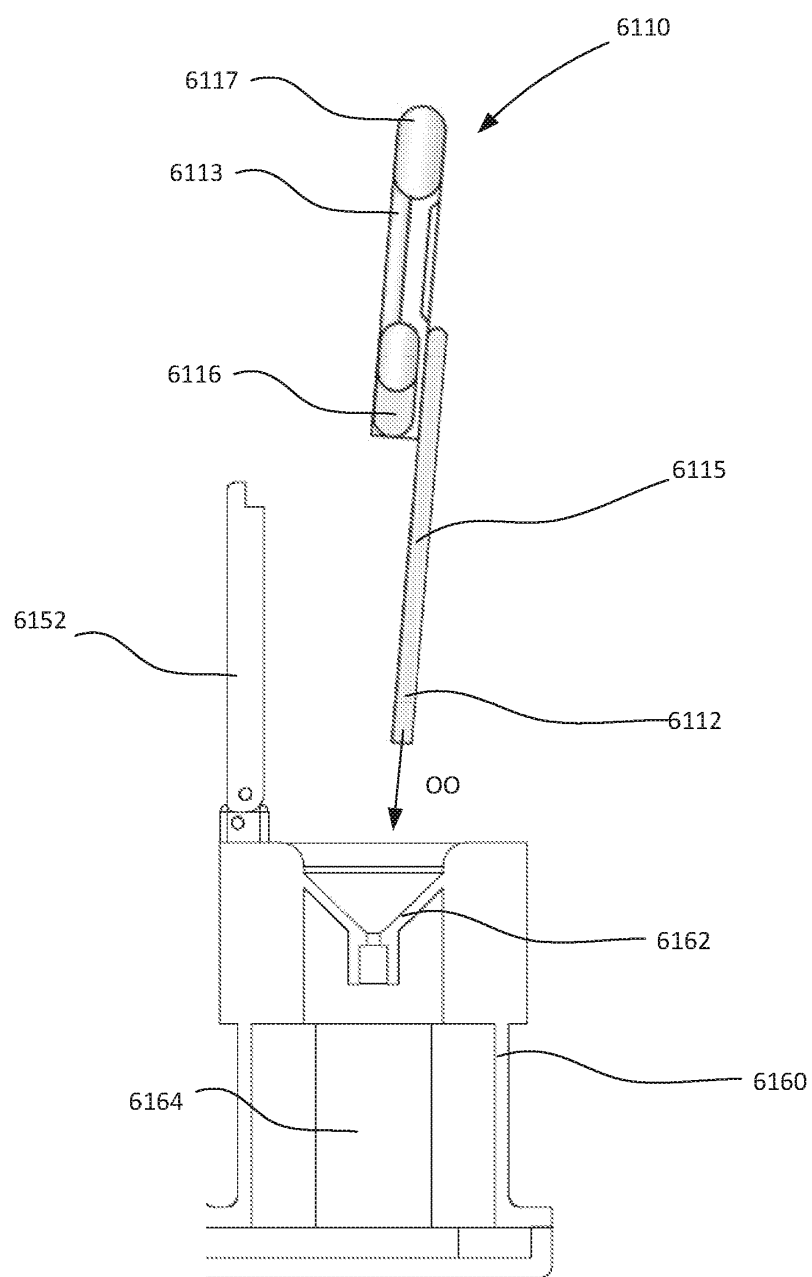
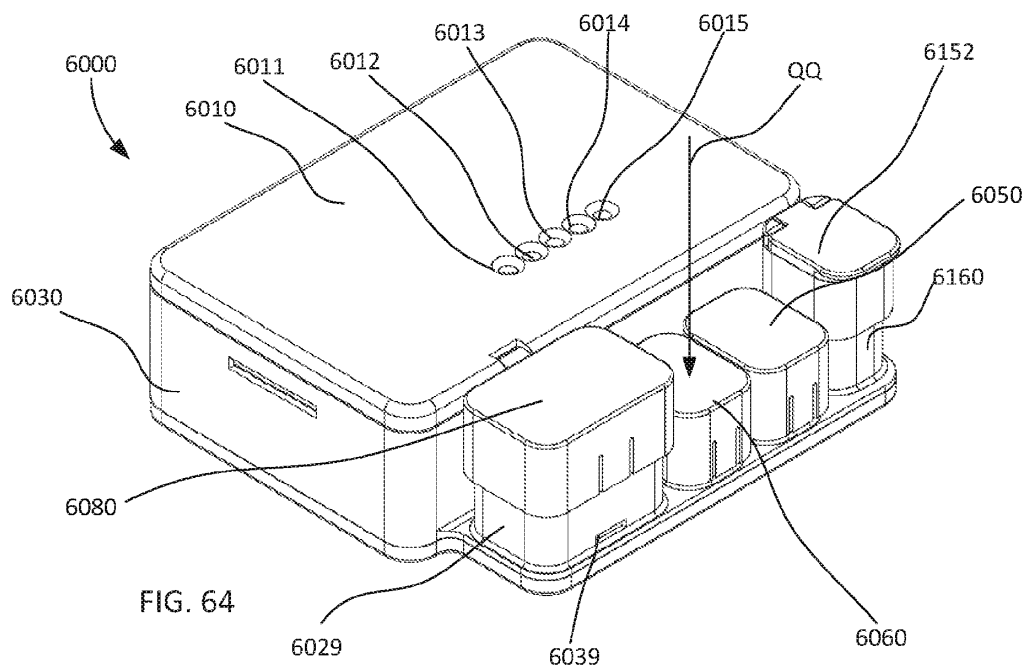
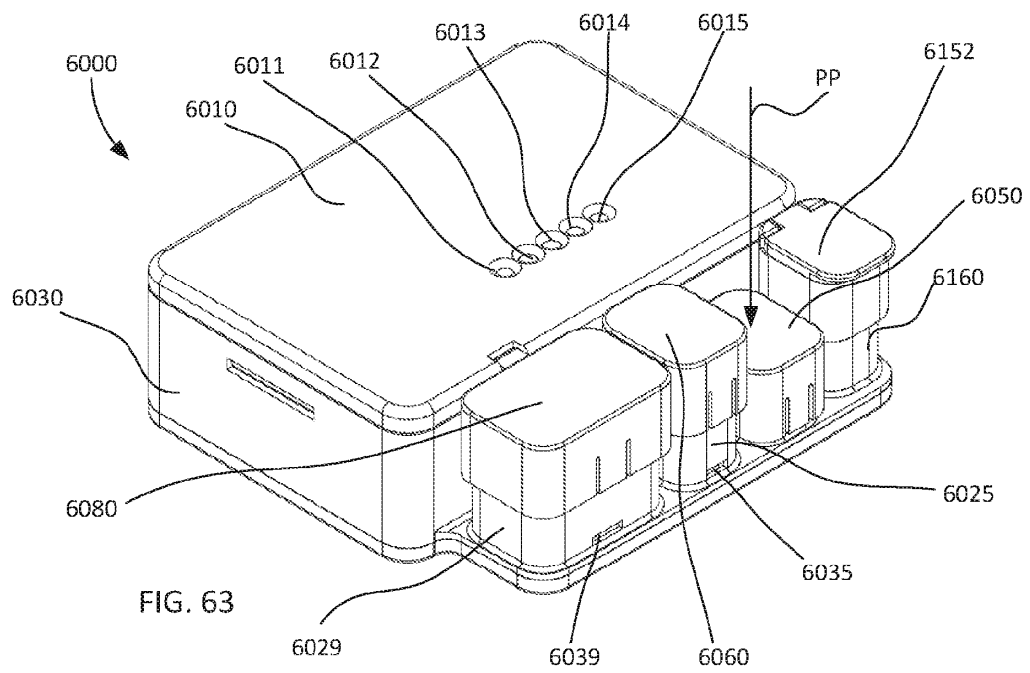


FIG. 62



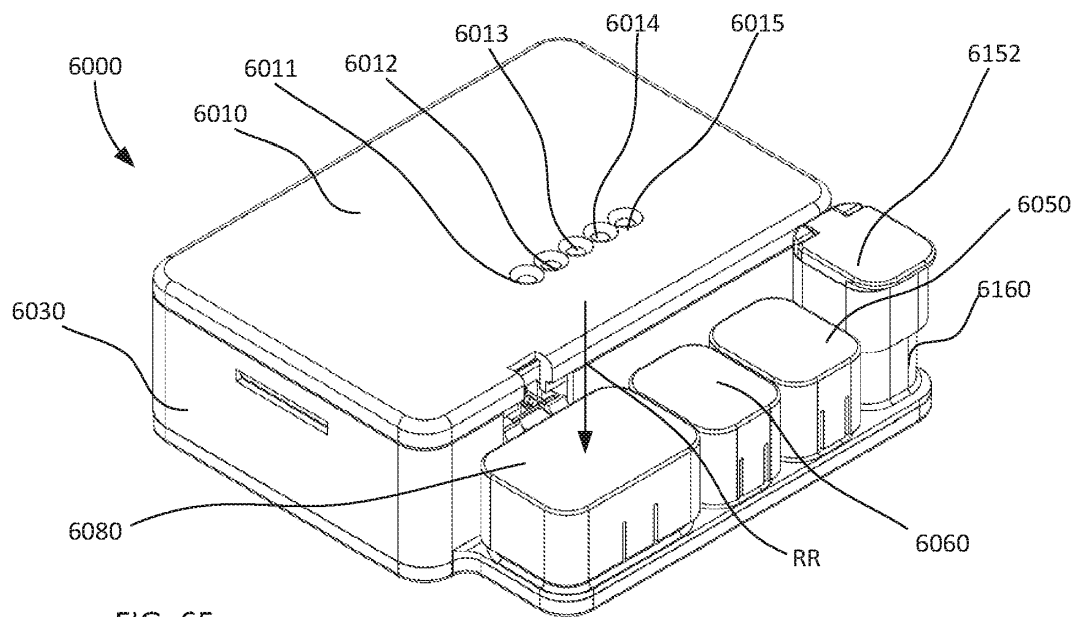


FIG. 65

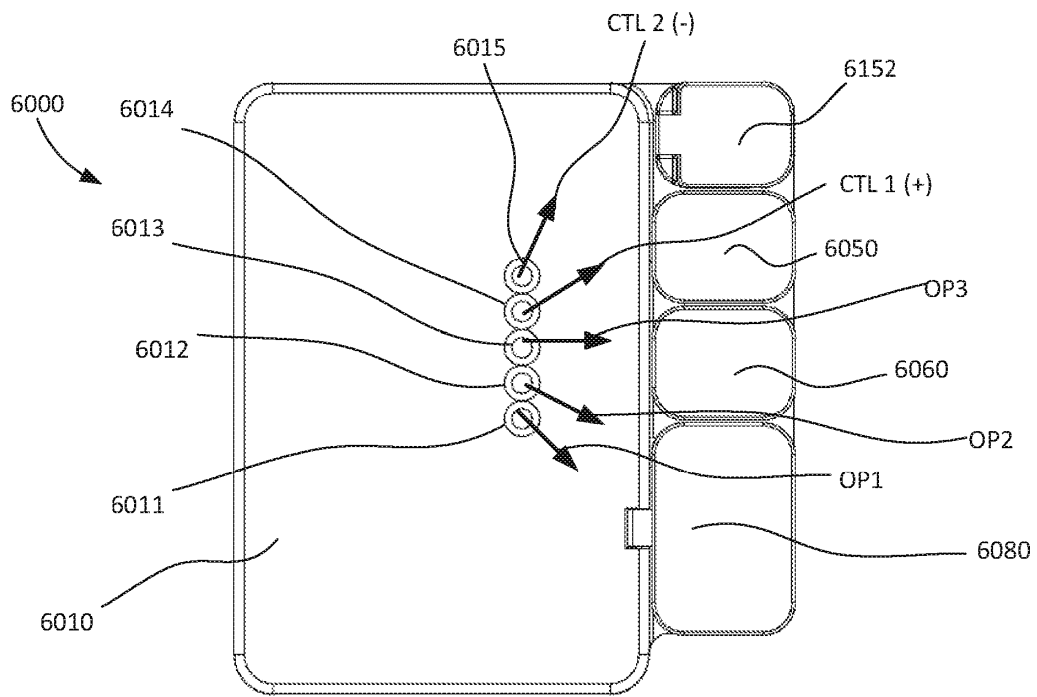


FIG. 66

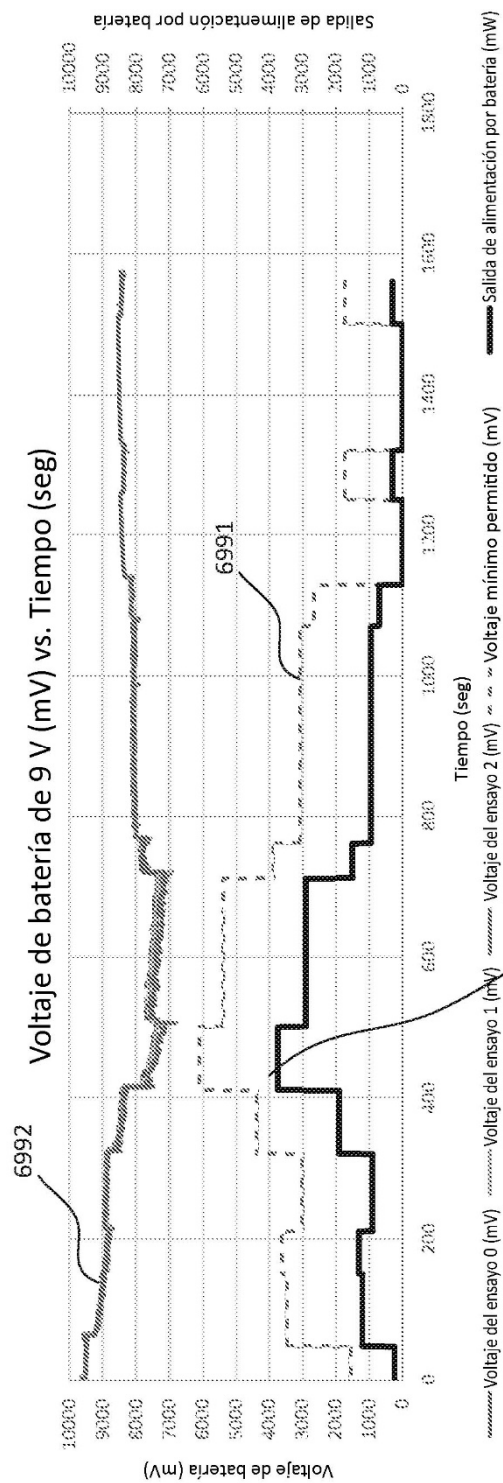


FIG. 67

FIG. 68A

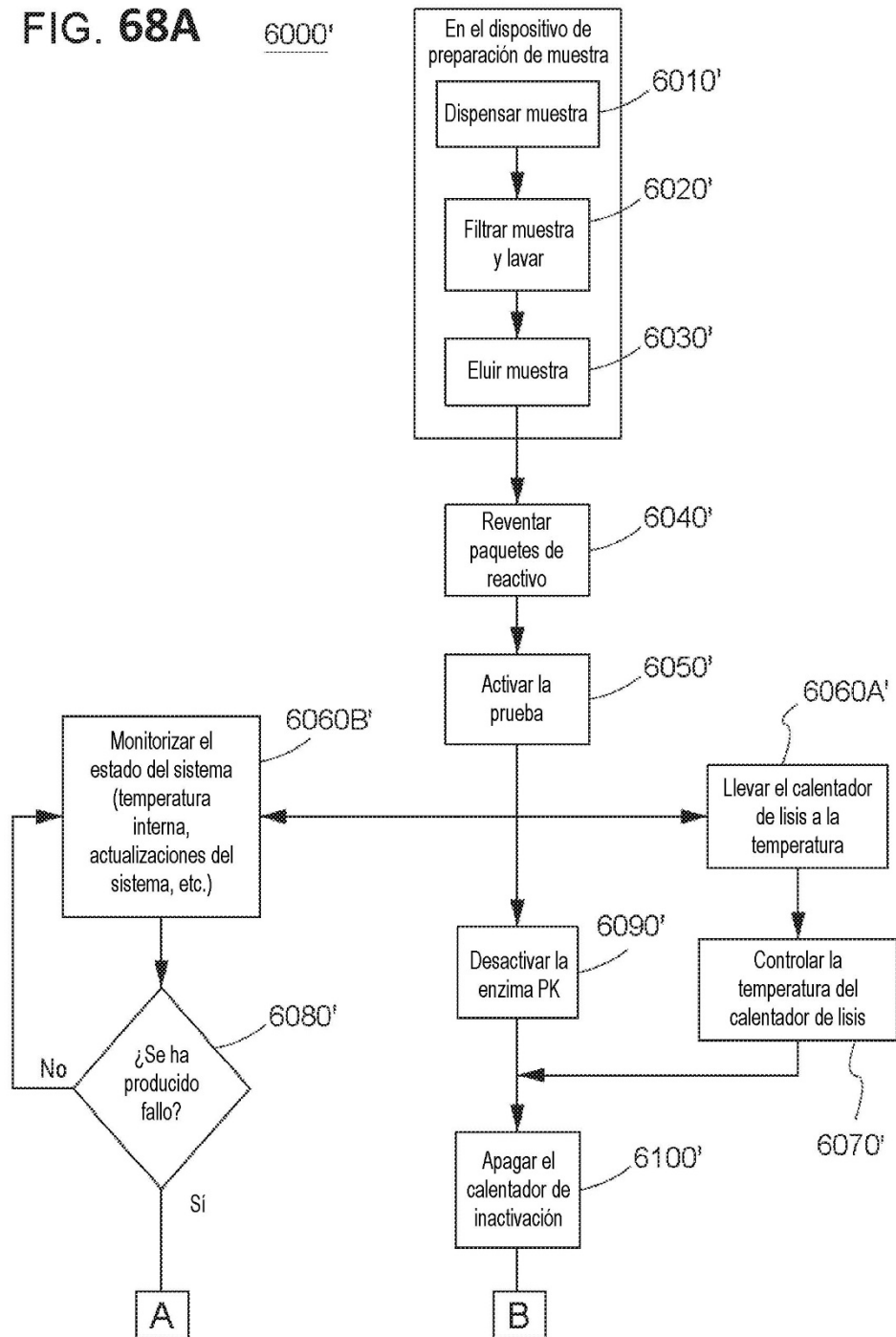
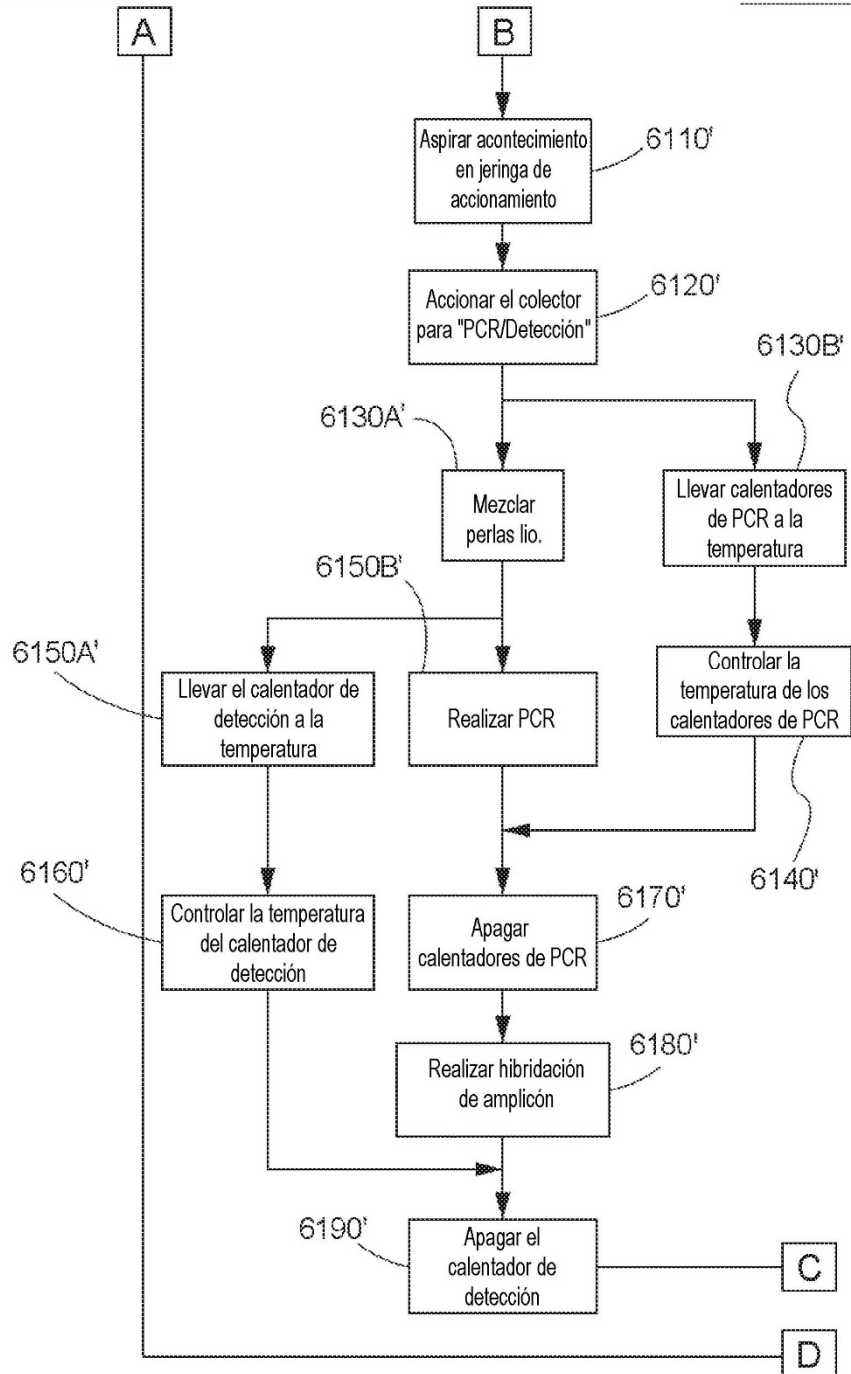
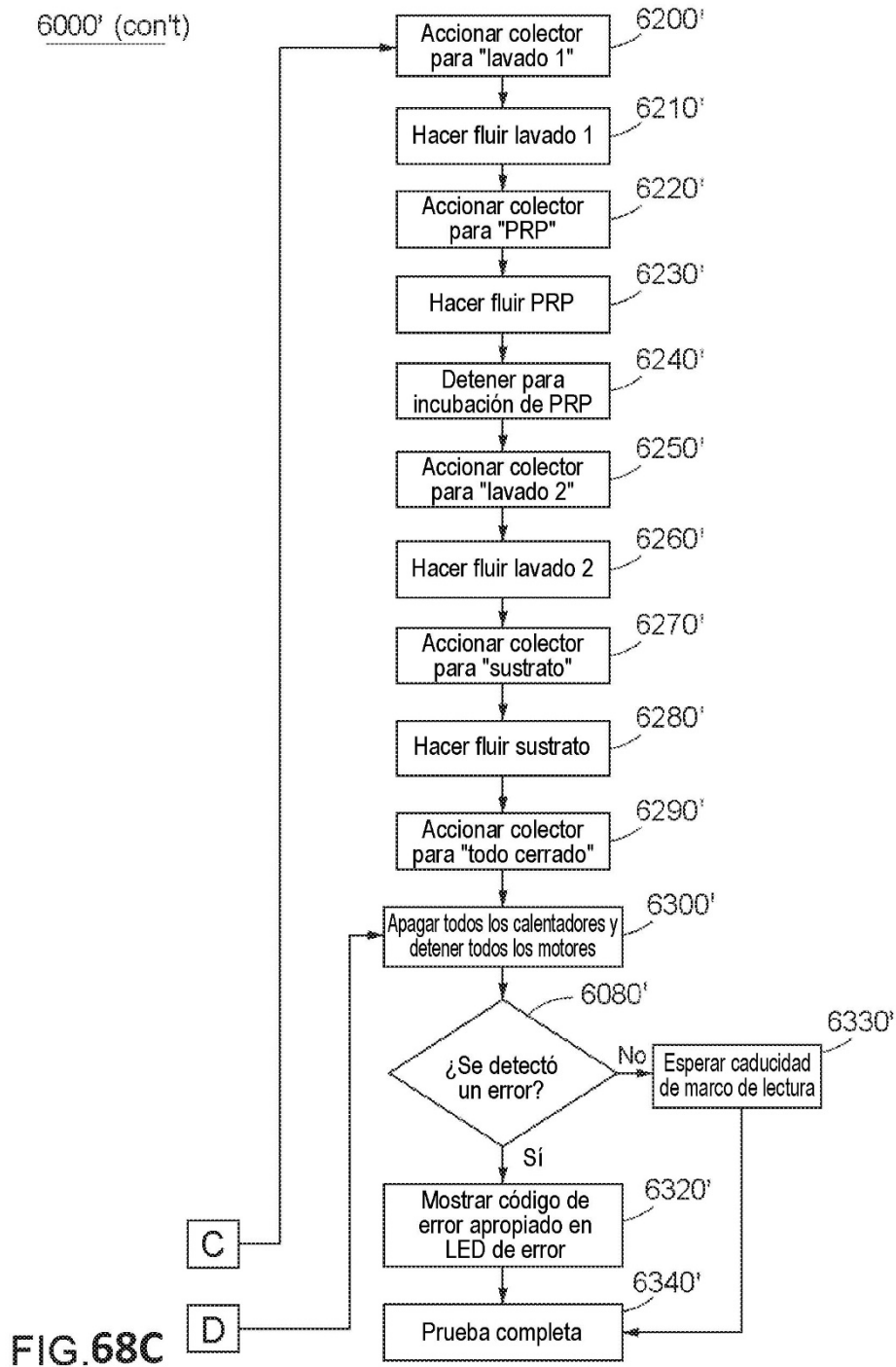


FIG. 68B

6000' (con't)





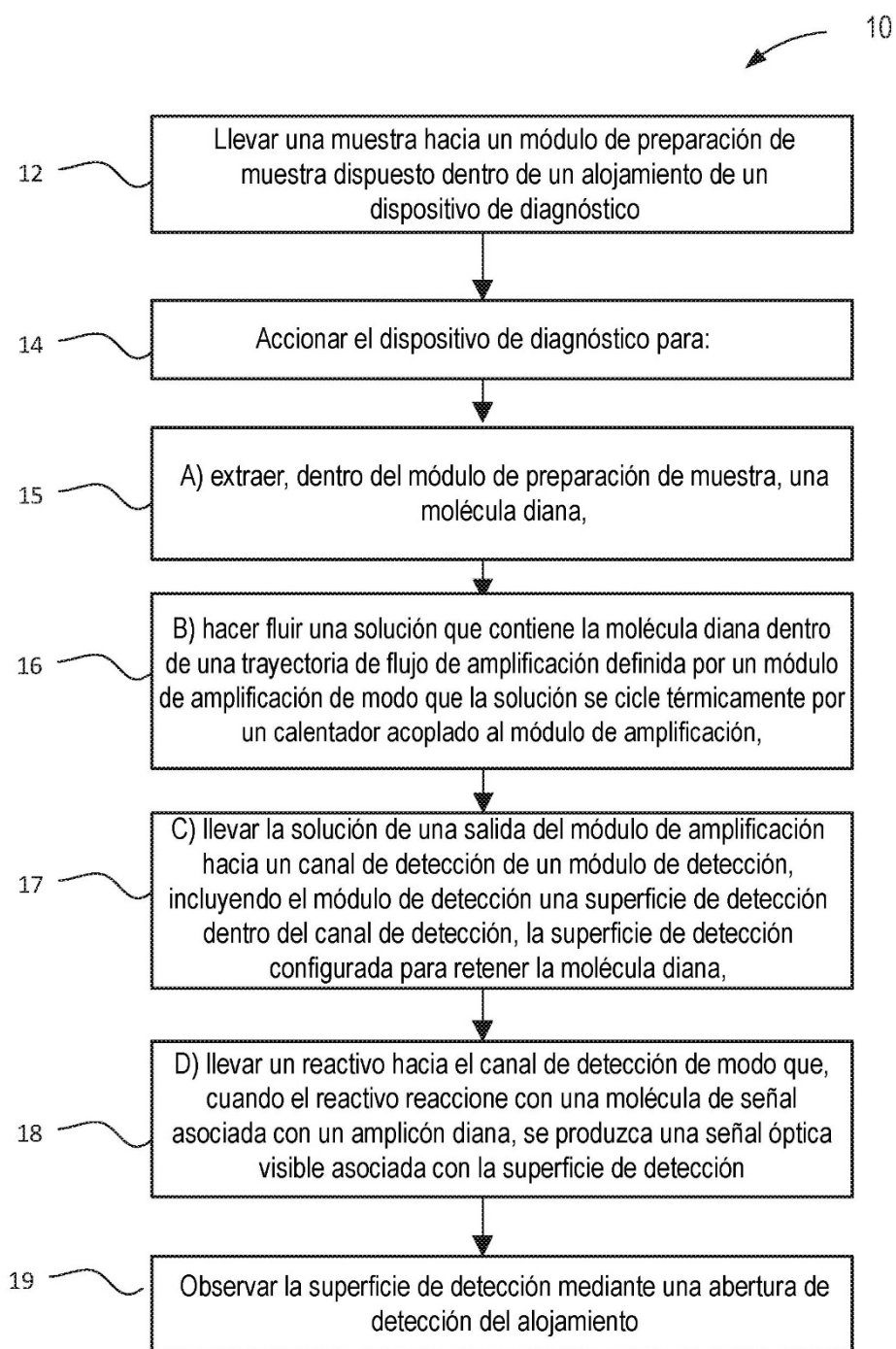
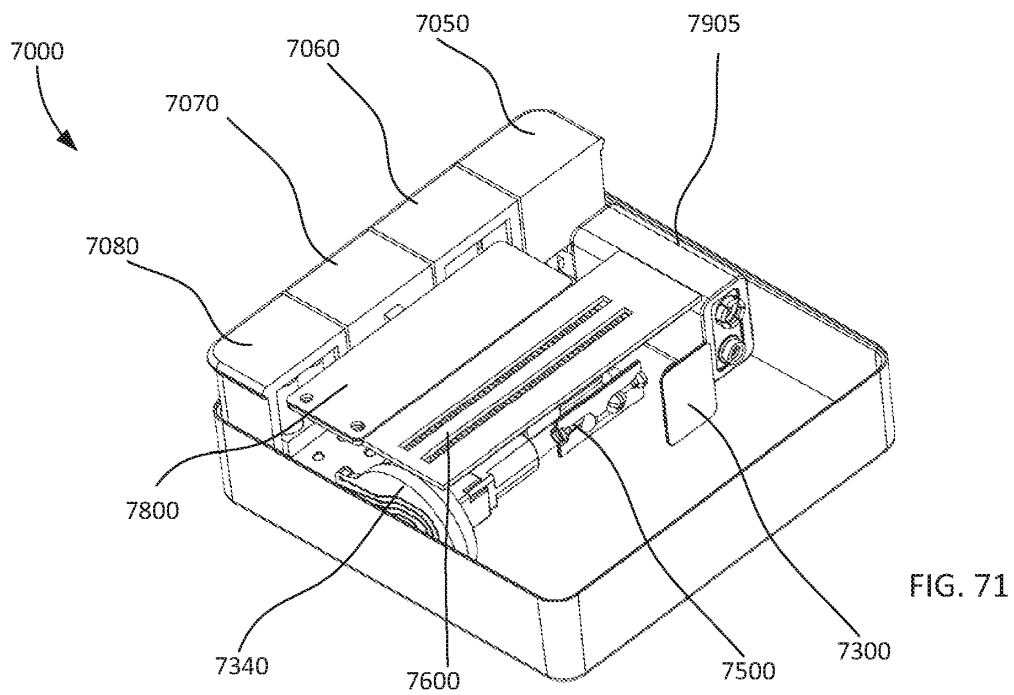
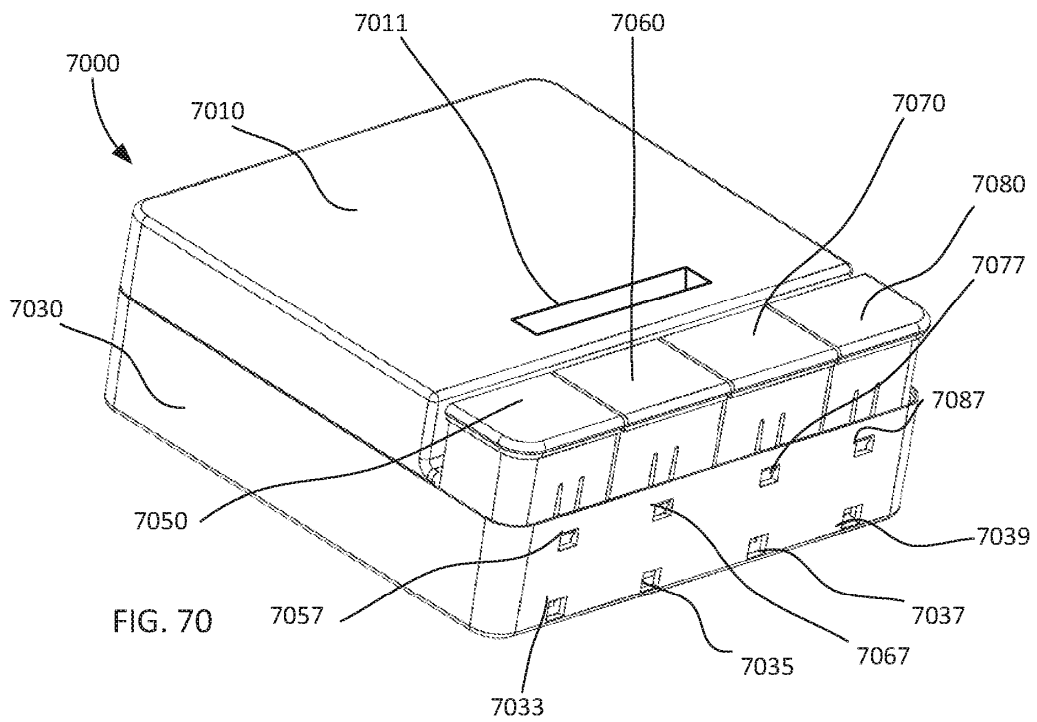


FIG. 69



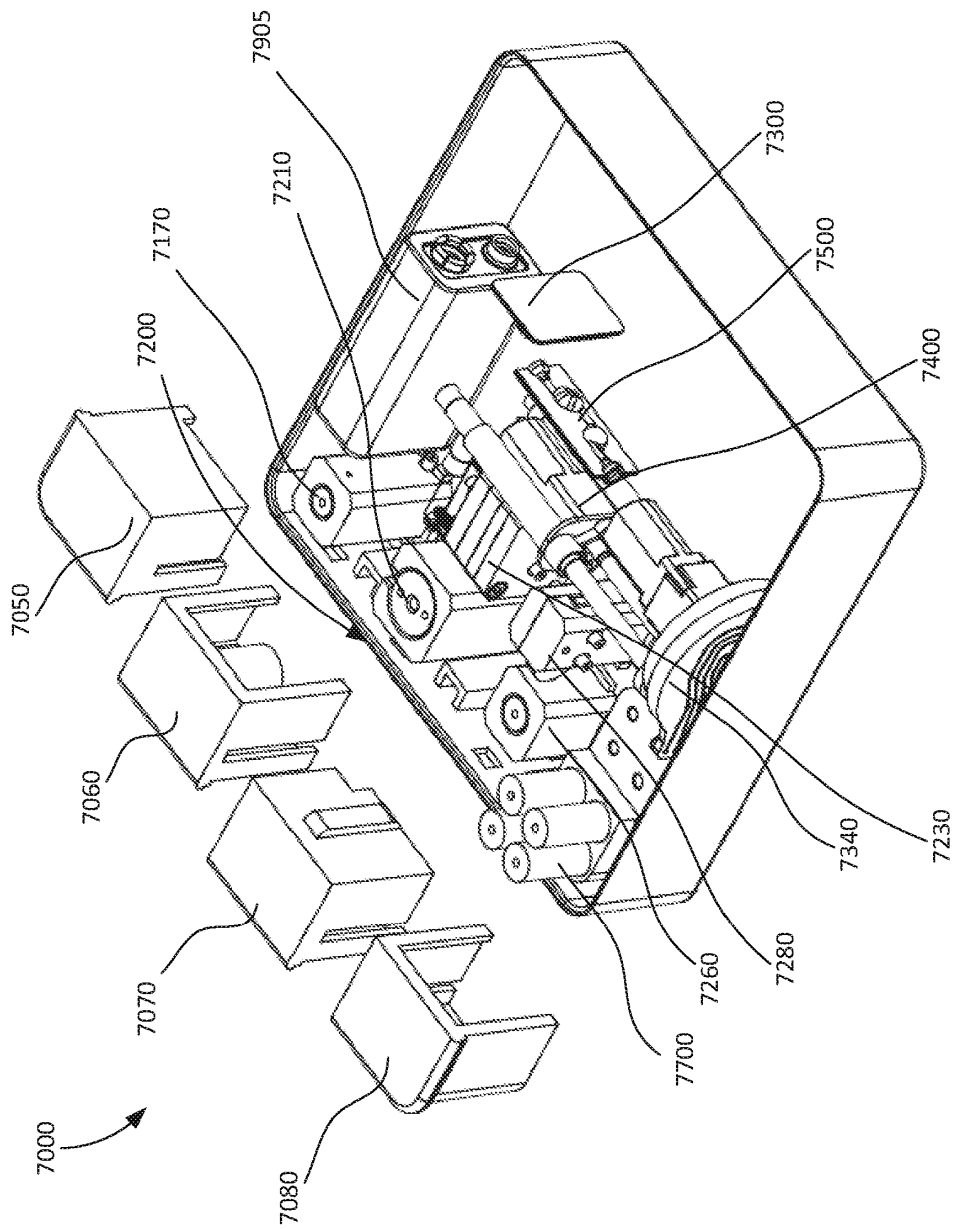
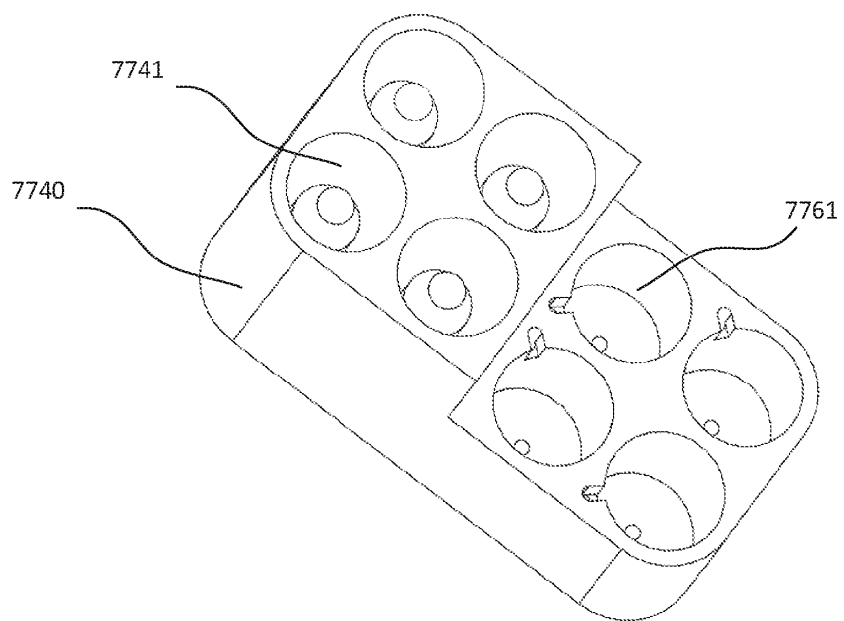
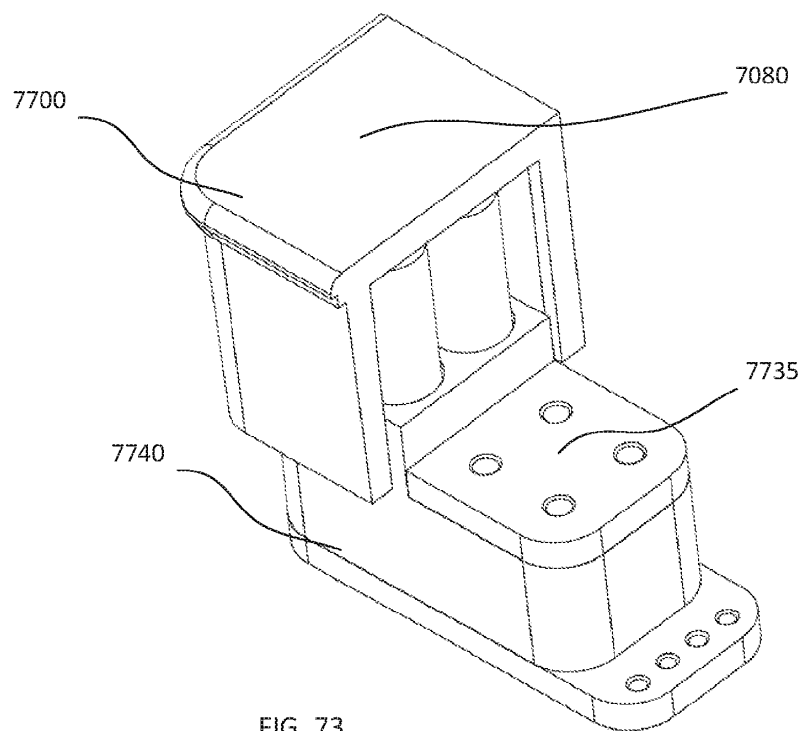


FIG. 72



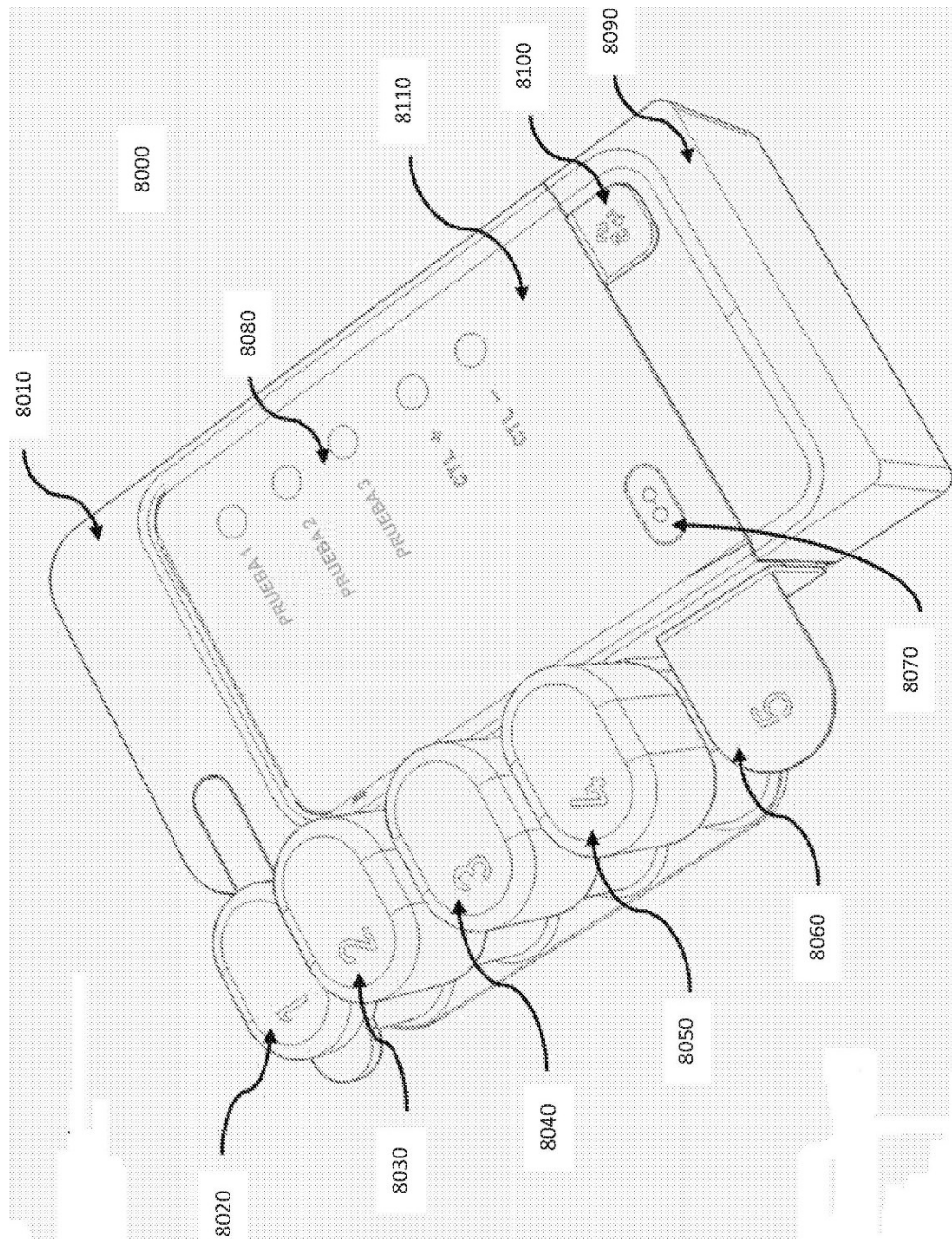
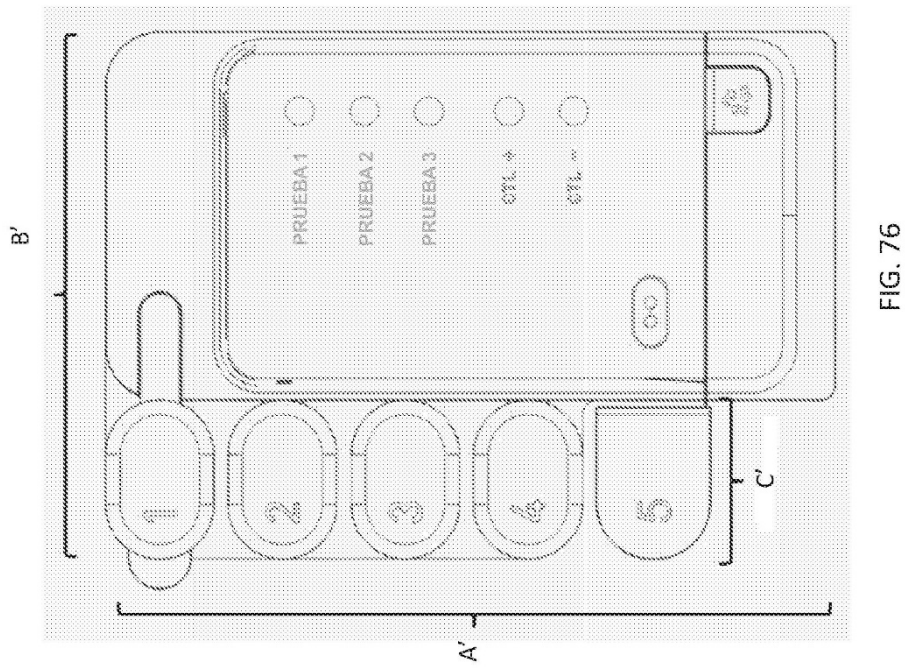
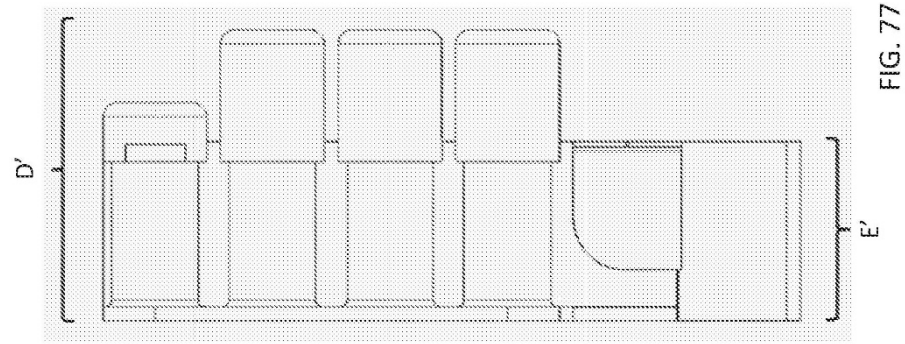


FIG. 75



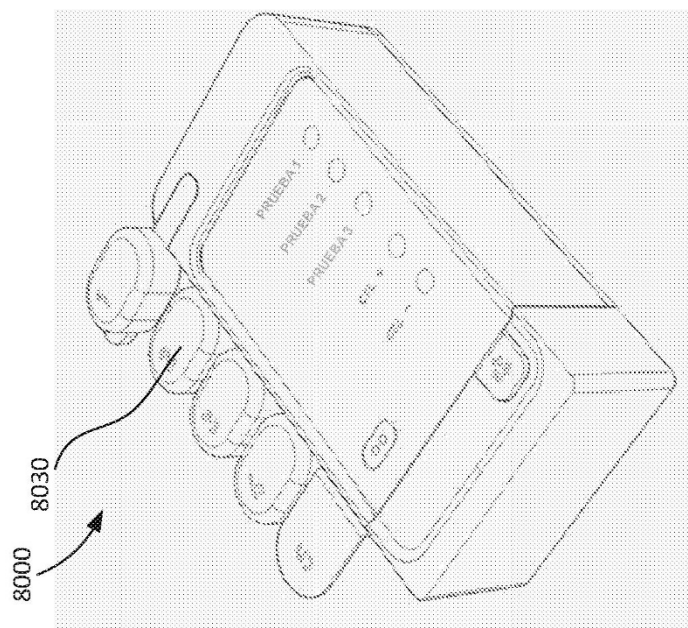


FIG. 79

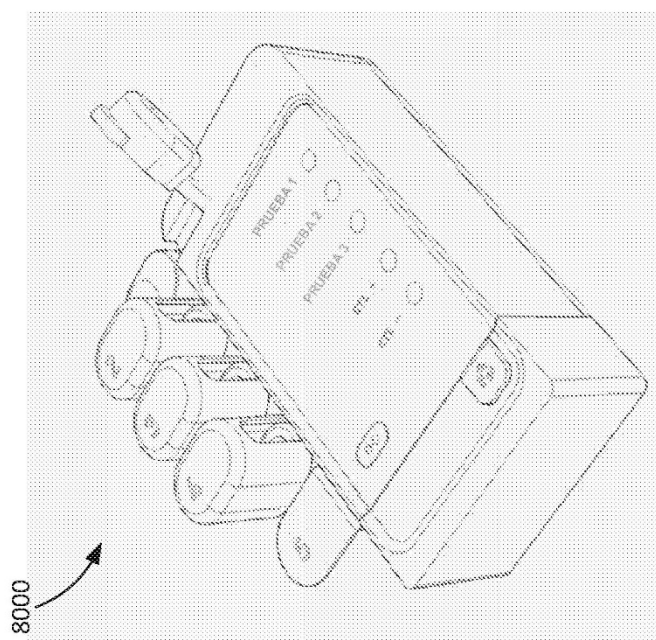


FIG. 78

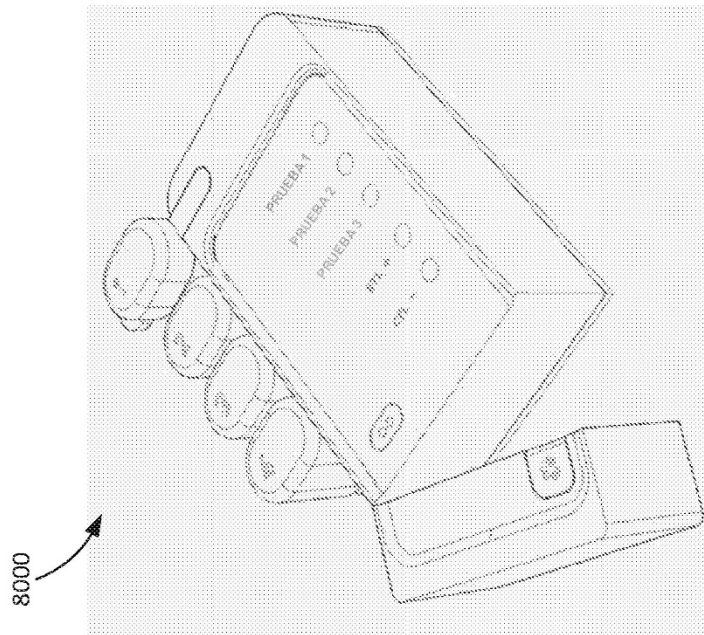


FIG. 81

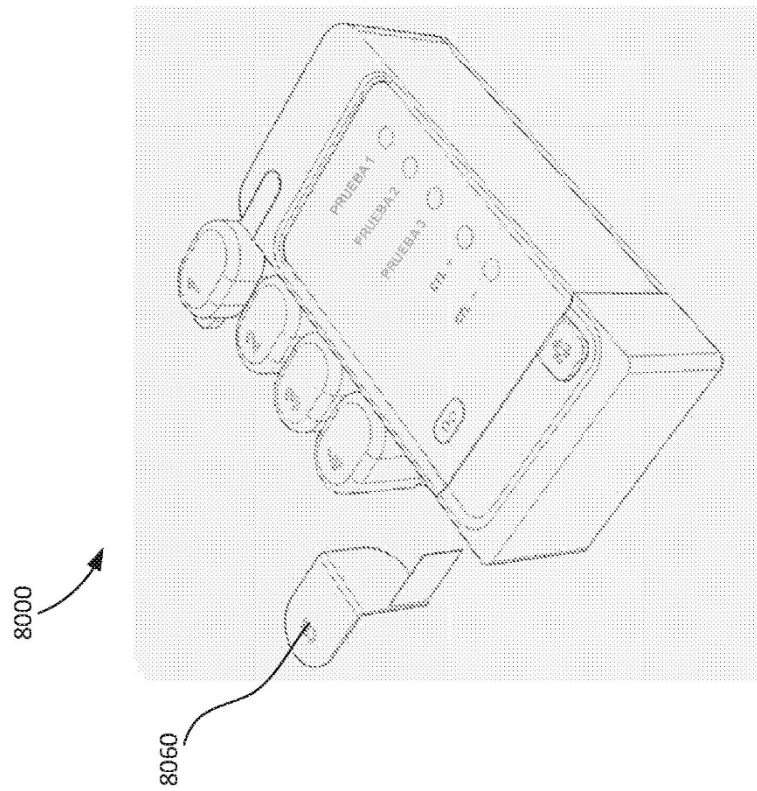
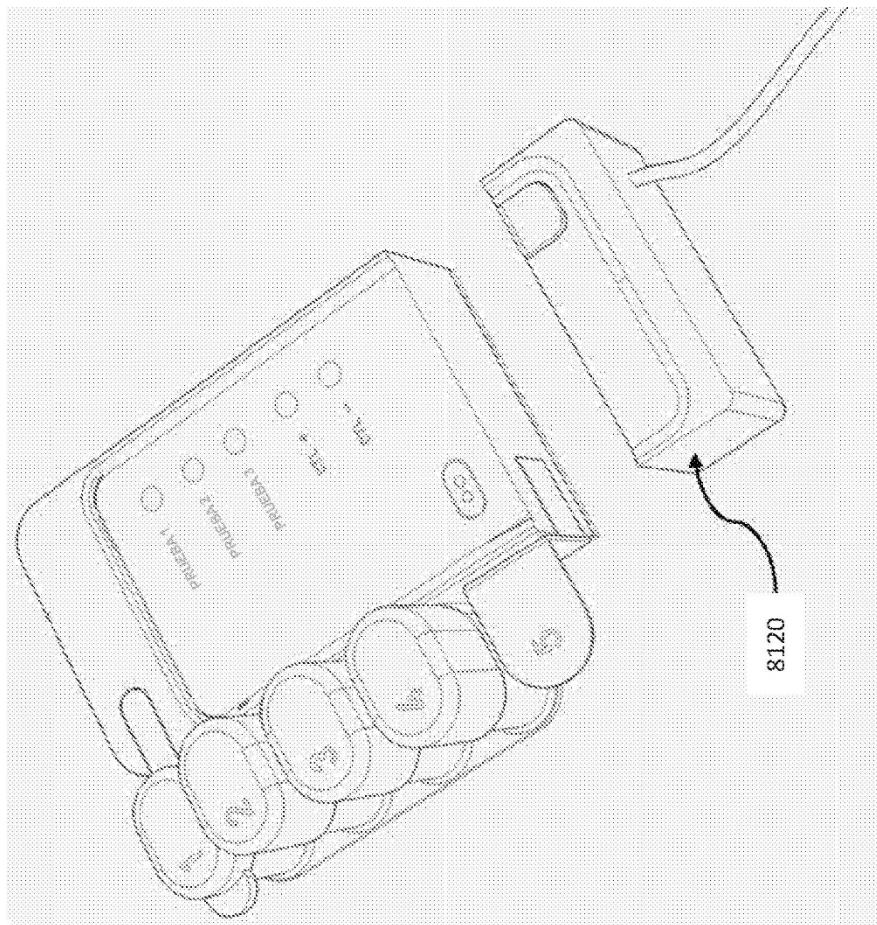
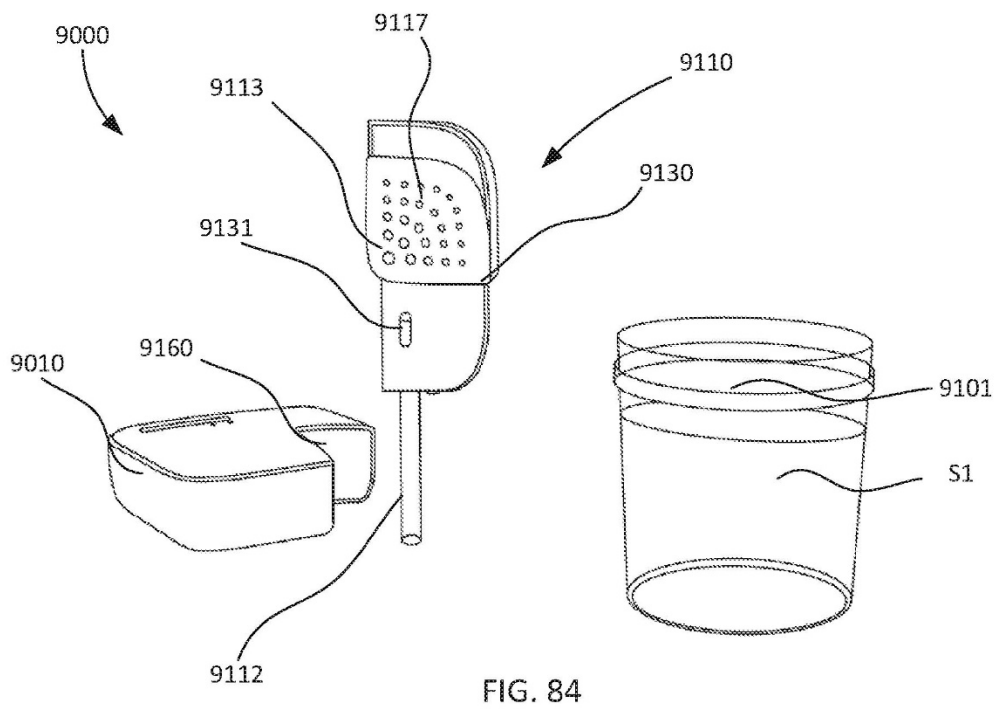
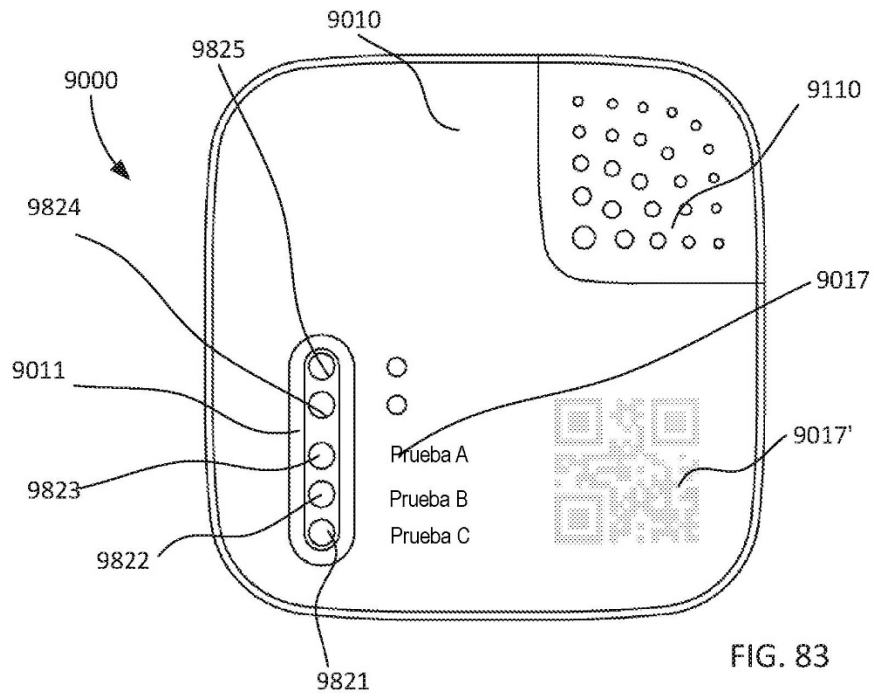


FIG. 80





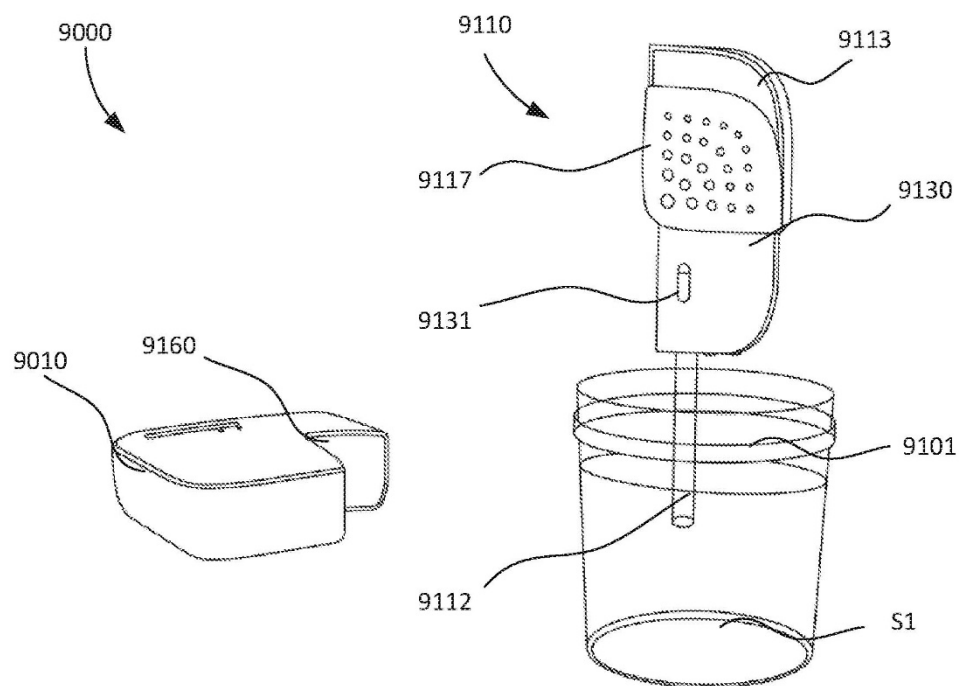


FIG. 85

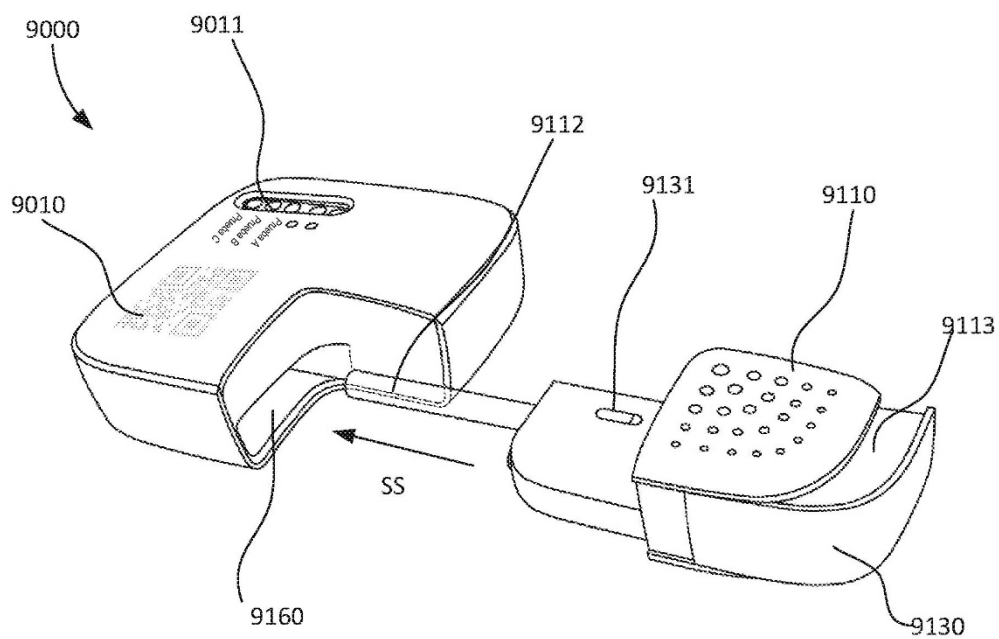


FIG. 86

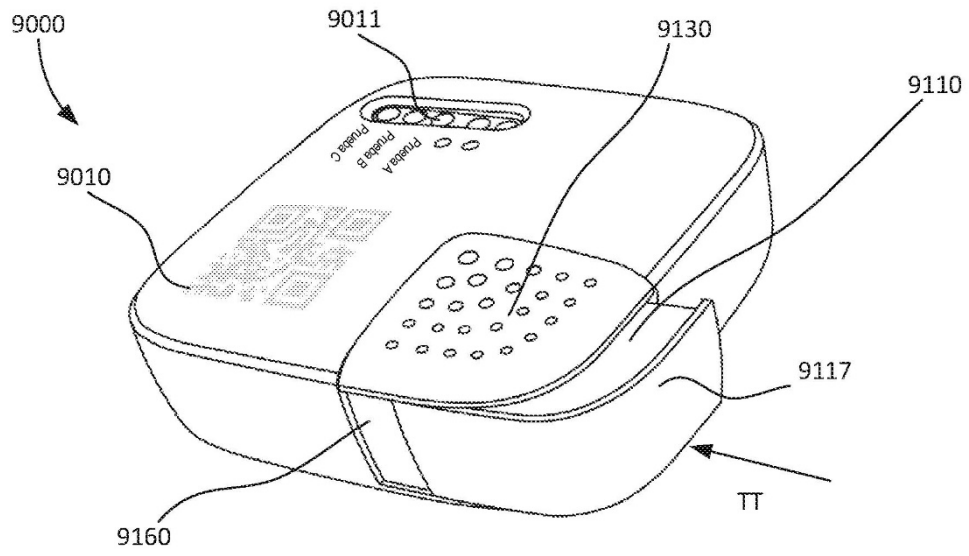


FIG. 87

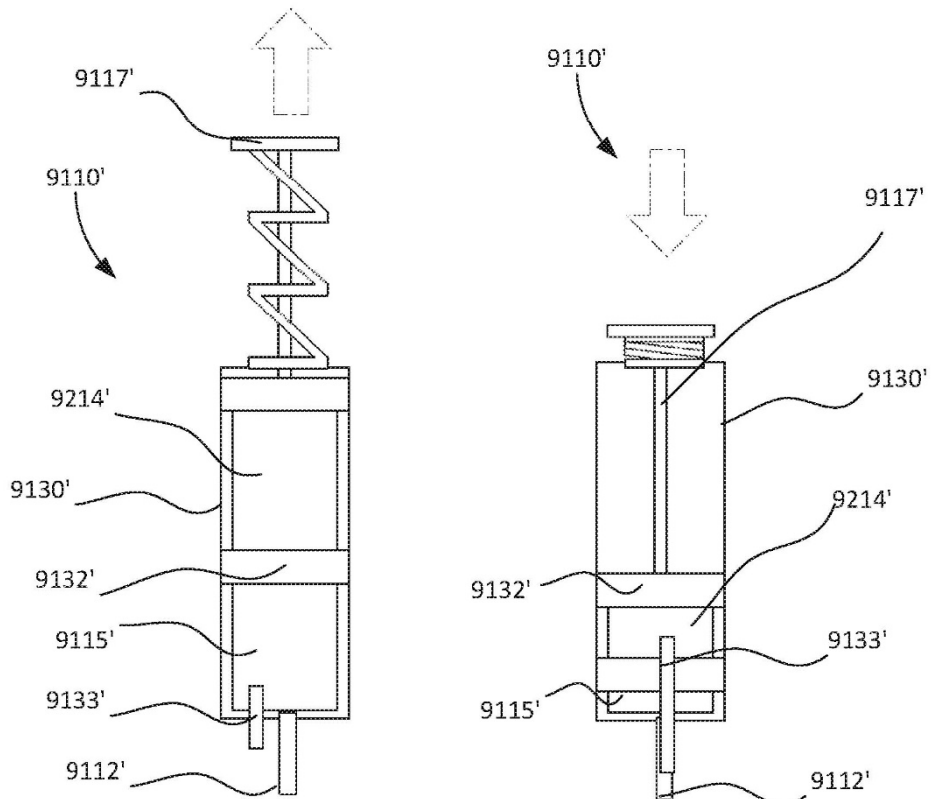


FIG. 88

FIG. 89

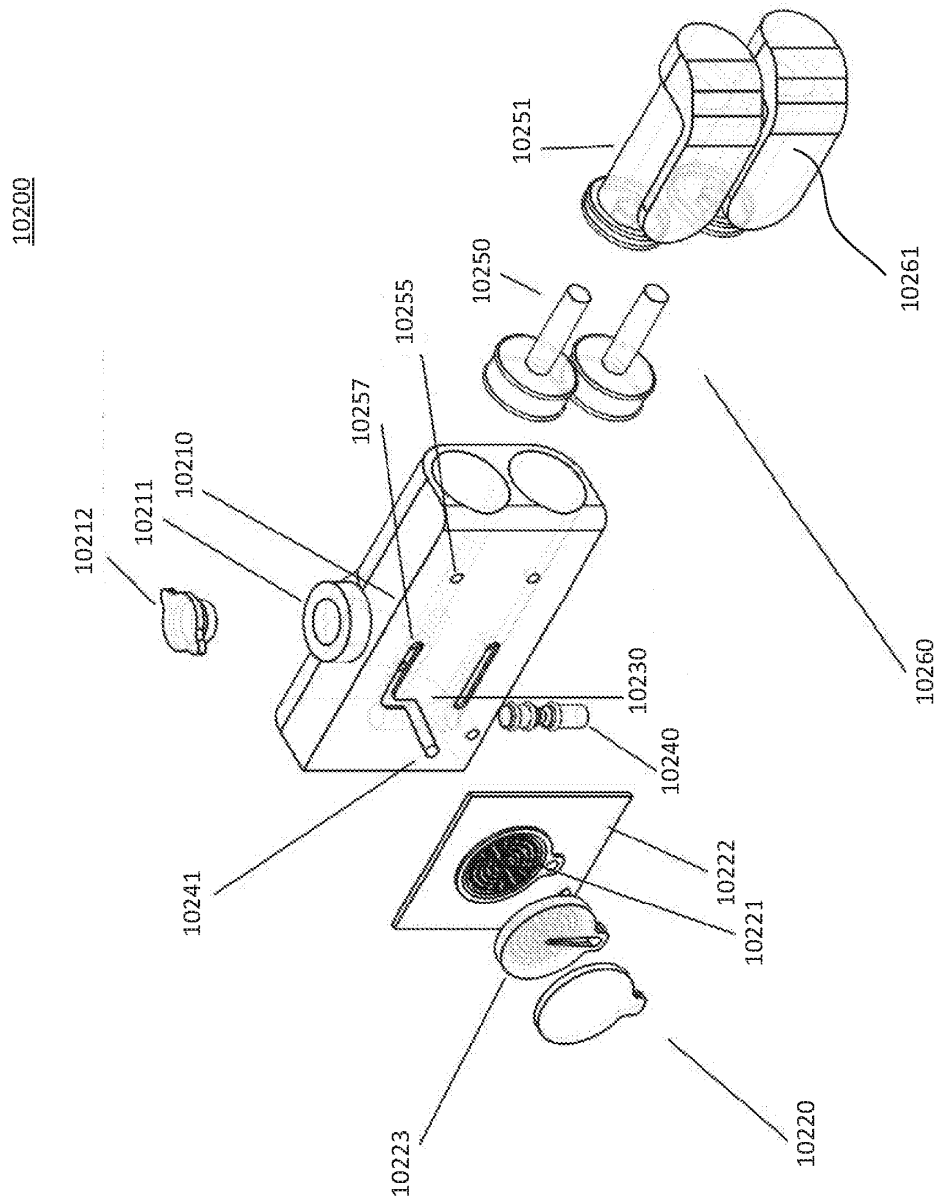


FIG. 90

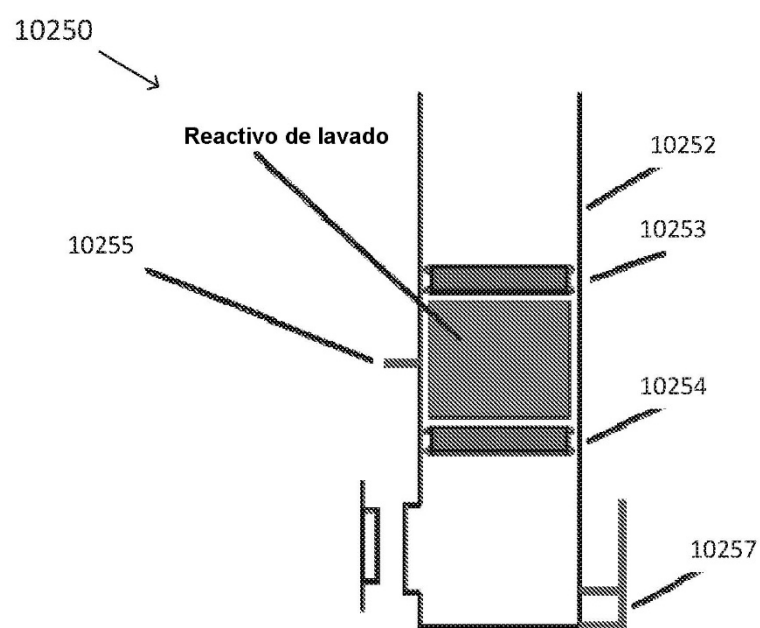


FIG. 91

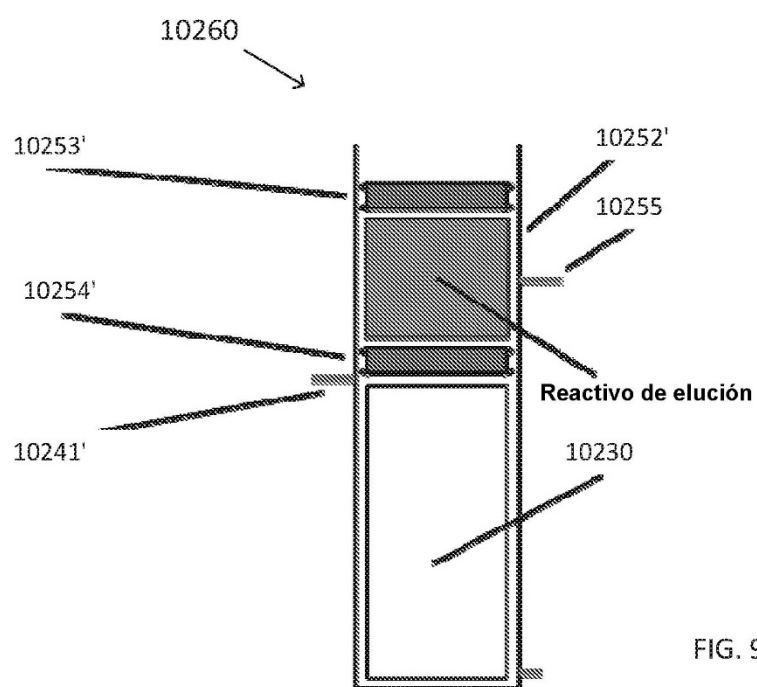


FIG. 92

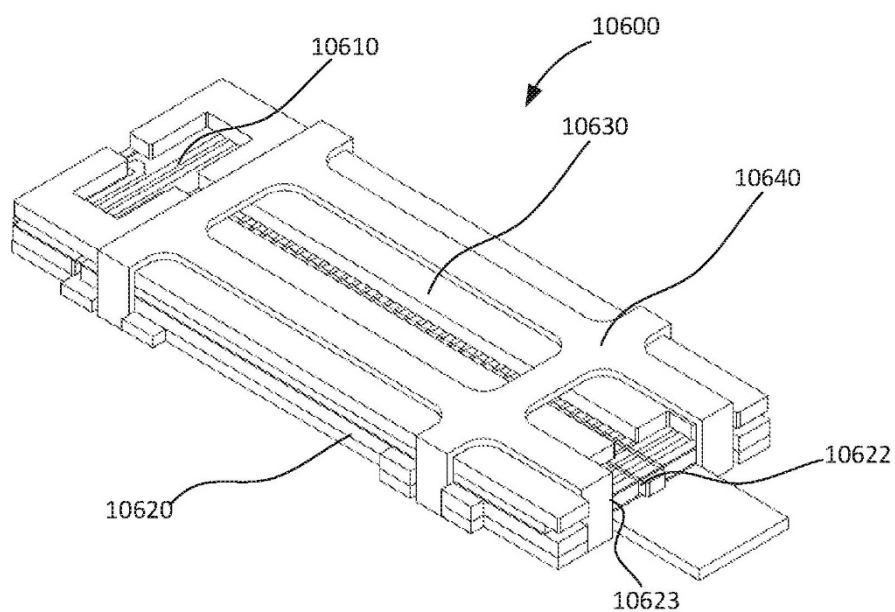


FIG. 93

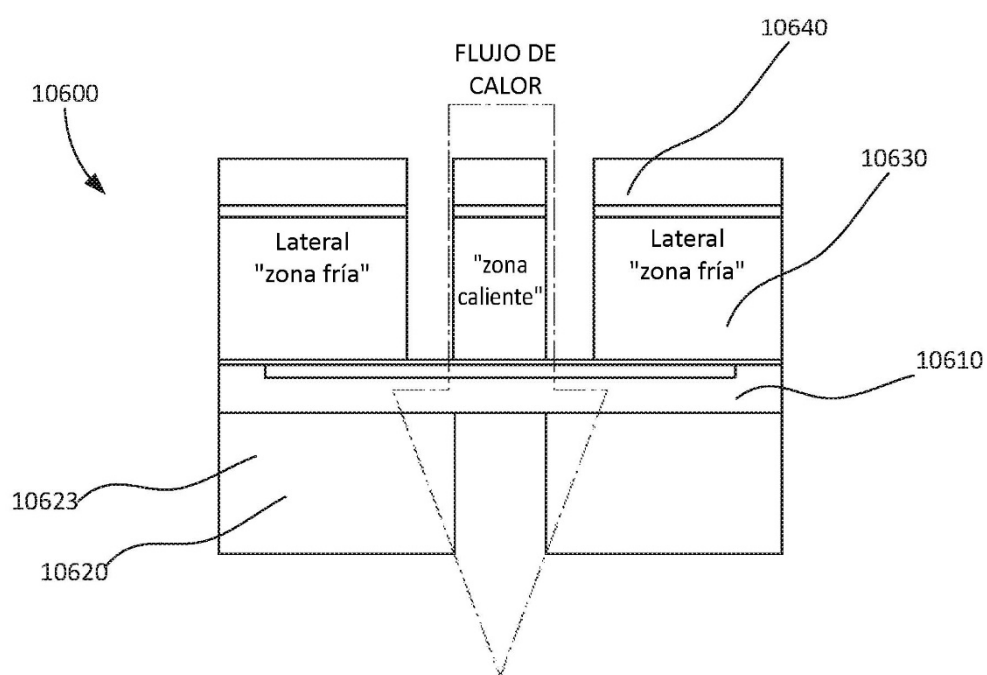


FIG. 94

