

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 956 109**

51 Int. Cl.:

G01N 21/64 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.02.2019 PCT/IB2019/051213**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.08.2019 WO19159109**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.02.2019 E 19710787 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.08.2023 EP 3752819**

54 Título: **Analizador**

30 Prioridad:
15.02.2018 US 201862631165 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
13.12.2023

73 Titular/es:
**PROCISEX INC. (100.0%)
9449 Carroll Park Drive
San Diego CA 92121, US**

72 Inventor/es:
**BOOKER, DAVID;
HALE, MICHAEL;
SRIKRISHNAN, RAJ;
MAYERNICK, MARK y
HUANG, XIAOPEI**

74 Agente/Representante:
PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 956 109 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

Analizador

5 **Antecedentes**

La absorbancia de la luz es una técnica analítica comúnmente utilizada para determinar la composición de una muestra líquida. Por ejemplo, la absorbancia de luz que tiene una longitud de onda de 450 nm o 600 nm se usa comúnmente como medida de turbidez indicativa de, por ejemplo, el crecimiento celular en un medio de cultivo. Los ensayos colorimétricos de absorbancia de luz pueden ser una herramienta eficaz para rastrear la conversión de reacciones en las que uno o más reactivos o productos tienen propiedades cromóforas. La concentración de proteínas en una solución se puede medir determinando la absorbancia de la solución de luz que tiene una longitud de onda de 280 nm, ya que esta luz ultravioleta es fuertemente absorbida por las cadenas laterales aromáticas de los aminoácidos proteicos.

Otras técnicas analíticas monitorizan la luz que se emite, en lugar de absorberse, por una muestra y sus componentes. La amplia variedad y alta sensibilidad de los fluoróforos disponibles como etiquetas, marcadores e indicadores, han proporcionado una motivación para el desarrollo de una gran cantidad de ensayos de fluorescencia bien estudiados. Como un ejemplo, los ensayos de transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET) implican un proceso en el que una molécula donante (por ejemplo, un tinte criptato) absorbe la luz, entrando en un estado de excitación. En lugar de emitir luz, la primera molécula transfiere su estado excitado a una molécula aceptora con otras propiedades (por ejemplo, un tinte que emite fluorescencia a una longitud de onda diferente o un extintor), y el aceptor emite fluorescencia o apaga la excitación. Debido a que la eficiencia de la transferencia depende de la proximidad de las dos moléculas, la señal puede proporcionar información sobre la formación de complejos moleculares o la estructura biomolecular.

El documento WO 2016/083416 divulga un aparato para medir la fluorescencia y la absorbancia de una sustancia en una muestra, que comprende: una celda de flujo para contener una muestra, una primera fuente de luz, un primer conductor para transmitir luz desde la primera fuente de luz a la celda de flujo para irradiar una muestra contenida en la misma, un segundo conductor para transmitir luz desde la celda de flujo a un detector de muestras dispuesto para detectar una radiación electromagnética que ha pasado a través de la celda, y una unidad de procesamiento dispuesta para recibir una primera señal de un detector de referencia y una segunda señal del detector de muestras y para determinar una absorbancia basada en la primera y segunda señales, comprendiendo el aparato además una segunda fuente de luz, un tercer conductor para transmitir luz desde la segunda fuente de luz a la celda y en donde el detector de muestra está dispuesto además para detectar también señales de fluorescencia en la luz que ha pasado a través de la celda de flujo.

El documento WO 2011/120006 divulga un sistema que comprende un canal y un conjunto de iluminación. El conjunto de iluminación está configurado para iluminar una región de examen del canal con primeros pulsos de luz entrelazados con segundos pulsos de luz a medida que las gotas pasan a través de la región de examen. Los primeros pulsos pueden ser espectralmente distintos de los segundos pulsos. El sistema comprende uno o más detectores configurados para detectar luz de la región de examen y comprende además un controlador que recopila datos que representan la luz detectada durante la iluminación de la región de examen con los primeros pulsos y los segundos pulsos.

Si bien se ha demostrado que tanto la absorbancia de la luz como la fluorescencia son herramientas importantes para la química y la biología analíticas, la aplicación simultánea de ambos enfoques plantea algunos desafíos. Por ejemplo, algunos fluoróforos y compuestos coloreados pueden interferir entre sí, reduciendo la sensibilidad de las mediciones de su presencia. También, los diferentes equipos ópticos utilizados para realizar la detección de fluorescencia y absorbancia normalmente requieren cierto grado de interacción del operador al cambiar de una modalidad de ensayo a otra. En vista de lo anterior, existe la necesidad de un analizador que pueda usarse para medir de manera fácil y precisa la fluorescencia y absorbancia de la misma muestra. Los dispositivos y métodos actualmente divulgados proporcionan soluciones a estas y otras necesidades.

Breve sumario

La presente invención proporciona un aparato para detectar una luz de emisión de una muestra y la absorbancia de una luz de transiluminación por la muestra, comprendiendo el aparato una primera fuente de luz configurada para emitir una luz de excitación que tiene una longitud de onda de excitación. El aparato comprende además una segunda fuente de luz configurada para transiluminar la muestra con la luz de transiluminación. El aparato comprende además un primer detector de luz configurado para detectar la luz de excitación, y un segundo detector de luz configurado para detectar la luz de emisión y la absorbancia de la luz de transiluminación por la muestra, teniendo el segundo detector de luz un sensor de temperatura de emisión configurado para detectar la temperatura del segundo detector de luz. El aparato comprende además un espejo dicróico configurado para (1) epiluminar la muestra reflejando al menos una porción de la luz de excitación, (2) transmitir al menos una porción de la luz de excitación al primer detector de luz, (3) transmitir al menos una porción de la luz de emisión al segundo detector de luz, y (4) transmitir al menos una porción de la luz de transiluminación al segundo detector de luz.

5 En algunas realizaciones, el aparato comprende además un sensor de temperatura de excitación configurado para detectar la temperatura del primer detector de luz. En algunas realizaciones, el aparato comprende además un sensor de temperatura de la muestra configurado para detectar la temperatura de la muestra. En algunas realizaciones, el sensor de temperatura de la muestra está ubicado sustancialmente ortogonal a una línea que comprende la muestra y una porción del espejo dicroico.

10 En algunas realizaciones, el espejo dicroico está configurado sustancialmente en un ángulo de 45 grados con respecto a una línea que comprende la muestra y una porción de la primera fuente de luz. En algunas realizaciones, el espejo dicroico está configurado para reflejar al menos una porción de la luz de excitación procedente de la primera fuente de luz sustancialmente en un ángulo de 90 grados. En algunas realizaciones, el aparato comprende además una lente objetivo de excitación entre el espejo dicroico y una muestra contenida dentro de una cubeta. En algunas realizaciones, la lente objetivo de excitación está configurada para enfocar la luz de excitación sobre la muestra.

15 En algunas realizaciones, el aparato comprende además un filtro de paso de banda dispuesto entre el segundo detector de luz y el espejo dicroico. En algunas realizaciones, el filtro de paso de banda permite que solo la luz visible que tiene una longitud de onda que oscila entre aproximadamente 390 nm y aproximadamente 700 nm pase al segundo detector de luz. En algunas realizaciones, la luz de emisión transmitida a través del espejo dicroico pasa a través del filtro de paso de banda y se enfoca en el segundo detector de luz. En algunas realizaciones, la luz de transiluminación transmitida a través del espejo dicroico pasa a través del filtro de paso de banda y se enfoca en el segundo detector de luz. En algunas realizaciones, el aparato comprende además una rueda de filtros que sostiene el filtro de paso de banda. En algunas realizaciones, el filtro de paso de banda es un primer filtro de paso de banda, y la rueda de filtros contiene además uno o más filtros de paso de banda adicionales.

25 En algunas realizaciones, el segundo detector de luz es un detector fotomultiplicador, tal como un fotomultiplicador de silicio. En algunas realizaciones, el primer detector de luz es un fotodiodo. En algunas realizaciones, la luz de excitación tiene una longitud de onda dentro del intervalo de longitud de onda ultravioleta. En algunas realizaciones, la luz de transiluminación tiene una longitud de onda dentro del intervalo de longitud de onda visible. En algunas realizaciones, la segunda fuente de luz comprende un primer diodo emisor de luz (LED) configurado para emitir una primera luz (por ejemplo, luz roja visible) y un segundo LED configurado para emitir una segunda luz (por ejemplo, luz verde visible).
30 En algunas realizaciones, la segunda fuente de luz comprende más de dos diodos emisores de luz. En ciertos aspectos, cada uno de los más de dos diodos emisores de luz tiene una longitud de onda dominante diferente a la del otro de los más de dos diodos emisores de luz. En algunas realizaciones, al menos una de la primera fuente de luz y la segunda fuente de luz comprende una tapa con nervaduras configuradas para disipar el calor. En algunas realizaciones, el aparato está configurado para detectar o medir una muestra contenida dentro de una cubeta. En algunas realizaciones, la muestra comprende una muestra biológica tal como sangre entera, plasma, suero, glóbulos rojos o glóbulos blancos.

40 En algunas realizaciones, el aparato además comprende un lector de códigos de barras. En algunas realizaciones, el lector de códigos de barras está dentro de la carcasa del instrumento. En algunas realizaciones, el lector de códigos de barras es externo a la carcasa del instrumento. En algunas realizaciones, el aparato comprende además un módulo de impresora dentro de la carcasa del instrumento. En algunas realizaciones, el aparato comprende además una pantalla táctil montada en una superficie externa de la carcasa.

45 También se proporcionan métodos para detectar una luz de emisión de una muestra y la absorbancia de la luz de transiluminación por la muestra. El método comprende proporcionar el aparato descrito anteriormente. El método comprende además insertar la muestra en el aparato. El método comprende además epiluminar la muestra utilizando la primera fuente de luz. El método comprende además detectar la luz de excitación transmitida a través del espejo dicroico usando el primer detector. El método comprende además detectar la luz de emisión transmitida desde la muestra a través del espejo dicroico usando el segundo detector. El método comprende además transiluminar la muestra usando la segunda fuente de luz para generar una luz de transiluminación. El método comprende además detectar la luz de transiluminación transmitida a través del espejo dicroico con el segundo detector para detectar de ese modo la luz de emisión de la muestra y la absorbancia de la luz de transiluminación por la muestra.

55 En algunas realizaciones, el método comprende además medir una corriente oscura con el segundo detector, antes de insertar la muestra en el aparato. En algunas realizaciones, el método comprende además ajustar una cantidad de luz de excitación emitida por la primera fuente de luz en función de la luz de excitación monitorizada usando el primer detector. En algunas realizaciones, el método comprende además medir una fluorescencia inherente de la muestra, utilizando, por ejemplo, el segundo detector después de la epiluminación. En algunas realizaciones, el método comprende además medir una absorbancia en blanco con el segundo detector de luz antes de insertar la muestra en el aparato.

60 En algunas realizaciones, el método comprende además corregir una señal emitida por el segundo detector de luz en función de la temperatura detectada usando el sensor de temperatura de emisión. En algunas realizaciones, el aparato comprende además un sensor de temperatura de excitación configurado para detectar la temperatura del primer detector de luz, y el método comprende además corregir una señal emitida por el primer detector de luz en función de la temperatura detectada usando el sensor de temperatura de excitación.

- También se proporcionan sistemas para detectar una luz de emisión de una muestra y la absorbancia de la luz de transiluminación por la muestra. El sistema comprende el aparato descrito anteriormente. El sistema comprende adicionalmente al menos un procesador. El sistema comprende además una memoria acoplada operativamente con el al menos un procesador. El al menos un procesador puede ejecutar instrucciones desde la memoria. Las instrucciones pueden comprender un código de programa para epiluminar la muestra usando la primera fuente de luz. Las instrucciones pueden comprender además un código de programa para detectar la luz de excitación transmitida a través del espejo dicróico usando el primer detector. Las instrucciones pueden comprender además un código de programa para detectar la luz de emisión transmitida desde la muestra a través del espejo dicróico usando el segundo detector. Las instrucciones pueden comprender además un código de programa para transiluminar la muestra usando la segunda fuente de luz para generar la luz de transiluminación. Las instrucciones pueden comprender además un código de programa para detectar la luz de transiluminación transmitida a través del espejo dicróico con el segundo detector para detectar de ese modo la absorbancia de la luz de transiluminación por la muestra.
- En algunas realizaciones, las instrucciones comprenden además un código de programa para medir una corriente oscura con el segundo detector, antes de insertar la muestra en el aparato. En algunas realizaciones, las instrucciones comprenden además un código de programa para ajustar una cantidad de luz de excitación emitida por la primera fuente de luz en función de la luz de excitación monitorizada usando el primer detector. En algunas realizaciones, las instrucciones comprenden además un código de programa para medir una fluorescencia inherente de la muestra, utilizando, por ejemplo, el segundo detector después de la epiluminación. En algunas realizaciones, las instrucciones comprenden además un código de programa para medir una absorbancia en blanco con el segundo detector de luz antes de insertar la muestra en el aparato
- En algunas realizaciones, las instrucciones comprenden además un código de programa para corregir una señal emitida por el segundo detector de luz en función de la temperatura detectada utilizando el sensor de temperatura de emisión. En algunas realizaciones, el aparato comprende además un sensor de temperatura de excitación configurado para detectar la temperatura del primer detector de luz, y las instrucciones comprenden además un código de programa para corregir una señal emitida por el primer detector de luz en función de la temperatura detectada usando el sensor de temperatura de excitación. Estos y otros objetos, aspectos y realizaciones serán más evidentes cuando se lean con la descripción detallada y las figuras que siguen.

Breve descripción de los dibujos

- La figura 1A es una ilustración de una vista isométrica de componentes seleccionados de un analizador de acuerdo con una realización.
- La figura 1B es una ilustración de una vista superior del analizador de la figura 1A.
- La figura 1C es una ilustración del analizador de la figura 1B que representa la epiluminación de una muestra con luz de excitación.
- La figura 1D es una ilustración del analizador de la figura 1B que representa la luz de emisión procedente de la muestra.
- La figura 1E es una ilustración del analizador de la figura 1B que representa la transiluminación de la muestra con luz de transiluminación.
- La figura 2 es una ilustración de una vista isométrica de componentes seleccionados de un analizador con una fuente de luz de excitación colocada ortogonalmente a una cubeta de muestra de acuerdo con una realización.
- La figura 3 es una ilustración de componentes seleccionados de la primera fuente de luz del analizador de la figura 1A.
- La figura 4 es una ilustración de componentes seleccionados de la segunda fuente de luz del analizador de la figura 1A.
- La figura 5A es una vista externa de un analizador de ejemplo que tiene una carcasa de instrumento y una pantalla táctil de acuerdo con una realización.
- La figura 5B es una vista externa del analizador de la figura 5A que tiene una tapa en una configuración abierta.
- La figura 5C es una vista en sección transversal del analizador de las figuras 5A y 5B que tienen un módulo de impresora y suministro de papel interno.
- La figura 6 es un diagrama de flujo de un proceso de acuerdo con una realización.

Descripción detallada

Si bien aspectos del objeto de la presente divulgación pueden materializarse en una variedad de formas, la siguiente descripción y los dibujos adjuntos pretenden simplemente divulgar algunas de estas formas como ejemplos específicos del objeto en cuestión. Por consiguiente, el objeto de esta divulgación no pretende limitarse a las formas o realizaciones así descritas e ilustradas.

A menos que se definan de otro modo, todos los términos de la técnica, notaciones y otros términos científicos o terminología utilizada en el presente documento tienen el mismo significado que el que comúnmente entendería un experto habitual en la materia a la que pertenece esta divulgación. Según proceda, los procedimientos que implican el uso de kits y reactivos disponibles comercialmente generalmente se llevan a cabo de acuerdo con los protocolos y/o parámetros definidos por el fabricante, a menos que se indique lo contrario.

La presente divulgación se refiere generalmente a analizadores que se pueden usar en entornos de puntos de atención para medir la absorbancia y la fluorescencia de una muestra con una manipulación o interacción mínima o nula por parte del usuario. Estos analizadores proporcionan características ventajosas de análisis más rápidos y fiables de muestras que tienen propiedades que pueden detectarse con cada uno de estos dos enfoques. Por ejemplo, puede resultar beneficioso cuantificar tanto la fluorescencia como la absorbancia de una muestra de sangre que se somete a un ensayo de diagnóstico. En algunos flujos de trabajo analíticos, el hematocrito de una muestra de sangre se puede cuantificar con un ensayo de absorbancia, mientras que las intensidades de señal medidas en un ensayo de FRET pueden proporcionar información sobre otros componentes de la muestra de sangre. Ha sido difícil, sin embargo, realizar métodos de ensayo tan diferentes dentro del mismo instrumento cuando se utilizan analizadores convencionales y fácilmente disponibles. Este ha sido el caso, por ejemplo, porque los elementos ópticos, los requisitos eléctricos o las configuraciones de instrumentos requeridas para un método de ensayo pueden ser ineficaces o incompatibles con el funcionamiento de otro ensayo. Como resultado de estas diferencias, los operadores de analizadores típicos a menudo deben usar instrumentos separados para realizar ensayos separados, o deben ajustar manualmente una muestra o instrumento al pasar de un procedimiento de ensayo a otro.

Los inventores han descubierto ahora que a través de un conjunto particular de configuraciones de elementos ópticos y electrónicos, un analizador es capaz de medir tanto la fluorescencia como la absorbancia de la misma muestra utilizando un solo instrumento, tal como un instrumento compacto de mesa o de punto de atención. En dichas configuraciones, hay pocos o ningún requisito para la interacción del usuario. Los analizadores proporcionados incluyen fuentes de luz y detectores utilizados para iluminar una muestra con luz de excitación y luz de transiluminación, y para medir las intensidades de luz de emisión y absorbancia resultantes. Los divisores de haz, espejos y/o lentes del analizador dirigen diferentes haces de luz hacia y a través de la muestra de tal manera que el cambio entre las dos modalidades de detección se puede lograr fácil y automáticamente.

Además, configurando el sistema óptico del analizador de manera que porción de la luz de excitación del analizador se desvíe a un detector secundario, en lugar de estar dirigido a la iluminación de una muestra, este detector se puede utilizar como medidor de potencia para medir la intensidad de la luz de excitación. Al monitorizar los cambios en la luz de excitación de esta manera, se pueden realizar ajustes en el sistema óptico para restaurar y mantener mejor la salida de luz de excitación constante. Esta excitación constante puede ser fundamental para mediciones de fluorescencia de alta precisión.

Otra ventaja que ofrece el analizador proporcionado y los métodos relacionados es la inclusión de sensores de temperatura independientes, algunas realizaciones de ejemplo incluyen una pluralidad de sensores de temperatura independientes, tales como 2, 3 o más sensores de temperatura. Estos sensores permiten monitorear las mediciones de varios elementos analizadores sensibles a la temperatura y realizar acciones de compensación relacionadas en respuesta a las variaciones de temperatura. Por ejemplo, al permitir la detección simultánea de las temperaturas de cada uno de los dos detectores de luz en un sistema, así como la muestra que se está analizando, se pueden realizar correcciones más sólidas en las salidas de señal del ensayo y se puede aumentar la exactitud y precisión del analizador.

I. ANALIZADORES

Las figuras 1A y 1B ilustran componentes seleccionados de un analizador de ejemplo para detectar o medir una luz de emisión de una muestra y la absorbancia de una luz de transiluminación por la muestra, de acuerdo con una realización. La vista en la figura 1A es de los componentes del analizador desde un punto de vista isométrico, y la vista de la figura 1B muestra los mismos componentes del analizador desde un punto de vista de arriba hacia abajo. En las figuras se muestra un analizador (100) que incluye una primera fuente de luz (101) que está configurada para emitir una luz de excitación. El analizador (100) también incluye una segunda fuente de luz (102) configurada para emitir una luz de transiluminación. Un primer detector de luz (103) está configurado para detectar la luz de excitación producida por la primera fuente de luz (101), y un segundo detector de luz (104) está configurado para detectar la luz de transiluminación producida por la segunda fuente de luz (102). El segundo detector de luz (104) también está configurado para detectar la emisión de luz emitida desde una muestra dentro de una cubeta (106), por ejemplo, en respuesta a la luz de excitación producida por la primera fuente de luz (101).

Como se ilustra, un espejo dicroico (105) puede ubicarse centralmente dentro del analizador (100) y usarse para dirigir y dividir diferentes haces de luz en el mismo. El espejo dicroico (105) se puede configurar para epiiluminar la muestra dentro de una cubeta (106) reflejando al menos una porción de la luz de excitación producida por la primera fuente de luz (101). El espejo dicroico (105) también puede configurarse para transmitir al menos una porción de la luz de excitación al primer detector de luz (103). El espejo dicroico (105) también puede configurarse para transmitir al menos una porción de la luz de emisión que se origina en la muestra dentro de una cubeta (106) al segundo detector de luz (104). El espejo dicroico (105) también puede configurarse para transmitir al menos una porción de la luz de transiluminación al segundo detector de luz (104). En algunas realizaciones, y como se muestra en las figuras 1A y 1B, la primera fuente de luz (101) y el primer detector de luz (103) están orientados horizontalmente con respecto a la segunda fuente de luz (102), el segundo detector de luz (104) y la cubeta (106). En algunas realizaciones, y como se muestra en la figura 5C, la primera fuente de luz (101) y el primer detector de luz (103) están orientados verticalmente con respecto a la segunda fuente de luz (102), el segundo detector de luz (104), y la cubeta.

El analizador de las figuras 1A-1E también incluye un sensor de temperatura de muestra (107) que está configurado para detectar la temperatura de una muestra dentro de una cubeta (106). El sensor de temperatura de la muestra (107) generalmente está ubicado sustancialmente ortogonal a una línea que conecta la muestra y una porción del espejo dicroico. De esta forma, el sensor de temperatura de la muestra (107) también es sustancialmente ortogonal a la trayectoria de la excitación, haces de luz de emisión y transiluminación que atraviesan o se originan dentro de una muestra dentro de una cubeta (106). Esto permite que el sensor de temperatura de la muestra (107) funcione para medir la temperatura de la muestra dentro de una cubeta (106) sin interferir con las funciones de los componentes ópticos del analizador (100). Se aprecia que el sensor de temperatura de la muestra se puede colocar en otras ubicaciones dentro de un analizador siempre que el sensor de temperatura de la muestra no obstruya sustancialmente la trayectoria de la excitación, emisión y transiluminación de haces de luz.

Se coloca una lente objetivo de excitación (108) entre el espejo dicroico (105) y la muestra dentro de una cubeta (106). A medida que la luz de excitación que se origina en la primera fuente de luz (101) se desplaza a través de la lente objetivo de excitación (108), la luz de excitación se enfoca en la cubeta (106) y la muestra contenida dentro de la cubeta (106). Un filtro de paso de banda (109) está colocado entre el espejo dicroico (105) y el segundo detector de luz (104). A medida que la luz de emisión que se origina en la muestra dentro de una cubeta (106) se desplaza a través del filtro de paso de banda (109), la luz de emisión se filtra para eliminar longitudes de onda fuera de un intervalo de longitud de onda específico. En algunas realizaciones, y como se muestra en las figuras 1A-1E, el filtro de paso de banda (109) es un elemento de una rueda de filtros (110) que sostiene el(los) filtro(s) de paso de banda (109). La rueda de filtros contiene opcionalmente una pluralidad de filtros de paso de banda.

También se incluyen en el analizador (100) una primera lente objetivo detector (112) colocada entre el espejo dicroico (105) y el primer detector de luz (103), y una segunda lente objetivo detector (111) colocada entre el espejo dicroico (105) y el segundo detector de luz (104). Las lentes objetivo detectoras primera (112) y segunda (111) actúan para enfocar la luz en los detectores de luz primero (103) y segundo (104), respectivamente.

La figura 1C ilustra una vista superior simplificada del analizador (100) de las figuras 1A y 1B cuando se utiliza para epiiluminar la muestra dentro de la cubeta (106). Como se muestra en la figura 1C, la primera fuente de luz (101) genera una luz de excitación (113) que se dirige hacia el espejo dicroico (105). El espejo dicroico refleja una porción importante de la luz de excitación (113) en un ángulo sustancialmente de 90 grados, dirigir el haz reflejado (114) hacia la muestra dentro de la cubeta (106). A medida que la luz de excitación reflejada (114) pasa a través de la lente objetivo de excitación (108), la lente objetivo de excitación (108) enfoca la luz de excitación reflejada (114) sobre la muestra dentro de la cubeta (106). Una porción menor de la luz de excitación (115) de la primera fuente de luz (101) se transmite a través del espejo dicroico (105). Esta luz de excitación transmitida (115) pasa a través de la primera lente objetivo del detector (112), que enfoca la luz de excitación transmitida (115) sobre el primer detector de luz (103).

La figura 1D ilustra una vista superior simplificada del analizador (100) de las figuras 1A y 1B tras la excitación de la muestra dentro de la cubeta (106) mediante epiiluminación con luz de excitación como en la figura 1C. Tras la excitación, la muestra dentro de la cubeta (106) emite una luz de emisión (116) que se colima a medida que pasa a través de la lente objetivo de excitación (108) en dirección hacia el espejo dicroico (105). La luz de emisión (116) se transmite a través del espejo dicroico (105) y un filtro de paso de banda de la rueda de filtros (110). A medida que la luz de emisión (116) pasa a través de la segunda lente objetivo del detector (111), la luz de emisión (116) se enfoca sobre el segundo detector de luz (104). Mientras que la figura 1C y 1D ilustran la excitación y emisión de la muestra por separado, se aprecia que la excitación y la emisión pueden, y en ciertas realizaciones típicamente lo hacen, se producen sustancialmente de manera simultánea.

La figura 1E ilustra una vista superior simplificada del analizador (100) de las figuras 1A y 1B cuando se usa para transiluminar la muestra (106). Como se muestra en la figura 1E, la segunda fuente de luz (102) genera una luz de transiluminación (117) que se dirige hacia la muestra (106). La luz de transiluminación (117) que no es absorbida por la muestra (106) luego se desplaza hasta la lente objetivo de luz de excitación (108), que colima la luz de transiluminación (117) que se desplaza en dirección hacia el espejo dicroico (105). La luz de transiluminación (117) se transmite a través del espejo dicroico (105) y un filtro de paso de banda de la rueda de filtros (110). A medida que la

luz de transmisión (líneas discontinuas) (117) pasa a través de la segunda lente objetivo del detector (111), la luz de transmisión (117) se enfoca sobre el segundo detector de luz (104).

5 En cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, incluyendo las ilustradas en las figuras 1A-1E, el espejo dicróico del analizador se puede sustituir por, por ejemplo, un divisor de haz. El divisor de haz puede reflejar aproximadamente el 50 % de toda la luz, independiente de la longitud de onda y transmite aproximadamente el 50 % de toda la luz, también independiente de la longitud de onda. La independencia del divisor de haz con respecto a las longitudes de onda de la luz puede permitir que el analizador funcione con una mayor flexibilidad con respecto a la excitación, luces de emisión y transiluminación. Como alternativa, el uso de un espejo dicróico en lugar de un divisor de haz puede permitir que el analizador funcione con un mayor grado de sensibilidad con respecto a una excitación particular, longitudes de onda de interés de emisión y transiluminación. En cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el espejo dicróico o el divisor de haz se pueden reemplazar con una pieza de vidrio con revestimiento no ultravioleta. Debido a la falta de revestimiento ultravioleta, este tipo de vidrio se puede utilizar para reflejar, por ejemplo, aproximadamente el 8 % de la luz ultravioleta, mientras transmite el resto de la luz que incide sobre el vidrio.

10 La figura 2 ilustra componentes seleccionados de un analizador de ejemplo que no incluye un espejo dicróico, divisor de haz o pieza de vidrio con revestimiento no ultravioleta. Los elementos del analizador (200) de la figura 2 son análogos a los del analizador (100) de las figuras 1A-1E. La primera fuente de luz (201) del analizador (200) está colocada sustancialmente ortogonal a una muestra dentro de una cubeta (206). Debido a la ubicación de la primera fuente de luz (201), se puede utilizar para excitar la muestra sin necesidad de elementos ópticos tales como espejos, divisores o lentes para redirigir la luz de excitación que se origina en la fuente de luz. También se apreciará que la primera fuente de luz (200), así como entre sí fuentes de luz dentro del analizador, alternativamente, se puede colocar en cualquier ubicación desde la cual se pueda dirigir la luz a la muestra dentro de la cubeta (206). Aunque no se representa en la figura 2, un sensor de temperatura de muestra análogo al sensor de temperatura de muestra (107) de las figuras 1A-1E también puede estar presente y ubicado en cualquier posición desde la cual pueda detectar la temperatura de la muestra dentro de la cubeta (206), sin bloquear ni interferir de otro modo con la excitación, emisión, o transiluminación de haces de luz del analizador (200).

20 También se muestra en la figura 2 un lector de códigos de barras (228). El lector de códigos de barras puede ser utilizado por cualquiera de los analizadores descritos en el presente documento para leer un código de barras presente en una cara de la cubeta (206). El código de barras de la cubeta (206) puede, por ejemplo, ser un código de barras unidimensional o bidimensional. El código de barras puede comunicar información sobre el contenido de una muestra o reactivos dentro de la cubeta (206). Esta información puede identificar, por ejemplo, el paciente desde el que se originó una muestra; uno o más individuos, laboratorios u otras instalaciones involucradas en el manejo o procesamiento de la muestra; números de lote o tipos químicos de materiales dentro de la cubeta; o información relacionada con uno o más tipos de ensayo a realizar con la muestra utilizando el analizador. El lector de códigos de barras (228) puede ser cualquier generador de imágenes o detector conocido en la técnica por ser capaz de escanear, leer, detectar o fotografiar códigos de barras. En algunas realizaciones, el lector de código de barras (228) comprende una cámara semiconductor de óxido metálico (CMOS) complementaria. El lector de código de barras (228) puede ubicarse en cualquier posición desde la cual pueda detectar el código de barras en la cubeta (206) sin bloquear ni interferir de otro modo con la excitación, emisión, o transiluminación de haces de luz del analizador (200).

30 La figura 3 ilustra componentes seleccionados de la primera fuente de luz (101) del analizador (100) de las figuras 1A y 1B. La primera fuente de luz (101) puede incluir una carcasa o tapa (118) con nervaduras para disipar el calor, que puede incluir uno o más diodos emisores de luz (LED). En algunas realizaciones, la primera fuente de luz (101) incluye dos o más luces LED. En algunas realizaciones, la primera fuente de luz (101) incluye una luz LED configurada para producir luz ultravioleta. También se muestra en la figura 2 es una abertura (119) y una lente (120). La lente (120) de la primera fuente de luz (101) puede ser una lente simple. La lente (120) puede ser una lente compuesta que consta de dos o más lentes simples dispuestas a lo largo de un eje común. En algunas realizaciones, la lente (120) comprende una lente esférica. En algunas realizaciones, la lente (120) comprende una lente colimadora. Un ejemplo de lente (120) adecuada para usar con la primera fuente de luz (101) es la lente esférica ACL2520U, disponible comercialmente por parte de Thorlabs (Newton, Nueva Jersey). Los expertos en la técnica conocerán otras lentes que son adecuadas para los usos descritos en el presente documento.

45 Se aprecia que la primera fuente de luz puede incluir alternativamente uno o más medios distintos de los LED para emitir luz. Estas fuentes de luz alternativas pueden incluir, por ejemplo, uno o más fotodiodos, fuentes de luz fosforescentes, tubos fotomultiplicadores, lámparas de xenón de arco, lámparas de xenón incandescentes, lámparas de xenón pulsadas, lámparas de mercurio de alta presión, lámparas de arco de xenón-mercurio, lámparas halógenas de cuarzo-tungsteno, lámparas de mercurio de baja presión, lámparas de mercurio-argón de baja presión, lámparas de hidrógeno-deuterio, lámparas de destello de xenón, láseres o combinaciones de los mismos. Los expertos en la técnica conocerán otras fuentes de luz que son adecuadas para los usos descritos en el presente documento.

50 La primera fuente de luz puede incluir sistemas ópticos adicionales para alterar las propiedades y direcciones de la luz que se produce. Elementos de tales sistemas ópticos pueden incluir, por ejemplo, una o más lentes, filtros, aberturas, difusores, espejos, divisor de haz o ventanas. En general, la segunda fuente de luz incluye elementos

utilizados para difundir y colimar la luz de excitación antes de que la luz de excitación pase a través de la muestra.

La luz de excitación generada por la primera fuente de luz puede tener una longitud de onda que varía, por ejemplo, de 200 nm a 500 nm, por ejemplo, de 200 nm a 380 nm, de 230 nm a 410 nm, de 260 nm a 440 nm, de 290 nm a 470 nm, o de 320 nm a 500 nm. La luz de excitación puede tener una longitud de onda entre 330 nm y 380 nm, por ejemplo, de 330 nm a 360 nm, de 335 nm a 365 nm, de 340 nm a 370 nm, de 345 nm a 375 nm, o de 350 nm a 380 nm. En términos de límites superiores, la longitud de onda de excitación puede ser inferior a 500 nm, por ejemplo, menos de 470 nm, menos de 440 nm, menos de 410 nm, menos de 380 nm, menos de 350 nm, menos de 320 nm, menos de 290 nm, menos de 260 nm, o menos de 230 nm. En términos de límites inferiores, la longitud de onda de excitación puede ser superior a 200 nm, por ejemplo, mayor que 230 nm, mayor que 260 nm, mayor que 290 nm, mayor que 320 nm, mayor que 350 nm, mayor que 380 nm, mayor que 410 nm, mayor que 440 nm o mayor que 470 nm. En algunas realizaciones, la luz de excitación tiene una longitud de onda dentro del intervalo de longitud de onda ultravioleta, por ejemplo, de 100 nm a 400 nm.

En algunas realizaciones, y como se muestra en las figuras 1A-1E, el analizador (100) incluye una lente objetivo de excitación (108) colocada entre el espejo dicroico (105) y la muestra contenida dentro de la cubeta (106). A medida que la luz de excitación (113) de la primera fuente de luz (101) se refleja en el espejo dicroico (105), esta luz (113) pasa a través de la lente objetivo de excitación (108), que puede actuar para enfocar la luz de excitación (114) sobre la muestra. En algunas realizaciones, la lente objetivo de excitación (108) enfoca la luz de excitación (114) a través de una ventana óptica de una cubeta (106) que contiene la muestra. La lente objetivo de excitación (108) puede ser una lente simple. La lente objetivo de excitación (108) puede ser una lente compuesta que comprende dos o más lentes simples dispuestas a lo largo de un eje común. En algunas realizaciones, la lente objetivo de excitación (108) comprende una lente esférica. En algunas realizaciones, la lente objetivo de excitación (108) comprende una lente colimadora.

La figura 4 ilustra componentes seleccionados de la segunda fuente de luz (102) del analizador (100) de las figuras 1A y 1B. La segunda fuente de luz puede incluir una carcasa o tapa (121) con nervaduras para disipar el calor, que puede incluir una o más luces LED. En algunas realizaciones, la segunda fuente de luz (102) incluye dos o más (por ejemplo, tres, cuatro o más de cuatro) luces LED. En ciertos aspectos, cada una de las dos o más luces LED está configurada para emitir luz que tiene una longitud de onda diferente a la emitida por la otra de las dos o más luces LED. En algunas realizaciones, la segunda fuente de luz (102) incluye una primera luz LED configurada para emitir luz roja visible y una segunda luz LED configurada para emitir luz verde visible. En algunos aspectos, los diodos emisores rojo y verde proporcionaron diferentes sensibilidades y/o respuestas de absorbancia cuando se usaron para analizar diferentes muestras. Por ejemplo, en algunos casos, la luz de transiluminación verde puede producir una respuesta de absorbancia más lineal para muestras con valores de absorbancia inferiores a 4, y la luz de transiluminación roja puede proporcionar una respuesta más lineal para muestras con valores de absorbancia superiores a 4. En ciertos aspectos, cada una de las más de dos luces LED de la segunda fuente de luz (102) tiene una longitud de onda dominante diferente a la de la otra de las más de dos luces LED de la segunda fuente de luz. Como se usa en el presente documento, el término "longitud de onda dominante" se refiere a la longitud de onda más frecuente de los fotones emitidos por una fuente de luz (por ejemplo, un diodo emisor de luz). En algunas realizaciones, la segunda fuente de luz (102) incluye cuatro luces LED, cada una de las cuales emite luz con una longitud de onda diferente a la emitida por la otra de las cuatro luces LED. La inclusión de múltiples tipos de LED dentro de la segunda fuente de luz puede aumentar la robustez y flexibilidad del analizador cuando se utiliza con diversos métodos y materiales de ensayo.

La segunda fuente de luz puede emitir luz fuera del espectro visible, por ejemplo, la luz que tiene una longitud de onda por debajo de 390 nm, por debajo de 380 nm, por debajo de 370 nm, por debajo de 360 nm, por debajo de 350 nm, por debajo de 340 nm, por debajo de 330 nm, por debajo de 320 nm, por debajo de 310 nm, por debajo de 300 nm, por debajo de 290 nm, o por debajo de 280 nm. La segunda fuente de luz puede incluir una luz LED, dos luces LED, tres luces LED, cuatro luces LED, o más de cuatro luces LED. Cada luz LED de la segunda fuente de luz puede emitir luz de una longitud de onda diferente, o luz de una longitud de onda similar o idéntica a la de la luz emitida por otra segunda fuente de luz LED. Se aprecia que la segunda fuente de luz puede incluir alternativamente uno o más medios distintos de los LED para emitir luz. Estas fuentes de luz alternativas pueden incluir, por ejemplo, uno o más fotodiodos, fuentes de luz fosforescentes, tubos fotomultiplicadores, lámparas de xenón de arco, lámparas de xenón incandescentes, lámparas de xenón pulsadas, lámparas de mercurio de alta presión, lámparas de arco de xenón-mercurio, lámparas halógenas de cuarzo-tungsteno, lámparas de mercurio de baja presión, lámparas de mercurio-argón de baja presión, lámparas de hidrógeno-deuterio, lámparas de destellos de xenón o láseres. Los expertos en la técnica conocerán otras fuentes de luz que son adecuadas para los usos descritos en el presente documento.

También se muestra en la figura 4 es un difusor (122) y un tubo de luz (123) que conecta la segunda carcasa de fuente de luz (121) al difusor (122). El difusor se puede utilizar para superar el desplazamiento posicional de uno o más LED u otros medios emisores de luz. Esto puede funcionar para mitigar, por ejemplo, la deflexión del haz debido a que los LED se colocan fuera de la trayectoria óptica de la segunda fuente de luz. El tubo de luz se puede utilizar para transferir luz de las luces LED al difusor. En algunas realizaciones, y como se muestra en la figura 4, el tubo de luz tiene una sección transversal hexagonal. El tubo de luz puede incluir material reflectante o una o más fibras ópticas. La segunda fuente de luz también incluye una primera abertura (124) y una segunda abertura (125), en donde la primera abertura

(124) es menor que la segunda abertura (125). La segunda fuente de luz también incluye una primera lente (126) adyacente a la segunda abertura (125) y una segunda lente (127) separada de la primera lente (126) por un espacio de aire. La primera (126) y segunda (127) lentes de la segunda fuente de luz (102) pueden ser cada una independientemente una lente simple. La primera (126) y la segunda (127) lentes pueden ser cada una de ellas independientemente una lente compuesta que consiste en dos o más lentes simples dispuestas a lo largo de un eje común. En algunas realizaciones, la primera (126) y segunda (127) lentes comprenden cada una independientemente una lente esférica. En algunas realizaciones, la primera (126) y segunda (127) lentes comprenden cada una independientemente una lente colimadora. Un ejemplo de una primera lente (126) adecuada para usar con la segunda fuente de luz (102) es la lente esférica ACL2520U, disponible comercialmente por parte de Thorlabs. Un ejemplo de una segunda lente (127) adecuada para usar con la segunda fuente de luz (102) es la lente acromática ACL1270, disponible comercialmente por parte de Phosctech (Fujian, China).

La segunda fuente de luz puede incluir sistemas ópticos adicionales para alterar las propiedades y las direcciones de la luz que se produce. Elementos de tales sistemas ópticos pueden incluir, por ejemplo, una o más lentes, filtros, aberturas, difusores, espejos, divisor de haz o ventanas. En general, la segunda fuente de luz incluye elementos utilizados para difundir y colimar la luz de transiluminación antes de que la luz de transiluminación pase a través de la muestra.

La luz de transiluminación generada por la primera fuente de luz puede tener una longitud de onda que varía, por ejemplo, de 400 nm a 700 nm, por ejemplo, de 400 nm a 580 nm, de 430 nm a 610 nm, de 460 nm a 640 nm, de 490 nm a 670 nm, o de 520 nm a 700 nm. En términos de límites superiores, la longitud de onda de transiluminación puede ser inferior a 700 nm, por ejemplo, menos de 670 nm, menos de 640 nm, menos de 610 nm, menos de 580 nm, menos de 550 nm, menos de 520 nm, menos de 490 nm, menos de 460 nm, o menos de 430 nm. En términos de límites inferiores, la longitud de onda de transiluminación puede ser superior a 400 nm, por ejemplo, mayor que 430 nm, mayor que 460 nm, mayor que 490 nm, mayor que 520 nm, mayor que 550 nm, mayor que 580 nm, mayor que 610 nm, mayor que 640 nm o mayor que 670 nm. En algunas realizaciones, la luz de transiluminación tiene una longitud de onda dentro del intervalo de luz visible, por ejemplo, de 390 nm a 700 nm.

La luz de emisión generada por la muestra puede tener una longitud de onda que varía, por ejemplo, de 400 nm a 700 nm, por ejemplo, de 400 nm a 580 nm, de 430 nm a 610 nm, de 460 nm a 640 nm, de 490 nm a 670 nm, o de 520 nm a 700 nm. En términos de límites superiores, la longitud de onda de emisión puede ser inferior a 700 nm, por ejemplo, menos de 670 nm, menos de 640 nm, menos de 610 nm, menos de 580 nm, menos de 550 nm, menos de 520 nm, menos de 490 nm, menos de 460 nm, o menos de 430 nm. En términos de límites inferiores, la longitud de onda de emisión puede ser superior a 400 nm, por ejemplo, mayor que 430 nm, mayor que 460 nm, mayor que 490 nm, mayor que 520 nm, mayor que 550 nm, mayor que 580 nm, mayor que 610 nm, mayor que 640 nm o mayor que 670 nm. En algunas realizaciones, la luz de emisión tiene una longitud de onda dentro del intervalo de luz visible, por ejemplo, de 390 nm a 700 nm.

En algunas realizaciones, el primer detector de luz incluye un fotodiodo. En algunas realizaciones, el primer detector de luz es un fotodiodo. El primer detector de luz puede ser un fotodiodo de silicio. El primer detector de luz puede incluir elementos ópticos adicionales que incluyen uno o más filtros o lentes. La respuesta electrónica del primer detector de luz puede variar con la temperatura. En algunas realizaciones, el analizador incluye uno o más sensores de temperatura de excitación configurados para detectar la temperatura del primer detector de luz. El sensor de temperatura de excitación puede incluir, por ejemplo, un termopar, un detector de temperatura resistivo (RTD), un termistor o un termostato. Uno o más sensores de temperatura de excitación pueden detectar la temperatura del primer detector de luz en una ubicación o en múltiples ubicaciones.

El segundo detector de luz se puede seleccionar para propiedades que incluyen, por ejemplo, alta ganancia, baja tensión, respuesta rápida y tamaño compacto. En algunas realizaciones, el segundo detector de luz incluye un detector fotomultiplicador de silicio. En algunas realizaciones, el segundo detector de luz es un detector fotomultiplicador de silicio. El segundo detector de luz puede incluir elementos ópticos adicionales que incluyen uno o más filtros o lentes. La respuesta electrónica del primer detector de luz puede variar con la temperatura. El analizador incluye uno o más sensores de temperatura de emisión configurados para detectar la temperatura del segundo detector de luz. El sensor de temperatura de emisión puede incluir, por ejemplo, un termopar, un detector de temperatura resistivo (RTD), un termistor o un termostato. Uno o más sensores de temperatura de emisión pueden detectar la temperatura del segundo detector de luz en una ubicación o en múltiples ubicaciones.

En algunas realizaciones, el espejo dicróico del analizador está configurado sustancialmente en un ángulo de 45 grados con respecto a una línea que conecta la muestra y una porción de la primera fuente de luz. El espejo dicróico se puede colocar para que tenga un ángulo de incidencia sustancialmente de 45 grados con respecto al haz de luz de excitación producido por la primera fuente de luz. Como se usa en el presente documento, el término "sustancialmente" se utiliza para modificar una medición de ángulo establecida para indicar que una medición de ángulo real puede variar desde 10 grados menos que el ángulo indicado hasta 10 grados más que el ángulo indicado, por ejemplo, desde 9 grados menos que el ángulo indicado hasta 9 grados más que el ángulo indicado, desde 8 grados menos que el ángulo indicado hasta 8 grados más que el ángulo indicado, desde 7 grados menos que el ángulo indicado hasta 7 grados más que el ángulo indicado, desde 6 grados menos que el ángulo indicado hasta 6 grados más que el ángulo indicado,

- desde 5 grados menos que el ángulo indicado hasta 5 grados más que el ángulo indicado, desde 4 grados menos que el ángulo indicado hasta 4 grados más que el ángulo indicado, desde 3 grados menos que el ángulo indicado hasta 3 grados más que el ángulo indicado, desde 2 grados menos que el ángulo indicado hasta 2 grados más que el ángulo indicado, o desde 1 grado menos que el ángulo indicado hasta 1 grado más que el ángulo indicado. Por ejemplo, el ángulo del espejo dicroico con respecto a una línea que conecta la muestra y una porción de la primera fuente de luz puede oscilar entre 35 grados y 55 grados, por ejemplo, de 36 grados a 54 grados, de 37 grados a 53 grados, de 38 grados a 52 grados, de 39 grados a 51 grados, de 40 grados a 50 grados, de 41 grados a 49 grados, de 42 grados a 48 grados, de 43 grados a 47 grados, o de 44 grados a 46 grados.
- En realizaciones ilustrativas, el espejo dicroico está colocado para reflejar al menos una porción de la luz de excitación procedente de la primera fuente de luz hacia la muestra contenida en la cubeta. En algunas realizaciones, el espejo dicroico está configurado para reflejar al menos una porción de la luz de excitación procedente de la primera fuente de luz sustancialmente en un ángulo de 90 grados. Por ejemplo, el espejo dicroico puede configurarse para reflejar al menos una parte de la excitación de la primera fuente de luz en un ángulo que oscila entre 80 grados y 100 grados, de 81 grados a 99 grados, de 82 grados a 98 grados, de 83 grados a 97 grados, de 84 grados a 96 grados, de 85 grados a 95 grados, de 86 grados a 94 grados, de 87 grados a 93 grados, de 88 grados a 92 grados, o de 89 grados a 91 grados.
- El espejo dicroico puede tener una longitud de onda de corte que varía, por ejemplo, de 200 nm a 500 nm, por ejemplo, de 200 nm a 380 nm, de 230 nm a 410 nm, de 260 nm a 440 nm, de 290 nm a 470 nm, o de 320 nm a 500 nm. El espejo dicroico puede tener una longitud de onda de corte que oscila entre 350 nm y 400 nm, por ejemplo, de 350 nm a 380 nm, de 355 nm a 385 nm, de 360 nm a 390 nm, de 355 nm a 395 nm, o de 370 nm a 400 nm. En términos de límites superiores, la longitud de onda de corte puede ser inferior a 500 nm, por ejemplo, menos de 470 nm, menos de 440 nm, menos de 410 nm, menos de 380 nm, menos de 350 nm, menos de 320 nm, menos de 290 nm, menos de 260 nm, o menos de 230 nm. En términos de límites inferiores, la longitud de onda de corte puede ser superior a 200 nm, por ejemplo, mayor que 230 nm, mayor que 260 nm, mayor que 290 nm, mayor que 320 nm, mayor que 350 nm, mayor que 380 nm, mayor que 410 nm, mayor que 440 nm o mayor que 470 nm.
- El porcentaje de luz de excitación reflejada por el espejo dicroico puede variar, por ejemplo, del 75 % al 100 %, por ejemplo, del 75 % al 90 %, del 77,5 % al 92,5 %, del 80 % al 95 %, del 82,5 % al 97,5 %, o del 85 % al 100 %. En términos de límites superiores, el porcentaje de luz de excitación reflejada por el espejo dicroico puede ser inferior al 100 %, por ejemplo, menor del 97,5 %, menor del 95 %, menor del 92,5 %, menor del 90 %, menor del 87,5 %, menor del 85 %, menor del 82,5 %, menor que 80 %, o menor que 77,5 %. En términos de límites inferiores, el porcentaje de luz de excitación reflejada por el espejo dicroico puede ser superior al 75 %, por ejemplo, mayor que el 77,5 %, mayor que el 80 %, mayor que el 82,5 %, mayor que el 85 %, mayor que el 87,5 %, mayor que el 90 %, mayor que el 92,5 %, mayor que el 95 % o mayor que el 97,5 %.
- El porcentaje de luz de excitación transmitida por el espejo dicroico puede variar, por ejemplo, del 0 % al 25 %, por ejemplo, del 0 % al 15 %, del 2,5 % al 17,5 %, del 5 % al 20 %, del 7,5 % al 22,5 %, o del 10 % al 25 %. En términos de límites superiores, el porcentaje de luz de excitación transmitida por el espejo dicroico puede ser inferior al 25 %, por ejemplo, menor del 22,5 %, menor del 20 %, menor del 17,5 %, menor del 15 %, menor del 12,5 %, menor del 10 %, menor del 7,5 %, menor que el 5 %, o menor que el 2,5 %. En términos de límites inferiores, el porcentaje de luz de excitación transmitida por el espejo dicroico puede ser superior al 0 %, por ejemplo, mayor que el 2,5 %, mayor que el 5 %, mayor que el 7,5 %, mayor que el 10 %, mayor que el 12,5 %, mayor que el 15 %, mayor que el 17,5 %, mayor que el 20 % o mayor que el 22,5 %.
- La muestra puede ser cualquier material o composición a analizar. En algunas realizaciones, la muestra comprende una composición líquida. En algunas realizaciones, la muestra consiste en un único componente líquido. En algunas realizaciones, la muestra es una mezcla que incluye uno o más analitos de interés. La muestra puede incluir cualquier espécimen biológico o muestra obtenida de un sujeto. Las muestras incluyen, sin limitación, sangre pura, plasma, suero, glóbulos rojos de la sangre, glóbulos blancos (por ejemplo, células mononucleares de sangre periférica), líquido de lavado ductal, aspirado de pezón, linfa (por ejemplo, células tumorales diseminadas del ganglio linfático), aspirado de médula ósea, saliva, orina, deposiciones (es decir, heces), esputo, líquido de lavado bronquial, lágrimas, aspiración con aguja fina (por ejemplo, recogido mediante aspiración periareolar aleatoria con aguja fina), cualquier otro fluido corporal, una muestra de tejido (por ejemplo, tejido tumoral) tal como una biopsia de un tumor (por ejemplo, biopsia con aguja) o un ganglio linfático (por ejemplo, biopsia del ganglio linfático centinela), una muestra de tejido (por ejemplo, tejido tumoral) tal como una resección quirúrgica de un tumor, y extractos celulares del mismo. En algunas realizaciones, la muestra es sangre completa o un componente fraccionario de la misma, como plasma, suero o un sedimento celular.
- Como se usa en el presente documento, "sujeto" se refiere a animales tales como mamíferos, que incluye, pero sin limitación, primates (por ejemplo, humanos), vacas, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos, conejos, ratas, ratones y similares. En ciertas realizaciones, el sujeto es un humano.
- Como se usa en el presente documento, el término "analito" se refiere a cualquier molécula, compuesto o complejo de interés, cuya presencia, cantidad, nivel de expresión, estado de activación y/o identidad se determina. La

determinación puede realizarse mediante un reconocimiento específico por parte de un agente aglutinante. La molécula, compuesto o complejo de interés puede ser una macromolécula tal como un polipéptido o una proteína, un polisacárido, una toxina, una pared celular, una cápsula celular, una cápsula viral, una capa viral, un flagelo, una franja o piel, un microorganismo, un ácido nucleico complejado con una proteína o un polisacárido, un lípido, un lípido complejado con una proteína o un polisacárido, un polinucleótido, un polipéptido, un carbohidrato, resto químico, o combinaciones de los mismos (por ejemplo, polipéptidos fosforilados o glicosilados, etc.).

En algunas realizaciones, y como se muestra en las figuras 1A-1E, la muestra se mantiene dentro de una cubeta. La cubeta puede ser cualquier recipiente de pequeña escala que tenga al menos una cavidad interna configurada para contener una muestra. En algunas realizaciones, la cubeta incluye ventanas ópticas colocadas para permitir la transmisión de la transiluminación, luces de excitación y emisión del analizador como se describe en este documento. En algunas realizaciones, la cubeta incluye una ventana óptica colocada para permitir mediciones de temperatura de la muestra con el sensor de temperatura de la muestra. Esta ventana óptica puede ser diferente de las ventanas ópticas utilizadas para transmitir la transiluminación, luces de excitación y emisión. En algunas realizaciones, la cubeta está configurada para tener una forma que permite insertarla solo en el analizador en una orientación particular.

En algunas realizaciones, el analizador incluye uno o más sensores de temperatura de muestra configurados para detectar la temperatura de la muestra. El sensor de temperatura de la muestra puede incluir, por ejemplo, un termopar, un detector de temperatura resistivo (RTD), un termistor o un termostato. El sensor de temperatura de la muestra puede incluir un sensor de infrarrojos, permitiendo que el sensor de temperatura de la muestra mida la temperatura en una ubicación enfocada sin requerir ningún contacto del sensor con la ubicación a medir. Uno o más sensores de temperatura de muestra pueden detectar la temperatura de la muestra en una ubicación o en múltiples ubicaciones. En algunas realizaciones, el sensor de temperatura de la muestra mide la temperatura en el fondo de la cubeta.

En algunas realizaciones, y como se muestra en las figuras 1A-1E, el analizador incluye uno o más filtros de paso de banda. El filtro de paso de banda puede, por ejemplo, permitir que solo la luz visible pase desde el espejo dicróico al segundo detector. El filtro de paso de banda se puede seleccionar o configurar, por ejemplo, para dejar pasar únicamente luz que tenga longitudes de onda comprendidas entre 200 nm y 900 nm o entre 390 nm y 700 nm, por ejemplo, dentro del espectro de luz visible. Se aprecia que una variedad de filtros (de paso largo, paso corto, paso de banda, etc.) son conocidos y están disponibles para el experto en la técnica y pueden seleccionarse según la longitud de onda de luz deseada para la detección.

El filtro de paso de banda puede ser un elemento de una rueda de filtros configurada para contener múltiples filtros de paso de banda que pueden girarse individualmente a su posición entre el espejo dicróico y el segundo detector de luz. En realizaciones ilustrativas, la rueda de filtros puede incluir dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce o más de doce filtros de paso de banda.

En algunas realizaciones, los componentes del analizador óptico y eléctrico descritos anteriormente están contenidos dentro de una carcasa de instrumento. La carcasa se puede configurar para minimizar la fuga de luz, polvo, partículas u otros materiales dentro o fuera del interior del instrumento. La carcasa puede tener una dimensión combinada (es decir, largo más ancho más alto) que, por ejemplo, varía de 20 pulgadas (50,8 cm) a 40 pulgadas (101,6 cm), por ejemplo, de 20 pulgadas (50,8 cm) a 32 pulgadas (81,2 cm), de 22 pulgadas (55,8 cm) a 34 pulgadas (86,3 cm), de 24 pulgadas (60,9 cm) a 36 pulgadas (91,4 cm), de 26 pulgadas (66,0 cm) a 38 pulgadas (96,5 cm), o de 28 pulgadas (71,1 cm) a 40 pulgadas (101,6 cm). En términos de límites superiores, la carcasa puede tener una dimensión combinada inferior a 40 pulgadas (101,6 cm), por ejemplo, menos de 38 pulgadas (96,5 cm), menos de 36 pulgadas (91,4 cm), menos de 34 pulgadas (86,3 cm), menos de 32 pulgadas (81,2 cm), menos de 30 pulgadas (76,2 cm), menos de 28 pulgadas (71,1 cm), menos de 26 pulgadas (66,0 cm), menos de 24 pulgadas (60,9 cm) o menos de 22 pulgadas (55,8 cm). En términos de límites inferiores, la carcasa puede tener una dimensión combinada superior a 20 pulgadas (50,8 cm), por ejemplo, mayor que 22 pulgadas (55,8 cm), mayor que 24 pulgadas (60,9 cm), mayor que 26 pulgadas (66,0 cm), mayor que 28 pulgadas (71,1 cm), mayor que 30 pulgadas (76,2 cm), mayor que 32 pulgadas (81,2 cm), mayor que 34 pulgadas (86,3 cm), mayor que 36 pulgadas (91,4 cm) o mayor que 38 pulgadas (96,5 cm).

La figura 5A representa un analizador (500) de ejemplo en el que los componentes ópticos y eléctricos están contenidos en una carcasa de instrumento como se describió anteriormente. En algunas realizaciones, y como se muestra en la figura 5A, el analizador (500) también incluye una pantalla táctil (501) que puede ser utilizada por un operador para ingresar comandos u otra información relacionada con un ensayo que debe realizar el analizador (500). La pantalla táctil (501) también se puede utilizar para mostrar resultados de análisis, datos adicionales, instrucciones o mensajes de comando al operador. La pantalla táctil (501) se puede montar sobre o dentro de una superficie externa de la carcasa.

Se pueden ingresar comandos u otra información al analizador (500) a través de la pantalla táctil (501) en forma de, por ejemplo, caracteres alfanuméricos o códigos de barras. En algunas realizaciones, los caracteres alfanuméricos se ingresan usando un teclado en pantalla que se muestra en la pantalla táctil (501). En algunas realizaciones, los códigos de barras se ingresan mediante un lector de códigos de barras. El lector de código de barras puede ser un componente interno del analizador (500), un componente externo del analizador (500), o una pieza de equipo separada de, pero en comunicación con, el analizador (500).

En algunas realizaciones, la pantalla táctil (501) muestra una interfaz gráfica de usuario (GUI) que guía a un usuario en la introducción de información relacionada con una muestra a analizar, detectada o medida. Por ejemplo, la GUI puede mostrar múltiples campos para la entrada de datos relevantes. Ejemplos de tales datos pueden incluir, por ejemplo, identificación del usuario, identificación del paciente, identificación del pedido, identificación del ensayo, identificación de la muestra, u otros. Cada uno de los campos de entrada de datos puede ir acompañado de un botón seleccionable en pantalla. Cada uno de los campos de entrada de datos puede ser botones seleccionables en pantalla. En algunas realizaciones, los botones en pantalla tienen una apariencia representativa de un código de barras, indicando que actualmente se pueden ingresar datos en el campo asociado con el botón escaneando un código de barras con un lector de códigos de barras. En algunas realizaciones, cuando un usuario presiona el botón en pantalla que tiene una apariencia representativa de un código de barras, la apariencia del botón cambia a la representación de un campo vacío, indicando que actualmente se pueden ingresar datos en el campo asociado con el botón escribiendo con un teclado en pantalla. La apariencia del botón y el método para ingresar datos en el campo asociado, por lo tanto, se puede alternar entre entrada manual o entrada de escaneo de código de barras según sea necesario. En algunas realizaciones, a medida que los datos se ingresan en un campo de la GUI, por ejemplo, mediante escaneo de códigos de barras, teclado, u otros medios, el siguiente campo de la GUI se activa, indicando que este campo está listo para aceptar datos de entrada.

La figura 5B representa el analizador (500) de la figura 5A con una tapa (502) asociada en una configuración abierta. La tapa (502) puede ser cualquier cubierta reposicionable que pueda abrirse y cerrarse para exponer al menos una parte del interior del analizador. La tapa (502) se puede unir al analizador (500) usando bisagras, cojinetes, o cualquier otro medio conocido y disponible para el experto en la técnica. En algunas realizaciones, la tapa (502) está configurada para ser una tapa separable. En estos casos, si la fuerza aplicada para abrir la tapa (502), por ejemplo, levantando y/o empujando hacia atrás la tapa (502), excede un umbral particular, entonces la tapa (502) se desprende del analizador. Esta configuración de tapa separable puede reducir la probabilidad de que la tapa (502) se dañe ya sea en una ubicación de la propia tapa (502) o en un accesorio del analizador (500).

La figura 5C muestra una vista en sección transversal del analizador (500) de las figuras 5A y 5B, que muestra ubicaciones de ejemplo de los componentes ópticos como se ilustra en las figuras 1A-1E. En algunas realizaciones, y como se muestra en la figura 5C, el analizador también incluye un módulo de impresora (503). El módulo de impresora (503) puede crear informes impresos (504) imprimiendo en papel desde un suministro de papel interno (505). El módulo de impresora (503) puede ubicarse en la misma superficie externa o en una diferente que la pantalla táctil (501). El uso de dicho módulo de impresora (503) incorporado puede reducir la introducción de luz, polvo o material de limpieza en el interior de la carcasa del analizador. Es más probable que se introduzcan dichos contaminantes si se utiliza una impresora como accesorio externo montado en la superficie superior del analizador (500).

En algunas realizaciones, el analizador también incluye fuentes de alimentación configuradas para proporcionar energía a, por ejemplo, las fuentes de luz, detectores y sensores del analizador. En algunas realizaciones, el analizador también incluye procesadores y memoria configurados para almacenar y ejecutar operaciones relacionadas con el funcionamiento del analizador. Una o más de las etapas del método descritos en el presente documento se pueden almacenar y ejecutar utilizando dichos procesadores y memoria.

En algunas realizaciones, el analizador tiene una conexión por cable a una pantalla de datos o un dispositivo de almacenamiento. La conexión por cable puede incluir, por ejemplo y sin limitación, uno o más de un puerto de salida en serie, tal como un puerto de salida RS-232 o D-sub, un puerto de salida de bus serie universal (USB), un puerto de salida de interfaz visual digital (DVI), un puerto de salida de puerto de visualización, un puerto de salida de unión AT serie (SATA) y un puerto de matriz gráfica de vídeo (VGA). En algunas realizaciones, el analizador tiene una conexión inalámbrica (por ejemplo, a través de una red WiFi o celular) a una pantalla de datos o dispositivo de almacenamiento. El dispositivo de visualización puede incluir un monitor o pantalla que puede ser un componente de un escritorio, ordenador portátil o dispositivo informático móvil. El dispositivo de almacenamiento puede ser un dispositivo de almacenamiento local o una red o un dispositivo de almacenamiento basado en la "nube". El analizador puede incluir un conector configurado para acoplarse con un puerto de comunicación de un dispositivo externo. En algunas realizaciones, el conector del analizador es un conector serie. El conector serie puede ser, por ejemplo y sin limitación, un conector RS-232, un conector Ethernet, un conector FireWire, un conector USB o un conector adaptador configurado para permitir la compatibilidad entre dos tipos de conectores serie diferentes.

II. MÉTODOS

La figura 6 presenta un diagrama de flujo de un método (600) de acuerdo con una realización para detectar una luz de emisión de una muestra y la absorbancia de la luz de transiluminación por la muestra. En la operación 601, se proporciona un aparato, en el que el aparato comprende una primera fuente de luz configurada para emitir una luz de excitación que tiene una longitud de onda de excitación; una segunda fuente de luz configurada para transiluminar la muestra con la luz de transiluminación; un primer detector de luz configurado para detectar la luz de excitación; un segundo detector de luz configurado para detectar la luz de emisión y la luz de transiluminación; y un espejo dicróico configurado para (1) epiluminar la muestra reflejando al menos una porción de la luz de excitación, (2) transmitir al menos una porción de la luz de excitación al primer detector de luz, (3) transmitir al menos una porción de la luz de

emisión al segundo detector de luz, y (4) transmitir al menos una porción de la luz de transiluminación al segundo detector de luz. El aparato proporcionado en el método puede ser cualquiera de los aparatos descritos anteriormente.

5 En la operación 602, la muestra se inserta en el aparato. El muestra insertada puede ser cualquiera de las muestras descritas anteriormente. En algunas realizaciones, la muestra está dentro de una cubeta. En algunas realizaciones, la cubeta está configurada para tener una o más características de superficie externa configuradas para encajar específicamente dentro de una cavidad del aparato en una orientación particular. Esta configuración de tipo cerradura y llave puede evitar que se inserte una cubeta en una orientación no funcional, o puede evitar que se inserte una cubeta que no sea compatible en el aparato. En algunas realizaciones, se requiere una orientación y un diseño de cubeta particulares para garantizar que las características de la cubeta, tal como ventanas ópticas, códigos de barras y otros están alineados adecuadamente con los elementos dentro del analizador, lo que permite que los elementos del analizador interactúen adecuadamente con los elementos correspondientes de la cubeta.

15 En la operación 603, la muestra se epiilumina utilizando la primera fuente de luz del aparato. La epiiluminación puede ser como se muestra en la figura 1C. La epiiluminación puede realizarse con luz de excitación seleccionada según un método analítico particular. La luz de excitación puede tener cualquiera de las propiedades de la luz de excitación analizadas anteriormente.

20 En la operación 604, la luz de excitación transmitida a través del espejo dicroico del aparato se detecta utilizando el primer detector. La transmisión de luz de excitación puede ser como se muestra en la figura 1C. La intensidad de la luz de excitación medida por el primer detector proporciona un valor que puede usarse para corregir o ajustar de otro modo la potencia de salida de la primera fuente de luz. Por ejemplo, para una longitud de onda de luz de excitación dada y una longitud de onda de corte del espejo dicroico, se puede determinar una intensidad de transmisión de luz de excitación esperada. Si la intensidad de la luz de excitación medida por el primer detector es inferior a este valor esperado, entonces la potencia de la primera fuente de luz se puede aumentar en consecuencia. Si la intensidad de la luz de excitación medida por el primer detector es mayor que el valor esperado, entonces la potencia de la primera fuente de luz se puede reducir en consecuencia. Se puede calcular la cantidad en la que se ajusta la potencia de la fuente de luz, por ejemplo, aplicando una función de intensidad de la luz de excitación en términos de potencia de la fuente de luz. Tal función puede, por ejemplo, derivarse del análisis de regresión de datos que relacionan la intensidad de la luz de excitación y la potencia de la fuente de luz.

35 En la operación 605, la luz de emisión transmitida desde la muestra a través del espejo dicroico del aparato se detecta utilizando el segundo detector. En algunas realizaciones, el segundo detector mide la emisión de luz una sola vez durante cada epiiluminación. En algunas realizaciones, el segundo detector mide la emisión de luz varias veces durante cada epiiluminación. El segundo detector puede, por ejemplo, medir la luz de emisión dos veces, tres veces, cuatro veces, cinco veces, diez veces, quince veces, veinte veces, veinticinco veces, treinta veces, cuarenta veces, cincuenta veces, sesenta veces, setenta veces, ochenta veces, noventa veces, cien veces, doscientas veces, trescientas veces, cuatrocientas veces, quinientas veces, o más de quinientas veces durante cada epiiluminación.

40 En la operación 606, la muestra se transilumina utilizando la segunda fuente de luz para generar la luz de transiluminación. La transiluminación puede ser como se muestra en la figura 1D. La transiluminación puede realizarse con luz de transiluminación seleccionada según un método analítico particular. La luz de transiluminación puede tener cualquiera de las propiedades de la luz de transiluminación analizadas anteriormente.

45 En la operación 607, la luz de transiluminación transmitida a través del espejo dicroico se detecta con el segundo detector, detectando así la absorbancia de la luz de transiluminación por la muestra. La absorbancia se mide como la atenuación de la luz de transiluminación en su longitud de onda conocida. En algunas realizaciones, el segundo detector mide la luz de transiluminación una sola vez durante cada transiluminación. En algunas realizaciones, el segundo detector mide la luz de transiluminación varias veces durante cada transiluminación. El segundo detector puede, por ejemplo, medir la luz de transiluminación dos veces, tres veces, cuatro veces, cinco veces, diez veces, quince veces, veinte veces, veinticinco veces, treinta veces, cuarenta veces, cincuenta veces, sesenta veces, setenta veces, ochenta veces, noventa veces, cien veces, doscientas veces, trescientas veces, cuatrocientas veces, quinientas veces, o más de quinientas veces durante cada transiluminación.

55 En algunas realizaciones, después de la epiiluminación de la muestra, se mide una fluorescencia inherente de la muestra utilizando el segundo detector. Ciertos componentes de la muestra, tales como, por ejemplo, amortiguadores particulares, pueden tener una fluorescencia inherente significativa que puede tenerse en cuenta al observar mediciones de fluorescencia adicionales. Dicha fluorescencia inherente o de fondo puede provocar lecturas espurias de señales de fluorescencia no relacionadas con el ensayo o analito de interés. En algunas realizaciones, para compensar y corregir este efecto de fondo, la fluorescencia inherente medida de uno o más componentes de la muestra se resta de la fluorescencia medida de la muestra completa para llegar a una señal calculada representativa de la contribución de fluorescencia de uno o más analitos, complejos de analitos o productos de reacción de ensayo de interés.

65 El aparato incluye un sensor de temperatura de emisión configurado para detectar la temperatura del segundo detector de luz. La temperatura detectada usando el sensor de temperatura de emisión se puede usar para corregir una señal

emitida por el segundo detector de luz. En algunas realizaciones, el aparato también incluye un sensor de temperatura de excitación configurado para detectar la temperatura del primer detector de luz. La temperatura detectada usando el sensor de temperatura de excitación se puede usar para corregir una señal emitida por el primer detector de luz. La corrección de la salida de señal para tener en cuenta la temperatura del sensor puede, por ejemplo, incluir la aplicación de una función matemática que relaciona la salida de la señal del sensor con la temperatura del sensor. La corrección puede incluir hacer referencia a una tabla de consulta que comprende mediciones de referencia históricas de la salida de la señal del sensor a diversas temperaturas del sensor.

En algunas realizaciones, antes de insertar la muestra en el aparato, se mide una absorbancia en blanco con el segundo detector de luz. La absorbancia del blanco es una medida de la intensidad de la luz de transiluminación que llega al segundo detector de luz, ya que la muestra no absorbe nada de la luz de transiluminación. Esta absorbancia en blanco proporciona luego un valor de señal de control que se puede utilizar para calcular posteriormente la absorbancia de una muestra como el logaritmo de la relación entre la señal de control y la señal de muestra. En algunas realizaciones, se mide una absorbancia en blanco con el segundo detector de luz después de que se ha retirado una muestra del aparato. La absorbancia del blanco después de la extracción de la muestra se puede utilizar para verificar que el valor de la señal de control no haya cambiado significativamente durante el tiempo en que la muestra estuvo dentro del analizador.

En ciertos aspectos, la divulgación incorpora dispositivos para calibrar, estandarizar o monitorizar un analizador y la óptica contenida en el mismo. Se utiliza un dispositivo de emisión de referencia para calibrar o estandarizar la óptica, qué dispositivo está hecho de un material que tiene propiedades o picos de emisión óptica conocidos y comparar la salida del analizador con una salida esperada para calibrar adecuadamente el analizador con la emisión de referencia. El material del que está hecho el dispositivo de referencia puede ser un tinte fluorescente y una matriz acrílica o epoxi.

En un aspecto, un tinte de criptato de lantánido fluorescente, que se solidifica dentro de una matriz acrílica o epoxi en una cubeta es un dispositivo de emisión de referencia. Se describen colorantes de criptatos, por ejemplo, en las patentes US 6.515.113, 6.406.297 y 6.864.103, así como en el documento WO 2015/157057. El criptato solidificado dentro de una matriz acrílica o epoxi es estructuralmente fuerte, duradero y tiene una larga vida útil. Un dispositivo de este tipo puede resistir casi cualquier entorno en el que sea probable que se emplee un analizador. El tinte de criptato de lantánido solidificado dentro de un acrílico o epoxi emite una emisión de referencia estable y repetible y se puede utilizar para calibrar y monitorear un analizador configurado para detectar emisiones ópticas en muchas longitudes de onda diferentes. En diversas realizaciones, la emisión es repetible en el sentido de que se puede esperar que cada emisión de un dispositivo de referencia particular sea similar dentro de un intervalo de variación relativamente pequeño.

Después de la fabricación, un dispositivo de emisión de referencia puede comprobarse y caracterizarse antes de su puesta en servicio. Por ejemplo, un colorante de criptato de lantánido tiene picos de emisión característicos conocidos y estos picos característicos se confirman antes de ponerlo en servicio. Posteriormente, el analizador se puede monitorizar, estandarizar o calibrar utilizando un dispositivo de emisión de referencia. Se pueden usar otros compuestos fluorescentes conocidos en un dispositivo de emisión de referencia y emplearse en el analizador, métodos y sistemas de esta divulgación.

En algunas realizaciones, antes de insertar la muestra en el aparato, se detecta una corriente oscura con el primer y/o segundo detector de luz. En algunas realizaciones, antes de la epiiluminación de la muestra, se mide una lectura de corriente oscura con el primer y/o segundo detector de luz. La lectura de corriente oscura es una medida de la respuesta del detector en ausencia de la luz de excitación. La corriente oscura proporciona entonces un valor de señal de control que puede usarse para corregir posteriormente un valor de señal obtenido en presencia de la luz de excitación. En algunas realizaciones, se mide una corriente oscura con el primer detector de luz después de que se ha producido la epiiluminación de la muestra. La lectura de la corriente oscura después de la epiiluminación se puede utilizar para verificar que la corriente oscura no ha cambiado significativamente durante el tiempo en que la muestra estuvo epiiluminada.

La referencia a un "primer" componente no requiere necesariamente que se proporcione un segundo componente. Además, la referencia a un "primer", "segundo" o "tercer" componente no limita el componente al que se hace referencia a una ubicación particular a menos que se indique expresamente. Los términos "primero", "segundo" y "tercero" cuando se usan en este documento con referencia a elementos o propiedades son simplemente para distinguir más claramente los dos o más elementos o propiedades y, a menos que se indique lo contrario, no pretenden indicar orden. Como se usa en el presente documento, "un" o "una" significan "al menos un" o "uno o más".

REIVINDICACIONES

1. Un aparato (100) para detectar una luz de emisión (116) de una muestra y la absorbancia de una luz de transiluminación (117) por la muestra, comprendiendo el aparato (100):
- 5 una primera fuente de luz (101) configurada para emitir una luz de excitación (113) que tiene una longitud de onda de excitación;
 una segunda fuente de luz (102) configurada para transiluminar la muestra con la luz de transiluminación (117);
 un primer detector de luz (103) configurado para detectar la luz de excitación (113);
 10 un segundo detector de luz (104) configurado para detectar la luz de emisión (116) y la absorbancia de la luz de transiluminación (117) por la muestra;
caracterizado por que el segundo detector de luz (104) tiene un sensor de temperatura de emisión configurado para detectar la temperatura del segundo detector de luz (104); y por
 un espejo dicroico (105) configurado para (1) epiluminar la muestra reflejando al menos una porción de la luz de
 15 excitación (114), (2) transmitir al menos una porción de la luz de excitación (115) al primer detector de luz (103),
 (3) transmitir al menos una porción de la luz de emisión (116) al segundo detector de luz (104), y (4) transmitir al menos una porción de la luz de transiluminación (117) al segundo detector de luz (104).
2. El aparato (100) de la reivindicación 1, que además, comprende:
 20 un sensor de temperatura de excitación configurado para detectar la temperatura del primer detector de luz (103).
3. El aparato (100) de las reivindicaciones 1 o 2, que además, comprende:
 un sensor de temperatura de muestra (107) configurado para detectar la temperatura de la muestra.
- 25 4. El aparato (100) de la reivindicación 3, en donde el sensor de temperatura de la muestra (107) está ubicado sustancialmente ortogonal a una línea que comprende la muestra y una porción del espejo dicroico (105).
5. El aparato (100) de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el espejo dicroico (105) está configurado sustancialmente en un ángulo de 45 grados con respecto a una línea que comprende la muestra y una porción de la
 30 primera fuente de luz (101).
6. El aparato (100) de la reivindicación 5, en donde el espejo dicroico (105) está configurado para reflejar al menos una porción de la luz de excitación (113) de la primera fuente de luz (101) sustancialmente en un ángulo de 90 grados.
- 35 7. El aparato (100) de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que comprende además una lente objetivo de excitación (108) entre el espejo dicroico (105) y la muestra, en donde la lente objetivo de excitación (108) está configurada para enfocar la luz de excitación (113) sobre la muestra.
8. El aparato (100) de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, que además, comprende:
 40 un filtro de paso de banda (109) dispuesto entre el segundo detector de luz (104) y el espejo dicroico (105), en donde el filtro de paso de banda (109) permite que solo la luz visible que tiene una longitud de onda que oscila entre 390 nm y 700 nm pase al segundo detector de luz (104).
9. El aparato (100) de la reivindicación 8, en donde la luz de emisión (116) transmitida a través del espejo dicroico (105) pasa a través del filtro de paso de banda (109) y se enfoca en el segundo detector de luz (104).
 45
10. El aparato (100) de la reivindicación 8 o 9, en donde la luz de transiluminación (117) transmitida a través del espejo dicroico (105) pasa a través del filtro de paso de banda (109) y se enfoca en el segundo detector de luz (104).
- 50 11. El aparato (100) de una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10, que además, comprende:
 una rueda de filtro (110) que sostiene el filtro de paso de banda (109).
12. El aparato (100) de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde: (a) el segundo detector de luz (104) es un detector fotomultiplicador de silicio; o (b) el primer detector de luz (103) es un fotodiodo; o (c) la segunda fuente de luz (102) comprende un primer diodo emisor de luz (LED) configurado para emitir una primera luz, y un segundo LED configurado para emitir una segunda luz; o (d) la segunda fuente de luz (102) comprende más de dos diodos emisores de luz.
 55
13. El aparato (100) de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, que además, comprende:
 60 una carcasa de instrumento, en donde la primera fuente de luz (101), la segunda fuente de luz (102), el primer detector de luz, el segundo detector de luz (104) y el espejo dicroico (105) están cada uno dentro de la carcasa del instrumento; y
 un lector de código de barras.
 65
14. Un método para detectar una luz de emisión (116) de una muestra y la absorbancia de la luz de transiluminación

(117) por la muestra, comprendiendo el método:

- proporcionar el aparato (100) de la reivindicación 1;
- insertar la muestra en el aparato (100);
- 5 epiiluminar la muestra usando la primera fuente de luz (101);
- detectar la luz de excitación (115) transmitida a través del espejo dicroico (105) usando el primer detector (103);
- detectar la luz de emisión (116) transmitida desde la muestra a través del espejo dicroico (105) usando el segundo detector (104);
- 10 transiluminar la muestra usando la segunda fuente de luz (102) para generar la luz de transiluminación (117); y
- detectar la luz de transiluminación (117) transmitida a través del espejo dicroico (105) con el segundo detector (104) para detectar de ese modo la absorbancia de la luz de transiluminación (117) por la muestra.

15. Un sistema para detectar una luz de emisión (116) de una muestra y la absorbancia de la luz de transiluminación (117) por la muestra, comprendiendo el sistema:

- 15 el aparato (100) de la reivindicación 1;
- al menos un procesador; y
- una memoria acoplada operativamente con al menos un procesador.

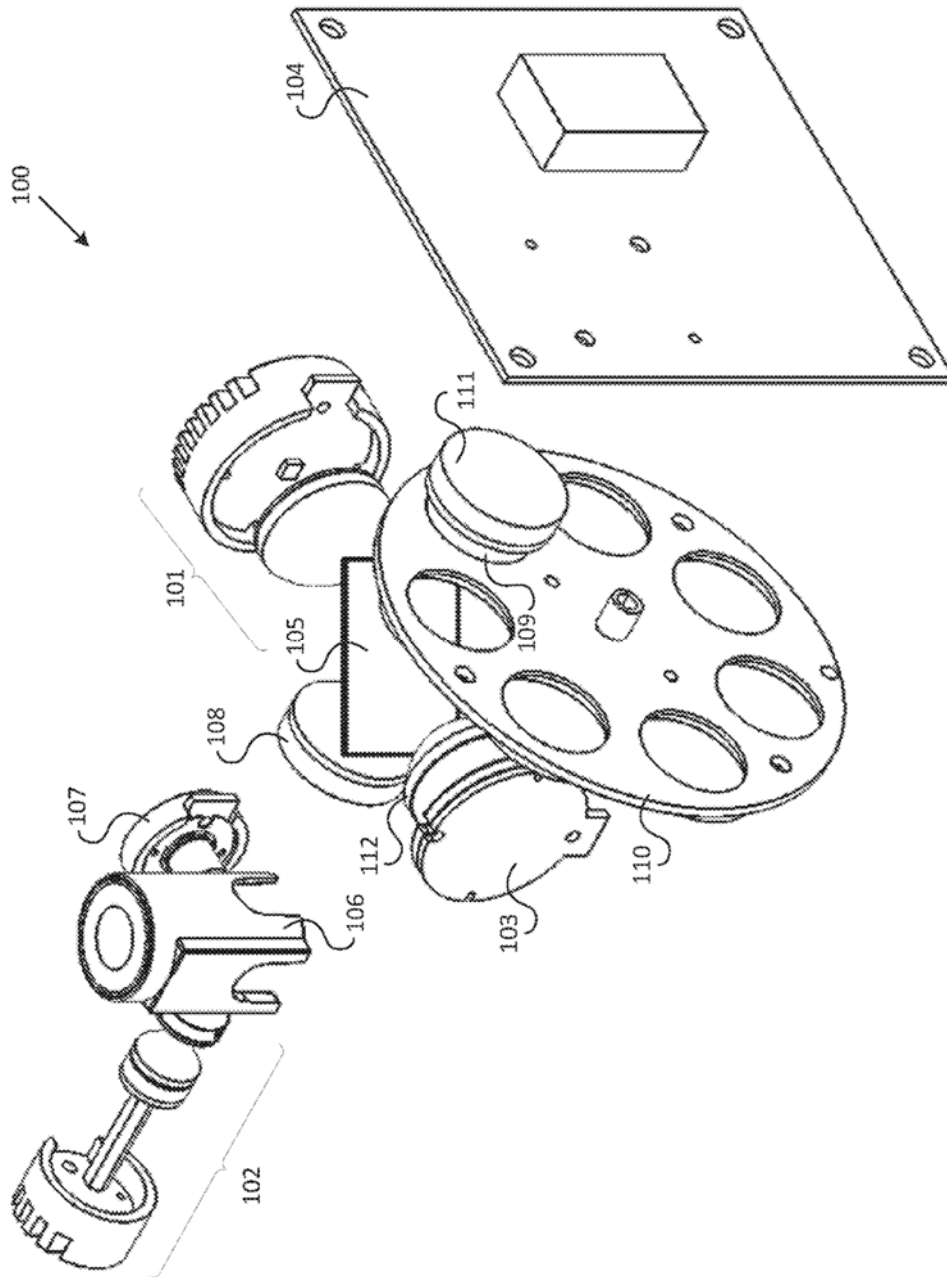


FIG. 1A

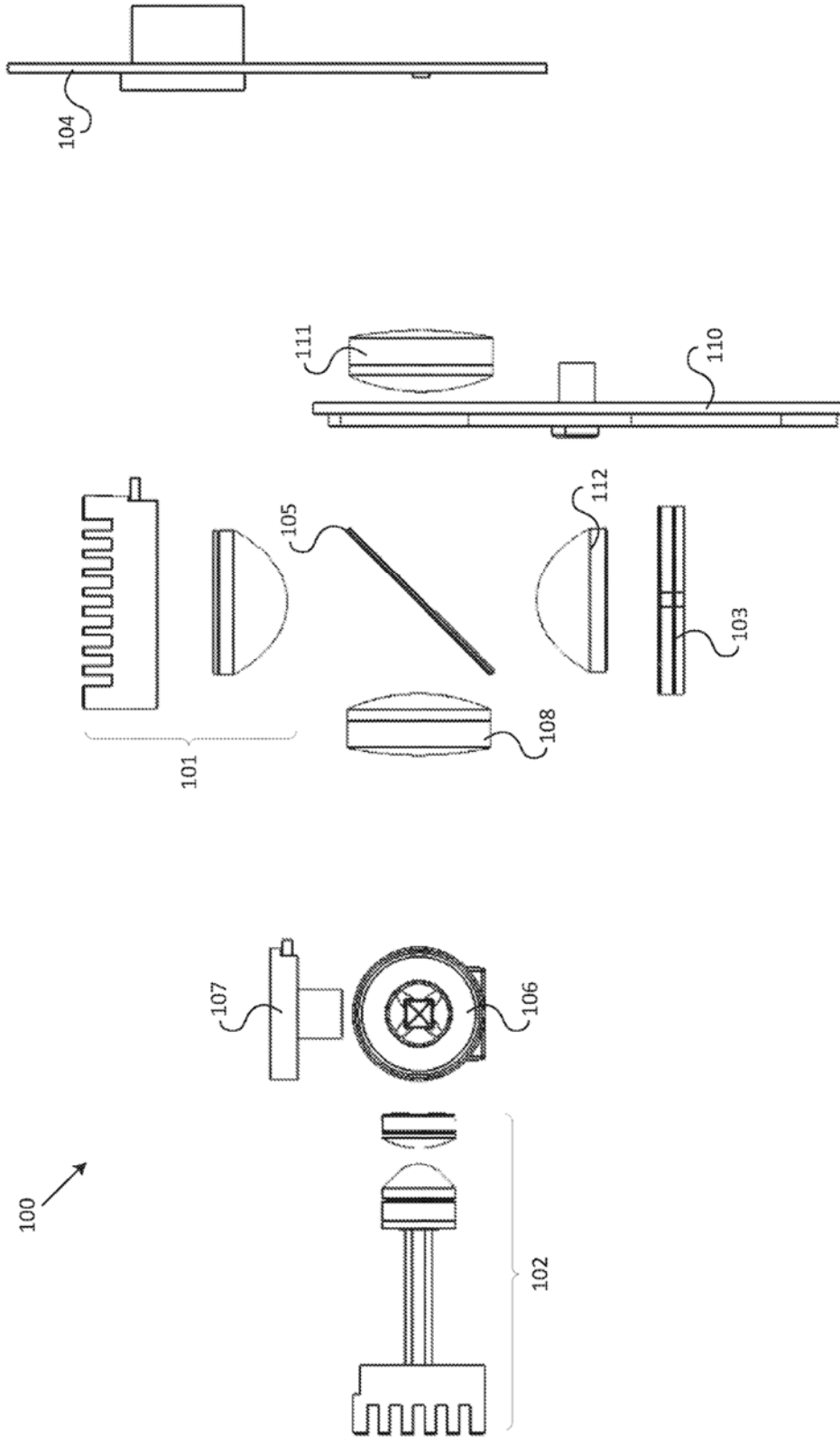


FIG. 1B

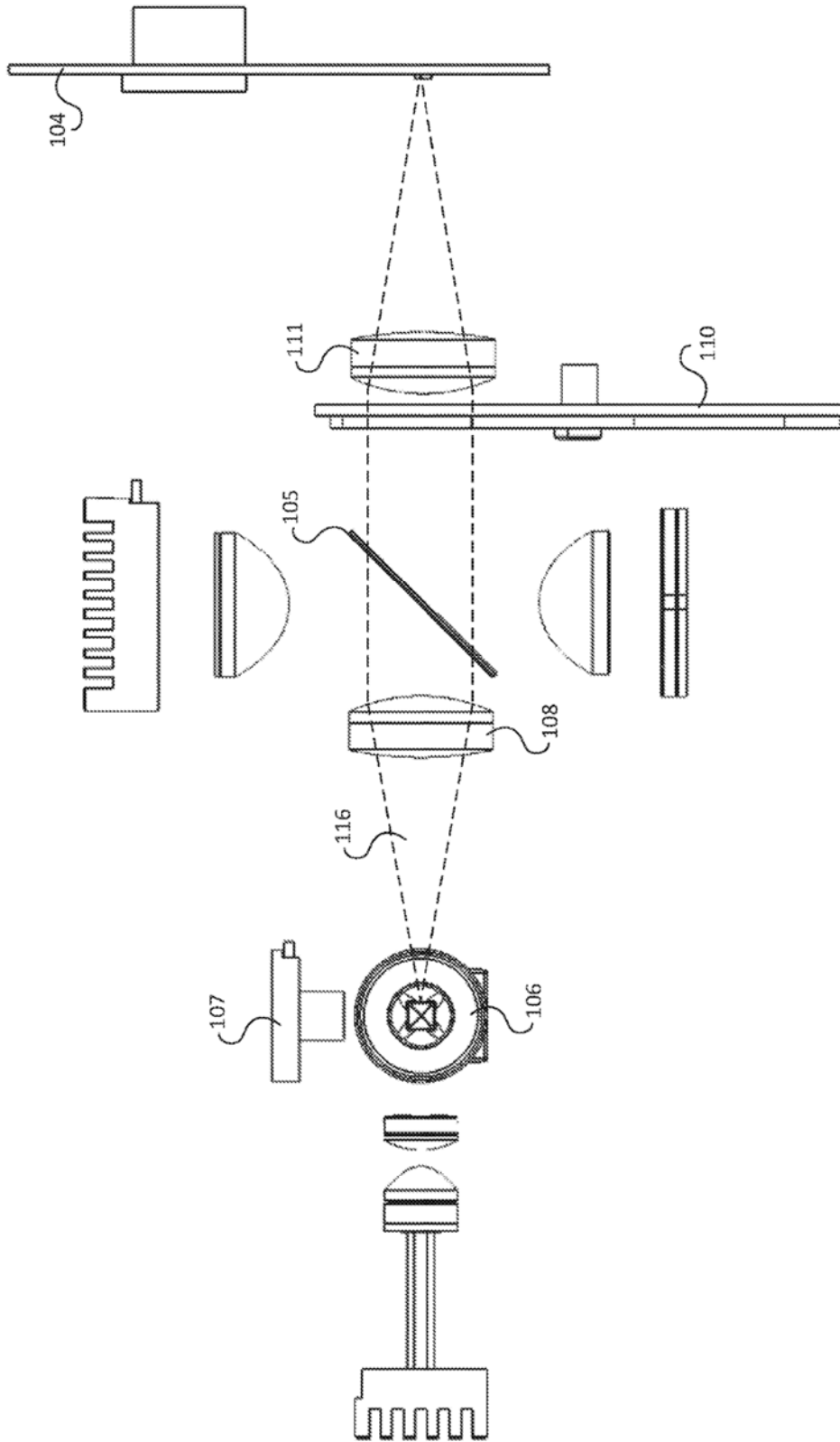


FIG. 1D

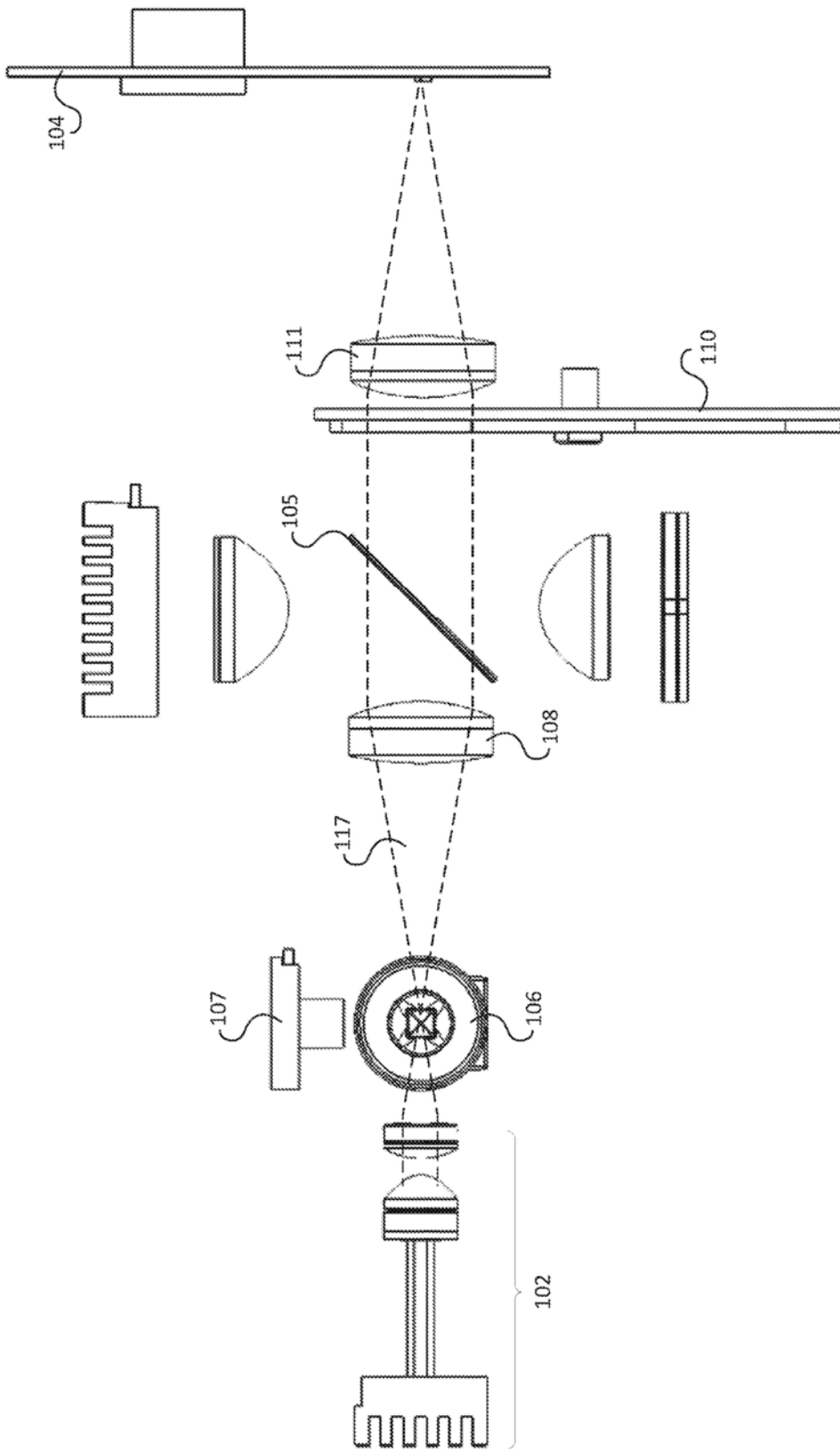


FIG. 1E

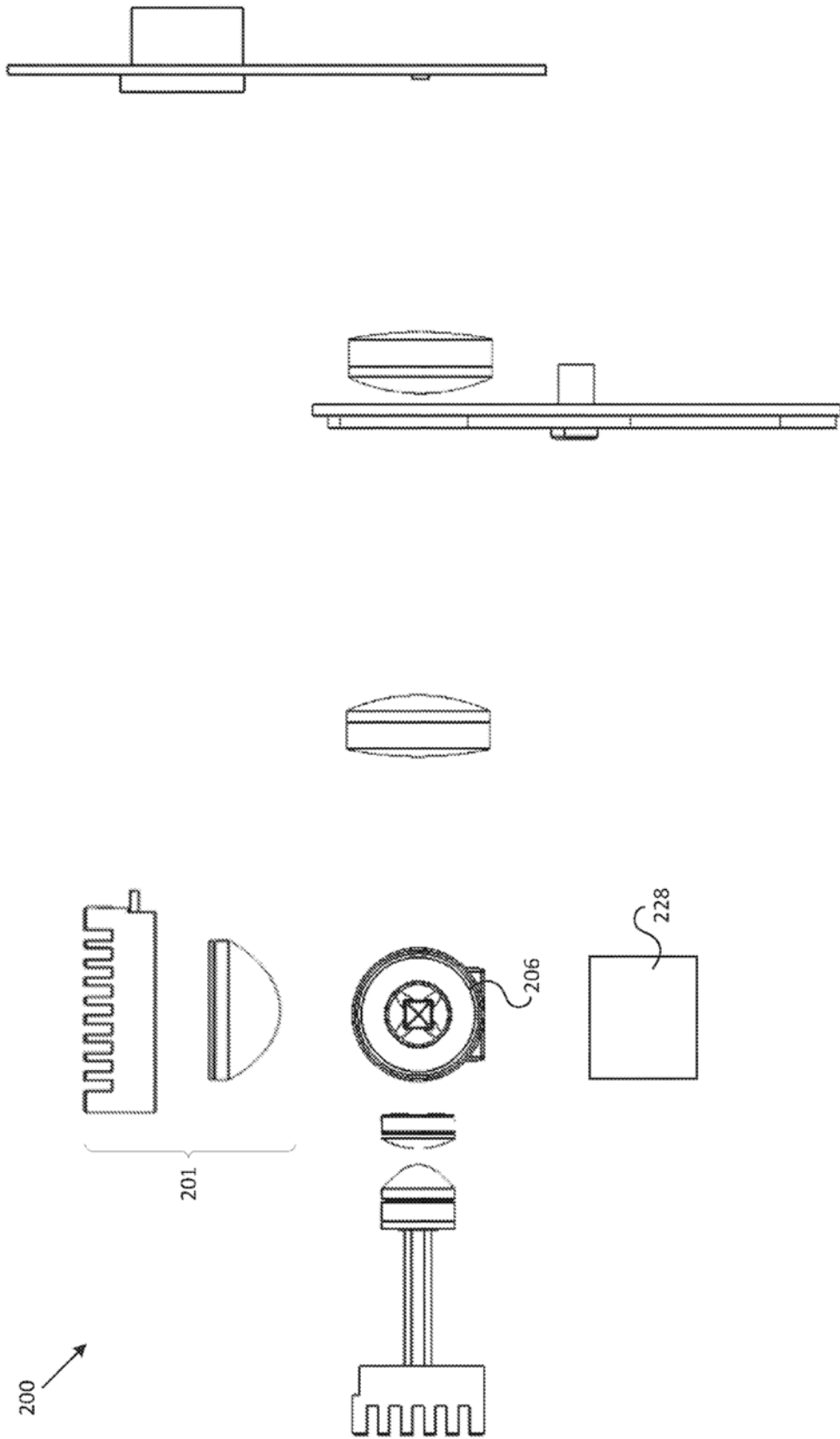


FIG. 2

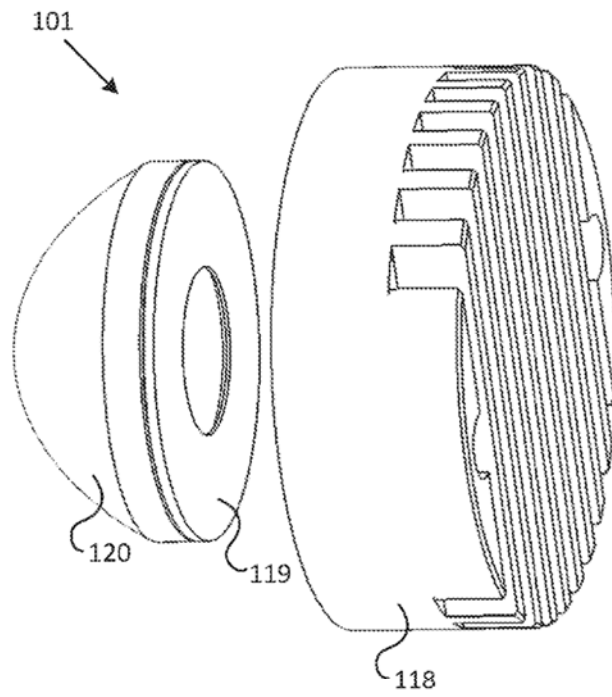


FIG. 3

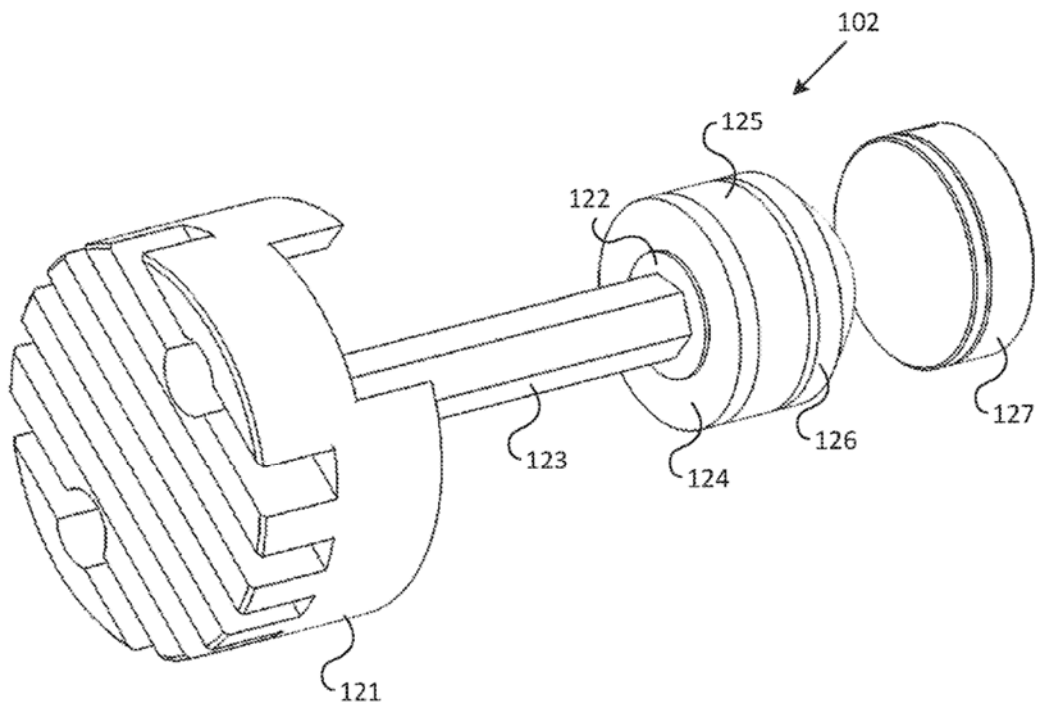


FIG. 4

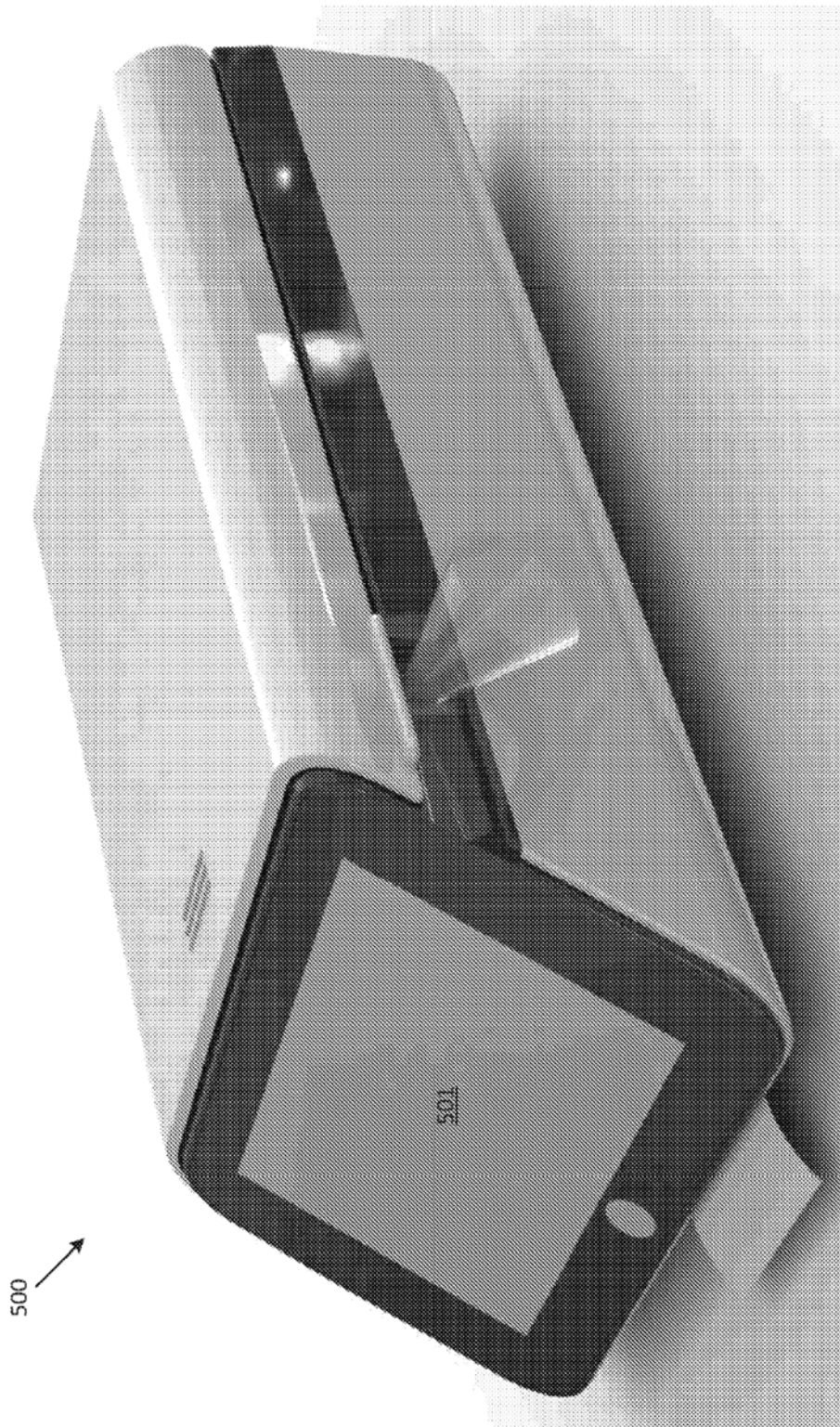


FIG. 5A

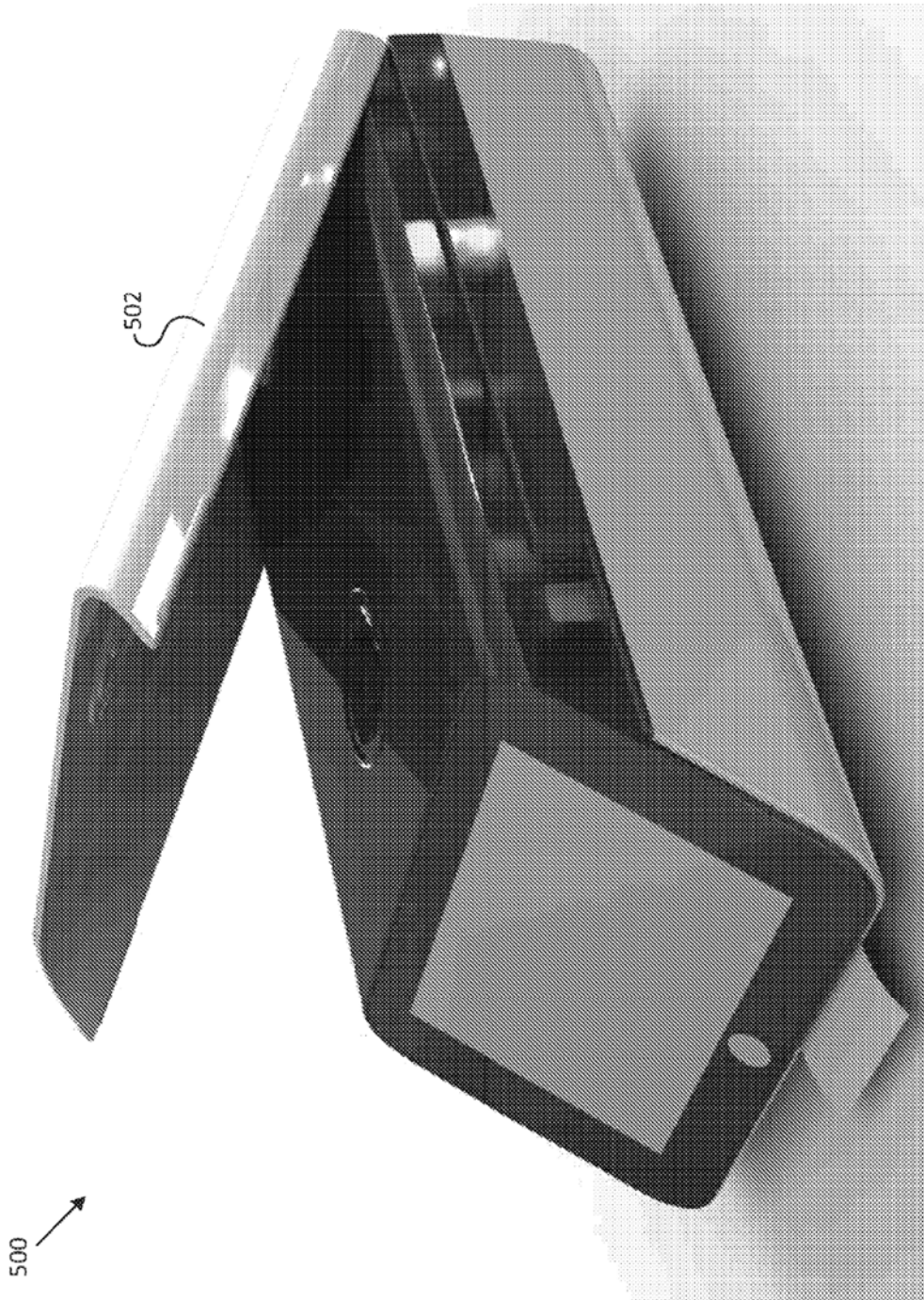


FIG. 5B

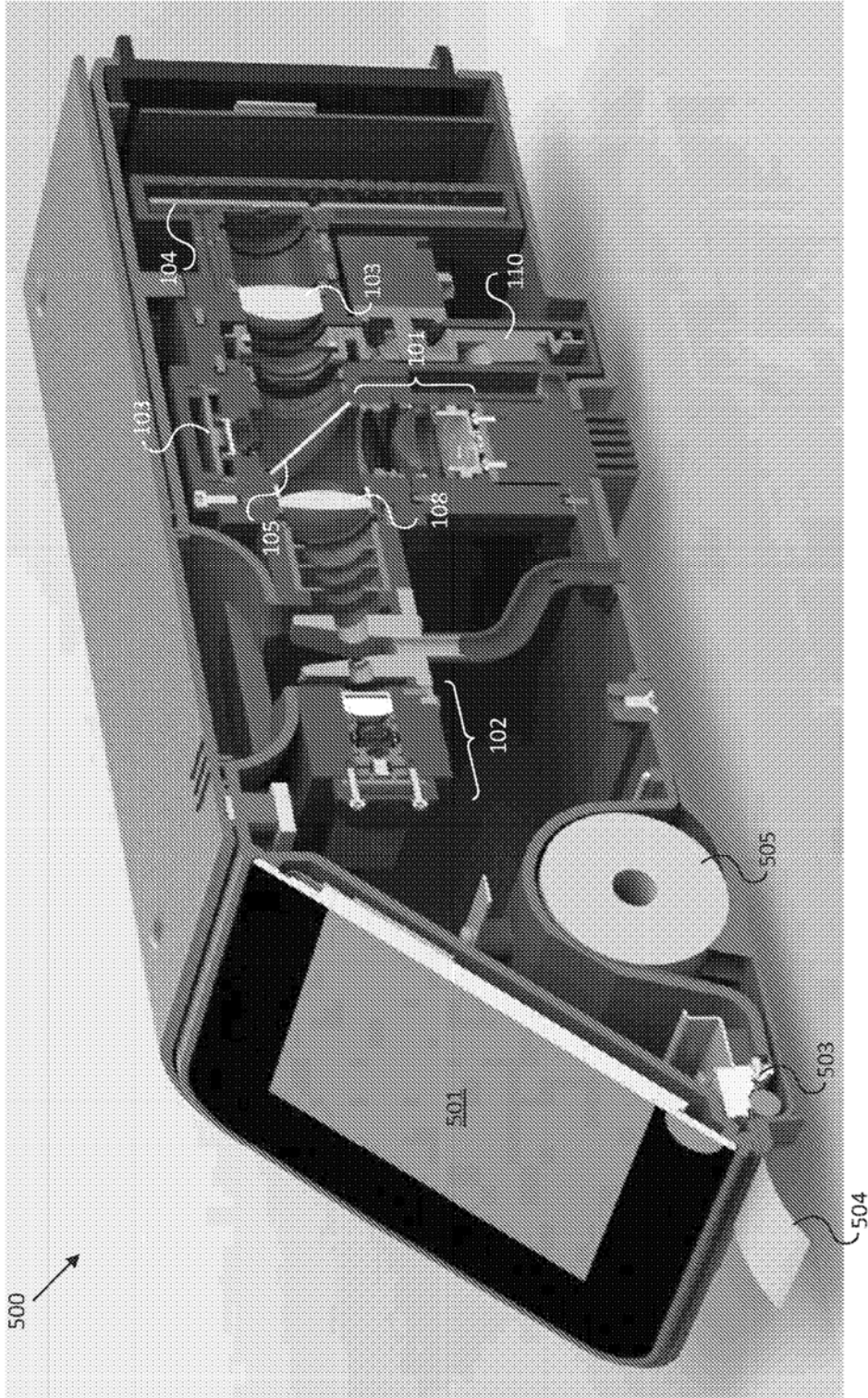


FIG. 5C

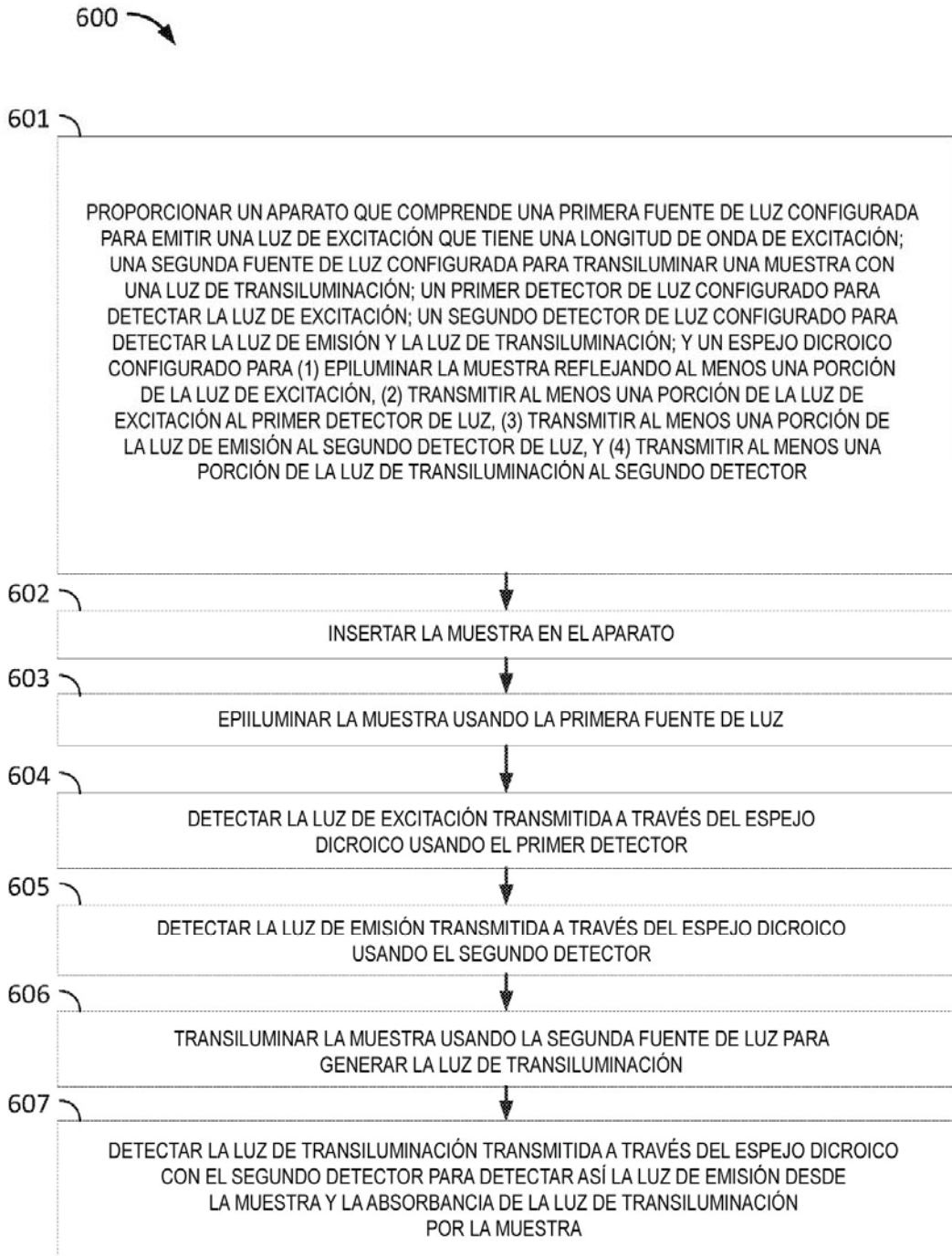


FIG. 6