

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 978 966**

51 Int. Cl.:

B01L 3/00 (2006.01)
G16H 50/30 (2008.01)
G16H 50/20 (2008.01)
G16H 10/40 (2008.01)
G16B 20/00 (2009.01)
G16B 40/00 (2009.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.03.2013** **E 17187204 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.05.2024** **EP 3312749**

54 Título: **Métodos y aparatos para predecir el riesgo de cáncer de próstata y el volumen de la glándula prostática**

30 Prioridad:

05.03.2012 FI 20125238
05.03.2012 US 201261606554 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
23.09.2024

73 Titular/es:

OY ARCTIC PARTNERS AB (50.0%)
Yliopistonkatu 2 H 155
20100 Turku, FI y
OPKO DIAGNOSTICS, LLC (50.0%)

72 Inventor/es:

VICKERS, ANDREW J.;
SCARDINO, PETER T.;
LILJA, HANS;
LINDER, VINCENT y
STEINMILLER, DAVID

74 Agente/Representante:

FERNÁNDEZ POU, Felipe

ES 2 978 966 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

Métodos y aparatos para predecir el riesgo de cáncer de próstata y el volumen de la glándula prostática

5 Campo de la invención

Esta descripción se refiere a los métodos y a los aparatos para predecir el riesgo del cáncer de próstata y/o el volumen de la glándula prostática. Más particularmente, esta descripción se refiere a los métodos y a los aparatos para proporcionar los modelos y emplear los modelos para predecir el riesgo de cánceres de próstata y/o predecir el volumen de la glándula prostática.

Antecedentes

La mayoría de los hombres con un nivel sanguíneo elevado del antígeno específico de la próstata total (PSA), el desencadenante más común de la biopsia en los hombres estadounidenses, no tienen cáncer de próstata. Como resultado, se ha estimado que hay cerca de 750 000 biopsias de próstata innecesarias cada año en los EE.UU. Existe evidencia considerable de que medir las isoformas del PSA por separado, en lugar de combinarlas en una sola medida del PSA total, puede ayudar a predecir la presencia del cáncer de próstata. Estos datos incluyen los estudios que demuestran que el cáncer se predice por el PSA libre, BPSA o -2proPSA. De hecho, el PSA libre a menudo se mide de manera separada y los urólogos dan los resultados en términos del PSA total y de la relación del PSA libre a total, con un estimado de 10 millones de PSA libres medidos por año. También hay evidencia de que la hK2, la molécula que convierte al PSA de su forma proactiva a su forma activa, es informativa del riesgo de la próstata. Sin embargo, ninguno de estos marcadores por sí solo constituyen buenos predictores del resultado de la biopsia de próstata.

Ha habido varios intentos de construir modelos predictivos para el cáncer de próstata, entre los que destacan el "Prostate Cancer Prevention Trial Risk Calculator", el "Sunnybrook" y el calculador de riesgo European Randomized trial of Screening for Prostate Cancer (ERSPC). El problema de estos modelos es que requieren un control clínico más o menos extenso, es decir, el paciente necesita acudir a un urólogo. Por ejemplo, el calculador de riesgo ERSPC requiere los datos sobre el volumen de la próstata, que se obtiene mediante la inserción de una sonda de ultrasonido en el recto. En consecuencia, serían beneficiosos nuevos métodos y aparatos para predecir el riesgo del cáncer de próstata y/o el volumen de la glándula prostática.

Se pueden encontrar antecedentes adicionales de la invención en Vickers y otros: "The predictive value of prostate cancer biomarkers depends on age and time to diagnosis: Towards a biologically-based screening strategy", Int. J. Cancer: 121, 2212-2217 (2007). Este documento se resume en su resumen de la siguiente manera: "Tanto las enfermedades de la próstata benignas como las malignas elevan el antígeno específico de la próstata total (tPSA) y la incidencia de las enfermedades benignas aumenta notablemente con la edad. Sin embargo, hay evidencia de que la relación del PSA libre a total de 1 (% de fPSA) y la calicreína 2 humana (hK2) reflejan más de cerca el proceso maligno. Evaluamos la hipótesis de que los niveles del tPSA son más predictivos de cáncer en los jóvenes en comparación con los hombres mayores, mientras que el % del fPSA y de la hK2 son más predictivos en los hombres evaluados más cerca del diagnóstico. El estudio incluyó a 13 676 hombres edad ≥ 44 en Suecia, donde la detección del PSA fue poco común durante el período de estudio. Se midieron el fPSA, tPSA y hK2 en plasma archivado recogido durante 1974-1986 en 501 hombres diagnosticados subsecuentemente con cáncer de próstata hasta 1999 y en 1292 controles emparejados. El valor predictivo del tPSA fue menor en los hombres mayores ($p = 0,003$) pero no se vio fuertemente afectado por el tiempo hasta el diagnóstico ($p = 0,3$); el valor predictivo de la hK2 fue mayor más cerca del diagnóstico ($p < 0,0005$) pero no fue modificado por la edad ($p = 0,7$). Un modelo que incluye al tPSA, fPSA y hK2 fue superior ($p = 0,02$) al tPSA solo en personas mayores (AUC 0,819 frente a 0,794), pero no en hombres más jóvenes (0,758 frente a 0,759). El PSA total puede usarse como un marcador único en la mediana edad temprana para predecir el riesgo a largo plazo del cáncer de próstata y, por lo tanto, para determinar la intensidad del cribado subsecuente. Por el contrario, el % del fPSA y hK2 añaden un valor predictivo importante en los hombres mayores y mucho más cerca del diagnóstico. Las estrategias para el cribado del cáncer de próstata deben basarse en un conocimiento profundo de la interacción de los biomarcadores relacionados con la calicreína con la patobiología de la próstata."

Se pueden encontrar antecedentes adicionales en O'Dowd et al.: «Analysis of Repeated Biopsy Results Within 1 Year After a Noncancer Diagnosis», DOI: 10.1016/S0090-4295(00)00447-7. Este documento se resume en su resumen de la siguiente manera: «Objetivos. Se analizó una base de datos de biopsias de próstata derivada de pacientes remitidos a urólogos de consultas privadas para conocer las tasas de diagnóstico de cáncer de la biopsia «inicial» y de la biopsia repetida realizada en el plazo de 1 año en aquellos pacientes con un diagnóstico de no cáncer. Métodos. Un análisis retrospectivo evaluó 1 32 426 biopsias de próstata recibidas y procesadas por un único laboratorio de patología entre marzo de 1994 y septiembre de 1998; ninguna había tenido una biopsia previa procesada en este laboratorio. Se diagnosticó cáncer de próstata en 50.521 de los pacientes (38,2%). Los 81.905 pacientes restantes (61,8%) tenían un diagnóstico no canceroso de no evidencia de malignidad (NEM), neoplasia intraepitelial prostática de alto grado (HGPIN), glándulas acinares pequeñas

sospechosas de cáncer (sospechosas) o sospechosas con HGPIN (Susp-HGPIN). Se identificaron 6.380 (7,8%) de estos pacientes «no cancerosos» que se sometieron a una biopsia repetida en el plazo de 1 año. Resultados. La incidencia de los diagnósticos de biopsia NEM, HGPIN, sospechosa y Susp-HGPIN en las pacientes «no cancerosas» (81.905) fue del 55,3%, 3,7%, 2,5% y 0,3%, respectivamente. La tasa en la que estos pacientes «no cancerosos» (81.905) se sometieron a una biopsia repetida fue del 4,8% para los pacientes con diagnóstico de NEM, del 26,6% para HGPIN, del 40,4% para sospechoso y del 47,5% para Susp-HGPIN. La tasa global de diagnóstico de cáncer en la muestra de pacientes con biopsia repetida (6380) fue del 25,7%. Cuando se estratificó por el diagnóstico inicial de la biopsia, la tasa de diagnóstico de cáncer para las biopsias repetidas fue del 19,8%, 22,6%, 40,0% y 53,1%, para los pacientes con NEM, HGPIN, sospechoso y Susp-HGPIN, respectivamente. Las tasas de repetición del diagnóstico por biopsia no variaron drásticamente cuando se analizaron a intervalos de 3 meses durante el periodo de 1 año. Asimismo, se observó una fuerte correlación (79%) entre el número de muestras de tejido obtenidas en los procedimientos de biopsia inicial y repetida. En un subgrupo de pacientes con resultados de antígeno prostático específico (PSA) libre y total obtenidos antes de la biopsia repetida ($n = 81\ 3$), pudimos construir un algoritmo de regresión logística multivariante utilizando la edad de los pacientes, el diagnóstico inicial de la biopsia inicial, el PSA total y el cociente PSA libre/total que podía predecir la probabilidad de cáncer en la biopsia repetida con una precisión del 70%. Conclusiones. Los hombres que tienen un diagnóstico inicial de biopsia no cancerosa siguen estando en riesgo de cáncer de próstata, especialmente si el diagnóstico inicial fue sospechoso o Susp-HGPIN. Estos datos sugieren que es necesario mejorar y/o ampliar la estrategia de biopsia inicial para aumentar la tasa global de detección de cáncer en la biopsia primaria. Además, la combinación de factores como el diagnóstico inicial de la biopsia, los antecedentes familiares, los resultados del tacto rectal, el volumen de la glándula prostática, la edad, el PSA total y la relación PSA libre/total podría proporcionar información valiosa para predecir la probabilidad de cáncer.»

Para más información, véase Mitrunen et al: «Dual-Label One-Step Immunoassay for Simultaneous Measurement of Free and Total Prostate-Specific Antigen Concentrations and Ratios in Serum», Clinical Chemistry Aug 1995, 41 (8) 1115-1120. Este documento se resume en su resumen de la siguiente manera: «Hemos desarrollado un sencillo inmunoensayo de doble etiqueta en un solo paso para la medición simultánea de la forma libre, no complejada, del antígeno prostático específico (PSA) y del PSA total. El ensayo se basa en la fluorescencia con resolución temporal e incluye un quelato fluorescente estable de Eu para marcar un anticuerpo monoclonal (mAb) que detecta sólo el PSA libre, mientras que un segundo mAb marcado con un quelato fluorescente de Tb proporciona una detección equimolar tanto del PSA libre como del PSA complejo con alfa 1-antitripsina. Un tercer mAb en fase sólida captura las formas libres y complejas de PSA de forma equimolar. La medición simultánea de la relación PSA libre/total (F/T) con el ensayo dual de un solo paso no es sensible a las variaciones en el volumen de la muestra. La discriminación entre pacientes con hiperplasia prostática benigna y pacientes con cáncer de próstata, es decir, el área bajo la curva característica operativa del receptor, aumentó de 0,64 (ensayo de PSA total) a 0,78 y 0,81 cuando la relación F/T se midió con ensayos simple y dual, respectivamente.»

Puede encontrar más información en Lilja et al: «Long-Term Prediction of Prostate Cancer Up to 25 Years Before Diagnosis of Prostate Cancer Using Prostate Kallikreins Measured at Age 44 to 50 Years», DOI: 10.1200/JCO.2006.06.9351. Este documento se resume en su resumen de la siguiente manera: «Propósito. Examinamos si las formas del antígeno prostático específico (PSA) y la calicreína humana 2 (hK2) medidas a la edad de 44 a 50 años predicen el riesgo a largo plazo de cáncer de próstata incidente. Métodos. De 1974 a 1986, 21.277 hombres de edad ≤ 50 años de Malmö, Suecia, se inscribieron en un estudio cardiovascular (74% de participación). La tasa de cribado de PSA en esta población es baja. Según el Registro Sueco del Cáncer, 498 fueron diagnosticados posteriormente de cáncer de próstata. Se midieron hK2, PSA libre y PSA total (tPSA) en plasma sanguíneo archivado de 462 participantes diagnosticados posteriormente de cáncer de próstata y de 1.222 controles emparejados. Se utilizó la regresión logística condicional para comprobar la asociación del cáncer de próstata con la hK2 y las formas de PSA medidas al inicio del estudio. Resultados. La mediana del tiempo transcurrido entre la venopunción y el diagnóstico de cáncer de próstata fue de 18 años. La hK2 y todas las formas de PSA se asociaron fuertemente con el cáncer de próstata (todas $P < 0,0005$). Ninguna de las 90 variables antropométricas, de estilo de vida, bioquímicas y de historia clínica medidas al inicio del estudio tuvo un valor predictivo importante. Un aumento del tPSA de 1 ng/mL se asoció con un aumento de las probabilidades de cáncer de 3,69 (IC 95%, 2,99 a 4,56); la adición de otras formas de PSA o de hK2 no aumentó el valor predictivo del tPSA. El tPSA siguió siendo predictivo para los hombres diagnosticados ≥ 20 años después de la venopunción, y el valor predictivo se mantuvo sin cambios en un análisis restringido a la enfermedad palpable. Conclusiones. Una única prueba de PSA a la edad de 44 a 50 años predice el cáncer de próstata diagnosticado clínicamente con posterioridad. Esto plantea la posibilidad de una estratificación del riesgo para los programas de cribado del cáncer de próstata.»

Resumen de la invención

La presente invención proporciona un método como se establece en la reivindicación 1.

Breve descripción de los dibujos

Las realizaciones no limitantes de la presente invención se describirán a modo de ejemplo con referencia a las figuras adjuntas, que son esquemáticas y no pretenden ser dibujadas a escala. En las figuras, cada componente idéntico o casi idéntico ilustrado se representa típicamente con un solo número. Por motivos de claridad, no todos los componentes están etiquetados en todas las figuras, ni se muestran todos los componentes de cada modalidad de la invención cuando la ilustración no es necesaria para permitir que los expertos en la técnica comprendan la invención. En las figuras:

5

La Figura 1 ilustra un diagrama de flujo de un proceso para determinar una probabilidad de una biopsia de cáncer positiva de acuerdo con algunas modalidades de la invención;

10

La Figura 2 ilustra un diagrama de flujo de un proceso para seleccionar condicionalmente un modelo de regresión logística de acuerdo con algunas modalidades de la invención;

15

La Figura 3 muestra una ilustración esquemática de un sistema informático en donde se pueden implementar algunas modalidades de la invención;

La Figura 4 ilustra un entorno de red ilustrativo dentro del cual pueden usarse algunas modalidades de la invención;

20

La Figura 5 es un diagrama de bloques que muestra un sistema de microfluidos y una variedad de componentes que pueden ser parte de un analizador de muestras que puede usarse para determinar uno o más marcadores sanguíneos de acuerdo con algunas modalidades de la invención;

25

La Figura 6 es una vista en perspectiva de un analizador de muestras y de un casete que puede usarse para determinar uno o más marcadores sanguíneos de acuerdo con algunas modalidades de la invención;

La Figura 7 es una vista en perspectiva de un casete que incluye un conector de fluidos que puede usarse para determinar uno o más marcadores sanguíneos de acuerdo con algunas modalidades de la invención;

30

La Figura 8 es una vista del ensamble despiezado de un conector de fluidos que puede usarse para determinar uno o más marcadores sanguíneos de acuerdo con algunas modalidades de la invención;

La Figura 9 es una vista del ensamble despiezado de un casete que puede usarse para determinar uno o más marcadores sanguíneos de acuerdo con algunas modalidades de la invención;

35

La Figura 10 es una vista esquemática de un casete que incluye un conector de fluidos que puede usarse para determinar uno o más marcadores sanguíneos de acuerdo con algunas modalidades de la invención;

40

La Figura 11A es una vista esquemática de un casete que puede usarse para determinar uno o más marcadores sanguíneos de acuerdo con algunas modalidades de la invención;

Las Figuras 11B-11F son las vistas esquemáticas de los casetes formados por múltiples componentes que pueden usarse para determinar uno o más marcadores sanguíneos de acuerdo con un conjunto de modalidades;

45

La Figura 12 es una vista esquemática de una porción de un analizador de muestras que puede usarse para determinar uno o más marcadores sanguíneos de acuerdo con algunas modalidades de la invención;

50

La Figura 13 es un diagrama de bloques que muestra un sistema de control de un analizador de muestras asociado con una variedad de componentes diferentes que puede usarse para determinar uno o más marcadores sanguíneos de acuerdo con algunas modalidades de la invención;

55

La Figura 14 es un diagrama esquemático que muestra un sistema de microfluidos de un casete que puede usarse para determinar uno o más marcadores sanguíneos de acuerdo con algunas modalidades de la invención y

La Figura 15 es un gráfico que muestra la medición de la densidad óptica en función del tiempo que muestra la determinación de uno o más marcadores sanguíneos de acuerdo con algunas modalidades de la invención.

60

Descripción detallada de la invención

Se describen métodos y aparatos para predecir el riesgo de cáncer de próstata y/o el volumen de la glándula prostática. Más particularmente, esta descripción se refiere a los métodos y a los aparatos para proporcionar los modelos y emplear los modelos para predecir el riesgo del cáncer de próstata y/o predecir el volumen de la glándula prostática. En algunas modalidades, los métodos y los aparatos para predecir el riesgo del cáncer de próstata y/o el volumen de la glándula prostática se proporcionan mediante el uso, al menos en parte, de la

65

información de un panel de los marcadores de la calicreína. El objeto de esta solicitud implica, en algunos casos, los métodos interrelacionados, las soluciones alternativas a un problema particular y/o una pluralidad de usos diferentes de los sistemas y los dispositivos.

- 5 Se describe un método para obtener la probabilidad de un suceso utilizando un modelo de regresión logística para predecir el riesgo de cáncer de próstata en un varón.

En la siguiente descripción detallada, se describe una computadora para determinar la probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata. El ordenador incluye una interfaz de entrada configurada para recibir la información para una pluralidad de los marcadores sanguíneos, en donde la información para la pluralidad de los marcadores sanguíneos incluye un valor del antígeno específico de la próstata libre (fPSA) y un valor del PSA total (tPSA). El ordenador también incluye al menos un procesador programado para evaluar un modelo de regresión logística basado, al menos en parte, en la información recibida para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata en una persona. La evaluación del modelo de regresión logística comprende determinar los términos del spline cúbico para el tPSA, en donde la determinación de los términos del spline cúbico para el tPSA comprende determinar los términos del spline cúbico para el tPSA basados en un primer spline cúbico que tiene un primer nodo interno entre 2-5 y un segundo nodo interno entre 5-8, la determinación de los términos del spline cúbico para el fPSA, en donde la determinación de los términos del spline cúbico para el fPSA comprende determinar los términos del spline cúbico para el fPSA basado en un segundo spline cúbico que tiene un tercer nodo interno entre 0,25-1 y un cuarto nodo interno entre 1,0-2,0, determinar un primer valor para el tPSA basado, al menos en parte, en el valor del tPSA recibido y en los términos del spline cúbico determinados para el tPSA, determinar un segundo valor para el fPSA basado, al menos en parte, en el valor del fPSA recibido y en los términos del spline cúbico determinados para el fPSA y determinar la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata basado, al menos en parte, en el primer valor y el segundo valor. El ordenador también incluye una interfaz de salida configurada para generar una indicación de la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata.

También en la siguiente descripción detallada, se describe un sistema para determinar la probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata. El sistema incluye un detector configurado para medir los valores para una pluralidad de los marcadores sanguíneos, en donde la pluralidad de los marcadores sanguíneos incluye al antígeno específico de la próstata libre (fPSA), PSA total (tPSA) y PSA intacto (iPSA). El sistema también incluye al menos un procesador en comunicación electrónica con el detector. El al menos un procesador está programado para evaluar un modelo de regresión logística basado, al menos en parte, en los valores medidos para el fPSA, tPSA e iPSA para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata de alto grado en una persona. La evaluación del modelo de regresión logística comprende determinar los términos del spline cúbico para el tPSA, en donde la determinación de los términos del spline cúbico para el tPSA comprende determinar los términos del spline cúbico para el tPSA basados en un primer spline cúbico que tiene un primer nodo interno entre 4-5 y un segundo nodo interno entre 6-8, determinar los términos del spline cúbico para el fPSA, en donde la determinación de los términos del spline cúbicos para el fPSA comprende determinar los términos del spline cúbico para el fPSA basado en un segundo spline cúbico que tiene un tercer nodo interno entre 0,25-1 y un cuarto nodo interno entre 1,0-2,0, determinar un primer valor para el tPSA basado, al menos en parte, en el valor del tPSA recibido y en los términos del spline cúbico determinados para el tPSA, determinar un segundo valor para el fPSA basado, al menos en parte, en el valor del fPSA recibido y en los términos del spline cúbico determinados para el fPSA, determinar la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata basado, al menos en parte, en el primer valor y en el segundo valor y generar una indicación de la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata.

También en la siguiente descripción detallada, se describe un método para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata. El método comprende recibir, a través de una interfaz de entrada, la información para una pluralidad de los marcadores sanguíneos, en donde la información para la pluralidad de los marcadores sanguíneos incluye un valor del antígeno específico de la próstata libre (fPSA) y un valor del PSA total (tPSA). El método comprende además evaluar, mediante el uso de al menos un procesador, un modelo de regresión logística basado, al menos en parte, en la información recibida para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata en una persona. La evaluación del modelo de regresión logística comprende determinar los términos del spline cúbico para el tPSA, en donde la determinación de los términos del spline cúbico para el tPSA comprende determinar los términos del spline cúbico para el tPSA basado en un primer spline cúbico que tiene un primer nodo interno entre 2-5 y un segundo nodo interno entre 5-8; determinar los términos del spline cúbico para el fPSA, en donde la determinación de los términos del spline cúbico para el fPSA comprende determinar los términos del spline cúbico para el fPSA basado en un segundo spline cúbico que tiene un tercer nodo interno entre 0,25-1 y un cuarto nodo interno entre 1,0-2,0, determinar un primer valor para el tPSA basado, al menos en parte, en el valor del tPSA recibido y en los términos del spline cúbico determinados para el tPSA, determinar un segundo valor para el fPSA basado, al menos en parte, en el valor del fPSA recibido y en los términos del spline cúbico determinados para el fPSA y determinar la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata basado, al menos en parte, en el primer valor y el segundo valor. El método comprende además generar una indicación de la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata.

También en la siguiente descripción detallada, se describe un medio de almacenamiento legible por el ordenador codificado con una pluralidad de instrucciones que, cuando son ejecutadas por una computadora, realizan un método para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata. El método comprende recibir la información para una pluralidad de los marcadores sanguíneos, en donde la información para la pluralidad de los marcadores sanguíneos incluye un valor del antígeno específico de la próstata libre (fPSA) y un valor del PSA total (tPSA), evaluar un modelo de regresión logística basado, al menos en parte, en la información recibida para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata en una persona. La evaluación del modelo de regresión logística comprende determinar los términos del spline cúbico para el tPSA, en donde la determinación de los términos del spline cúbico para el tPSA comprende determinar los términos del spline cúbico para el tPSA basado en un primer spline cúbico que tiene un primer nodo interno entre 2-5 y un segundo nodo interno entre 5-8, determinar los términos del spline cúbico para el fPSA, en donde la determinación de los términos del spline cúbico para el fPSA comprende determinar los términos del spline cúbico para el fPSA basado en un segundo spline cúbico que tiene un tercer nodo interno entre 0,25-1 y un cuarto nodo interno entre 1,0-2,0, determinar un primer valor para el tPSA basado, al menos en parte, en el valor del tPSA recibido y en los términos del spline cúbico determinados para el tPSA, determinar un segundo valor para el fPSA basado, al menos en parte, en el valor del fPSA recibido y en los términos del spline cúbico determinados para el fPSA y determinar la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata basado, al menos en parte, en el primer valor y el segundo valor. El método comprende además generar una indicación de la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata.

También en la siguiente descripción detallada, se describe una computadora para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata. El ordenador incluye una interfaz de entrada configurada para recibir la información para una pluralidad de los marcadores sanguíneos, en donde la información para la pluralidad de los marcadores sanguíneos incluye un valor del antígeno específico de la próstata libre (fPSA), un valor del PSA total (tPSA), un valor del PSA intacto (iPSA) y un valor de la calicreína 2 humana (kK2). El ordenador también incluye al menos un procesador programado para evaluar un modelo de regresión logística basado, al menos en parte, en la información recibida para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata en una persona. La evaluación del modelo de regresión logística comprende determinar la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata basado, al menos en parte, en el valor del tPSA, el valor del iPSA, el valor de la hK2 y una relación entre el valor del fPSA y el valor del tPSA. El ordenador también incluye una interfaz de salida configurada para generar una indicación de la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata.

También en la siguiente descripción detallada, se describe un método para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata. El método comprende recibir, a través de una interfaz de entrada, la información para una pluralidad de los marcadores sanguíneos, en donde la información para la pluralidad de los marcadores sanguíneos incluye un valor del antígeno específico de la próstata libre (fPSA), un valor del PSA total (tPSA), un valor del PSA intacto (iPSA) y un valor de la calicreína 2 humana (kK2), evaluar, mediante el uso de al menos un procesador, un modelo de regresión logística basado, al menos en parte, en la información recibida para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata en una persona. La evaluación del modelo de regresión logística comprende determinar la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata basado, al menos en parte, en el valor del tPSA, el valor del iPSA, el valor de la hK2 y una relación entre el valor del fPSA y el valor del tPSA y generar una indicación de la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata.

También en la siguiente descripción detallada, se describe un medio de almacenamiento legible por el ordenador codificado con una pluralidad de instrucciones que, cuando son ejecutadas por una computadora, realizan un método para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata. El método comprende recibir, a través de una interfaz de entrada, la información para una pluralidad de los marcadores sanguíneos, en donde la información para la pluralidad de los marcadores sanguíneos incluye un valor del antígeno específico de la próstata libre (fPSA), un valor del PSA total (tPSA), un valor del PSA intacto (iPSA) y un valor de la calicreína 2 humana (kK2), evaluar, mediante el uso de al menos un procesador, un modelo de regresión logística basado, al menos en parte, en la información recibida para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata en una persona. La evaluación del modelo de regresión logística comprende determinar la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata basado, al menos en parte, en el valor del tPSA, el valor del iPSA, el valor de la hK2 y una relación entre el valor del fPSA y el valor del tPSA y generar una indicación de la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata.

También en la siguiente descripción detallada, se describe una computadora para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata. El ordenador incluye una interfaz de entrada configurada para recibir la información para una pluralidad de los marcadores sanguíneos, en donde la información para la pluralidad de los marcadores sanguíneos incluye un valor del antígeno específico de la próstata libre (fPSA), un valor del PSA total (tPSA), un valor del PSA intacto (iPSA) y un valor de la calicreína 2 humana (kK2). El ordenador también incluye al menos un procesador programado para evaluar un modelo de regresión logística

- basado, al menos en parte, en la información recibida para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata en una persona. La evaluación del modelo de regresión logística comprende determinar un término no lineal para el tPSA al elevar el valor del tPSA a un primer exponente, determinar un término no lineal para el fPSA al elevar el valor del fPSA a un segundo exponente y determinar la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata basado, al menos en parte, en el valor del tPSA, el valor del fPSA, el valor del iPSA, el valor de la hK2, el término no lineal para el tPSA y el término no lineal para el fPSA. El ordenador incluye además una interfaz de salida configurada para generar una indicación de la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata.
- 10 También en la siguiente descripción detallada, se describe un método para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata. El método comprende recibir, a través de una interfaz de entrada, la información para una pluralidad de los marcadores sanguíneos, en donde la información para la pluralidad de los marcadores sanguíneos incluye un valor del antígeno específico de la próstata libre (fPSA), un valor del PSA total (tPSA), un valor del PSA intacto (iPSA) y un valor de la calicreína 2 humana (kK2). El método
- 15 comprende además evaluar, mediante el uso de al menos un procesador, un modelo de regresión logística basado, al menos en parte, en la información recibida para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata en una persona. La evaluación del modelo de regresión logística comprende determinar un término no lineal para el tPSA al elevar el valor del tPSA a un primer exponente, determinar un término no lineal para el fPSA al elevar el valor del fPSA a un segundo exponente y determinar la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata basado, al menos en parte, en el valor del tPSA, el valor del fPSA, el valor del iPSA, el valor de la hK2, el término no lineal para el tPSA y el término no lineal para el fPSA. El método comprende además generar una indicación de la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata.
- 25 También en la siguiente descripción detallada, se describe un medio de almacenamiento legible por el ordenador codificado con una pluralidad de instrucciones que, cuando son ejecutadas por una computadora, realizan un método para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata. El método comprende recibir la información para una pluralidad de los marcadores sanguíneos, en donde la información para la pluralidad de los marcadores sanguíneos incluye un valor del antígeno específico de la
- 30 próstata libre (fPSA), un valor del PSA total (tPSA), un valor del PSA intacto (iPSA) y un valor de la calicreína 2 humana (kK2). El método comprende además evaluar un modelo de regresión logística basado, al menos en parte, en la información recibida para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata en una persona. La evaluación del modelo de regresión logística comprende determinar un término no lineal para el tPSA al elevar el valor del tPSA a un primer exponente, determinar un término no lineal para el fPSA al elevar el valor del fPSA a un segundo exponente y determinar la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata basado, al menos en parte, en el valor del tPSA, el valor del fPSA, el valor del iPSA, el valor de la hK2, el término no lineal para el tPSA y el término no lineal para el fPSA. El método comprende además generar una indicación de la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata.
- 40 También en la siguiente descripción detallada, se describe una computadora para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata. El ordenador incluye una interfaz de entrada configurada para recibir la información para una pluralidad de los marcadores sanguíneos, en donde la información para la pluralidad de los marcadores sanguíneos incluye un valor del antígeno específico de la próstata libre (fPSA) y un valor del PSA total (tPSA), un valor del PSA intacto (iPSA) y un valor de la calicreína 2 humana (kK2). El ordenador también incluye al menos un procesador programado para evaluar un modelo de regresión logística
- 45 basado, al menos en parte, en la información recibida para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata en una persona. La evaluación del modelo de regresión logística comprende determinar los términos del spline lineal para el tPSA, determinar los términos del spline lineal para el fPSA, determinar un primer valor para el tPSA basado, al menos en parte, en el valor del tPSA recibido y en los términos del spline lineal determinados para el tPSA, determinar un segundo valor para el fPSA basado, al menos en parte, en el valor del fPSA recibido y en los términos del spline lineal determinados para el fPSA y determinar la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata basado, al menos en parte, en el primer valor y en el segundo valor. El ordenador también incluye una interfaz de salida configurada para generar una indicación de la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata.
- 55 También en la siguiente descripción detallada, se describe un método para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata. El método comprende recibir, a través de una interfaz de entrada, la información para una pluralidad de los marcadores sanguíneos, en donde la información para la pluralidad de los marcadores sanguíneos incluye un valor del antígeno específico de la próstata libre (fPSA), un valor del PSA total (tPSA), un valor del PSA intacto (iPSA) y un valor de la calicreína 2 humana (kK2). El método
- 60 comprende además evaluar, mediante el uso de al menos un procesador, un modelo de regresión logística basado, al menos en parte, en la información recibida para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata en una persona. La evaluación del modelo de regresión logística comprende determinar los términos del spline lineal para el tPSA, determinar los términos del spline lineal para el fPSA, determinar un primer valor para el tPSA basado, al menos en parte, en el valor del tPSA recibido y en los términos del spline lineal determinados para el tPSA, determinar un segundo valor para el fPSA basado, al
- 65

menos en parte, en el valor del fPSA recibido y en los términos del spline lineal determinados para el fPSA y determinar la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata basado, al menos en parte, en el primer valor y en el segundo valor. El método comprende además generar una indicación de la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata.

5

También en la siguiente descripción detallada, se describe un medio de almacenamiento legible por el ordenador codificado con una pluralidad de instrucciones que, cuando son ejecutadas por una computadora, realizan un método para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata. El método comprende recibir la información para una pluralidad de los marcadores sanguíneos, en donde la información para la pluralidad de los marcadores sanguíneos incluye un valor del antígeno específico de la próstata libre (fPSA), un valor del PSA total (tPSA), un valor del PSA intacto (iPSA) y un valor de la calicreína 2 humana (kK2). El método comprende además evaluar un modelo de regresión logística basado, al menos en parte, en la información recibida para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata en una persona. La evaluación del modelo de regresión logística comprende determinar los términos del spline lineal para el tPSA, determinar los términos del spline lineal para el fPSA, determinar un primer valor para el tPSA basado, al menos en parte, en el valor del tPSA recibido y en los términos del spline lineal determinados para el tPSA, determinar un segundo valor para el fPSA basado, al menos en parte, en el valor del fPSA recibido y en los términos del spline lineal determinados para el fPSA y determinar la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata basado, al menos en parte, en el primer valor y en el segundo valor. El método comprende además generar una indicación de la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata.

10

15

20

25

También en la siguiente descripción detallada, se describe un sistema para determinar el riesgo del cáncer de alto grado. El sistema incluye una interfaz de entrada configurada para recibir la información para una pluralidad de los marcadores sanguíneos, en donde la información para la pluralidad de los marcadores sanguíneos incluye un valor del antígeno específico de la próstata libre (fPSA), un valor del PSA total (tPSA), un valor del PSA intacto (iPSA) y un valor de la hK2. El sistema también incluye al menos un procesador programado para introducir los valores recibidos en un modelo de regresión logística, en donde al menos el valor del tPSA y los valores del fPSA se ingresan en el modelo de regresión logística mediante el uso de los términos lineales y no lineales y evaluar el modelo de regresión logística para determinar el riesgo del cáncer de alto grado.

30

También en la siguiente descripción detallada, se describe un sistema para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata en una persona. El sistema incluye un analizador de muestras de microfluidos, que comprende una carcasa y una abertura en la carcasa configurada para recibir un casete que tiene al menos un canal de microfluidos, en donde la carcasa incluye un componente configurado para interactuar con un componente de acoplamiento en el casete para detectar el casete dentro de la carcasa. El sistema también incluye un sistema de control de la presión colocado dentro de la carcasa, el sistema de control de la presión configurado para presurizar el al menos un canal de microfluidos en el casete para mover la muestra a través de al menos un canal de microfluidos. El sistema incluye además un sistema óptico colocado dentro de la carcasa, el sistema óptico que incluye al menos una fuente de luz y al menos un detector separados de la fuente de luz, en donde la fuente de luz se configura para pasar la luz a través del casete cuando se inserta el casete en el analizador de muestras y en donde el detector se coloca frente a la fuente de luz para detectar la cantidad de luz que pasa a través del casete. El sistema incluye una interfaz del usuario asociada a la carcasa para introducir al menos la edad de una persona y un procesador en comunicación electrónica con el analizador de muestras de microfluidos, el procesador programado para evaluar un modelo de regresión logística basado, al menos en parte, en la información recibida de al menos un detector para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata en una persona, en donde la evaluación del modelo de regresión logística comprende escalar cada una de una pluralidad de variables por un valor del coeficiente diferente para producir las variables escaladas y sumar los valores para las variables escaladas usadas para producir la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata en una persona, en donde la pluralidad de las variables incluye la edad y al menos dos variables incluidas en la información recibida del detector y se selecciona del grupo que consiste en fPSA, iPSA y tPSA.

35

40

45

50

También en la siguiente descripción detallada, se describe un método para determinar la probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata en una persona. El método implica proporcionar un analizador de muestras de microfluidos, que comprende una carcasa, una abertura en la carcasa configurada para recibir un casete que tiene al menos un canal de microfluidos, en donde la carcasa incluye un componente configurado para interactuar con un componente de acoplamiento en el casete para detectar el casete dentro de la carcasa y un sistema de control de la presión colocado dentro de la carcasa, el sistema de control de la presión configurado para presurizar al menos un canal de microfluidos en el casete para mover la muestra a través de al menos un canal de microfluidos. El analizador de muestras de microfluidos también incluye un sistema óptico colocado dentro de la carcasa, el sistema óptico incluye al menos una fuente de luz y al menos un detector separado de la fuente de luz, en donde la fuente de luz se configura para pasar luz a través del casete cuando el casete se inserta en el analizador de muestras y en donde el detector se coloca frente a la fuente de luz para detectar la cantidad de luz que pasa a través del casete y una interfaz del usuario asociada con la carcasa para introducir al menos la edad de una persona. El método implica determinar la información para una pluralidad

55

60

65

de los marcadores sanguíneos mediante el uso el analizador de muestras de microfluidos, en donde la información para la pluralidad de los marcadores sanguíneos incluye un valor del antígeno específico de la próstata libre (fPSA), un valor del PSA total (tPSA) y un valor del PSA intacto (iPSA) y evaluar, mediante el uso de al menos un procesador, un modelo de regresión logística basado, al menos en parte, en la información para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata en una persona, en donde la evaluación del modelo de regresión logística comprende escalar cada una de una pluralidad de variables por un valor diferente del coeficiente para producir las variables escaladas y sumar los valores para las variables escaladas usadas para producir la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata en una persona, en donde la pluralidad de las variables incluye la edad y al menos dos variables incluidas en la información recibida del detector y se selecciona del grupo que consiste en fPSA, iPSA y tPSA.

También en la siguiente descripción detallada, se describe un sistema. El sistema incluye un dispositivo que comprende una primera región de análisis que comprende una primera pareja de unión y una segunda región de análisis que comprende una segunda pareja de unión, en donde la primera pareja de unión está adaptada para unirse con al menos uno de entre el antígeno específico de la próstata libre (fPSA), antígeno específico de la próstata intacto (iPSA) y PSA total (tPSA) y en donde la segunda pareja de unión está adaptada para unirse con al menos otro de entre el fPSA, iPSA y tPSA. El sistema incluye un detector asociado con la primera y segunda regiones de análisis y un procesador programado para evaluar un modelo de regresión logística basado, al menos en parte, en la información recibida del detector para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata en una persona, en donde la evaluación del modelo de regresión logística comprende escalar cada una de una pluralidad de variables por un valor diferente del coeficiente para producir las variables escaladas y sumar los valores para las variables escaladas usadas para producir la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata en una persona, en donde la pluralidad de las variables incluye la edad y al menos dos variables incluidas en la información recibida del detector y se selecciona del grupo que consiste en fPSA, iPSA y tPSA.

También en la siguiente descripción detallada, se describe un método. El método comprende introducir una muestra en un dispositivo que comprende una primera región de análisis que comprende una primera pareja de unión y una segunda región de análisis que comprende una segunda pareja de unión, en donde la primera pareja de unión está adaptada para unirse con al menos uno de entre el antígeno específico de la próstata libre (fPSA), antígeno específico de la próstata intacto (iPSA) y PSA total (tPSA) y en donde la segunda pareja de unión está adaptada para unirse con al menos otro de entre el fPSA, iPSA y tPSA. El método implica permitir que cualquiera de los fPSA, iPSA y/o tPSA de la muestra se una a la primera y/o segunda parejas de unión en la primera y segunda regiones de análisis, determinar una característica del fPSA, iPSA y/o tPSA mediante el uso de uno o más detectores asociados con la primera y segunda regiones de análisis, introducir las características del fPSA, iPSA y/o tPSA en un procesador programado para evaluar un modelo de regresión logística basado, al menos en parte, en la información recibida de al menos un detector para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata en una persona, en donde la evaluación del modelo de regresión logística comprende escalar cada una de una pluralidad de variables por un valor diferente del coeficiente para producir las variables escaladas y sumar los valores para las variables escaladas usadas para producir la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata en una persona, en donde la pluralidad de las variables incluye la edad y al menos dos variables incluidas en la información recibida del detector y se selecciona del grupo que consiste en fPSA, iPSA y tPSA y determinar la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata.

También en la siguiente descripción detallada, se describe un dispositivo. El dispositivo incluye un sistema de microfluidos que comprende un primer canal de microfluidos que incluye al menos una entrada y una salida, un primer reactivo almacenado en el primer canal de microfluidos, un sello que cubre la entrada del primer canal de microfluidos y un sello que cubre la salida del primer canal de microfluidos para almacenar el primer reactivo en el primer canal de microfluidos y un segundo canal de microfluidos que incluye al menos una entrada y una salida. El dispositivo también incluye una primera región de análisis, una segunda región de análisis y una tercera región de análisis, cada una de las regiones de análisis incluye uno de un anticuerpo de captura específico anti-iPSA, un anticuerpo de captura específico anti-fPSA y un anticuerpo de captura específico anti-tPSA, en donde una o más de la primera, segunda y tercera regiones de análisis están en comunicación de fluidos con el segundo canal de microfluidos. El dispositivo también incluye un conector de fluidos que se puede conectar al sistema de microfluidos, en donde el conector de fluidos comprende una trayectoria del fluido que incluye una entrada de la trayectoria del fluido y una salida de la trayectoria del fluido, en donde al conectarse, la entrada de la trayectoria del fluido se conecta a la salida del primer canal de microfluidos para permitir la comunicación de fluidos entre la trayectoria del fluido y el primer canal de microfluidos y la salida de la trayectoria del fluido se conecta a la entrada del segundo canal de microfluidos para permitir la comunicación de fluidos entre la trayectoria del fluido y el segundo canal de microfluidos, en donde el primero y el segundo canales de microfluidos no están en comunicación de fluidos entre sí sin conexión a través del conector de fluidos. El dispositivo también incluye una fuente de un coloide metálico conjugado con un anticuerpo que se une al anti-PSA.

También en la siguiente descripción detallada, se describe un método para obtener una probabilidad de un

evento mediante el uso de un modelo de regresión logística para predecir el riesgo del cáncer de próstata para un hombre. El método comprende las etapas de

- 5 a) proporcionar un modelo de regresión logística obtenido mediante el empleo de la regresión logística multivariable de los datos de una multitud de personas masculinas, que comprenden dichos datos para cada persona masculina de dicha multitud de personas masculinas los datos del estado del cáncer de próstata y los datos, los datos anteriores de dicho estado del cáncer de próstata, que comprende la edad y las determinaciones de los marcadores sanguíneos, el antígeno específico de la próstata total (tPSA), PSA libre (fPSA), PSA intacto (iPSA) y opcionalmente la calicreína 2 humana (hK2) a partir de las muestras de sangre
10 de dichos varones, en donde se genera dicho modelo de regresión logística que emplea la fórmula:

$$\log\left(\frac{\pi}{1-\pi}\right) = \sum_{i=1}^j \beta_i x_i + c$$

- 15 en donde π es la probabilidad de dicho evento, β_i es el coeficiente para la variable, x_i para j variables que comprenden la edad, tPSA, fPSA, iPSA y opcionalmente hK2, respectivamente, para obtener dicho modelo de regresión logística;

b) proporcionar la edad de una persona masculina en años;

- 20 c) determinar dichos marcadores sanguíneos

i) tPSA,

25 ii) fPSA,

iii) iPSA,

iv) opcionalmente hK2, respectivamente, de una muestra de sangre de dicha persona masculina;

- 30 d) emplear dicho modelo de regresión logística mediante el uso de dicha edad proporcionada de la etapa b) y dichos marcadores sanguíneos determinados de la etapa c) para obtener dicha probabilidad de dicho evento de dicha persona masculina mediante

i) la definición de la fórmula de empleo

35
$$y = \log\left(\frac{\pi}{1-\pi}\right)$$

ii) la obtención de dicha probabilidad como

40
$$\pi = \left(\frac{e^y}{1+e^y}\right)$$

En dicho modelo de regresión logística, dicho riesgo del cáncer se basa en tPSA solo si tPSA es ≥ 15 ng/ml, preferentemente ≥ 20 ng/ml y con la máxima preferencia ≥ 25 ng/ml.

- 45 También en la siguiente descripción detallada se describe un método para predecir el volumen de la glándula prostática mediante el uso de un modelo de regresión lineal.

También en la siguiente descripción detallada se describe un método para predecir el volumen de la glándula prostática mediante el uso de un modelo de regresión lineal en donde dicho método comprende las etapas de:

- 50 a) proporcionar un modelo de regresión lineal obtenido mediante el empleo de la regresión lineal de los datos de una multitud de personas masculinas, que comprende dichos datos para cada persona masculina de dicha multitud de personas masculinas

- 55 i) datos sobre el volumen de la glándula prostática y

ii) los datos, datos anteriores sobre el volumen de la glándula prostática, que comprenden la edad y las determinaciones de los marcadores sanguíneos: el antígeno específico de la próstata total (tPSA), PSA libre (fPSA), PSA intacto (iPSA) y, opcionalmente, la calicreína 2 humana (hK2), a partir de las muestras de sangre

de dichas personas masculinas, en donde dicho modelo de regresión lineal se genera mediante el empleo de la fórmula:

$$V = \sum_{i=1}^j \beta_i x_i + c.$$

5

en donde V es el volumen de la glándula prostática, β_i es el coeficiente de la variable x_i para j variables que comprenden la edad, tPSA, fPSA, iPSA y opcionalmente hK2, respectivamente, para obtener dicho modelo de regresión lineal;

10 b) proporcionar la edad de una persona masculina en años;

c) determinar dichos marcadores sanguíneos, tPSA, fPSA, iPSA y opcionalmente, hK2, respectivamente, a partir de una muestra de sangre de dicha persona masculina;

15 d) emplear dicho modelo de regresión lineal mediante el uso de dicha edad proporcionada de la etapa b) 5 y dichos marcadores sanguíneos determinados de la etapa c) para obtener dicho volumen prostático previsto de dicha persona masculina.

20 En dicho modelo de regresión lineal dicho riesgo del cáncer se basa en el tPSA solo si el tPSA es ≥ 15 ng/ml, preferentemente ≥ 20 ng/ml y con la máxima preferencia ≥ 25 ng/ml.

Otras características nuevas y ventajas de la presente invención resultarán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada de diversas modalidades no limitantes de la invención, cuando se consideran junto con los dibujos adjuntos.

25

Como se discutió anteriormente, muchas técnicas convencionales para predecir una probabilidad del cáncer de próstata y/o el volumen de la glándula prostática se basan, al menos en parte, en un examen clínico (por ejemplo, un examen rectal digital o DRE) del paciente. Algunas modalidades descritas en la presente descripción se refieren a los métodos y a los aparatos para determinar una probabilidad predicha del cáncer de próstata y/o el volumen de la glándula prostática basado, al menos en parte, en un panel de los marcadores sanguíneos, sin necesidad de un estudio clínico. Como se analiza con más detalle más abajo, la probabilidad prevista del cáncer de próstata en la biopsia y/o el volumen de la glándula prostática proporcionada es una métrica fiable que puede ser útil para ayudar en las decisiones relacionadas con la biopsia de la próstata.

30

35 Algunas modalidades están dirigidas a un sistema informático que incluye al menos un procesador programado para evaluar el riesgo del cáncer de próstata, en donde el riesgo del cáncer de próstata se determina basado, al menos en parte, en los valores para una pluralidad de los marcadores sanguíneos. En algunas modalidades, el sistema informático puede implementarse como un sistema integrado (por ejemplo, en un analizador y/o un chip/casete) con uno o más detectores que determinan un valor para uno o más de los marcadores sanguíneos descritos en la presente descripción. En otras modalidades, el sistema informático puede incluir una computadora ubicado de forma remota desde uno o más detectores y los valores para uno o más de los marcadores sanguíneos descritos en la presente descripción pueden introducirse manualmente mediante el uso de una interfaz del usuario y/o los valores pueden recibirse mediante un interfaz de red acoplada comunicativamente a una red (por ejemplo, la Internet). El al menos un procesador en el sistema informático puede programarse para aplicar uno o más modelos a las entradas recibidas para evaluar el riesgo del cáncer de próstata tras una biopsia, como se analiza con más detalle más abajo.

40

45

Los modelos usados de acuerdo con algunas modalidades de la invención ayudan a integrar la información para una pluralidad de los factores de entrada. Por ejemplo, los factores de entrada pueden ser el PSA, la relación PSA libre a total y/o estado del examen rectal digital (DRE). Continuando con este ejemplo, un primer paciente puede tener un PSA de 3 ng/ml, una relación del PSA libre a total del 15 % y un DRE negativo, un segundo paciente puede tener un PSA de 9,5 ng/ml, una relación del PSA libre a total del 50 % y un DRE negativo y un tercer paciente puede tener un PSA de 1,5 ng/ml, una relación libre a total del 29 % y un DRE positivo. Para el primer paciente, un urólogo puede preguntarse si la relación baja (pero no extremadamente baja) del PSA libre a total es suficiente para justificar una biopsia dado que el PSA es moderado y DRE negativo. Para el segundo paciente, el valor alto del PSA normalmente justificaría una biopsia inmediata, pero la relación muy alta del PSA libre a total puede ser una fuerte indicación de que el aumento del PSA es benigno. Para el tercer paciente, un DRE positivo es normalmente un signo muy preocupante, pero puede ser evidencia insuficiente de que se necesita una biopsia dado el bajo PSA y la relación normal del PSA libre a total. Como se debe apreciar por lo anterior, cuando a un médico se le presentan estos factores de forma aislada, puede ser difícil determinar cuándo es necesaria una biopsia. Adicionalmente, a medida que aumenta el número de los factores de entrada, la decisión si realizar una biopsia en función de la información numérica de los diversos factores de entrada se vuelve aún más compleja.

60

65 Tanto los pacientes como los médicos varían con respecto a la propensión a optar por la biopsia, en

dependencia de las diferencias en cuanto a cómo valoran la detección precoz del cáncer en comparación con los riesgos, daños e inconvenientes de la biopsia. A menudo no es práctico incorporar tales preferencias mediante el uso de reglas de decisión estrictas (por ejemplo, realizar una biopsia si el PSA > 4 ng/ml o si la relación libre a total < 15 %) o mediante el uso de las puntuaciones de riesgo (por ejemplo, la puntuación de 29 en el índice de salud de la próstata (PHI)). Por ejemplo, si un hombre fuera reacio a los procedimientos médicos, puede ser difícil determinar qué tan alto de un puntaje del PSA y/o PHI sería "lo suficientemente alto" para justificar una biopsia.

En lugar de usar reglas de decisión estrictas, de acuerdo con algunas modalidades, al menos un procesador está programado para usar uno o más modelos estadísticos para procesar una pluralidad de entradas para guiar las decisiones sobre la biopsia de la próstata. Las entradas a los modelos estadísticos pueden incluir, pero no se limitan a, valores de los marcadores sanguíneos, características del paciente (por ejemplo, la edad) y otra información adecuada, para determinar una probabilidad de que se encuentre una biopsia positiva para el cáncer de próstata. Tal probabilidad representa una escala interpretable que puede usarse para guiar las decisiones de biopsia en vista de las preferencias del paciente y del médico.

La Figura 1 ilustra un diagrama de flujo de un proceso de acuerdo con algunas modalidades de la invención. En la acción 110, al menos un procesador recibe uno o más valores de los marcadores sanguíneos para su procesamiento mediante el uso de una o más de las técnicas descritas en la presente descripción. Como se describe con más detalle más abajo, el o los valor(es) de los marcadores sanguíneos pueden recibirse de cualquier manera adecuada, que incluye, pero no se limita, a través de una interfaz de entrada local, tales como un teclado, pantalla táctil, micrófono u otro dispositivo de entrada, desde una interfaz conectada a la red que recibe el o los valor(es) de un dispositivo ubicado remoto del procesador o los procesadores o directamente de uno o más detectores que miden el o los valor(es) de los marcadores sanguíneos (por ejemplo, en una implementación donde el o los procesador(es) están integrados con un dispositivo de medición que incluye uno o más detectores).

En respuesta a recibir el o los valor(es) del marcador sanguíneo, el proceso procede a la acción 120, donde se evalúa al menos un modelo de regresión logística para determinar una probabilidad de una biopsia positiva para el cáncer de próstata, en donde la probabilidad se basa, al menos en parte, en el o los valor(es) de los marcadores sanguíneos recibidos. Como se describe con más detalle más abajo, la información que no sean los valores de los marcadores sanguíneos recibidos (por ejemplo, la edad, grado del cáncer, etc.) se puede usar opcionalmente como los factores para determinar un modelo particular para usar y/o usarse como los factores de entrada para evaluar un modelo seleccionado.

Después de determinar una probabilidad de una biopsia de cáncer positiva, el proceso procede a la acción 130, donde la probabilidad se genera a un usuario (por ejemplo, un médico, un paciente) para guiar un proceso de decisión de si es necesaria una biopsia. La probabilidad se puede generar de cualquier forma adecuada. Por ejemplo, en algunas modalidades, la probabilidad se puede generar al mostrar un valor numérico que representa la probabilidad en una pantalla de visualización de un dispositivo. En otras modalidades, la probabilidad se puede generar mediante el uso de una o más luces u otros indicadores visuales en un dispositivo. En otras modalidades más, la probabilidad se puede proporcionar mediante el uso de una salida de audio, salida táctil o alguna combinación de una o más de entre una salida de audio, táctil y visual. En algunas modalidades, generar la probabilidad comprende enviar la información a un dispositivo conectado a la red para informar a un usuario acerca de la probabilidad determinada. Por ejemplo, la probabilidad puede ser determinada por uno o más procesadores ubicados en un sitio remoto y una indicación de la probabilidad puede enviarse a un dispositivo electrónico de un usuario (por ejemplo, un médico) mediante el uso de una o más redes, en respuesta a la determinación de la probabilidad en el sitio remoto. El dispositivo electrónico que proporciona la salida a un usuario de acuerdo con las técnicas descritas en el presente documento puede ser cualquier dispositivo adecuado, incluyendo, pero no limitado a, un ordenador portátil, de sobremesa o tableta, un teléfono inteligente, un localizador, un asistente digital personal, y una pantalla electrónica.

Como se discutió anteriormente, algunas modalidades están dirigidas a un método para obtener una probabilidad de un evento mediante el uso de un modelo de regresión logística para predecir el riesgo del cáncer de próstata. El método implica incluir la información de uno o más marcadores de la calicreína, específicamente, el antígeno específico de la próstata total (tPSA), PSA libre (fPSA), PSA intacto (iPSA). Puede usarse cualquier modelo de regresión logística adecuado, y las técnicas aquí descritas no están limitadas a este respecto. La probabilidad del evento se determina de acuerdo con la ecuación (I), que se reproduce más abajo:

$$\text{Probabilidad} = \frac{e^L}{1 + e^L} \quad (I)$$

donde el logit (L) se determina mediante el uso de cualquiera de una pluralidad de los modelos de regresión logística. Los ejemplos no limitantes de nueve tipos diferentes de modelos de regresión logística que pueden usarse de acuerdo con las técnicas descritas en la presente descripción incluyen:

- 5 1. Modelo simple (solo tPSA)

$$L = \beta_0 + \beta_1 (Edad) + \beta_2 (tPSA)$$

2. Modelo de cuatro ensayos mediante el uso de la relación libre/total

10

En este modelo, la relación entre el PSA libre y el PSA total se sustituye por el término del PSA libre.

$$L = \beta_0 + \beta_1 (Edad) + \beta_2 (\log [tPSA]) + \beta_3 \left(\frac{fPSA}{tPSA} \right) + \beta_4 (iPSA) + \beta_5 (hK^2)$$

- 15 3. Modelo de cuatro ensayos mediante el uso del log(tPSA) y la relación libre/total

En este modelo, el logaritmo de tPSA se sustituye por el término tPSA para contar con la contribución aumentada de este factor predictivo.

$$L = \beta_0 + \beta_1 (Edad) + \beta_2 (\log [tPSA]) + \beta_3 \left(\frac{fPSA}{tPSA} \right) + \beta_4 (iPSA) + \beta_5 (hK^2)$$

20

4. Modelo polinomial

En este modelo, se incluyen los términos no lineales adicionales para el tPSA y el fPSA. En la ecuación ejemplo proporcionada más abajo, el cuadrado del tPSA se usa para enfatizar la relación directa entre este término y el riesgo del cáncer de próstata y la raíz cuadrada del término del PSA libre/total se usa para reflejar la asociación inversa de este término con el riesgo. Sin embargo, se apreciará que en algunas modalidades también se pueden incluir los términos polinomiales de orden superior (por ejemplo, cúbicos).

25

$$L = \beta_0 + \beta_1 (Edad) + \beta_2 (tPSA) + \beta_3 (fPSA) + \beta_4 (iPSA) + \beta_5 (hK^2) + \beta_6 (tPSA^2) + \beta_7 \left(\sqrt{\frac{fPSA}{tPSA}} \right)$$

30

5. Splines lineales para los cuatro ensayos

En este modelo, se adicionan los splines lineales, con un solo nodo en el valor de la mediana. Los splines se pueden determinar mediante el uso de las siguientes ecuaciones:

35

$$sp1(x) = x \text{ si } x < \text{nodo}$$

$$sp1(x) = \text{nodo si } x \geq \text{nodo}$$

40

$$sp2(x) = 0 \text{ si } x < \text{nodo}$$

$$sp2(x) = x - \text{nodo si } x \geq \text{nodo}$$

- 45 con el modelo representado como:

$$L = \beta_0 + \beta_1 \{Edad\} + \beta_2 \{tPSA\} + \beta_3 \{fPSA\} + \beta_4 \{iPSA\} + \beta_5 \{hK^2\} + \beta_6 \{sp1[iPSA]\} + \beta_7 \{sp2[tPSA]\} + \beta_8 \{sp1[fPSA]\} + \beta_9 \{sp2[fPSA]\} + \beta_{10} \{sp1[iPSA]\} + \beta_{11} \{sp2[iPSA]\} + \beta_{12} \{sp1[hK^2]\} + \beta_{13} \{sp2[hK^2]\}$$

- 50 6. Splines lineales para el tPSA y el fPSA

En este modelo, se incluyen los splines lineales solo para el tPSA y el fPSA para reducir el número de las variables y simplificar el modelo.

$$L = \beta_0 + \beta_1 (Edad) + \beta_2 \{tPSA\} + \beta_3 \{fPSA\} + \beta_4 (iPSA) + \beta_5 \{hK^2\} + \beta_6 \{sp1[tPSA]\} + \beta_7 \{sp2[tPSA]\} + \beta_8 \{sp1[fPSA]\} + \beta_9 \{sp2[fPSA]\}$$

55

7. Splines cúbicos para los cuatro ensayos

- En este modelo, se incluyen los splines cúbicos para cada término. En el ejemplo proporcionado más abajo, se describe un spline cúbico con cuatro nodos. Debe apreciarse, sin embargo, que se puede usar
5 alternativamente un spline cúbico que utilice cualquier número adecuado de nodos: que incluyen, pero no se limitan a, cinco, seis, siete y ocho nodos. Los splines se pueden determinar mediante el uso de las siguientes ecuaciones:

$$\begin{aligned}
 sp[x]1 &= \max([x] - \text{nodo } 1, 0)^3 - \max([x] - \text{nodo } 3, 0)^3 \frac{\text{nodo } 4 - \text{nodo } 1}{\text{nodo } 4 - \text{nodo } 3} \\
 &+ \max([x] - \text{nodo } 4, 0)^3 \frac{\text{nodo } 3 - \text{nodo } 1}{\text{nodo } 4 - \text{nodo } 3} \\
 sp[x]2 &= \max([x] - \text{nodo } 2, 0)^3 - \max([x] - \text{nodo } 3, 0)^3 \frac{\text{nodo } 4 - \text{nodo } 2}{\text{nodo } 4 - \text{nodo } 3} \\
 &+ \max([x] - \text{nodo } 2, 0)^3 \frac{\text{nodo } 3 - \text{nodo } 2}{\text{nodo } 4 - \text{nodo } 3}
 \end{aligned}$$

- 10 donde *nodo1* y *nodo4* son nodos externos para el spline cúbico y *nodo2* y *nodo3* son nodos internos para el spline cúbico. En algunas modalidades, los nodos internos se especifican dentro del intervalo de entre
aproximadamente 2 a aproximadamente 5 y entre aproximadamente 5 a aproximadamente 8 para el tPSA,
entre aproximadamente 0,25 a aproximadamente 1 y entre aproximadamente 1,0 a aproximadamente 2,0 para
15 el fPSA, entre aproximadamente 0,2 a aproximadamente 0,5 y entre aproximadamente 0,4 a aproximadamente
0,8 para el iPSA y entre aproximadamente 0,02 a aproximadamente 0,04 y entre aproximadamente 0,04 a
aproximadamente 0,08 para la hK2. Por ejemplo, en una implementación, los valores de 3,89 y 5,54 se usan
para los nodos internos para el tPSA, los valores de 0,81 y 1,19 se usan para los nodos internos para el fPSA,
los valores de 0,3 y 0,51 se usan para los nodos internos del iPSA y se usan los valores de 0,036 y 0,056 para
20 los nodos internos de la hK2.

- En determinadas modalidades, uno o más nodos internos para el tPSA pueden estar independientemente en
el intervalo de entre aproximadamente 3 a aproximadamente 5, entre aproximadamente 3 a aproximadamente
6, entre aproximadamente 2,5 a aproximadamente 6, entre aproximadamente 2,5 a aproximadamente 6,5,
25 entre aproximadamente 5 a aproximadamente 8, entre aproximadamente 5,5 a aproximadamente 8, entre
aproximadamente 5 a aproximadamente 9, entre aproximadamente 5 a aproximadamente 10, entre
aproximadamente 1 a aproximadamente 5, entre aproximadamente 1 a aproximadamente 4 y entre
aproximadamente 1 a aproximadamente 3. También son posibles otros intervalos.

- 30 En determinadas modalidades, uno o más nodos internos para el fPSA pueden estar independientemente en
el intervalo de entre aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1,0, entre aproximadamente 0,1 a
aproximadamente 1,2, entre aproximadamente 0,3 a aproximadamente 0,8, entre aproximadamente 0,4 a
aproximadamente 0,9, entre aproximadamente 0,5 a aproximadamente 1,2, entre aproximadamente 0,7 a
aproximadamente 1,4, entre aproximadamente 0,7 a aproximadamente 0,9, entre aproximadamente 1,1 a
35 aproximadamente 1,6, entre aproximadamente 1,1 a aproximadamente 1,2 y entre aproximadamente 1,1 a
aproximadamente 2. También son posibles otros intervalos.

- En determinadas modalidades, uno o más nodos internos para el iPSA pueden estar independientemente en
el intervalo de entre aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,5, entre aproximadamente 0,1 a
40 aproximadamente 0,5, entre aproximadamente 0,2 a aproximadamente 0,5, entre aproximadamente 0,1 a
aproximadamente 0,8, entre aproximadamente 0,2 a aproximadamente 0,8, entre aproximadamente 0,4 a
aproximadamente 0,8, entre aproximadamente 0,4 a aproximadamente 1,0, entre aproximadamente 0,3 a
aproximadamente 0,6, entre aproximadamente 0,5 a aproximadamente 1,0 y entre aproximadamente 0,6 a
aproximadamente 0,8. También son posibles otros intervalos.

- 45 En determinadas modalidades, uno o más nodos internos para la hK2 pueden estar independientemente en el
intervalo de entre aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,03, entre aproximadamente 0,01 a
aproximadamente 0,04, entre aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,05, entre aproximadamente 0,02
a aproximadamente 0,05, entre aproximadamente 0,02 a aproximadamente 0,06, entre aproximadamente 0,03
50 a aproximadamente 0,05, entre aproximadamente 0,4 a aproximadamente 0,07, entre aproximadamente 0,04
a aproximadamente 1,0, entre aproximadamente 0,5 a aproximadamente 1,0 y entre aproximadamente 0,6 a
aproximadamente 1,0. También son posibles otros intervalos.

Como se discutió anteriormente, pueden usarse los splines cúbicos que incorporan cualquier número

adecuado de nodos internos (por ejemplo, tres, cuatro, cinco, seis nodos internos) y el ejemplo de un spline cúbico que incluye dos nodos internos se proporciona meramente a modo de ilustración; En las modalidades que incluyen más de dos nodos internos, los nodos se pueden colocar dentro de uno o más de los intervalos discutidos anteriormente o en algún otro intervalo adecuado. Por ejemplo, en algunas modalidades, los nodos pueden especificarse de manera que la longitud de los segmentos del spline entre cada uno de los pares de los nodos vecinos sea esencialmente igual.

El modelo se puede representar como:

$$L = \beta_0 + \beta_1 (Edad) + \beta_2(tPSA) + \beta_3 (fPSA) + \beta_4 (iPSA) + \beta_5 (hK2) + \beta_6 (sp1[tPSA]) + \beta_7(sp2[tPSA]) + \beta_8(spl[fPSA]) + \beta_9(sp2[fPSA])$$

8. Splines cúbicos para el tPSA y el fPSA

En este modelo, se incluyen los splines cúbicos solo para el tPSA y el fPSA para reducir el número de variables y simplificar el modelo.

En determinadas modalidades, los nodos internos para el tPSA y el fPSA se especifican mediante el uso de uno o más de los intervalos descritos anteriormente con respecto al modelo del spline cúbico para los cuatro ensayos. Por ejemplo, los nodos internos pueden especificarse dentro del intervalo de entre aproximadamente 2 a aproximadamente 5 y entre aproximadamente 5 a aproximadamente 8 para el tPSA y entre aproximadamente 0,5 a aproximadamente 1 y entre aproximadamente 1,0 a aproximadamente 1,5 para el fPSA. Por ejemplo, en una implementación, los valores de 3,89 y 5,54 se usan para los nodos internos para el tPSA y los valores de 0,81 y 1,19 se usan para los nodos internos para el fPSA. Sin embargo, se apreciará que pueden usarse alternativamente otros valores y/o intervalos. Adicionalmente, se apreciará que cualquier número de nodos (por ejemplo, distintos de cuatro nodos) puede usarse alternativamente en algunas modalidades, como se discutió anteriormente con respecto al modelo del spline cúbico para los cuatro ensayos.

El modelo se puede representar como:

$$L = \beta_0 + \beta_1 (Edad) + \beta_2(tPSA) + \beta_3 (fPSA) + \beta_4 (iPSA) + \beta_5 (hK2) + \beta_6 (sp1[tPSA]) + \beta_7(sp2[tPSA]) + \beta_8(sp1[fPSA]) + \beta_9(sp2[fPSA])$$

9. Splines cúbicos estratificados por la edad para el tPSA y el fPSA

En este modelo, los splines cúbicos se aplican a un conjunto de datos en dos partes para generar diferentes coeficientes (β) para su uso con los pacientes que tienen una edad menor o mayor que/igual a una edad en particular (por ejemplo, 65 años). En consecuencia, en este modelo, se usa la misma representación (mediante el uso de diferentes valores del coeficiente) para ambos grupos de pacientes. Más abajo, en la Tabla 1, se proporcionan los ejemplos de los diferentes coeficientes que pueden usarse con este modelo.

El modelo se puede representar como:

Si la edad es < 65:

$$L = \beta_0 + \beta_1 (Edad) + \beta_2 (tPSA) + \beta_3 (fPSA) + \beta_4 (iPSA) + \beta_5 (hK2) + \beta_6 (sp1[tPSA]) + \beta_7(sp2[tPSA]) + \beta_8(sp1[fPSA]) + \beta_9(sp2[fPSA])$$

Si la edad $\geq$ 65:

$$L = \beta_0 + \beta_1 (Edad) + \beta_2 (tPSA) + \beta_3 (fPSA) + \beta_4 (iPSA) + \beta_5 (hK2) + \beta_6 (sp1[tPSA]) + \beta_7(sp2[tPSA]) + \beta_8(sp1[fPSA]) + \beta_9(sp2[fPSA])$$

Cada uno de los modelos de regresión logística descritos anteriormente incluye una pluralidad de los factores de entrada, que incluyen la edad y los valores de los marcadores sanguíneos para uno o más de entre el PSA total (tPSA), PSA libre (fPSA), PSA intacto (iPSA) y la calicreína 2 humana (hK2). En algunos casos, los valores de los marcadores sanguíneos son las concentraciones de los marcadores sanguíneos en una muestra del paciente. En algunos de los modelos de regresión logística descritos anteriormente, se determinan los splines lineales o cúbicos para los términos no lineales. Debe apreciarse que, alternativamente, pueden utilizarse splines de orden superior, ya que las técnicas aquí descritas no están limitadas a este respecto.

Para los modelos de regresión logística descritos anteriormente, cada uno de los términos se multiplica por un valor del coeficiente (β) correspondiente. Los coeficientes se pueden determinar de cualquier forma adecuada. Por ejemplo, cada uno de los modelos puede aplicarse a un conjunto de datos que incluyen la información del paciente, los resultados del ensayo del suero y los resultados de la biopsia. Puede determinarse el mejor ajuste de cada uno de los modelos a la información del conjunto de datos para predecir el cáncer y pueden usarse

los coeficientes correspondientes al resultado del mejor ajuste de acuerdo con las técnicas descritas en la presente descripción. Una tabla de ejemplo de los coeficientes determinados para cada uno de los modelos descritos anteriormente se muestra más abajo en la Tabla 1. Para estos modelos, la edad se ingresa en años y cada resultado del ensayo se mide en ng/mL.

5

Tabla 1: Coeficientes ilustrativos (β) para cada uno de los nueve modelos de regresión lineal discutidos anteriormente. Los coeficientes se determinaron basado en un mejor ajuste de cada modelo a un conjunto de datos que incluye la información de 1420 individuos.

Modelo	β_0	β_1	β_2	β_3	β_4	β_5	β_6	β_7	β_8	β_9	β_{10}	β_{11}	β_{12}
1	-2,434	0,015	0,165										
2	-2,130	0,040	0,071										
3	-2,243	0,041	0,310										
4	1,483	0,042	0,013										
5	-4,218	0,042	0,286										
6	-3,829	0,041	0,285										
7	-4,545	0,043	0,702										
8	-3,925	0,042	0,723										
9													
Edad < 65	-4,491	0,045	0,881										
Edad ≥ 65	-6,117	0,085	0,359										

Se apreciará que los coeficientes particulares usados en una implementación de las técnicas descritas en la presente descripción pueden diferir de los descritos en la Tabla 1 ya que los valores en la Tabla 1 se proporcionan meramente a modo de ilustración. Adicionalmente, en algunas modalidades, pueden usarse diferentes coeficientes para diferentes poblaciones de pacientes y/o para determinar las probabilidades de diferentes resultados. Por ejemplo, pueden usarse diferentes coeficientes para los pacientes de diferentes intervalos de edad, como se describió anteriormente para el modelo del spline cúbico estratificado por la edad. También pueden usarse diferentes coeficientes para determinar las probabilidades de una biopsia positiva para diferentes grados del cáncer. Por ejemplo, las modalidades usadas para determinar una probabilidad de una biopsia positiva de un cáncer de alto grado (por ejemplo, puntuación de Gleason ≥ 7) pueden usar coeficientes diferentes para uno o más de los modelos que las modalidades usadas para determinar una probabilidad de una biopsia positiva de un cáncer de bajo grado. Adicionalmente, pueden usarse coeficientes diferentes basados, al menos, en parte, en si uno o más de los valores de los marcadores sanguíneos se determinaron a partir del suero o del plasma.

Se usa un primer modelo de regresión logística cuando un valor para uno o más de los marcadores está por encima de un cierto umbral y se usa un segundo modelo de regresión logística cuando el valor está más abajo del umbral. La Figura 2 ilustra un proceso para seleccionar un modelo de regresión logística basado en un umbral de acuerdo con modalidades de la invención. En la acción 210, se recibe un valor para el marcador sanguíneo del PSA total (tPSA). Aunque el proceso ilustrativo de la Figura 2 usa tPSA como un valor del marcador sanguíneo para determinar qué modelo de regresión logística usar, se apreciará que, en ejemplos no incluidos en el ámbito de la invención, cualquier otro valor del marcador sanguíneo, combinación de los valores de los marcadores sanguíneos o cualquier otra información adecuada alternativamente se puede usar. En consecuencia, en algunas modalidades, al menos un procesador se programa para implementar y seleccionar entre una pluralidad de modelos basados, al menos en parte, en uno o más valores de entrada.

Después de recibir el valor del tPSA, el proceso pasa a la acción 212, donde se selecciona un modelo de regresión logística basado, al menos en parte, en el valor del tPSA recibido. Por ejemplo, en una implementación, cuando el valor del tPSA es ≥ 15 ng/ml, preferentemente ≥ 20 ng/ml y con la máxima preferencia ≥ 25 ng/ml, el modelo de regresión logística se basa en el tPSA solo (por ejemplo, se puede usar el modelo de "Simple Modelo (sólo tPSA)" descrito anteriormente). Para esta implementación, cuando el valor del tPSA es menor que un umbral particular (por ejemplo, menos de 15 ng/ml), se selecciona uno o más de los otros modelos de regresión logística.

Continuando con el proceso de la Figura 2, después de que se ha seleccionado un modelo, el proceso pasa a la acción 214, donde se determina si el modelo seleccionado es un modelo completo (por ejemplo, incluye los cuatro marcadores de la calicreína) o es un modelo parcial que incluye menos de todos los marcadores en un panel de la calicreína. Si se determina que el modelo seleccionado no es un modelo completo, el proceso pasa a la acción 216, donde la probabilidad del cáncer se determina basado únicamente en el valor del tPSA recibido, como se describió anteriormente. Si se determina que el modelo seleccionado es un modelo completo, el proceso pasa a la acción 218, donde la probabilidad del cáncer se determina basado en el modelo seleccionado mediante el uso de los múltiples marcadores sanguíneos. Independientemente del modelo particular que se seleccione, después de que se determina la probabilidad del cáncer, el proceso pasa a la acción 220, donde se genera la probabilidad del cáncer, como se discutió anteriormente en relación con la Figura 1.

En algunas modalidades de la invención, dicho evento para el que se obtiene dicha probabilidad es evidencia del cáncer de próstata en una biopsia de la próstata tomada de una persona masculina asintomática o de una persona masculina con síntomas del tracto urinario inferior.

En algunas modalidades de la invención, el evento para el cual se obtiene dicha probabilidad es evidencia del cáncer de próstata de alto grado, es decir, puntuación de Gleason de 7 o superior, en una biopsia de la próstata tomada de una persona masculina asintomática o de una persona masculina con síntomas del tracto urinario inferior. Típicamente, la progresión del cáncer de próstata o el estado del cáncer de próstata se define como (i) puntuación de Gleason de 7 o superior, (ii) grado de Gleason de 4 + 3 o superior o (iii) puntuación de Gleason de 8 o superior.

En muchas modalidades preferidas, los datos de la multitud de las personas masculinas comprenden uno o más datos de la biopsia seleccionados del grupo que consiste en el motivo de la biopsia, año de la biopsia, número de los núcleos de la biopsia, el número de los núcleos positivos, el por ciento de positivos en cada núcleo y cualquier posible combinación de los mismos.

Como se discutió anteriormente, en muchas modalidades preferidas, los marcadores sanguíneos se incluyen en un modelo de regresión logística que emplea hasta dos términos no lineales para al menos un marcador sanguíneo. En determinadas modalidades, los marcadores sanguíneos se incluyen en un modelo de regresión logística que emplea hasta tres términos no lineales para al menos un marcador sanguíneo. En determinadas modalidades, los marcadores sanguíneos se incluyen en un modelo de regresión logística que emplea hasta

cuatro términos no lineales para al menos un marcador sanguíneo. En determinadas modalidades, los marcadores sanguíneos se incluyen en un modelo de regresión logística que incluye hasta cinco términos no lineales para al menos un marcador sanguíneo

- 5 En algunas modalidades, el modelo de regresión logística se puede recalibrar cuando la velocidad de los eventos anticipados en una población objetivo representativa de la persona masculina para la que se va a obtener la probabilidad del evento difiere de la velocidad de los eventos de la multitud de las personas masculinas para las que se han empleado los datos para obtener el modelo de regresión logística al definir, de acuerdo con la ecuación (II):

10

$$k = \left(\frac{P / (1 - P)}{p / (1 - p)} \right) \quad (II),$$

en donde p es la velocidad de los eventos en dichos datos de dicha multitud de personas masculinas y P es la velocidad de los eventos anticipados en dicha población objetivo, al definir, de acuerdo con la ecuación (III):

15

$$\text{Probabilidades} = \frac{\pi}{1 - \pi} \quad (III),$$

en donde π es la probabilidad original del modelo y al definir, de acuerdo con la ecuación (IV):

$$20 \text{ Probabilidades}_{\text{recalibradas}} = \text{Probabilidades} \times k \quad (IV),$$

y

obtener una probabilidad recalibrada, de acuerdo con la fórmula (V):

25

$$\pi_{\text{recalibrada}} = \left(\frac{\text{Probabilidades}_{\text{recalibradas}}}{1 + \text{Probabilidades}_{\text{recalibradas}}} \right) \quad (V),$$

en donde $\pi_{\text{calibrada}}$ es la probabilidad de dicho evento.

- 30 Algunas ejemplos no incluidos en el ámbito de la invención, están dirigidos a los métodos y a los aparatos para predecir el volumen de la glándula prostática mediante el uso de un modelo de regresión lineal, en donde dicho método comprende una acción de a) proporcionar un modelo de regresión lineal obtenido mediante el empleo de la regresión lineal de los datos de una multitud de personas masculinas, dichos datos comprenden por cada persona masculina de dicha multitud de personas masculinas: (i) los datos sobre el volumen de la glándula prostática y (ii) los datos, los datos anteriores sobre el volumen de la glándula prostática, que comprenden la edad y las determinaciones de los marcadores sanguíneos que incluyen al tPSA, fPSA, iPSA y opcionalmente la hK2, a partir de las muestras de sangre de dichas personas masculinas. Dicho modelo de regresión lineal se puede generar mediante el empleo de la fórmula (VI):

35

$$V = \sum_{i=1}^j \beta_i x_i + c \quad (VI),$$

40

en donde V es el volumen de la glándula prostática, β_i es el coeficiente de la variable x_i para j variables que comprenden la edad, tPSA, fPSA, iPSA y opcionalmente la hK2, respectivamente, para obtener dicho modelo de regresión lineal. El método comprende además una acción de b) proporcionar la edad de una persona masculina en años, c) determinar dichos marcadores sanguíneos del tPSA, fPSA, iPSA y, opcionalmente, la hK2, respectivamente, de una muestra de sangre de dicha persona masculina y d) emplear dicho modelo de regresión lineal mediante el uso de dicha edad proporcionada de la etapa b) y dichos marcadores sanguíneos determinados de la etapa c) para obtener dicho volumen prostático previsto de dicha persona masculina. En algunas modalidades, el modelo estadístico de dicho riesgo de cáncer se basa en el tPSA solo si el tPSA es ≥ 15 ng/ml, preferentemente ≥ 20 ng/ml y lo con la máxima preferencia ≥ 25 ng/ml.

50

Se apreciará que cualquier modelo de regresión logística adecuado, incluidos, pero no limitados, los modelos

descritos anteriormente para determinar una probabilidad del cáncer de próstata tras una biopsia, puede usarse con las modalidades de la invención para determinar el volumen de la glándula prostática.

- 5 En algunas modalidades, los datos de la etapa a) (ii) para proporcionar el modelo de regresión logística o el modelo de regresión lineal y la determinación de los marcadores sanguíneos de dicha persona masculina comprenden la caliceína 2 humana.

10 En muchas modalidades preferidas del método de la invención donde se predice el volumen de la glándula prostática, el volumen de la glándula prostática se proporciona como se define por un ultrasonido transrectal.

15 En muchos ejemplos no incluidos en el ámbito de la invención del método de la presente invención, los datos de cada persona masculina de dicha multitud de personas masculinas para proporcionar el modelo de regresión logística o el modelo de regresión lineal incluyen además los resultados del examen rectal digital (DRE) y, en consecuencia, el DRE se lleva a cabo para la persona masculina y el resultado obtenido se utiliza cuando se emplea el modelo de regresión logística o el modelo de regresión lineal, respectivamente, para obtener dicha probabilidad. Preferentemente, los resultados del DRE se expresan como valores binarios, es decir, normal = 0 y nodularidad presente = 1 con o sin un segundo valor para estimar el volumen, es decir, pequeño = 0, medio = 1 y grande = 2.

20 En algunas modalidades preferidas del método de la presente invención, los datos de la multitud de las personas masculinas para obtener el modelo solo comprenden los datos de las personas masculinas con los niveles elevados, definidos como la mediana específica de la edad o superior, del tPSA y, en consecuencia, las probabilidades del evento o del volumen de la próstata previsto se obtiene sólo para las personas masculinas con dichos niveles elevados del tPSA.

25 En modalidades preferidas del método de la presente invención, las determinaciones de los marcadores sanguíneos de cada persona masculina de la multitud de las personas masculinas para obtener el modelo y, en consecuencia, los marcadores sanguíneos determinados para obtener la probabilidad o el volumen predicho de la glándula prostática se determinan a partir de las muestras de sangre del suero o plasma, preferentemente anticoagulado, fresco o congelado. Preferentemente, todas las muestras son del mismo tipo, es decir, suero o plasma y frescas o congeladas.

30 En algunas modalidades preferidas del método de la presente invención, el modelo de regresión logística o el modelo de regresión lineal se proporciona al emplear los datos de una multitud de personas masculinas de 40 a 75 años y en consecuencia se obtiene la probabilidad del evento o el volumen prostático previsto de un hombre de 40 a 75 años.

35 En algunas modalidades preferidas, el método de la presente invención, el modelo de regresión logística o el modelo de regresión lineal, se proporciona al emplear los datos de una multitud de personas masculinas con un tPSA en sangre $\geq$ tercil superior de la edad, $\geq$ cuartil superior de la edad, $\geq$ quintil superior de la edad o $\geq$ decil superior de la edad y en consecuencia se obtiene la probabilidad del evento o el volumen prostático previsto de una persona masculina con el tPSA en sangre $>$ tercil superior de la edad, $\geq$ cuartil superior de la edad, $\geq$ quintil superior de la edad o $\geq$ decil superior de la edad, respectivamente. Como un ejemplo, para una persona masculina de sesenta años, los valores del PSA total correspondientes pueden ser: 1,5 ng/ml, para el $\geq$ tercil superior de la edad, 1,9 ng/ml, para el $\geq$ cuartil superior de la edad, 2,1 ng/ml, para el $\geq$ quintil superior de la edad y 3 ng/ml, para el $\geq$ decil superior de la edad.

Sistema informático ilustrativo

50 Una implementación ilustrativa de un sistema informático 300 en donde se pueden implementar algunas o todas las técnicas y/o interacciones del usuario descritas en la presente descripción se muestra en la Figura 3. El sistema informático 300 puede incluir uno o más procesadores 310 y uno o más medios de almacenamiento no transitorios legibles por el ordenador (por ejemplo, la memoria 320 y uno o más medios de almacenamiento no volátiles 330). El o los procesador(es) 310 pueden controlar la escritura de los datos y la lectura de los datos de la memoria 320 y el dispositivo de almacenamiento no volátil 330 de cualquier manera adecuada, ya que los aspectos de la presente invención aquí descritos no están limitados a este respecto.

60 Para realizar cualquiera de las funciones descritas en la presente descripción, el o los procesador(es) 310 puede ejecutar una o más instrucciones, tales como los módulos del programa, almacenados en uno o más medios de almacenamiento legibles por el ordenador (por ejemplo, la memoria 320), que pueden servir como medios de almacenamiento legibles por el ordenador no transitorios que almacenan las instrucciones para su ejecución por el procesador 310. Generalmente, los módulos del programa incluyen rutinas, programas, objetos, componentes, estructuras de datos, etc. que realizan tareas particulares o implementan tipos de datos abstractos particulares. Las modalidades también pueden implementarse en entornos informáticos distribuidos donde las tareas se realizan mediante los dispositivos de procesamiento remoto que están conectados a través de una red de comunicaciones. En un entorno informático distribuido, los módulos del programa pueden

ubicarse en los medios de almacenamiento informáticos tanto locales como remotos, que incluyen los dispositivos de almacenamiento de la memoria.

5 El ordenador 300 puede funcionar en un entorno de red mediante el uso de las conexiones lógicas a una o más computadoras remotas. La una o más computadoras remotas pueden incluir una computadora personal, un servidor, un enrutador, un PC de red, un dispositivo par u otro nodo de red común y típicamente incluyen muchos o todos los elementos descritos anteriormente con relación al ordenador 300. Las conexiones lógicas entre el ordenador 300 y la una o más computadoras remotas pueden incluir una red de área local (LAN) y una red de área amplia (WAN), pero también pueden incluir otras redes. Dichas redes pueden basarse en cualquier tecnología adecuada y pueden funcionar de acuerdo con cualquier protocolo adecuado y pueden incluir, pero no están limitados a, las redes inalámbricas, las redes cableadas o las redes de fibra óptica. Estos entornos de redes son habituales en las oficinas, en las redes informáticas de toda la empresa, las intranets y la Internet.

15 Cuando se usa en un entorno de red LAN, el ordenador 300 puede conectarse a la LAN a través de una interfaz de red o adaptador. Cuando se usa en un entorno de red WAN, el ordenador 300 incluye típicamente un módem u otros medios para establecer las comunicaciones a través de la WAN, tales como la Internet. En un entorno en red, los módulos del programa o las porciones de los mismos pueden almacenarse en el dispositivo de almacenamiento de memoria remoto.

20 El ordenador 300 puede recibir varias entradas descritas en la presente descripción para evaluar el riesgo del cáncer de próstata y/o determinar el volumen de la glándula prostática a través de una red (por ejemplo, una LAN, una WAN o alguna otra red) desde una o más computadoras o dispositivos remotos que almacenan los datos asociados con las entradas. Una o más de las computadoras/dispositivos remotos pueden realizar el análisis de los datos almacenados de forma remota antes de enviar los resultados del análisis como los datos de entrada a el ordenador 300. Alternativamente, los datos almacenados de forma remota pueden enviarse a el ordenador 300 ya que se almacenaron de forma remota sin ningún análisis remoto. Adicionalmente, las entradas pueden ser recibidas directamente por un usuario del ordenador 300 mediante el uso de cualquiera de una serie de las interfaces de entrada (por ejemplo, la interfaz de entrada 340) que pueden incorporarse como los componentes del ordenador 300.

30 Varias salidas descritas en la presente descripción, incluida la salida de una probabilidad del riesgo del cáncer de próstata y/o volumen de la glándula prostática, pueden proporcionarse visualmente en un dispositivo de salida (por ejemplo, una pantalla) conectado directamente al ordenador 300 o la(s) salida(s) pueden proporcionarse a un dispositivo de salida ubicado remotamente conectado a el ordenador 300 a través de una o más redes cableadas o inalámbricas. Las salidas descritas en la presente descripción pueden proporcionarse adicional o alternativamente de forma distinta a la presentación visual. Por ejemplo, el ordenador 300 o una computadora remota al que se proporciona una salida puede incluir una o más interfaces de salida que incluyen los altavoces e interfaces de salida vibratorias, para proporcionar una indicación de la salida.

40 Se apreciará que, aunque el ordenador 300 se ilustra en la Figura 3 como un solo dispositivo, en algunas modalidades, el ordenador 300 puede comprender una pluralidad de dispositivos acoplados comunicativamente para realizar algunas o todas las funciones descritas en la presente descripción y el ordenador 300 es solo una implementación ilustrativa de una computadora que puede usarse de acuerdo con las modalidades de la invención. Por ejemplo, en algunas modalidades, el ordenador 300 puede estar integrado y/o en comunicación electrónica con el sistema mostrado en la Figura. 5.

50 Como se describió anteriormente, en algunas modalidades, el ordenador 300 se puede incluir en un entorno de red, donde la información sobre uno o más marcadores sanguíneos, usados para determinar una probabilidad del cáncer de próstata y/o volumen de la glándula prostática, se envía desde una fuente externa a el ordenador 300 para el análisis mediante el uso de una o más de las técnicas descritas en la presente descripción. Un entorno ilustrativo 400 en red de acuerdo con algunas modalidades de la invención se muestra en la Figura 4. En el entorno 400 en red, el ordenador 300 está conectada al detector 420 a través de la red 410. Como se discutió anteriormente, la red 410 puede ser cualquier tipo adecuado de red cableada o red inalámbrica y puede incluir una o más redes de área local (LAN) o redes de área amplia (WAN), tales como la Internet.

60 El detector 420 puede configurarse para determinar los valores para uno o más de los marcadores sanguíneos usados para determinar una probabilidad del cáncer de próstata y/o volumen de la glándula prostática, de acuerdo con una o más de las técnicas descritas en la presente descripción. Aunque el detector 420 se ilustra en la Figura 4 como un solo detector, se apreciará que el detector 420 puede implementarse como múltiples detectores, con cada detector configurado para determinar uno o más de los valores de los marcadores sanguíneos usados de acuerdo con una o más de las técnicas descritas en la presente descripción. Se proporcionan los ejemplos adicionales de los detectores y de los sistemas de detección con más detalle más abajo (por ejemplo, Figura 12).

65 En algunas modalidades, la información correspondiente a los valores de los marcadores sanguíneos

determinados a partir del detector 420 puede almacenarse antes de enviar los valores a el ordenador 300. En tales modalidades, la información correspondiente a los valores puede almacenarse localmente en el almacenamiento local 420 acoplado comunicativamente al detector 420 y/o almacenarse en el almacenamiento central 440 conectado a la red. En consecuencia, cuando el ordenador 300 recibe los valores correspondientes a los marcadores sanguíneos de acuerdo con una o más de las técnicas descritas en la presente descripción, se apreciará que al menos algunos de los valores pueden recibirse directamente del detector 420 o de uno o más dispositivos de almacenamiento (por ejemplo, almacenamiento local 430, almacenamiento central 440) en los que se han almacenado los valores, ya que las realizaciones no están limitadas por el lugar desde el que se reciben los valores.

Otros Sistemas y Componentes

Como se describió en la presente descripción, en algunas modalidades, un sistema puede incluir un procesador o computadora programada para evaluar un modelo de regresión logística en comunicación electrónica con un analizador para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata (por ejemplo, el riesgo del cáncer de próstata y/o volumen de la glándula prostática). El analizador puede adaptarse y disponerse para determinar una o más características de los marcadores sanguíneos para introducirlos en el modelo de regresión logística. En algunas modalidades, el analizador es un analizador de muestras de microfluidos; por ejemplo, el analizador puede adaptarse y disponerse para determinar una muestra procesada en un dispositivo/casete de microfluidos. Debe apreciarse, sin embargo, que también pueden usarse otros tipos de analizadores (por ejemplo, los analizadores para los ensayos de tipo ELISA de micropocillos) y que los sistemas descritos en el presente documento no están limitados en ese sentido.

Un ejemplo de tal sistema incluye, en un conjunto de modalidades, un analizador de muestras de microfluidos que comprende una carcasa, una abertura en la carcasa configurada para recibir un casete que tiene al menos un canal de microfluidos, en donde la carcasa incluye un componente configurado para interactuar con un componente de acoplamiento en el casete para detectar el casete dentro de la carcasa. El analizador también puede incluir un sistema de control de la presión colocado dentro de la carcasa, el sistema de control de la presión configurado para presurizar al menos un canal de microfluidos en el casete para mover una muestra a través de al menos un canal de microfluidos. Un sistema óptico colocado dentro de la carcasa, el sistema óptico que incluye al menos una fuente de luz y al menos un detector separado de la fuente de luz, en donde la fuente de luz se configura para pasar luz a través del casete cuando el casete se inserta en el analizador de muestras y en donde el detector se coloca frente a la fuente de luz para detectar la cantidad de luz que pasa a través del casete. El sistema también puede incluir una interfaz del usuario asociada con la carcasa para introducir al menos la edad de una persona y/u otra información para introducir en el modelo de regresión lineal.

En determinadas modalidades, un procesador está (o está adaptado para estar) en comunicación electrónica con el analizador de muestras de microfluidos. En algunos casos, el procesador está dentro de la carcasa del analizador. Sin embargo, en otras modalidades, el procesador no está incluido dentro de la carcasa del analizador, pero se puede acceder a él por medios electrónicos como se describió en la presente descripción. El procesador puede programarse para evaluar un modelo de regresión logística basado, al menos en parte, en la información recibida de al menos un detector para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata en una persona, en donde la evaluación del modelo de regresión logística comprende escalar cada una de una pluralidad de variables por un valor diferente del coeficiente para producir las variables escaladas y sumar los valores para las variables escaladas usadas para producir la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata en una persona, en donde la pluralidad de las variables incluye la edad y al menos dos variables incluidas en la información recibida del detector y se selecciona del grupo que consiste en el fPSA, iPSA y tPSA.

Un método para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata en una persona puede incluir, por ejemplo, proporcionar un analizador de muestras de microfluidos. El analizador de muestras de microfluidos puede comprender una carcasa, una abertura en la carcasa configurada para recibir un casete que tiene al menos un canal de microfluidos, en donde la carcasa incluye un componente configurado para interactuar con un componente de acoplamiento en el casete para detectar el casete dentro de la carcasa. El analizador puede incluir además un sistema de control de la presión colocado dentro de la carcasa, el sistema de control de la presión configurado para presurizar el al menos un canal de microfluidos en el casete para mover la muestra a través de al menos un canal de microfluidos. Un sistema óptico colocado dentro de la carcasa, el sistema óptico que incluye al menos una fuente de luz y al menos un detector separado de la fuente de luz, en donde la fuente de luz se configura para pasar la luz a través del casete cuando el casete se inserta en el analizador de muestras y en donde el detector se coloca frente a la fuente de luz para detectar la cantidad de luz que pasa a través del casete. El analizador también puede incluir una interfaz del usuario asociada con la carcasa para introducir al menos la edad de una persona. El método puede implicar la determinación de la información para una pluralidad de los marcadores sanguíneos mediante el uso del analizador de muestras de microfluidos, en donde la información para la pluralidad de los marcadores sanguíneos incluye un valor del fPSA, un valor del iPSA, un valor del tPSA y opcionalmente, un valor de la hK2. El método también puede implicar evaluar, mediante el uso de al menos un procesador, un modelo de regresión logística basado, al

menos en parte, en la información para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata en una persona, en donde la evaluación del modelo de regresión logística comprende escalar cada una de una pluralidad de variables por un valor diferente del coeficiente para producir las variables escaladas y sumar los valores para las variables escaladas usadas para producir la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata en una persona, en donde la pluralidad de las variables incluye la edad y al menos dos variables incluidas en la información recibida del detector y que se selecciona del grupo que consiste en fPSA, iPSA y tPSA.

Otro ejemplo de un sistema incluye, en un conjunto de modalidades, un dispositivo (por ejemplo, un casete de microfluidos) que comprende una primera región de análisis que comprende una primera pareja de unión y una segunda región de análisis que comprende una segunda pareja de unión. La primera pareja de unión está adaptada para unirse con al menos uno de entre el fPSA, iPSA y tPSA y la segunda pareja de unión está adaptada para unirse con al menos otro de entre el fPSA, iPSA y tPSA. En algunas modalidades, el dispositivo incluye una tercera región de análisis que incluye una tercera pareja de unión adaptada para unirse con el tercero de entre el fPSA, iPSA y tPSA. Opcionalmente, el dispositivo puede incluir una cuarta región de análisis que incluye una cuarta pareja de unión adaptada para unirse con la hK2. El sistema incluye un detector asociado con la primera y segunda regiones de análisis y un procesador programado para evaluar un modelo de regresión logística basado, al menos en parte, en la información recibida del detector para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata en una persona. La evaluación del modelo de regresión logística comprende escalar cada una de una pluralidad de variables por un valor diferente del coeficiente para producir las variables escaladas y sumar los valores para las variables escaladas usadas para producir la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata en una persona, en donde la pluralidad de las variables incluye la edad y al menos dos variables incluidas en la información recibida del detector y que se selecciona del grupo que consiste en el fPSA, iPSA y tPSA.

Un método para determinar la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata en tal sistema puede incluir, por ejemplo, las acciones de introducir una muestra en un dispositivo (por ejemplo, un casete de microfluidos) que comprende una primera región de análisis que comprende una primera pareja de unión y una segunda región de análisis que comprende una segunda pareja de unión, en donde la primera pareja de unión está adaptada para unirse con al menos uno de entre el fPSA, iPSA y tPSA y en donde la segunda pareja de unión está adaptada para unirse con al menos otro de entre el fPSA, iPSA y tPSA. En algunas modalidades, el dispositivo incluye una tercera región de análisis que incluye una tercera pareja de unión adaptada para unirse con el tercero de entre el fPSA, iPSA y tPSA. Opcionalmente, el dispositivo puede incluir una cuarta región de análisis que incluye una cuarta pareja de unión adaptada para unirse con la hK2. El método puede implicar permitir que cualquiera de los fPSA, iPSA y/o tPSA de la muestra se una con al menos la primera y/o segunda parejas de unión en la primera y segunda regiones de análisis y determinar una característica del fPSA, iPSA y/o tPSA mediante el uso de uno o más detectores asociados con la primera y segunda regiones de análisis. El método implica introducir las características del fPSA, iPSA y/o tPSA en un procesador programado para evaluar un modelo de regresión logística basado, al menos en parte, en la información recibida de al menos un detector para determinar una probabilidad de un evento asociado con el cáncer de próstata en una persona, en donde la evaluación del modelo de regresión logística comprende escalar cada una de una pluralidad de variables por un valor diferente del coeficiente para producir las variables escaladas y sumar los valores para las variables escaladas usadas para producir la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata en una persona, en donde la pluralidad de las variables incluye la edad y al menos dos variables incluidas en la información recibida del detector y que se seleccionan del grupo que consiste en fPSA, iPSA y tPSA. En consecuencia, puede determinarse la probabilidad del evento asociado con el cáncer de próstata.

En determinadas modalidades, se proporciona un dispositivo para determinar los marcadores sanguíneos (por ejemplo, fPSA, iPSA, tPSA y/o hK2). En algunos casos, el dispositivo puede permitir la determinación simultánea de los marcadores sanguíneos, por ejemplo, en un solo casete. El dispositivo puede incluir un sistema de microfluidos que comprende un primer canal de microfluidos que incluye al menos una entrada y una salida, un primer reactivo almacenado en el primer canal de microfluidos y un sello que cubre la entrada del primer canal de microfluidos y un sello que cubre la salida del primer canal de microfluidos para almacenar el primer reactivo en el primer canal de microfluidos. El dispositivo puede incluir además un segundo canal de microfluidos que incluye al menos una entrada y una salida, una primera región de análisis, una segunda región de análisis y una tercera región de análisis. Cada una de las regiones de análisis puede incluir uno de entre un anticuerpo de captura específico anti-iPSA, un anticuerpo de captura específico anti-fPSA y un anticuerpo de captura específico anti-tPSA (y, opcionalmente, un anticuerpo de captura específico de la hK2). Una o más de la primera, segunda y tercera regiones de análisis pueden estar en comunicación de fluidos con el segundo canal de microfluidos. El dispositivo también incluye un conector de fluidos que se puede conectar al sistema de microfluidos, en donde el conector de fluidos comprende una trayectoria del fluido que incluye una entrada de la trayectoria del fluido y una salida de la trayectoria del fluido, en donde al conectarse, la entrada de la trayectoria del fluido se conecta a la salida del primer canal de microfluidos para permitir la comunicación de fluidos entre la trayectoria del fluido y el primer canal de microfluidos y la salida de la trayectoria del fluido se conecta a la entrada del segundo canal de microfluidos para permitir la comunicación de fluidos entre la

trayectoria del fluido y el segundo canal de microfluidos. El primer y segundo canales de microfluidos no están en comunicación de fluidos entre sí sin conexión a través del conector de fluidos. El dispositivo puede incluir opcionalmente una fuente de un coloide metálico conjugado con un anticuerpo que se une a anti-PSA.

- 5 En algunas modalidades que implican un dispositivo descrito en la presente descripción, al menos dos (o al menos tres) de la primera, segunda y tercera regiones de análisis están en comunicación de fluidos con el segundo canal de microfluidos. En determinados casos, cada una de la primera, segunda y tercera (y opcionalmente la cuarta) regiones de análisis están en comunicación de fluidos con el segundo canal de microfluidos. En algunos casos, la primera región de análisis está en comunicación de fluidos con el segundo canal de microfluidos y la segunda región de análisis está en comunicación de fluidos con un tercer canal de microfluidos. La segunda y tercera regiones de análisis (así como también el segundo y tercer canales de microfluidos) pueden formarse, por ejemplo, en la misma capa del sustrato o en diferentes capas del sustrato como se describió en la presente descripción. Adicionalmente, en algunas modalidades, la tercera región de análisis está en comunicación de fluidos con un cuarto canal de microfluidos. Las regiones de análisis tercera y cuarta (así como también los canales de microfluidos tercero y cuarto) pueden formarse, por ejemplo, en la misma capa del sustrato o en diferentes capas del sustrato como se describió en la presente descripción. En algunos casos, cada una de las regiones de análisis primera, segunda y tercera (y opcionalmente la cuarta) se forman en diferentes capas del sustrato. En otras modalidades, la cuarta región de análisis (que puede incluir, por ejemplo, un anticuerpo de captura específico anti-hK2) se forma en una capa del sustrato diferente de una capa del sustrato que incluye al menos una de la primera, segunda y tercera regiones de análisis. En algunas de tales modalidades, la primera, segunda y tercera regiones de análisis se forman en la misma capa del sustrato.

- Independientemente de si las regiones de análisis se forman en diferentes capas del sustrato o en la misma capa del sustrato, en algunas modalidades, los reactivos se pueden almacenar y sellar en la primera, segunda y/o tercera (y opcionalmente la cuarta) regiones de análisis, por ejemplo, antes de usar el dispositivo. Los reactivos pueden incluir, por ejemplo, un anticuerpo de captura específico anti-iPSA, un anticuerpo de captura específico anti-fPSA y un anticuerpo de captura específico anti-tPSA (y, opcionalmente, un anticuerpo de captura específico de la hK2). Tras usar el dispositivo (por ejemplo, tras la conexión de un conector de fluidos al sistema de microfluidos), el primer canal de microfluidos puede colocarse en comunicación de fluidos con una o más de la primera, segunda y tercera (y opcionalmente cuarta) regiones de análisis. Por ejemplo, el conector de fluidos puede conectarse a una o más entradas del segundo, tercer y/o cuarto canal(es) de microfluidos tras la conexión al sistema de microfluidos. Los ejemplos de las configuraciones del dispositivo se describen con más detalle más abajo.

- En ciertos dispositivos descritos en la presente descripción, el análisis implica el uso de un anticuerpo de detección que reconoce más de uno de entre el iPSA, fPSA, tPSA y hK2. Por ejemplo, un anticuerpo de detección puede reconocer tanto el PSA como la hK2 y luego puede usarse un bloqueador para interferir con el PSA de manera que solo se detecte la hK2. Por ejemplo, en una modalidad particular, una región de análisis puede incluir un anticuerpo de captura anti-hK2 (que también puede capturar, por ejemplo, 5-10 % del tPSA y que puede almacenarse en la región de análisis antes de su uso como se describió en la presente descripción), así como también los anticuerpos bloqueadores que bloquean el tPSA. Puede usarse un anticuerpo detector anti-hK2 (que también puede detectar el tPSA) para detectar la cantidad de unión de la hK2. Una región de análisis diferente puede incluir, por ejemplo, un anticuerpo de captura anti-tPSA (que puede almacenarse en una región de análisis antes de su uso como se describió en la presente descripción) que captura tanto el fPSA como el tPSA. Pueden usarse para la detección dos anticuerpos diferentes de detección, por ejemplo, un anticuerpo de detección anti-tPSA con una etiqueta fluorescente para una longitud de onda y un anticuerpo de detección anti-fPSA con una etiqueta fluorescente para una longitud de onda diferente. Una región de análisis diferente puede incluir, por ejemplo, un anticuerpo de captura anti-fPSA y, opcionalmente, un anticuerpo de captura anti-iPSA. Pueden usarse para la detección dos anticuerpos diferentes de detección, por ejemplo, un anticuerpo de detección anti-fPSA con una etiqueta fluorescente para una longitud de onda y un anticuerpo de detección anti-iPSA con una etiqueta fluorescente para una longitud de onda diferente.

- En otras modalidades, sin embargo, pueden usarse los anticuerpos de captura específicos para la detección de las especies. Cada uno de los anticuerpos de captura específicos se puede colocar en las diferentes regiones de análisis, como se describió en la presente descripción. Ventajosamente, el uso de los anticuerpos de captura específicos y/o el posicionamiento de los anticuerpos de captura en las diferentes regiones de análisis puede permitir el uso del mismo anticuerpo de detección para la detección de cada una de las especies. En algunas de tales modalidades, puede usarse la misma longitud de onda para determinar cada una de las especies. Esto puede permitir el uso de los detectores simplificados y/o los componentes ópticos para la detección. Por ejemplo, en algunas modalidades, la detección implica la acumulación de un material opaco en las diferentes regiones de análisis que se pueden determinar en una longitud de onda particular, como se describió con más detalle más abajo.

- Por ejemplo, en un conjunto de modalidades, un anticuerpo de captura específico anti-iPSA, un anticuerpo de captura específico anti-fPSA y un anticuerpo de captura específico anti-tPSA (y, opcionalmente, un anticuerpo

de captura específico de la hK2) pueden incluirse en las diferentes regiones de análisis como se describió en la presente descripción, opcionalmente junto con los controles negativos y positivos. Puede usarse un anticuerpo de detección, tal como un anticuerpo marcado con oro que sea anti-PSA y anti-hK2 para detectar cada uno de entre el iPSA, fPSA, tPSA y/o hK2. En otras modalidades, sin embargo, puede usarse una mezcla de los anticuerpos marcados con oro, tales como un anticuerpo anti-hK2 marcado con oro, un anticuerpo anti-PSA marcado con oro y/o un anticuerpo anti-iPSA marcado con oro para la detección. En tal sistema, puede usarse la misma longitud de onda para determinar cada una de las especies y esto puede permitir el uso de los detectores simplificados y/o los componentes ópticos para la detección.

Ahora se describen los ejemplos de los sistemas, dispositivos y analizadores específicos que pueden usarse en combinación con las modalidades proporcionadas en la presente descripción.

La Figura 5 muestra un diagrama de bloques 510 de un sistema de microfluidos y varios componentes que pueden incluirse de acuerdo con un conjunto de las modalidades. El sistema de microfluidos puede incluir, por ejemplo, un casete 520 asociado operativamente con uno o más componentes, tales como una fuente de flujo del fluido 540, tal como una bomba (por ejemplo, para introducir uno o más fluidos en el casete y/o para controlar las velocidades del flujo de fluido), opcionalmente una fuente de flujo del fluido 540, tal como una bomba o vacío que puede configurarse para aplicar tanto una presión positiva como un vacío (por ejemplo, para mover/retirar uno o más fluidos dentro de/desde el casete y/o para controlar las velocidades del flujo de fluido), un sistema de válvulas 528 (por ejemplo, para accionar una o más válvulas), un sistema de detección 534 (por ejemplo, para detectar uno o más fluidos y/o procesos) y/o un sistema de regulación de la temperatura 541 (por ejemplo, para calentar y/o enfriar una o más regiones del casete). Los componentes pueden ser externos o internos al dispositivo de microfluidos y pueden incluir opcionalmente uno o más procesadores para controlar el componente o el sistema de componentes. En determinadas modalidades, uno o más de tales componentes y/o procesadores están asociados con un analizador de muestras 547 configurado para procesar y/o analizar una muestra contenida en el casete. El procesador puede programarse opcionalmente para evaluar un modelo de regresión lineal como se describió en la presente descripción.

En general, como se usa en la presente, un componente que está “operativamente asociado con” uno o más de otros componentes indica que dichos componentes están conectados directamente entre sí, en contacto físico directo entre sí sin estar conectados o unidos entre sí o no están conectados directamente entre sí o en contacto entre sí, sino que están mecánicamente, eléctricamente (incluso a través de señales electromagnéticas transmitidas a través del espacio) o interconectados fluidicamente (por ejemplo, a través de los canales, tales como tubos) para causar o habilitar los componentes asociados para realizar su funcionalidad prevista.

Los componentes mostrados ilustrativamente en la Figura 5, así como también los otros componentes opcionales, tales como los descritos en la presente descripción, pueden estar asociados operativamente con un sistema de control 550. En algunas modalidades, el sistema de control puede usarse para controlar los fluidos y/o realizar un control de calidad mediante el uso de retroalimentación de uno o más eventos que tienen lugar en el sistema de microfluidos. Por ejemplo, el sistema de control puede configurarse para recibir las señales de entrada de uno o más componentes, para calcular y/o controlar varios parámetros, para comparar una o más señales o un patrón de señales con las señales preprogramadas en el sistema de control y/o para enviar las señales a uno o más componentes para modular el flujo de fluido y/o controlar el funcionamiento del sistema de microfluidos. El sistema de control también puede asociarse opcionalmente con otros componentes, tales como una interfaz del usuario 554, un sistema de identificación 556, una unidad de comunicación externa 558 (por ejemplo, un USB) y/u otros componentes, como se describió con más detalle más abajo.

El casete (por ejemplo, un dispositivo de microfluidos) 520 puede tener cualquier configuración adecuada de canales y/o componentes para realizar un análisis deseado. En un conjunto de modalidades, el casete 520 contiene los reactivos almacenados que pueden usarse para realizar una reacción química y/o biológica (por ejemplo, un inmunoensayo), por ejemplo, como se describió con más detalle en la presente descripción. El casete puede incluir, por ejemplo, una entrada opcional 562 del reactivo en comunicación de fluidos con un área opcional 564 de almacenamiento del reactivo. El área de almacenamiento puede incluir, por ejemplo, uno o más canales y/o depósitos que, en algunas modalidades, pueden estar parcial o completamente rellenos con los fluidos (por ejemplo, líquidos y gases, incluidos los reactivos inmiscibles, tales como las soluciones de los reactivos y las soluciones de lavado, opcionalmente separados por los fluidos inmiscibles, como se describió con más detalle en la presente descripción). El casete también puede incluir una muestra opcional o área de carga 566 del reactivo, tal como un conector de fluidos que puede usarse para conectar el área de almacenamiento 564 del reactivo a una región de análisis opcional 568. La región de análisis, que puede incluir una o más áreas para detectar un componente en una muestra (por ejemplo, las regiones de análisis), puede estar en comunicación de fluidos con un área de desechos opcional 570 y acoplada a la salida 572. En algunos casos, estas y otras características del dispositivo pueden formarse sobre o en diferentes componentes o capas de un casete, como se describió con más detalle en la presente descripción. Por lo tanto, se apreciará que un casete puede incluir un solo componente o múltiples componentes que se unen durante el uso, tal como una combinación de un artículo con un conector de fluidos adjunto como se describió en la presente descripción.

En un conjunto de modalidades, el fluido puede fluir en la dirección de las flechas mostradas en la figura. Se proporcionan en la presente descripción las descripciones y los ejemplos adicionales de tales y otros componentes.

- 5 En algunas modalidades, las secciones 571 y 577 del casete no están en comunicación de fluidos entre sí antes de la introducción de una muestra en el casete. En algunos casos, las secciones 571 y 577 no están en comunicación de fluidos entre sí antes del primer uso del casete, en donde en el primer uso, las secciones se ponen en comunicación de fluidos entre sí. En otras modalidades, sin embargo, las secciones 571 y 577 están en comunicación de fluidos entre sí antes del primer uso y/o antes de la introducción de una muestra en el casete. También son posibles otras configuraciones de los casetes.

- 10 Como se muestra en la modalidad ilustrativa, ilustrada en la Figura 5, una o más fuentes de flujo del fluido 540, tales como una bomba y/o un sistema de vacío u otro sistema de control de la presión, sistema de válvulas 528, sistema de detección 534, sistema de regulación de la temperatura 541 y/u otros componentes pueden estar asociados operativamente con uno o más de la entrada 562 del reactivo, área de almacenamiento 564 del reactivo, área 566 de carga de la muestra o del reactivo, área de reacción 568, área de desperdicio 570, salida 572 y/u otras regiones del casete 520. La detección de los procesos o eventos en una o más regiones del casete puede producir una señal o patrón de señales que se pueden transmitir al sistema de control 550. Basado en la(s) señal(es) recibida(s) por el sistema de control, esta retroalimentación puede usarse para manipular los fluidos dentro de y/o entre cada una de estas regiones del dispositivo de microfluidos, tales como al controlar una o más de una bomba, vacío, sistema de válvulas, sistema de detección, sistema de regulación de la temperatura y/u otros componentes.

- 25 Al volver a la Figura 6, se ilustra una modalidad de un analizador 600 de muestras de microfluidos. Como se muestra en la modalidad ilustrativa de la Figura 6, el analizador incluye una carcasa 601 que se configura para recubrir o retener los componentes del analizador que se describen con mayor detalle más abajo. Una abertura 620 en la carcasa se configura para recibir un casete 520. Como se expone con mayor detalle más abajo, el analizador 600 también puede incluir una interfaz del usuario 650 colocada dentro de la carcasa que se configura para que un usuario introduzca la información en el analizador de muestras. En esta modalidad particular, la interfaz del usuario 650 incluye una pantalla táctil, pero como se describe más abajo, la interfaz del usuario puede configurarse de manera diferente.

- 30 En algunas modalidades, el analizador puede incluir una fuente de flujo de fluido (por ejemplo, un sistema de vacío) configurada para presurizar el casete, un lector de identificación configurado para leer la información asociada con el casete y un subsistema mecánico que incluye un componente configurado para interactuar con el casete para detectar el casete dentro de la carcasa. Como se mencionó anteriormente, una abertura en la carcasa se configura para recibir un casete. La abertura 620 puede configurarse como una ranura alargada. La abertura puede configurarse de esta manera para recibir un casete con forma sustancialmente de tarjeta. Se apreciará que, en otras modalidades, la abertura puede tener una forma y una configuración diferentes ya que la invención no está limitada.

- 40 Como se mencionó anteriormente, el analizador de muestras de microfluidos 600 puede configurarse para recibir una variedad de tipos de casetes 520 (por ejemplo, los dispositivos de microfluidos). Las Figuras 7-11F ilustran diversas modalidades ilustrativas del casete 520 para su uso con el analizador 600. Como se muestra, el casete puede tener sustancialmente forma de tarjeta (es decir, similar a una llave de tarjeta) que tiene una estructura sustancialmente rígida en forma de placa.

- 50 El casete 520 puede configurarse para incluir un conector de fluidos 720, que puede encajar en un extremo del casete. En determinadas modalidades, el conector de fluidos puede usarse para introducir uno o más fluidos (por ejemplo, una muestra o un reactivo) en el casete.

- 55 En un conjunto de modalidades, el conector de fluidos se usa para conectar fluidamente dos (o más) canales del casete durante el primer uso, cuyos canales no están conectados antes del primer uso. Por ejemplo, el casete puede incluir dos canales que no están en comunicación de fluidos antes del primer uso del casete. Los canales no conectados pueden resultar ventajosos en determinados casos, tal como para almacenar diferentes reactivos en cada uno de los canales. Por ejemplo, puede usarse un primer canal para almacenar los reactivos secos y puede usarse un segundo canal para almacenar los reactivos húmedos. El hecho de que los canales estén físicamente separados entre sí puede mejorar la estabilidad a largo plazo de los reactivos almacenados en cada uno de los canales, por ejemplo, al mantener el o los reactivo(s) almacenado(s) en forma seca protegidos de la humedad que pueden producir el o los reactivo(s) almacenado(s) en forma húmeda. En el primer uso, los canales pueden conectarse a través del conector de fluidos para permitir la comunicación de fluidos entre los canales del casete. Por ejemplo, el fluido conectado puede perforar los sellos que cubren las entradas y/o salidas del casete para permitir la inserción del conector de fluidos en el casete.

- 65 Como se usa en la presente, "antes del primer uso del casete" significa un tiempo o momentos antes de que el casete sea usado por primera vez por un usuario previsto después de la venta comercial. El primer uso

- puede incluir cualquier etapa(s) que requiera la manipulación del dispositivo por parte de un usuario. Por ejemplo, el primer uso puede implicar una o más etapas, tales como perforar una entrada sellada para introducir un reactivo en el casete, conectar dos o más canales para provocar una comunicación de fluidos entre los canales, preparar el dispositivo (por ejemplo, cargar los reactivos en el dispositivo) antes del análisis de una muestra, carga de una muestra en el dispositivo, preparación de una muestra en una región del dispositivo, realizar una reacción con una muestra, detección de una muestra, etc. El primer uso, en este contexto, no incluye la fabricación u otras etapas preparatorias o de control de calidad tomados por el fabricante del casete. Los expertos en la técnica conocen bien el significado del primer uso en este contexto y podrán determinar fácilmente si un casete de la invención ha experimentado o no un primer uso. En un conjunto de modalidades, los casetes de la invención son desechables después del primer uso (por ejemplo, después de la terminación de un ensayo) y es particularmente evidente cuando dichos dispositivos se usan por primera vez, porque típicamente no es práctico usar los dispositivos (por ejemplo, para realizar un segundo ensayo) después del primer uso.
- Como se muestra en otra modalidad ilustrativa, ilustrada en la Figura 8, el conector 720 de fluidos puede incluir un canal 722 sustancialmente en forma de U o un canal que tiene cualquier otra forma adecuada, que puede contener un fluido y/o reactivo (por ejemplo, una muestra de fluido y/o uno o más anticuerpos de detección) antes de estar conectado al casete. El canal 722 puede estar alojado entre dos componentes de carcasa que forman el conector 720. En algunas modalidades, el conector de fluidos puede usarse para recolectar una muestra del paciente antes de que el conector de fluidos se conecte al casete. Por ejemplo, puede usarse una lanceta u otro instrumento adecuado para obtener una muestra de sangre por punción en el dedo que luego puede ser recogida por el conector de fluidos 720 y cargada en el canal 722 por acción capilar. En otras modalidades, el conector 720 de fluidos puede configurarse para perforar el dedo de un paciente para recoger la muestra en el canal 722. En determinadas modalidades, el conector de fluidos 720 no contiene una muestra (o reactivo) antes de la conexión al casete, sino que simplemente permite la comunicación de fluidos entre dos o más canales del casete tras la conexión. En una modalidad, el canal en forma de U se forma con un tubo capilar. El conector de fluidos también puede incluir otras configuraciones del canal y, en algunas modalidades, puede incluir más de un canal que puede estar conectado o desconectado de forma fluida entre sí.
- Las Figuras 9-11F ilustran varias modalidades ilustrativas del casete 520 con mayor detalle. Como se muestra ilustrativamente en la vista despiezada del ensamble de la Figura 9, el casete 520 puede incluir un cuerpo del casete 704 que incluye al menos un canal 706 configurado para recibir una muestra o reactivo y a través del cual puede fluir una muestra o reactivo. El cuerpo del casete 704 también puede incluir los cierres 708 colocados en un extremo que enganchan con el elemento de alineación del conector de fluidos 702 para un ajuste a presión.
- El casete 520 también puede incluir recubiertas superior e inferior 710 y 712, que pueden, por ejemplo, estar hechas de un material transparente. En algunas modalidades, un recubrimiento puede tener la forma de un adhesivo biocompatible y puede estar hecha de un polímero (por ejemplo, polietileno (PE), un copolímero de olefina cíclica (COC), cloruro de polivinilo (PVC)) o de un material inorgánico, por ejemplo. En algunos casos, uno o más recubrimientos tienen la forma de una película adhesiva (por ejemplo, una cinta). Para algunas aplicaciones, el material y las dimensiones de un recubrimiento se eligen de manera que el recubrimiento sea sustancialmente impermeable al vapor de agua. En otras modalidades, el recubrimiento puede ser no adhesiva, pero puede unirse térmicamente al sustrato de microfluidos mediante la aplicación directa de calor, energía láser o energía ultrasónica. Cualquier entrada(s) y/o salida(s) de un canal del casete puede sellarse (por ejemplo, al colocar un adhesivo sobre la(s) entrada(s) y/o salida(s)) mediante el uso de uno o más recubrimientos. En algunos casos, el recubrimiento sella sustancialmente uno o más reactivos almacenados en el casete.
- Como se ilustra, el cuerpo del casete 704 puede incluir uno o más puertos 714 acoplados al canal 706 en el cuerpo del casete 704. Estos puertos 714 pueden configurarse para alinearse con el canal 722 sustancialmente en forma de U en el conector de fluidos 720 cuando el conector de fluidos 720 está acoplado al casete 520 para conectar fluidamente el canal 706 en el cuerpo del casete 704 con el canal 722 en el conector de fluidos 720. En determinadas modalidades, el canal 722 sustancialmente en forma de U también puede conectarse de forma fluida al canal 707, de esta manera acoplar los canales 706 y 707. Como se muestra, se puede proporcionar un recubrimiento 716 sobre los puertos 714 y el recubrimiento 716 puede configurarse para ser ensamblada o abierta de cualquier otra manera (por ejemplo, por el conector 720 o por otros medios) para conectar fluidamente los dos canales 706 y 722. Adicionalmente, se puede proporcionar un recubrimiento 718 para recubrir el puerto 719 (por ejemplo, un puerto de vacío) en el cuerpo del casete 704. Como se expone con más detalle más abajo, el puerto 719 puede configurarse para conectar de manera fluida una fuente de flujo del fluido 540 con el canal 706 para mover una muestra a través del casete. El recubrimiento 718 sobre el puerto 719 puede configurarse para perforarse o abrirse de cualquier otra manera para conectar de manera fluida el canal 706 con la fuente 540 de flujo de fluido.
- El cuerpo del casete 704 puede incluir opcionalmente una región de contención de líquido, tal como un área de desechos, que incluye un material absorbente 717 (por ejemplo, una almohadilla de desechos). En algunas

modalidades, la región de contención de líquido incluye las regiones que capturan uno o más líquidos que fluyen en el casete, mientras que permiten que los gases u otros fluidos del casete pasen a través de la región. Esto se puede lograr, en algunas modalidades, al colocar uno o más materiales absorbentes en la región de contención de líquido para absorber los líquidos. Esta configuración puede ser útil para retirar las burbujas de aire de una corriente de fluido y/o para separar los líquidos hidrófobos de los líquidos hidrófilos. En determinadas modalidades, la región de contención de líquido evita que los líquidos pasen a través de la región. En algunos de estos casos, la región de contención de líquido puede actuar como un área de desecho al capturar sustancialmente todo el líquido en el casete, de esta manera evitar que el líquido salga del casete (por ejemplo, al permitir que los gases escapen por una salida del casete). Por ejemplo, el área de desechos puede usarse para almacenar la muestra y/o los reactivos en el casete después de que hayan pasado por el canal 706 durante el análisis de la muestra. Estas y otras disposiciones pueden ser útiles cuando el casete se usa como herramienta de diagnóstico ya que la región de contención de líquido puede evitar que un usuario se exponga a los fluidos potencialmente dañinos en el casete.

La vista esquemática del casete 520 ilustrado en la Figura 10 muestra una modalidad en donde el casete 520 incluye un primer canal 706 y un segundo canal 707 separados del primer canal 706. En una modalidad, los canales 706, 707 varían en la dimensión de la sección transversal más grande desde aproximadamente 50 micrómetros hasta aproximadamente 500 micrómetros, aunque pueden usarse otros tamaños y configuraciones del canal, como se describe con más detalle más abajo.

El primer canal 706 puede incluir una o más regiones de análisis 709 usadas para analizar la muestra. Por ejemplo, en una modalidad ilustrativa, el canal 706 incluye cuatro regiones de análisis 709 (por ejemplo, conectadas en serie o en paralelo) que se utilizan durante el análisis de la muestra. Como se describió en la presente descripción, cada una de las regiones de análisis puede adaptarse para detectar una o más de entre el iPSA, fPSA, tPSA y/o hK2.

En determinadas modalidades, una o más regiones de análisis están en la forma de regiones serpenteantes (por ejemplo, regiones que implican canales serpenteantes). Una región serpenteante puede estar definida, por ejemplo, por un área de al menos 0,25 mm², al menos 0,5 mm², al menos 0,75 mm² o al menos 1,0 mm², en donde al menos el 25 %, 50 % o 75 % del área de la región serpenteante comprende una trayectoria de detección óptica. Un detector que permite la medición de una sola señal a través de más de un segmento adyacente de la región serpenteante puede colocarse junto a la región serpenteante. En algunos casos, el canal 706 está conectado de forma fluida a al menos dos regiones serpenteantes conectadas en serie.

Como se describió en la presente descripción, el primer canal 706 y/o el segundo canal 707 pueden usarse para almacenar uno o más reactivos (por ejemplo, los anticuerpos de captura para el iPSA, fPSA, tPSA y/o hK2) usados para procesar y analizar la muestra antes del primer uso del casete. En algunas modalidades, los reactivos secos se almacenan en un canal o sección de un casete y los reactivos húmedos se almacenan en un segundo canal o sección del casete. Alternativamente, dos secciones o canales separados de un casete pueden contener los reactivos secos y/o los reactivos húmedos. Los reactivos se pueden almacenar y/o eliminar, por ejemplo, como un líquido, un gas, un gel, una pluralidad de partículas o una película. Los reactivos se pueden colocar en cualquier porción adecuada de un casete, incluyendo, pero no limitado a, en un canal, yacimiento, en una superficie y en o sobre una membrana, que opcionalmente puede ser parte de un área de almacenamiento de los reactivos. Un reactivo puede asociarse con un casete (o componentes de un casete) de cualquier manera adecuada. Por ejemplo, los reactivos se pueden reticular (por ejemplo, covalente o iónicamente), absorberse o adsorberse (fisisorbido) sobre una superficie dentro del casete. En una modalidad particular, toda o una porción de un canal (tal como una trayectoria del fluido de un conector de fluido o un canal del casete) se recubre con un anticoagulante (por ejemplo, heparina). En algunos casos, un líquido está contenido dentro de un canal o yacimiento de un casete antes del primer uso y/o antes de la introducción de una muestra en el casete.

En algunas modalidades, los reactivos almacenados pueden incluir tapones de fluido colocados en orden lineal de modo que, durante el uso, a medida que los fluidos fluyen a una región de análisis, se administran en una secuencia predeterminada. Un casete diseñado para realizar un ensayo, por ejemplo, puede incluir, en serie, un fluido de enjuague, un fluido de anticuerpo marcado, un fluido de enjuague y un fluido de amplificación, todos almacenados en el mismo. Mientras se almacenan los fluidos, se pueden mantener separados por fluidos de separación sustancialmente inmiscibles (por ejemplo, un gas, tal como el aire) de modo que los reactivos fluidos que normalmente reaccionarían entre sí cuando estuvieran en contacto puedan almacenarse en un canal común.

Los reactivos se pueden almacenar en un casete durante varios períodos de tiempo. Por ejemplo, un reactivo puede almacenarse durante más de 1 hora, más de 6 horas, más de 12 horas, más de 1 día, más de 1 semana, más de 1 mes, más de 3 meses, más de 6 meses, más de 1 año o más de 2 años. Opcionalmente, el casete puede tratarse de una manera adecuada para prolongar el almacenamiento. Por ejemplo, los casetes que tienen los reactivos almacenados contenidos en ellos pueden sellarse al vacío, almacenarse en un entorno oscuro y/o almacenarse a bajas temperaturas (por ejemplo, más abajo de 0 grados C). La duración del

almacenamiento depende de uno o más factores, tales como los reactivos particulares usados, la forma de los reactivos almacenados (por ejemplo, húmedos o secos), las dimensiones y los materiales usados para formar el sustrato y la(s) capa(s) de recubrimiento, el método de adherir el sustrato y la(s) capa(s) de recubrimiento y cómo se trata o almacena el casete como un todo. El almacenamiento de un reactivo (por ejemplo, un reactivo líquido o seco) en un canal puede implicar sellar la(s) entrada(s) y la(s) salida(s) del canal antes del primer uso o durante el empaque del dispositivo.

Como se ilustra en la modalidad ilustrativa mostrada en las Figuras 10 y 11A-11F, los canales 706 y 707 pueden no estar en comunicación de fluidos entre sí hasta que el conector de fluido 720 esté acoplado al casete 520. En otras palabras, los dos canales, en algunas modalidades, no están en comunicación de fluidos entre sí antes del primer uso y/o antes de la introducción de una muestra en el casete. En particular, como se ilustra, el canal 722 sustancialmente en forma de U del conector 720 puede conectar de manera fluida el primer y segundo canales 706, 707 de manera que los reactivos en el segundo canal 707 pueden pasar a través del canal 522 en forma de U y moverse selectivamente en las regiones de análisis 709 en el primer canal 706. En otras modalidades, los dos canales 706 y 707 están en comunicación de fluidos entre sí antes del primer uso y/o antes de la introducción de una muestra en el casete, pero el conector de fluidos conecta además los dos canales (por ejemplo, para formar un sistema de circuito cerrado) en el primer uso.

En algunas modalidades, un casete descrito en la presente descripción puede incluir uno más canales de microfluidos, aunque tales casetes no se limitan a los sistemas microfluídicos y pueden referirse a otros tipos de sistemas fluidicos. Un casete, dispositivo, aparato o sistema que es microfluído puede incluir, por ejemplo, al menos un canal de fluido que tiene una dimensión de la sección transversal máxima de menos de 1 mm y una relación de longitud a la dimensión de la sección transversal más grande de al menos 3:1.

La dimensión de la sección transversal (por ejemplo, un diámetro) del canal se mide perpendicular a la dirección del flujo del fluido. La mayoría de los canales de fluido en los componentes de los casetes descritos en la presente descripción tienen dimensiones de la sección transversal máximas inferiores a 2 mm y, en algunos casos, inferiores a 1 mm. En un conjunto de modalidades, todos los canales de fluido de un casete son microfluídicos o tienen una dimensión de la sección transversal mayor de no más de 2 mm o 1 mm. En otro conjunto de modalidades, la dimensión de la sección transversal máxima del canal o de los canales es menos de 500 micras, menos de 200 micras, menos de 100 micras, menos de 50 micras o menos de 25 micras. En algunos casos, las dimensiones del canal pueden elegirse de manera que el fluido pueda fluir libremente a través del artículo o del sustrato. Las dimensiones del canal también pueden elegirse, por ejemplo, para permitir un determinado flujo volumétrico o lineal del fluido en el canal. Por supuesto, el número de canales y la forma de los canales se pueden variar mediante cualquier método adecuado conocido por los expertos en la técnica. En algunos casos, puede usarse más de un canal o capilar.

Un canal puede incluir una característica sobre o en un artículo (por ejemplo, un casete) que dirige al menos parcialmente el flujo de un fluido. El canal puede tener cualquier forma de la sección transversal adecuada (circular, ovalada, triangular, irregular, cuadrada o rectangular o similar) y puede estar recubierta o descubierta. En las modalidades donde está completamente recubierta, al menos una porción del canal puede tener una sección transversal que esté completamente encerrada o todo el canal puede estar completamente encerrado a lo largo de toda su longitud con la excepción de su(s) entrada(s) y salida(s). Un canal también puede tener una relación de aspecto (longitud a dimensión de la sección transversal promedio) de al menos 2:1, más típicamente al menos 3:1, 5:1 o 10:1 o más.

Los casetes descritos en la presente descripción pueden incluir los canales o los segmentos del canal colocados en uno o dos lados del casete (o una capa de sustrato del casete). En algunos casos, los canales se forman en una superficie del casete. Los segmentos del canal pueden estar conectados por un canal intermedio que pasa a través del casete. En algunas modalidades, los segmentos del canal se usan para almacenar los reactivos en el dispositivo antes del primer uso por parte de un usuario final. La geometría específica de los segmentos del canal y las posiciones de los segmentos del canal dentro de los casetes pueden permitir que los reactivos fluidos se almacenen durante períodos prolongados de tiempo sin mezclarlos, incluso durante la manipulación de rutina de los casetes, tal como durante el envío de los casetes y cuando los casetes están sujetos a golpes físicos o vibraciones.

En determinadas modalidades, un casete incluye los elementos ópticos que se fabrican en un lado de un casete opuesto a una serie de los canales de fluidos. Un "elemento óptico" se usa para referirse a una característica formada o colocada sobre o en un artículo o casete que se proporciona y se usa para cambiar la dirección (por ejemplo, a través de la refracción o reflexión), enfoque, polarización y/u otra propiedad de la radiación electromagnética incidente con relación a la luz incidente sobre el artículo o casete en ausencia del elemento. Por ejemplo, un elemento óptico puede comprender una lente (por ejemplo, cóncava o convexa), espejo, rejilla, ranura u otra característica formada o colocada en o sobre un casete. Sin embargo, un casete en sí mismo sin una característica única no constituiría un elemento óptico, incluso aunque una o más propiedades de la luz incidente puedan cambiar al interactuar con el casete. Los elementos ópticos pueden guiar la luz incidente que pasa a través del casete de manera que la mayor parte de la luz se dispersa lejos de las áreas específicas del

- casete, tales como las porciones intermedias entre los canales de fluidos. Al disminuir la cantidad de la luz incidente sobre estas porciones intermedias, la cantidad de ruido en una señal de detección puede disminuirse cuando se usan determinados sistemas de detección ópticos. En algunas modalidades, los elementos ópticos comprenden ranuras triangulares formadas sobre o en una superficie del casete. El ángulo de salida de las
- 5 ranuras triangulares puede elegirse de manera que la luz incidente normal a la superficie del casete se redirija en un ángulo dependiente de los índices de refracción del medio externo (por ejemplo, el aire) y el material del casete. En algunas modalidades, uno o más elementos ópticos se colocan entre los segmentos adyacentes de una región serpenteante de una región de análisis.
- 10 Se puede fabricar un casete o las porciones del mismo de cualquier material adecuado para formar un canal u otro componente. Los ejemplos no limitantes de los materiales incluyen los polímeros (por ejemplo, polietileno, poliestireno, polimetilmetacrilato, policarbonato, poli(dimetilsiloxano), PVC, PTFE, PET y un copolímero de cicloolefina), vidrio, cuarzo y silicio. El material que forma el casete y cualesquier componentes asociados (por ejemplo, una recubierta) puede ser duro o flexible. Los expertos en la técnica pueden seleccionar fácilmente el
- 15 o los material(es) adecuado(s) basado, por ejemplo, en su rigidez, su inercia a (por ejemplo, libre de degradación por) un fluido que debe pasar a través de él, su robustez a una temperatura a la que un dispositivo particular se va a usar, su transparencia/opacidad a la luz (por ejemplo, en las regiones ultravioleta y visible) y/o el método usado para fabricar las características en el material. Por ejemplo, para los artículos moldeados por inyección u otros artículos extruidos, el material usado puede incluir un termoplástico (por ejemplo,
- 20 polipropileno, policarbonato, acrilonitrilo-butadieno-estireno, nailon 6), un elastómero (por ejemplo, poliisopreno, isobuteno-isopreno, nitrilo, neopreno, etileno-propileno, hypalon, silicona), un termoendurecible (por ejemplo, epoxi, poliésteres insaturados, fenólicos) o sus combinaciones. Como se describe con más detalle más abajo, los casetes que incluyen dos o más componentes o capas pueden formarse en diferentes materiales para adaptar los componentes a la(s) función(es) principal(es) de cada uno de los componentes,
- 25 por ejemplo, basado en los factores descritos anteriormente y en la presente descripción.

- En algunas modalidades, el material y las dimensiones (por ejemplo, el grosor) de un casete y/o el recubrimiento se eligen de manera que sea sustancialmente impermeable al vapor de agua. Por ejemplo, un casete diseñado para almacenar uno o más fluidos en el mismo antes del primer uso puede incluir un
- 30 recubrimiento que comprenda un material conocido por proporcionar una alta barrera de vapor, tal como una hoja de metal, determinados polímeros, determinadas cerámicas y sus combinaciones. Más abajo se proporcionan los ejemplos de los materiales que tienen baja permeabilidad al vapor de agua. En otros casos, el material se elige basado al menos en parte en la forma y/o configuración del casete. Por ejemplo, determinados materiales pueden usarse para formar los dispositivos planos, mientras que otros materiales son
- 35 más adecuados para formar los dispositivos curvados o de forma irregular.

- En algunos casos, un casete se compone de una combinación de dos o más materiales, tales como los enumerados anteriormente. Por ejemplo, los canales del casete pueden formarse en poliestireno u otros
- 40 polímeros (por ejemplo, mediante moldeo por inyección) y puede usarse una cinta biocompatible para sellar los canales. La cinta biocompatible o el material flexible puede incluir un material conocido por mejorar las propiedades de barrera al vapor (por ejemplo, lámina de metal, polímeros u otros materiales que se sabe que tienen altas barreras al vapor) y opcionalmente puede permitir el acceso a las entradas y salidas al perforar o despegar la cinta. Puede usarse una variedad de métodos para sellar un canal de microfluidos o porciones de
- 45 un canal o para unir múltiples capas de un dispositivo, incluyendo, pero no limitado a, el uso de adhesivos, el uso de las cintas adhesivas, el encolado, la unión, la laminación de los materiales o mediante los métodos mecánicos (por ejemplo, los mecanismos de sujeción, cierre, etc.).

- En algunos casos, un casete comprende una combinación de dos o más componentes separados (por ejemplo, las capas o los casetes) montados juntos. Las redes de canales independientes (tales como las secciones 571 y 577 de la Figura 5), que pueden incluir opcionalmente los reactivos almacenados en ellas antes del primer
- 50 uso, pueden incluirse sobre o en los diferentes componentes del casete. Los componentes separados pueden montarse juntos o asociarse de cualquier otra manera entre sí por cualquier medio adecuado, tal como mediante los métodos descritos en la presente descripción, por ejemplo, para formar un solo casete (compuesto). En algunas modalidades, dos o más redes de canales se colocan en diferentes componentes o
- 55 capas del casete y no se conectan de forma fluida antes del primer uso, pero se conectan de forma fluida en el primer uso, por ejemplo, mediante el uso de un conector de fluidos. En otras modalidades, las dos o más redes de canales se conectan de forma fluida antes del primer uso.

- Ventajosamente, cada uno de los diferentes componentes o capas que forman un casete compuesto se puede
- 60 adaptar individualmente en dependencia de la(s) función(es) diseñada(s) de ese componente o capa. Por ejemplo, en un conjunto de modalidades, un componente de un casete compuesto se puede adaptar para almacenar los reactivos húmedos. En algunas de tales modalidades, ese componente puede formarse en un material que tiene una permeabilidad al vapor relativamente baja. Adicional o alternativamente, por ejemplo,
- 65 en dependencia de la cantidad de fluidos a almacenar, la(s) región(es) de almacenamiento de ese casete se pueden fabricar con las dimensiones de la sección transversal mayores que los canales o regiones de otros componentes no usados para el almacenamiento de los líquidos. El material usado para formar el casete puede

ser compatible con las técnicas de fabricación adecuadas para formar las dimensiones de la sección transversal mayores. Por el contrario, un segundo componente que se puede adaptar para la detección de un analito puede, en algunas modalidades, incluir las porciones del canal que tienen las dimensiones de la sección transversal más pequeñas. Las dimensiones de la sección transversal más pequeñas pueden ser útiles, por ejemplo, en determinadas modalidades para permitir más tiempo de contacto entre los fluidos que fluyen en el canal (por ejemplo, una solución del reactivo o un fluido de lavado) y un analito unido a una superficie del canal, por un volumen dado del fluido. Adicional o alternatively, una porción del canal del segundo componente puede tener una rugosidad de la superficie inferior (por ejemplo, para aumentar la relación señal a ruido durante la detección) comparado con una porción del canal de otro componente. Las dimensiones de la sección transversal más pequeña o la rugosidad de la superficie inferior de las porciones del canal del segundo componente pueden, en determinadas modalidades, requerir una determinada técnica de fabricación o herramienta de fabricación diferente de la usada para formar un componente diferente del casete. Además, en algunas modalidades particulares, el material usado para el segundo componente puede estar bien caracterizado para la unión y detección de proteínas. Como tal, puede ser ventajoso formar porciones de canales diferentes usadas para diferentes propósitos en diferentes componentes de un casete, que luego se pueden unir antes de su uso por parte del usuario previsto. Más abajo se proporcionan otras ventajas, características de los componentes y los ejemplos.

Las Figuras 11B-11E muestran un dispositivo que puede incluir múltiples componentes o capas 520B y 520C que se combinan para formar un solo casete. Como se muestra en estas modalidades ilustrativas, el componente 520B puede incluir un primer lado 521A y un segundo lado 521B. El componente 520C puede incluir un primer lado 522A y un segundo lado 522B. Los componentes o partes del dispositivo descritos en la presente descripción, tales como los canales u otras entidades, pueden formarse en, sobre o en el primer lado de un componente, un segundo lado de un componente y/o a través del componente en algunas modalidades. Por ejemplo, como se muestra ilustrativamente en la Figura 11C, el componente 520C puede incluir un canal 706 que tiene una entrada y una salida y puede estar formado en un primer material. El canal 706 puede tener cualquier configuración adecuada como se describió en la presente descripción y puede incluir, por ejemplo, una o más regiones de almacenamiento del reactivo, regiones de análisis, regiones de contención del líquido, regiones de mezcla y similares. En algunas modalidades, el canal 706 no se forma en todo el grosor del componente 520B. Es decir, el canal puede formarse a o en un lado del componente. El canal 706 puede estar opcionalmente encerrado por un recubrimiento como se describió en la presente descripción, tal como una cinta (no mostrada), otro componente o capa del casete u otro componente adecuado. En otras modalidades, el canal 706 se forma a través de todo el grosor del componente 520B y se requieren recubrimientos en ambos lados del casete para encerrar el canal. Como se describió en la presente descripción, las diferentes capas o componentes pueden incluir diferentes regiones de análisis para determinar las especies dentro de una muestra. Por ejemplo, los anticuerpos de captura para el iPSA, fPSA, tPSA y/o hK2 pueden colocarse en diferentes regiones de análisis, opcionalmente en diferentes componentes o capas de un casete, tal como el mostrado.

El componente 520B puede incluir un canal 707 que tiene una entrada y una salida y puede estar formado en un segundo material, que puede ser igual o diferente al primer material. El canal 707 también puede tener cualquier configuración adecuada como se describió en la presente descripción y puede o no estar formado a través de todo el grosor del componente 520C. El canal 707 puede estar encerrado por uno o más recubrimientos. En algunos casos, el recubrimiento no es un componente que incluye uno o más canales de fluidos, tal como el componente 520C. Por ejemplo, el recubrimiento puede ser una cinta biocompatible u otra superficie colocada entre los componentes 520B y 520C. En otras modalidades, el canal 707 puede estar encerrado sustancialmente por el componente 520C. Es decir, la superficie 522A del componente 520C puede formar una porción del canal 707 ya que los componentes 520B y 520C se encuentran directamente adyacentes entre sí.

Como se muestra ilustrativamente en las Figuras 11D y 11E, los componentes 520B y 520C pueden ser sustancialmente planos y pueden ponerse uno encima del otro. En general, sin embargo, los dos o más componentes que forman un casete pueden ponerse en cualquier configuración adecuada con respecto a entre sí. En algunos casos, los componentes se encuentran adyacentes entre sí (por ejemplo, uno al lado del otro, uno encima del otro). Los primeros componentes pueden solaparse completamente o solo porciones de los componentes pueden solaparse entre sí. Por ejemplo, como se muestra ilustrativamente en las Figuras 11D y 11E, el componente 520C puede extenderse más allá que el componente 520B de manera que una porción del componente 520C no está en solapamiento ni está recubierta por el componente 520B. En algunos casos, esta configuración puede ser ventajosa cuando el componente 520C es sustancialmente transparente y requiere que la luz viaje a través de una porción del componente (por ejemplo, un área de reacción, una región de análisis o una región de detección) y donde el componente 520B es opaco o menos transparente que el componente 520C.

Además, el primer y segundo componentes pueden incluir cualquier forma y/o configuración adecuadas. Por ejemplo, en algunas modalidades, el primer componente incluye una característica complementaria a una característica del segundo componente, para formar una conexión no fluida entre el primer y el segundo

componentes. Las características complementarias pueden, por ejemplo, ayudar a la alineación del primer y segundo componentes durante el ensamblaje.

El primer y segundo componentes pueden estar conectados integralmente entre sí en algunas modalidades. Como se usa en la presente, el término "conectado integralmente", cuando se refiere a dos o más objetos, significa objetos que no se separan entre sí durante el curso del uso normal, por ejemplo, no se pueden separar manualmente; la separación requiere al menos del uso de herramientas y/o al causar daños a al menos uno de los componentes, por ejemplo, al romper, pelar o separar los componentes sujetos entre sí a través de adhesivos o herramientas. Los componentes conectados integralmente pueden unirse de forma irreversible entre sí durante el curso del uso normal. Por ejemplo, los componentes 520B y 520C pueden conectarse integralmente mediante el uso de un adhesivo o mediante otros métodos de unión. En otras modalidades, dos o más componentes de un casete pueden unirse de forma reversible entre sí.

Como se describió en la presente descripción, en algunas modalidades al menos un primer componente y un segundo componente que forman un casete compuesto pueden formarse con diferentes materiales. El sistema puede diseñarse de manera que el primer componente incluye un primer material que ayude o mejore una o más funcionalidades del primer componente. Por ejemplo, si el primer componente está diseñado para almacenar un reactivo líquido (por ejemplo, en un canal del componente) antes del primer uso por parte de un usuario (por ejemplo, durante al menos un día, una semana, un mes o un año), el primer material se puede elegir para que tenga una permeabilidad al vapor relativamente baja para reducir la cantidad de evaporación del líquido almacenado con el tiempo. Sin embargo, debe entenderse que pueden usarse los mismos materiales para los múltiples componentes (por ejemplo, las capas) de un casete en algunas modalidades. Por ejemplo, tanto el primer como el segundo componentes de un casete pueden formarse en un material que tenga una baja permeabilidad al vapor de agua.

En determinadas modalidades, el primer y segundo componente de un casete tienen diferentes grados de claridad óptica. Por ejemplo, un primer componente puede ser sustancialmente opaco y un segundo componente puede ser sustancialmente transparente. El componente sustancialmente transparente puede ser adecuado para la detección óptica de una muestra o analito contenido dentro del componente.

En un conjunto de modalidades, un material usado forma un componente (por ejemplo, un primer o segundo componente) de un casete que tiene una transmisión óptica de más del 90 % entre 400 y 800 nm de longitud de onda de la luz (por ejemplo, la luz en el intervalo visible). La transmisión óptica se puede medir a través de un material que tiene un grosor de, por ejemplo, aproximadamente 2 mm (o en otras modalidades, aproximadamente 1 mm o aproximadamente 0,1 mm). En algunos casos, la transmisión óptica es superior al 80 %, superior al 85 %, superior al 88 %, superior al 92 %, superior al 94 % o superior al 96 % entre 400 y 800 nm de longitud de onda de la luz. Otro componente del dispositivo puede estar formado por un material que tenga una transmisión óptica de menos del 96 %, menos del 94 %, menos del 92 %, menos del 90 %, menos del 85 %, menos del 80 %, menos del 50 %, menos del 30 % o menos del 10 % entre 400 y 800 nm de longitud de onda de la luz.

Como se describió en la presente descripción, en algunas modalidades un canal de un primer componente de un casete no está en comunicación de fluidos con un canal de un segundo componente de un casete antes del primer uso por parte de un usuario. Por ejemplo, incluso después del apareamiento de los dos componentes, como se muestra ilustrativamente en la Figura 11D, los canales 706 y 707 no están en comunicación de fluidos entre sí. Sin embargo, el casete puede incluir además otras partes o componentes, tales como el elemento de alineación del conector de fluidos 702 (Figura 11E), que se puede unir al primer y/o segundo componentes 520B y 520C o a otras porciones del casete. Como se describió en la presente descripción, el elemento de alineación del conector de fluidos puede configurarse para recibir y acoplarse con el conector 720 de fluidos, lo que puede permitir la comunicación de fluidos entre los canales 706 y 707 del primer y segundo componentes, respectivamente. Por ejemplo, el conector de fluidos puede incluir una trayectoria del fluido que incluye una entrada de la trayectoria del fluido y una salida de la trayectoria del fluido, en donde la entrada de la trayectoria del fluido puede conectarse fluidamente a la salida del canal 706 y la salida de la trayectoria del fluido puede conectarse fluidamente a la entrada de canal 707 (o viceversa). La trayectoria del fluido del conector de fluidos puede tener cualquier longitud adecuada (por ejemplo, al menos 1 cm, al menos 2 cm, al menos 3 cm, al menos 5 cm) para conectar los canales. El conector de fluidos puede ser parte de un kit junto con un casete y empaquetado de manera que el conector de fluidos no conecte fluidicamente los canales 706 y 707.

Un conector de fluidos puede tener cualquier configuración adecuada con respecto a un casete o componentes de un casete. Como se muestra ilustrativamente en la Figura. 11E, tras la conexión del conector de fluidos al casete, el conector de fluidos se puede colocar en un lado de un componente (por ejemplo, el componente 520B) opuesto a otro componente (por ejemplo, el componente 520C). En otras modalidades, se puede colocar un conector de fluidos entre dos componentes de un casete. Por ejemplo, el conector de fluidos puede ser un componente o una capa colocada entre (por ejemplo, intercalado entre) dos componentes del casete. También son posibles otras configuraciones.

Aunque gran parte de la descripción en la presente descripción está dirigida a un casete que tiene uno o más componentes o capas que incluyen las redes de los canales, en otras modalidades, un casete puede incluir más de 2, más de 3 o más de 4 de tales componentes o capas. Por ejemplo, como se muestra ilustrativamente en la Figura 11F, un casete puede incluir los componentes 520B, 520C, 520D y 520E, cada uno incluye al menos un canal o red de los canales. En algunos casos, el o los canal(es) de uno o más componentes (por ejemplo, 2, 3 o todos los componentes) pueden desconectarse de forma fluida antes del primer uso, pero pueden conectarse de forma fluida en el primer uso, por ejemplo, mediante el uso de un conector de fluido. En otras modalidades, el o los canal(es) de uno o más componentes (por ejemplo, 2, 3 o todos los componentes) se conectan de forma fluida antes del primer uso.

Como se describió en la presente descripción, cada uno de los componentes o capas de un casete puede diseñarse para tener una función específica que sea diferente de la función de otro componente del casete. En otras modalidades, dos o más componentes pueden tener la misma función. Por ejemplo, como se muestra en la modalidad ilustrativa de la Figura 11F, cada uno de los componentes 520C, 520D y 520E pueden tener una o varias regiones de análisis 709 conectadas en serie. Tras la conexión del conector 722 de fluidos al casete compuesto, se pueden introducir las porciones de una muestra (o múltiples muestras) en la red de los canales en cada uno de los componentes 520C, 520D y 520E para realizar múltiples análisis. Por ejemplo, cada una de las regiones de análisis puede incluir una o más parejas de unión para detectar uno o más de entre el iPSA, fPSA, tPSA y/o hK2 (por ejemplo, los anticuerpos de captura para el iPSA, fPSA, tPSA y/o hK2). Como se describió en la presente descripción, en algunas modalidades el uso de los anticuerpos de captura específicos y/o la separación de los anticuerpos de captura en diferentes regiones de análisis puede permitir el uso del mismo anticuerpo de detección para la detección de cada una de las especies. En algunas de tales modalidades, puede usarse la misma longitud de onda para determinar cada una de las especies. Esto puede permitir el uso de los detectores simplificados y/o los componentes ópticos para la detección. Por ejemplo, en algunas modalidades, la detección implica la acumulación de un material opaco en las diferentes regiones de análisis que se pueden determinar a una longitud de onda particular.

En algunas modalidades, al menos el primer y segundo componentes de un casete pueden ser parte de un dispositivo o un kit usado para determinar una condición química o biológica particular. El dispositivo o kit puede incluir, por ejemplo, un primer componente que comprende un primer canal con un primer material, el primer canal incluye una entrada, una salida y, entre la primera entrada y salida, al menos una porción que tiene una dimensión de la sección transversal mayor de 200 micras. El dispositivo o kit también puede incluir un segundo componente que comprende un segundo canal con un segundo material, el segundo canal incluye una entrada, una salida y, entre la segunda entrada y salida, al menos una porción que tiene una dimensión de la sección transversal menor de 200 micras. En algunos casos, el dispositivo o kit está empaquetado de manera que el primer y segundo componentes están conectados entre sí. Por ejemplo, el primer y segundo componentes pueden estar conectados integralmente entre sí. En otras modalidades, el primer y segundo componentes están unidos de forma reversible entre sí. El dispositivo o kit puede incluir además un conector de fluidos para conectar de forma fluida el primer y segundo canales, el conector de fluidos comprende una trayectoria del fluido, que incluye una entrada de la trayectoria del fluido y una salida de la trayectoria del fluido, en donde la entrada de la trayectoria del fluido se puede conectar de forma fluida a la salida del primer canal y la salida de la trayectoria del fluido se puede conectar de forma fluida a la entrada del segundo canal. En algunas modalidades, el dispositivo o kit está empaquetado de manera que el conector de fluidos no conecta de manera fluida el primer y segundo canales en el empaque. Tras el primer uso del dispositivo por parte de un usuario previsto, el conector de fluidos puede usarse para poner el primer y segundo canales en comunicación de fluidos entre sí.

Un casete descrito en la presente descripción puede tener cualquier volumen adecuado para realizar un análisis, tal como una reacción química y/o biológica u otro proceso. El volumen completo de un casete incluye, por ejemplo, cualquier área de almacenamiento de los reactivos, regiones de análisis, regiones de contención de los líquidos, áreas de desechos, así como también cualquier conector de fluidos y canales de fluidos asociados con ellos. En algunas modalidades, se usan pequeñas cantidades de los reactivos y de las muestras y el volumen total del dispositivo de fluidos es, por ejemplo, menos de 10 mL, 5 mL, 1 mL, 500 µL, 250 µL, 100 µL, 50 µL, 25 µL, 10 µL, 5 µL o 1 µL.

Un casete descrito en la presente descripción puede ser portátil y, en algunas modalidades, de mano. La longitud y/o el ancho del casete puede ser, por ejemplo, menor o igual a 20 cm, 15 cm, 10 cm, 8 cm, 6 cm o 5 cm. El grosor del casete puede ser, por ejemplo, menor o igual a 5 cm, 3 cm, 2 cm, 1 cm, 8 mm, 5 mm, 3 mm, 2 mm o 1 mm. Ventajosamente, los dispositivos portátiles pueden ser adecuados para su uso en los centros de punto de atención.

Debe entenderse que los casetes y sus respectivos componentes descritos en la presente descripción son ilustrativos y que pueden usarse otras configuraciones y/o tipos de casetes y componentes con los sistemas y métodos descritos en la presente descripción.

Los métodos y sistemas descritos en la presente descripción pueden implicar una variedad de diferentes tipos de análisis y pueden usarse para determinar una variedad de muestras diferentes. En algunos casos, un análisis implica una reacción química y/o biológica. En algunas modalidades, una reacción química y/o biológica implica la unión. Pueden tener lugar diferentes tipos de uniones en los casetes descritos en la presente descripción. La unión puede implicar la interacción entre un par correspondiente de moléculas (por ejemplo, parejas de unión) que muestran afinidad mutua o capacidad de unión, unión o interacción típicamente específica o no específica, que incluyen las interacciones bioquímicas, fisiológicas y/o farmacéuticas. La unión biológica define un tipo de interacción que se produce entre pares de moléculas (por ejemplo, parejas de unión) que incluyen las proteínas, ácidos nucleicos, glicoproteínas, carbohidratos, hormonas y similares. Los ejemplos específicos incluyen anticuerpo/antígeno, fragmento de anticuerpo/antígeno, anticuerpo/hapteno, fragmento de anticuerpo/hapteno, enzima/sustrato, enzima/inhibidor, enzima/cofactor, proteína de unión/sustrato, proteína portadora/sustrato, lectina/carbohidrato, receptor/hormona, receptor/efector, hebras complementarias de ácido nucleico, represor/inductor de proteína/ácido nucleico, ligando/receptor de la superficie celular, virus/ligando, etc. La unión también puede ocurrir entre las proteínas u otros componentes y las células. Además, los dispositivos descritos en la presente descripción pueden usarse para otros análisis de fluidos (que pueden o no implicar la unión y/o las reacciones), tales como la detección de los componentes, concentración, etc.

En algunos casos, puede tener lugar una reacción (o ensayo) heterogénea en un casete; por ejemplo, una pareja de unión puede estar asociada con una superficie de un canal y la pareja de unión complementaria puede estar presente en la fase fluida. También se pueden realizar otros ensayos en fase sólida que implican una reacción de afinidad entre las proteínas u otras biomoléculas (por ejemplo, ADN, ARN, carbohidratos) o moléculas de origen no natural. Ejemplos no limitantes de reacciones típicas que pueden realizarse en un casete incluyen reacciones químicas, reacciones enzimáticas, reacciones inmunológicas (por ejemplo, antígeno-anticuerpo) y reacciones celulares.

Los fluidos de las muestras típicos incluyen los fluidos fisiológicos, tales como la sangre entera humana o animal, suero sanguíneo, plasma sanguíneo, semen, lágrimas, orina, sudor, saliva, fluido cerebroespinal, secreciones vaginales; fluidos in vitro usados en la investigación o los fluidos ambientales, tales como los líquidos acuosos sospechosos de estar contaminados por el analito.

En algunas modalidades, uno o más reactivos que pueden usarse para determinar un analito de una muestra (por ejemplo, una pareja de unión del analito que se va a determinar) se almacenan en un canal o cámara de un casete antes del primer uso para realizar una prueba o ensayo específico. En los casos donde se analiza un antígeno, un anticuerpo o aptámero correspondiente puede ser la pareja de unión asociado con una superficie de un canal de microfluidos. Si un anticuerpo es el analito, entonces un antígeno o aptámero apropiado puede ser la pareja de unión asociado con la superficie. Cuando se determina una condición de enfermedad, puede ser preferible poner el antígeno en la superficie y probar un anticuerpo que se haya producido en el sujeto. Se apreciará que, aunque se hace referencia a los anticuerpos en la presente descripción, los fragmentos de los anticuerpos pueden usarse en combinación con o en lugar de los anticuerpos.

En algunas modalidades, un casete está adaptado y dispuesto para realizar un análisis que implica acumular un material opaco en una región de un canal de microfluidos, exponer la región a la luz y determinar la transmisión de la luz a través del material opaco. Un material opaco puede incluir una sustancia que interfiere con la transmitancia de la luz en una o más longitudes de onda. Un material opaco no solo refracta la luz, sino que reduce la cantidad de transmisión a través del material, por ejemplo, al absorber o al reflejar la luz. Diferentes materiales opacos o diferentes cantidades de un material opaco pueden permitir una transmitancia menor que, por ejemplo, el 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 o 1 por ciento de la luz que ilumina el material opaco. Los ejemplos de los materiales opacos incluyen las capas moleculares de metal (por ejemplo, metal elemental), capas de cerámicas, capas poliméricas y capas de una sustancia opaca (por ejemplo, un tinte). El material opaco puede, en algunos casos, ser un metal que se puede depositar sin electricidad. Estos metales pueden incluir, por ejemplo, la plata, cobre, níquel, cobalto, paladio y platino.

Un material opaco que se forma en un canal puede incluir una serie de partículas independientes discontinuas que juntas forman una capa opaca, pero en una modalidad, es un material continuo que adquiere una forma generalmente plana. El material opaco puede tener una dimensión (por ejemplo, un ancho de longitud) de, por ejemplo, mayor o igual a 1 micra, mayor o igual a 5 micras, mayor que 10 micras, mayor o igual a 25 micras, o mayor o igual a 50 micras. En algunos casos, el material opaco se extiende a lo ancho del canal (por ejemplo, una región de análisis) que contiene el material opaco. La capa opaca puede tener un grosor de, por ejemplo, menor o igual a 10 micras, menor o igual a 5 micras, menor o igual a 1 micra, menor o igual a 100 nanómetros o menor o igual a 10 nanómetros. Incluso con estos pequeños grosores, se puede obtener un cambio detectable en la transmitancia. La capa opaca puede proporcionar un aumento en la sensibilidad del ensayo en comparación con las técnicas que no forman una capa opaca.

En un conjunto de modalidades, un casete descrito en la presente descripción se usa para realizar un inmunoensayo (por ejemplo, para determinar el tPSA, iPSA, fPSA y/o hK2) y, opcionalmente, usa la

potenciación de la plata para la amplificación de la señal. En tal inmunoensayo, después de la entrega de una muestra que contiene un marcador sanguíneo a detectar en una región de análisis, puede tener lugar la unión entre el marcador sanguíneo y la pareja de unión correspondiente. Uno o más reactivos, que pueden almacenarse opcionalmente en un canal del dispositivo antes de su uso, pueden fluir luego sobre este complejo de pares de unión. Uno de los reactivos almacenados puede incluir una solución que contiene uno o más coloides metálicos que se une al antígeno a detectar. Por ejemplo, puede usarse un anticuerpo marcado con oro que sea anti-iPSA y anti-hK2 para detectar cada uno del iPSA, fPSA, tPSA y/o hK2. En otro ejemplo, puede usarse una mezcla de los anticuerpos marcados con oro, tales como un anticuerpo anti-hK2 marcado con oro, un anticuerpo anti-PSA marcado con oro y/o un anticuerpo anti-iPSA marcado con oro para la detección. Dichos reactivos pueden almacenarse en el casete, por ejemplo, antes de su uso. El coloide metálico puede proporcionar una superficie catalítica para la deposición de un material opaco, tal como una capa del metal (por ejemplo, la plata), sobre una superficie de una o más regiones de análisis. La capa del metal se puede formar mediante el uso de un sistema de dos componentes: un precursor del metal (por ejemplo, una solución de sales de plata) y un agente reductor (por ejemplo, hidroquinona, clorohidroquinona, pirogallol, metol, 4-aminofenol y fenidona), que opcionalmente puede almacenarse en diferentes canales antes de su uso.

A medida que se aplica una diferencia de presión negativa o positiva al sistema, la sal de plata y las soluciones reductoras pueden mezclarse (por ejemplo, fusionarse en la intersección de un canal) y luego fluir sobre la región de análisis. Por lo tanto, si se produce la unión anticuerpo-antígeno en la región de análisis, el flujo de la solución del precursor del metal a través de la región puede resultar en la formación de una capa opaca, tal como una capa de plata, debido a la presencia del coloide metálico catalítico asociado con el complejo anticuerpo-antígeno. La capa opaca puede incluir una sustancia que interfiere con la transmitancia de la luz en una o más longitudes de onda. Una capa opaca que se forma en el canal se puede detectar ópticamente, por ejemplo, al medir una reducción en la transmitancia de la luz a través de una porción de la región de análisis (por ejemplo, una región del canal serpenteante) comparado con una porción de un área que no incluye el anticuerpo o el antígeno. Alternativamente, se puede obtener una señal al medir la variación de la transmitancia de la luz en función del tiempo, a medida que se forma la película en una región de análisis. La capa opaca puede proporcionar un aumento en la sensibilidad del ensayo en comparación con las técnicas que no forman una capa opaca. Adicionalmente, diversas químicas de amplificación que producen señales ópticas (por ejemplo, absorbancia, fluorescencia, quimioluminiscencia incandescente o de destello, electroquimioluminiscencia), señales eléctricas (por ejemplo, resistencia o conductividad de las estructuras metálicas creadas por un proceso no electrolítico) o señales magnéticas (por ejemplo, perlas magnéticas) pueden usarse para permitir la detección de una señal mediante un detector.

Pueden usarse varios tipos de fluidos con los casetes descritos en la presente descripción. Como se describió en la presente descripción, los fluidos pueden introducirse en el casete en el primer uso y/o almacenarse dentro del casete antes del primer uso. Los fluidos incluyen líquidos, tales como los disolventes, soluciones y suspensiones. Los fluidos también incluyen gases y mezclas de gases. Cuando están contenidos múltiples fluidos en un casete, los fluidos pueden estar separados por otro fluido que sea preferentemente sustancialmente inmiscible en cada uno de los dos primeros fluidos. Por ejemplo, si un canal contiene dos soluciones acuosas diferentes, un tapón de separación de un tercer fluido puede ser sustancialmente inmiscible en ambas soluciones acuosas. Cuando las soluciones acuosas deben mantenerse separadas, los fluidos sustancialmente inmiscibles que pueden usarse como separadores pueden incluir gases, tales como el aire o nitrógeno o fluidos hidrófobos que son sustancialmente inmiscibles con los fluidos acuosos. Los fluidos también se pueden elegir en función de la reactividad del fluido con los fluidos adyacentes. Por ejemplo, puede usarse un gas inerte como el nitrógeno en algunas modalidades y puede ayudar a preservar y/o estabilizar cualquier fluido adyacente. Un ejemplo de un líquido sustancialmente inmiscible para separar las soluciones acuosas es la perfluorodecalina. La elección de un fluido separador puede basarse también en otros factores, que incluye cualquier efecto que el fluido separador pueda tener sobre la tensión superficial de los tapones de los fluidos adyacentes. Puede ser preferible maximizar la tensión superficial dentro de cualquier tapón del fluido para promover la retención del tapón del fluido como una sola unidad continua bajo condiciones ambientales variables, tales como las vibraciones, golpes y variaciones de la temperatura. Los fluidos separadores también pueden ser inertes para una región de análisis a la que se suministrarán los fluidos. Por ejemplo, si una región de análisis incluye una pareja de unión biológica, un fluido separador, tales como el aire o nitrógeno puede tener poco o ningún efecto sobre la pareja de unión. El uso de un gas (por ejemplo, el aire) como fluido separador también puede proporcionar espacio para la expansión dentro de un canal de un dispositivo de fluidos en caso de que los líquidos contenidos en el dispositivo se expandan o contraigan debido a cambios, tales como la temperatura (incluida la congelación) o las variaciones de la presión.

El analizador de muestras de microfluidos puede incluir una fuente de flujo del fluido (por ejemplo, un sistema de control de la presión) que puede conectarse de forma fluida a los canales 706, 707, 722 para presurizar los canales para mover la muestra y/u otros reactivos a través de los canales. En particular, la fuente de flujo del fluido puede configurarse para mover una muestra y/o reactivo inicialmente desde el canal 722 sustancialmente en forma de U al primer canal 706. La fuente de flujo del fluido también se puede usar para mover los reactivos en el segundo canal 707 a través del canal 722 sustancialmente en forma de U y dentro del primer canal 706. Una vez que la muestra y los reactivos pasan a través de las regiones de análisis 709 y son analizados, la

fuerza de flujo del fluido 540 puede configurarse para mover los fluidos al material absorbente 717 del casete. En una modalidad, la fuerza de flujo del fluido es un sistema de vacío. Sin embargo, debe entenderse que pueden usarse otras fuentes de flujo del fluido, tales como las válvulas, bombas y/u otros componentes.

- 5 Como se describió en la presente descripción, en algunas modalidades puede usarse una fuente de vacío para impulsar el flujo del fluido. Una fuente de vacío puede incluir una bomba, tal como una bomba de diafragma operada por solenoide. En otras modalidades, el flujo del fluido puede impulsarse/controlarse mediante el uso de otros tipos de bombas o fuentes de flujo del fluido. Por ejemplo, en una modalidad, puede usarse una bomba de jeringa para crear un vacío al tirar del émbolo de la jeringa en una dirección hacia afuera. En otras modalidades, se aplica una presión positiva a una o más entradas del casete para proporcionar una fuente de flujo del fluido.

- 15 En algunas modalidades, el flujo del fluido tiene lugar mientras se aplica una caída de la presión distinta de cero sustancialmente constante (es decir, ΔP) a través de una entrada y una salida de un casete. En un conjunto de modalidades, se realiza un análisis completo mientras se aplica una caída de la presión distinta de cero sustancialmente constante (es decir, ΔP) a través de una entrada y una salida de un casete. Puede lograrse una caída de la presión distinta de cero sustancialmente constante, por ejemplo, mediante la aplicación de una presión positiva en la entrada o una presión reducida (por ejemplo, un vacío) en la salida. En algunos casos, se logra una caída de la presión distinta de cero sustancialmente constante mientras que el flujo del fluido no tiene lugar predominantemente por fuerzas capilares y/o sin el uso de válvulas de accionamiento (por ejemplo, sin cambiar el área de sección transversal de un canal de una trayectoria del fluido del casete). En algunas modalidades, durante esencialmente todo el análisis realizado en el casete, puede estar presente una caída de la presión distinta de cero sustancialmente constante a través de, por ejemplo, una entrada a una región de análisis (que puede estar conectada a un conector de fluidos) y una salida aguas abajo de la región de análisis (por ejemplo, una salida aguas abajo de una región de contención de líquido), respectivamente.

- 25 En una modalidad, una fuente de vacío se configura para presurizar un canal a aproximadamente -60 kPa (aproximadamente 2/3 de la atmósfera). En otra modalidad, la fuente de vacío se configura para presurizar un canal a aproximadamente -30 kPa. En determinadas modalidades, una fuente de vacío se configura para presurizar un canal a, por ejemplo, entre -100 kPa y -70 kPa, entre -70 kPa y -50 kPa, entre -50 kPa y -20 kPa o entre -20 kPa y -1 kPa.

- Una vez que el casete se coloca dentro del analizador, la fuente de flujo del fluido puede acoplarse al casete para asegurar una conexión hermética a los fluidos. Como se mencionó anteriormente, el casete puede incluir un puerto configurado para acoplar el canal 706 y el canal 707 si está conectado de forma fluida a 706, con la fuerza de flujo del fluido. En una modalidad, los sellos o los anillos O se colocan alrededor del puerto y se puede colocar un solenoide lineal encima de los anillos O para presionar y sellar los anillos O contra el cuerpo del casete. Por ejemplo, como se muestra en la modalidad ilustrativa ilustrada en la Figura 11A, además del puerto 719, puede haber dos puertos de ventilación 715 y un puerto de mezcla 713. La interfaz entre cada puerto y el colector puede ser independiente (por ejemplo, puede que no haya conexión de fluidos dentro del colector).

- 45 En una modalidad, cuando se activa una fuente de flujo del fluido, el canal 706, 707 en el casete se puede presurizar (por ejemplo, a aproximadamente -30 kPa), lo que conducirá los fluidos dentro del canal (tanto la muestra de fluido, así como también los reactivos) hacia la salida. En una modalidad que incluye los puertos de ventilación 715 y el puerto de mezcla 713, una válvula de ventilación conectada al puerto 713 a través del colector puede estar inicialmente abierta, lo que puede permitir que todos los reactivos aguas abajo del puerto de mezcla 713 se muevan hacia la salida, pero no provocará que se muevan los reactivos aguas arriba del puerto de mezcla 713. Una vez que la válvula de ventilación está cerrada, los reactivos aguas arriba del puerto de mezcla 713 pueden moverse hacia un puerto de mezcla y luego hacia la salida. Por ejemplo, los fluidos se pueden almacenar en serie en un canal aguas arriba del puerto de mezcla y después de cerrar una válvula de ventilación colocada a lo largo del canal, los fluidos pueden fluir secuencialmente hacia la salida del canal. En algunos casos, los fluidos pueden almacenarse en canales separados que se cruzan y después de cerrar una válvula de ventilación, los fluidos fluirán juntos hacia un punto de intersección. Este conjunto de modalidades puede usarse, por ejemplo, para mezclar de forma controlable los fluidos a medida que fluyen juntos. La sincronización de la entrega y el volumen del fluido entregado se pueden controlar, por ejemplo, mediante la sincronización de la actuación de la válvula de ventilación.

- 60 Ventajosamente, las válvulas de ventilación se pueden operar sin estrechar la sección transversal del canal de microfluidos sobre el que operan, como podría ocurrir con determinadas válvulas de la técnica anterior. Tal modo de funcionamiento puede ser efectivo para prevenir las fugas a través de la válvula. Además, debido a que pueden usarse las válvulas de ventilación, algunos sistemas y métodos descritos en la presente descripción no requieren del uso de determinadas válvulas internas, que pueden ser problemáticas debido a, por ejemplo, su alto costo, complejidad en la fabricación, fragilidad, compatibilidad limitada con los sistemas de gases y líquidos y/o falta de fiabilidad en los sistemas de microfluidos.

Debe entenderse que, aunque se describen las válvulas de ventilación, pueden usarse otros tipos de mecanismos de válvula con los sistemas y métodos descritos en la presente descripción. Los ejemplos de un mecanismo de válvula que puede estar asociado operativamente con una válvula incluyen una válvula de diafragma, válvula de bola, válvula de compuerta, válvula de mariposa, válvula de globo, válvula de aguja, 5 válvula de manguito, válvula de asiento o válvula de manguito. El mecanismo de válvula puede ser accionado por cualquier medio adecuado, que incluye un solenoide, un motor, manualmente, por accionamiento electrónico o por presión hidráulica/neumática.

10 Como se mencionó anteriormente, todos los líquidos en el casete (muestra y reactivos) pueden moverse al área de contención de los líquidos que puede incluir un material absorbente 717. En una modalidad, el material absorbente absorbe solo los líquidos de manera que los gases puedan fluir fuera del casete a través de la salida.

15 Puede usarse una variedad de técnicas de determinación (por ejemplo, medición, cuantificación, detección y calificación), por ejemplo, para analizar un componente de una muestra u otro componente o condición asociada con un sistema o casete de microfluidos descritos en la presente descripción. Las técnicas de determinación pueden incluir las técnicas de base óptica, tales como la transmisión de la luz, absorbancia de la luz, dispersión de la luz, reflexión de la luz y técnicas visuales. Las técnicas de determinación también pueden incluir las técnicas de luminiscencia, tales como la fotoluminiscencia (por ejemplo, fluorescencia), 20 quimioluminiscencia, bioluminiscencia y/o electroquimioluminiscencia. En otras modalidades, las técnicas de determinación pueden medir la conductividad o la resistencia. Como tal, un analizador puede configurarse para incluir tal y otros sistemas de detección adecuados.

25 Las diferentes técnicas de detección óptica proporcionan una serie de opciones para determinar los resultados de la reacción (por ejemplo, un ensayo). En algunas modalidades, la medición de la transmisión o la absorbancia significa que la luz puede detectarse en la misma longitud de onda a la que se emite desde una fuente de luz. Aunque la fuente de luz puede ser una fuente de banda estrecha que emite en una sola longitud de onda, también puede ser una fuente de amplio espectro, que emite en un intervalo de longitudes de onda ya que muchos materiales opacos pueden bloquear efectivamente un amplio intervalo de longitudes de onda. 30 En algunas modalidades, un sistema puede funcionar con un mínimo de dispositivos ópticos (por ejemplo, un detector óptico simplificado). Por ejemplo, el dispositivo de determinación puede estar libre de un fotomultiplicador, puede estar libre de un selector de longitud de onda, tales como una rejilla, prisma o filtro, puede estar libre de un dispositivo para dirigir o columnatear la luz, tal como un columnador o puede estar libre de las ópticas de aumento (por ejemplo, los lentes). La eliminación o reducción de estas características puede 35 resultar en un dispositivo más robusto y menos costoso.

La Figura 12 ilustra un sistema óptico ilustrativo 800 que puede colocarse en la carcasa de un analizador. Como se muestra ilustrativamente en esta modalidad, el sistema óptico incluye al menos una primera fuente de luz 882 y un detector 884 separados de la primera fuente de luz. La primera fuente de luz 882 puede 40 configurarse para pasar la luz a través de una primera región de análisis del casete cuando el casete se inserta en el analizador. El primer detector 884 puede colocarse frente a la primera fuente de luz 882 para detectar la cantidad de luz que pasa a través de la primera región de análisis del casete 520. Se apreciará que, en otras modalidades, el número de las fuentes de luz y detectores puede variar ya que la invención no está limitada. Como se mencionó anteriormente, el casete 520 puede incluir una pluralidad de regiones de análisis 709 y el 45 casete 520 puede colocarse dentro del analizador de manera que cada región de análisis se alinee con una fuente de luz y el detector correspondiente. En algunas modalidades, la fuente de luz incluye una abertura óptica que puede ayudar a dirigir la luz desde la fuente de luz a una región particular dentro de una región de análisis del casete.

50 En una modalidad, las fuentes de luz son diodos emisores de luz (LED) o diodos láser. Por ejemplo, puede usarse un diodo láser semiconductor rojo InGaAlP que emite a 654 nm. También pueden usarse otras fuentes de luz. La fuente de luz puede colocarse dentro de un nido o carcasa. El nido o carcasa puede incluir una abertura estrecha o un tubo delgado que puede ayudar a colimar la luz. Las fuentes de luz pueden colocarse por encima de donde se inserta el casete en el analizador de manera que la fuente de luz brille hacia la 55 superficie superior del casete. También son posibles otras configuraciones adecuadas de la fuente de luz con respecto al casete.

Se apreciará que la longitud de onda de las fuentes de luz puede variar ya que la invención no está limitada. Por ejemplo, en una modalidad, la longitud de onda de la fuente de luz es aproximadamente 670 nm y en otra 60 modalidad, la longitud de onda de la fuente de luz es aproximadamente 650 nm. Se apreciará que, en una modalidad, la longitud de onda de cada fuente de luz puede ser diferente de manera que cada región de análisis del casete reciba una longitud de onda de luz diferente. En otras modalidades, sin embargo, la longitud de onda de cada fuente de luz puede ser la misma, de manera que cada región de análisis del casete reciba la misma longitud de onda de luz. También son posibles las combinaciones de la misma y diferentes longitudes 65 de onda de las fuentes de luz.

Como se mencionó, un detector 884 puede estar separado y colocado más abajo de una fuente de luz 882 para detectar la cantidad de luz que pasa a través del casete. En una modalidad, uno o más de los detectores son fotodetectores (por ejemplo, fotodiodos). En determinadas modalidades, el fotodetector puede ser cualquier dispositivo adecuado capaz de detectar la transmisión de la luz emitida por la fuente de luz. Un tipo de fotodetector es un circuito integrado óptico (IC) que incluye un fotodiodo que tiene una sensibilidad máxima a 700 nm, un amplificador y un regulador de tensión. El detector puede colocarse dentro de un nido o carcasa que puede incluir una abertura estrecha o un tubo delgado para asegurar que solo se mida la luz del centro de la región de análisis 709 en el detector 884. Si la fuente de luz está modulada por pulsos, el fotodetector puede incluir un filtro para eliminar el efecto de la luz que no está en la frecuencia seleccionada. Cuando se detectan señales múltiples y vecinas al mismo tiempo, la fuente de luz usada para cada región de análisis (por ejemplo, región de detección) puede modularse a una frecuencia suficientemente diferente de la de su fuente de luz vecina. En esta configuración, cada detector puede configurarse (por ejemplo, mediante el uso de software) para seleccionar su fuente de luz atribuida, de esta manera se evita la luz interferente de los pares ópticos vecinos.

El solicitante ha reconocido que la cantidad de luz transmitida a través de una región de análisis del casete puede usarse para determinar información no solo sobre la muestra, sino también información sobre los procesos específicos que ocurren en el sistema de fluidos del casete (por ejemplo, la mezcla de los reactivos, velocidad del flujo, etc.). En algunos casos, la medición de la luz a través de una región puede usarse como retroalimentación para controlar el flujo del fluido en el sistema. En determinadas modalidades, se puede determinar el control de calidad o anomalías en el funcionamiento del casete. Por ejemplo, la retroalimentación de una región de análisis a un sistema de control puede usarse para determinar las anomalías que han ocurrido en el sistema de microfluidos y el sistema de control puede enviar una señal a uno o más componentes para hacer que todo o porciones del sistema se apaguen. En consecuencia, la calidad de los procesos que se realizan en el sistema de microfluidos puede controlarse mediante el uso de los sistemas y métodos descritos en la presente descripción.

Debe reconocerse que un líquido transparente (tal como el agua) puede permitir que se transmita una gran cantidad de luz desde la fuente de luz 882, a través de la región de análisis 709 y al detector 884. El aire dentro de la región de análisis 709 puede conducir a que se transmita menos luz a través de la región de análisis 709 porque puede dispersarse más luz dentro del canal en comparación con cuando está presente un líquido transparente. Cuando una muestra de sangre está en una región de análisis 709, puede pasar una cantidad significativamente menor de luz a través del detector 884 debido a la dispersión de luz de las células sanguíneas y también debido a la absorbancia. En una modalidad, la plata se asocia con un componente de la muestra unido a una superficie dentro de la región de análisis y, a medida que la plata se acumula dentro de la región de análisis, se transmite cada vez menos luz a través de la región de análisis 709.

Se reconoce que medir la cantidad de luz que se detecta en cada detector 884 permite a un usuario determinar qué reactivos están en una región de análisis particular 709 en un momento particular en el tiempo. También se reconoce que al medir la cantidad de luz que se detecta con cada detector 884, es posible medir la cantidad de plata depositada en cada región de análisis 709. Esta cantidad puede corresponder a la cantidad de analito capturado durante una reacción que, por lo tanto, puede proporcionar una medida de la concentración del analito en la muestra.

Como indicó anteriormente, el solicitante ha reconocido que el sistema óptico 880 puede usarse por una variedad de razones de control de calidad. Primero, el tiempo que tarda una muestra en alcanzar una región de análisis donde el sistema óptico detecta la luz que pasa a través de la región de análisis puede usarse para determinar si hay una fuga o una obstrucción en el sistema. Además, cuando se espera que la muestra tenga un determinado volumen, por ejemplo, aproximadamente 10 microlitros, existe un tiempo de flujo esperado que estaría asociado para que la muestra pase a través de los canales y de las regiones de análisis. Si la muestra cae fuera del tiempo de flujo esperado, podría ser una indicación de que no hay suficiente muestra para realizar el análisis y/o que se cargó el tipo de muestra incorrecto en el analizador. Adicionalmente, se puede determinar un intervalo esperado de resultados basado en el tipo de muestra (por ejemplo, suero, sangre, orina, etc.) y si la muestra está fuera del intervalo esperado, podría ser una indicación de un error.

En una modalidad, el analizador incluye un sistema de regulación de la temperatura colocado dentro de la carcasa que puede configurarse para regular la temperatura dentro del analizador. Para determinados análisis de la muestra, es posible que la muestra deba mantenerse dentro de un determinado intervalo de temperatura. Por ejemplo, en una modalidad, es conveniente mantener la temperatura dentro del analizador a aproximadamente 37 °C. En consecuencia, en una modalidad, el sistema de regulación de la temperatura incluye un calentador configurado para calentar el casete. En una modalidad, el calentador es un calentador resistivo que puede colocarse en la parte inferior de donde se coloca el casete en el analizador. En una modalidad, el sistema de regulación de la temperatura también incluye un termistor para medir la temperatura del casete y puede proporcionarse un circuito controlador para controlar la temperatura.

En una modalidad, el flujo pasivo de aire dentro del analizador puede actuar para enfriar el aire dentro del

analizador si es necesario. Opcionalmente, puede proporcionarse un ventilador en el analizador para reducir la temperatura dentro del analizador. En algunas modalidades, el sistema de regulación de la temperatura puede incluir los calentadores termoeléctricos Peltier y/o los refrigeradores dentro del analizador.

- 5 En determinadas modalidades, se usa un sistema de identificación que incluye uno o más identificadores y se asocia con uno o más componentes o materiales asociados con un casete y/o analizador. Los “identificadores”, como se describe con mayor detalle más abajo, pueden estar “codificados con” información (es decir, transportar o contener información, tal como mediante el uso de un dispositivo de transporte, almacenamiento, generación o transmisión de información, tal como una etiqueta de identificación por radiofrecuencia (RFID) o
- 10 código de barras) sobre el componente, incluido el identificador o pueden no estar codificados con información sobre el componente, sino que solo pueden estar asociados con información que puede estar contenida en, por ejemplo, una base de datos en una computadora o en un medio legible por el ordenador (por ejemplo, información sobre un usuario y/o muestra a analizar). En el último caso, la detección de dicho identificador puede desencadenar la recuperación y el uso de la información asociada de la base de datos.

- 15 Los identificadores “codificados con” información sobre un componente no necesitan estar codificados necesariamente con un conjunto completo de información sobre el componente. Por ejemplo, en determinadas modalidades, un identificador puede estar codificado con información simplemente suficiente para permitir una identificación única del casete (por ejemplo, en relación con un número de serie, número de pieza, etc.), mientras que la información adicional relacionada con el casete (por ejemplo, el tipo, el uso (por ejemplo, el tipo de ensayo), la propiedad, la ubicación, la posición, la conectividad, el contenido, etc.) pueden almacenarse de forma remota y estar asociados únicamente con el identificador.

- 25 “Información sobre” o “información asociada con” un casete, material o componente, etc. es la información sobre la identidad, el posicionamiento o la ubicación del casete, material o componente o la identidad, posicionamiento o ubicación del contenido de un casete, material o componente y puede incluir adicionalmente la información relacionada con la naturaleza, estado o composición del casete, material, componente o contenido. La “información sobre” o la “información asociada con” un casete, material o componente o su contenido puede incluir la información que identifica el casete, material o componente o sus contenidos y distingue el casete, material, componente o sus contenidos de otros. Por ejemplo, “información sobre” o
- 30 “información asociada con” un casete, material o componente o su contenido puede referirse a la información que indique el tipo o lo qué es el casete, material o componente o su contenido, dónde está o debería ubicarse, cómo está o debería colocarse, la función o propósito del casete, material o componente o su contenido, cómo el casete, material o componente o su contenido se conectará con otros componentes del sistema, el número de lote, origen, información de la calibración, fecha de vencimiento, destino, fabricante o propiedad del casete,
- 35 material o componente o su contenido, el tipo de análisis/ensayo que se realizará en el casete, información sobre si el casete se ha usado/analizado, etc.

- 40 Los ejemplos no limitantes de los identificadores que pueden usarse en el contexto de la invención incluyen las etiquetas de identificación por radiofrecuencia (RFID), códigos de barras, números de serie, etiquetas de color, etiquetas fluorescentes u ópticas (por ejemplo, mediante el uso de puntos cuánticos), compuestos químicos, etiquetas de radio, etiquetas magnéticas, entre otras.

- 45 En una modalidad, un lector de identificación es un lector RFID configurado para leer un identificador RFID asociado con el casete. Por ejemplo, en una modalidad, el analizador incluye un módulo RFID y una antena que están configurados para leer la información del casete insertado en el analizador. En otra modalidad, el lector de identificación es un lector de código de barras configurado para leer un código de barras asociado con el casete. Una vez que se inserta el casete en el analizador, el lector de identificación puede leer la información del casete. El identificador en el casete puede incluir uno o más de los tipos de información, tales como tipo de casete, tipo de análisis/ensayo a realizar, número de lote, información sobre si el casete se ha usado/analizado y otra información descrita en la presente descripción. El lector también puede estar configurado para leer la información proporcionada con un grupo de casetes, tal como en una caja de casetes, tales como, pero no limitados a la información de la calibración, fecha de vencimiento y cualquier información adicional específica para ese lote. La información identificada puede mostrarse opcionalmente a un usuario,
- 50 por ejemplo, para confirmar que se está realizando un casete y/o tipo de ensayo correcto.

- 55 En algunos casos, el lector de identificación puede integrarse con un sistema de control a través de trayectorias de comunicación. La comunicación entre los lectores de identificación y el sistema de control puede ocurrir a lo largo de una red cableada o puede transmitirse de forma inalámbrica. En una modalidad, el sistema de control se puede programar para reconocer un identificador específico (por ejemplo, de un casete asociado con la información relacionada con un tipo de casete, fabricante, ensayo a realizar, etc.) como indicación de que el casete está conectado o insertado adecuadamente dentro de un tipo particular de analizador.

- 60 En una modalidad, el identificador de un casete se asocia con la información predeterminada o programada contenida en una base de datos con respecto al uso del sistema o casete para un propósito, usuario o producto particular o con condiciones de reacción particulares, tipos de muestras, reactivos, usuarios y similares. Si se

detecta un emparejamiento incorrecto o se ha desactivado un identificador, el proceso puede detenerse o el sistema puede dejar de funcionar hasta que el usuario haya sido notificado o después de que un usuario lo reconozca.

5 La información de o asociada con un identificador puede, en algunas modalidades, almacenarse, por ejemplo, en la memoria del ordenador o en un medio legible por el ordenador, para futuras referencias y propósitos de mantenimiento de registros. Por ejemplo, determinados sistemas de control pueden emplear la información de o asociada con los identificadores para identificar qué componentes (por ejemplo, los casetes) o tipo de casetes se usaron en un análisis en particular, la fecha, hora y duración del uso, las condiciones de uso, etc. Esta
10 información puede usarse, por ejemplo, para determinar si uno o más componentes del analizador deben limpiarse o reemplazarse. Opcionalmente, un sistema de control o cualquier otro sistema adecuado podría generar un informe a partir de la información recopilada, incluida la información codificada por o asociada con los identificadores, que puede usarse para proporcionar una prueba del cumplimiento de las normas reglamentarias o la verificación del control de calidad.

15 La información codificada en o asociada con un identificador también puede usarse, por ejemplo, para determinar si el componente asociado con el identificador (por ejemplo, un casete) es auténtico o falso. En algunas modalidades, la determinación de la presencia de un componente falsificado provoca el bloqueo del sistema. En un ejemplo, el identificador puede contener un código de identidad único. En este ejemplo, el
20 software o analizador de control del proceso no permitiría el inicio del sistema (por ejemplo, el sistema puede estar deshabilitado) si se detecta un código de identidad extraño o no coincidente (o ningún código de identidad).

En determinadas modalidades, la información obtenida de un identificador o asociada con él puede usarse
25 para verificar la identidad de un cliente a quien se vende el casete y/o analizador o para quien se va a realizar un proceso biológico, químico o farmacéutico. En algunos casos, la información obtenida de un identificador o asociada con él se usa como parte de un proceso de recopilación de datos para solucionar los problemas de un sistema. El identificador también puede contener o estar asociado con la información, tales como las historiales del lote, procesos de ensamblaje y diagramas de instrumentación (P e ID), historiales de resolución
30 de problemas, entre otros. La resolución de los problemas de un sistema se puede lograr, en algunos casos, mediante acceso remoto o incluir el uso de un software de diagnóstico.

En una modalidad, el analizador incluye una interfaz del usuario, que puede colocarse dentro de la carcasa y configurarse para que un usuario introduzca la información en el analizador de muestras. En una modalidad,
35 la interfaz del usuario es una pantalla táctil.

La pantalla táctil puede guiar al usuario a través del funcionamiento del analizador, al proporcionar el texto y/o las instrucciones gráficas para el uso del analizador. La interfaz del usuario de la pantalla táctil puede, por ejemplo, guiar al usuario para que inserte el casete en el analizador. Luego, puede guiar al usuario para que
40 ingrese el nombre del paciente u otra fuente/número de identificación del paciente en el analizador (por ejemplo, la edad, los resultados de un examen DRE, etc.). Se apreciará que la información del paciente, tales como el nombre, la fecha de nacimiento y/o el número de identificación del paciente, se puede introducir en la interfaz del usuario de la pantalla táctil para identificar al paciente. La pantalla táctil puede indicar la cantidad de tiempo que queda para completar el análisis de la muestra. La interfaz del usuario de la pantalla táctil puede luego
45 ilustrar los resultados del análisis de la muestra junto con el nombre del paciente u otra información de identificación.

En otra modalidad, la interfaz del usuario puede configurarse de manera diferente, tales como con una pantalla LCD y un solo botón para desplazarse por el menú. En otra modalidad, la interfaz del usuario puede incluir
50 simplemente un botón de inicio para activar el analizador. En otras modalidades, la interfaz del usuario de dispositivos independientes separados (tales como un teléfono inteligente o una computadora móvil) puede usarse para interactuar con el analizador.

El analizador descrito anteriormente puede usarse de diversas formas para procesar y analizar una muestra colocada dentro del analizador. En una modalidad particular, una vez que un componente mecánico configurado para interactuar con el casete indica que el casete está correctamente cargado en el analizador, el lector de identificación lee e identifica la información asociada con el casete. El analizador puede configurarse para comparar la información con los datos almacenados en un sistema de control para asegurar que tiene información de la calibración para esta muestra en particular. En el caso de que el analizador no tenga la
60 información adecuada de la calibración, el analizador puede generar una solicitud al usuario para cargar la información específica necesaria. El analizador también se puede configurar para revisar la información de la fecha de vencimiento asociada con el casete y cancelar el análisis si la fecha de vencimiento ha pasado.

En una modalidad, una vez que el analizador ha determinado que se puede analizar el casete, se puede
65 configurar una fuente de flujo del fluido, tal como el colector de vacío para entrar en contacto con el casete para asegurar un sello hermético alrededor del puerto de vacío y los puertos de ventilación. En una modalidad,

el sistema óptico puede tomar medidas iniciales para obtener lecturas de referencia. Estas lecturas de referencia pueden tomarse tanto con las fuentes de luz activadas como desactivadas.

5 Para iniciar el movimiento de la muestra, puede activarse el sistema de vacío, lo que puede cambiar rápidamente la presión dentro de uno o más canales (por ejemplo, reducirse a aproximadamente -30 kPa). Esta reducción de la presión dentro del canal puede conducir la muestra al interior de un canal y a través de cada una de las regiones de análisis 709A-709D (véase la Figura 10). Una vez que la muestra alcanza la región de análisis final 709D, la muestra puede continuar fluyendo hacia la región de contención de líquido 717.

10 En un conjunto particular de modalidades, el analizador de muestras de microfluidos se usa para medir el nivel del iPSA, fPSA, tPSA y/o hK2 en una muestra de sangre. En algunas modalidades, pueden usarse tres, cuatro, cinco, seis o más regiones de análisis (por ejemplo, las regiones de análisis 709A-709D) para analizar la muestra. Por ejemplo, en una primera región de análisis, las paredes del canal pueden bloquearse con una proteína de bloqueo (tal como la albúmina de suero bovino), de manera que poca o ninguna proteína en la muestra de sangre se adhiera a las paredes de la región de análisis (excepto quizás alguna unión no específica que puede ser eliminada por lavado). Esta primera región de análisis puede actuar como control negativo.

20 En una segunda región de análisis, las paredes del canal pueden recubrirse con una gran cantidad predeterminada de un antígeno específico de la próstata (PSA) para actuar como un control alto o positivo. A medida que la muestra de sangre pasa por la segunda región de análisis, es posible que poca o ninguna proteína del PSA en la sangre se adhiera a las paredes del canal. Los anticuerpos de detección conjugados con oro en la muestra pueden disolverse desde el interior del tubo conector de fluidos 722 o pueden fluir desde cualquier otra ubicación adecuada. Es posible que estos anticuerpos aún no estén unidos al PSA en la muestra y, por lo tanto, pueden unirse al PSA en las paredes del canal para actuar como un control alto o positivo.

25 En una tercera región de análisis, las paredes del canal pueden recubrirse con un anticuerpo de captura para el iPSA (por ejemplo, un anticuerpo anti-iPSA), que puede unirse a un epítipo diferente en la proteína PSA que el anticuerpo señal conjugado con oro. A medida que la muestra de sangre fluye a través de la tercera región de análisis, las proteínas iPSA en la muestra de sangre pueden unirse al anticuerpo anti-iPSA de una manera proporcional a la concentración de estas proteínas en la sangre.

30 En una cuarta región de análisis, las paredes del canal pueden recubrirse con un anticuerpo de captura para el fPSA (por ejemplo, un anticuerpo anti-fPSA), que puede unirse a un epítipo diferente en la proteína PSA que el anticuerpo señal conjugado con oro. A medida que la muestra de sangre fluye a través de la cuarta región de análisis, las proteínas fPSA en la muestra de sangre pueden unirse al anticuerpo anti-fPSA de una manera que es proporcional a la concentración de estas proteínas en la sangre.

40 En una quinta región de análisis, las paredes del canal pueden recubrirse con un anticuerpo de captura para el tPSA (por ejemplo, un anticuerpo anti-tPSA), que puede unirse a un epítipo diferente en la proteína PSA que el anticuerpo señal conjugado con oro. A medida que la muestra de sangre fluye a través de la quinta región de análisis, las proteínas tPSA en la muestra de sangre pueden unirse al anticuerpo anti-tPSA de una manera que es proporcional a la concentración de estas proteínas en la sangre.

45 Opcionalmente, en una sexta región de análisis, las paredes del canal pueden recubrirse con un anticuerpo de captura para la hK2 (por ejemplo, un anticuerpo anti-hK2), que puede unirse a un epítipo diferente en la proteína que el anticuerpo señal conjugado con oro. A medida que la muestra de sangre fluye a través de la sexta región de análisis, las proteínas hK2 en la muestra de sangre pueden unirse al anticuerpo anti-hK2 de una manera proporcional a la concentración de estas proteínas en la sangre.

50 Puede usarse un anticuerpo de detección, tal como un anticuerpo marcado con oro que sea anti-PSA y anti-hK2 para detectar cada uno de entre el iPSA, fPSA, tPSA y/o hK2. En otras modalidades, sin embargo, puede usarse una mezcla de los anticuerpos marcados con oro, tales como un anticuerpo anti-hK2 marcado con oro, un anticuerpo anti-PSA marcado con oro y/o un anticuerpo anti-iPSA marcado con oro para la detección. En algunas modalidades, los anticuerpos de detección conjugados con oro en la muestra pueden disolverse desde el interior del tubo conector de fluidos 722 o pueden fluir desde cualquier otra ubicación adecuada.

60 En algunos casos, las mediciones de una región que analiza el puede usarse no solo para determinar la concentración de un analito en una muestra, sino también como control. Por ejemplo, se puede establecer una medición de umbral en una fase temprana de la amplificación. Las mediciones por encima de este valor (o más abajo de este valor) pueden indicar que la concentración del analito está fuera del intervalo deseado para el ensayo. Esta técnica puede usarse para identificar, por ejemplo, si se está produciendo un Efecto de Gancho por Dosis Alta durante el análisis, es decir, cuando una concentración muy alta del analito da una lectura artificialmente baja.

65 En otras modalidades, pueden proporcionarse diferentes números de regiones de análisis y un análisis puede incluir opcionalmente más de una región de análisis que realmente prueba la muestra. Pueden usarse regiones

de análisis adicionales para medir los analitos adicionales de modo que el sistema pueda realizar ensayos multiplex simultáneamente con una sola muestra.

En una modalidad particular, se necesitan aproximadamente ocho minutos para que una muestra de sangre de un microlitro fluya a través de las cuatro regiones de análisis. El inicio de este análisis se puede calcular cuando la presión dentro del canal es de aproximadamente -30 kPa. Durante este tiempo, el sistema óptico mide la transmisión de luz para cada región de análisis y, en una modalidad, estos datos pueden transmitirse a un sistema de control aproximadamente cada 0,1 segundos. Mediante el uso de los valores de referencia, estas medidas se pueden convertir mediante el uso de las siguientes fórmulas:

$$\text{Transmisión} = (I - I_d) / (I_r - I_d) \quad (1)$$

donde:

I = la intensidad de la luz transmitida a través de una región de análisis en un momento dado

I_d = la intensidad de la luz transmitida a través de una región de análisis con la fuente de luz apagada

I_r = una intensidad de referencia (es decir, la intensidad de la luz transmitida en una región de análisis con la fuente de luz activada o antes del inicio de un análisis cuando solo hay aire en el canal

y

$$\text{Densidad Óptica} = -\log(\text{Transmisión}) \quad (2)$$

Por lo tanto, mediante el uso de estas fórmulas, se puede calcular la densidad óptica en una región de análisis.

La Figura 13 es un diagrama de bloques 900 que ilustra cómo un sistema de control 550 (véase la Figura 12) puede asociarse operativamente con una variedad de componentes diferentes de acuerdo con una modalidad. Los sistemas de control descritos en la presente descripción se pueden implementar de numerosas formas, tales como con hardware o microprograma dedicado, mediante el uso de un procesador que se programa mediante el uso de un microcódigo o software para realizar las funciones enumeradas anteriormente o cualquier combinación adecuada de los anteriores. Un sistema de control puede controlar una o más operaciones de un solo análisis (por ejemplo, para una reacción biológica, bioquímica o química) o de análisis múltiples (separados o interconectados). Por ejemplo, el sistema de control puede colocarse dentro de la carcasa del analizador y puede configurarse para comunicarse con un lector de identificación, la interfaz del usuario, la fuente de flujo del fluido, el sistema óptico y/o el sistema de regulación de la temperatura para analizar una muestra en el casete.

En una modalidad, el sistema de control incluye al menos dos procesadores, incluido un procesador en tiempo real que controla y monitorea todos los subsistemas que interactúan directamente con el casete. En una modalidad, en un intervalo de tiempo particular (por ejemplo, cada 0,1 segundos), este procesador se comunica con un segundo procesador de nivel superior que se comunica con el usuario a través de la interfaz del usuario y/o el subsistema de comunicación (discutido más abajo) y dirige la operación del analizador (por ejemplo, determina cuándo comenzar a analizar una muestra e interpreta los resultados). En una modalidad, la comunicación entre estos dos procesadores se produce a través de un bus de comunicación en serie. Se apreciará que, en otra modalidad, el analizador puede incluir solo un procesador o más de dos procesadores, ya que la invención no está tan limitada.

En una modalidad, el analizador es capaz de interactuar con los dispositivos externos y puede, por ejemplo, incluir los puertos para la conexión con una o más unidades de comunicación externas. La comunicación externa se puede lograr, por ejemplo, mediante comunicación USB. Por ejemplo, como se muestra en la Figura 13, el analizador puede enviar los resultados de un análisis de la muestra a una impresora USB 901 o a una computadora 902. Adicionalmente, el flujo de datos producido por el procesador en tiempo real puede enviarse a una computadora o un lápiz de memoria USB 904. En algunas modalidades, una computadora también puede controlar directamente el analizador a través de una conexión USB. Además, hay otros tipos de opciones de comunicación disponibles, ya que la presente invención no está limitada en este respecto. Por ejemplo, la comunicación Ethernet, Bluetooth y/o WI-FI con el analizador se puede establecer a través del procesador.

Los métodos de cálculo, etapas, simulaciones, algoritmos, sistemas y elementos del sistema descritos en la presente descripción pueden implementarse mediante el uso de un sistema de control implementado por el ordenador, tal como las diversas modalidades de los sistemas implementados por el ordenador que se describen más abajo. Los métodos, pasos, sistemas y elementos de sistema aquí descritos no están limitados en su implementación a ningún sistema informático específico descrito, ya que pueden utilizarse muchas otras máquinas diferentes.

El sistema de control implementado por el ordenador puede ser parte o acoplado en asociación operativa con un analizador de muestras y, en algunas modalidades, configurarse y/o programarse para controlar y ajustar los parámetros operativos del analizador de muestras, así como también analizar y calcular los valores, como se describió anteriormente. En algunas modalidades, el sistema de control implementado por el ordenador puede enviar y recibir las señales de referencia para establecer y/o controlar los parámetros de operación del analizador de muestras y, opcionalmente, otro aparato del sistema. En otras modalidades, el sistema implementado por el ordenador puede estar separado y/o ubicado de forma remota con respecto al analizador de muestras y puede configurarse para recibir los datos de uno o más aparatos analizadores de muestras remotos a través de medios indirectos y/o portátiles, tales como los dispositivos portátiles de almacenamiento de datos electrónicos, tales como los discos magnéticos o mediante la comunicación a través de una red informática, tales como la Internet o una intranet local.

El sistema de control implementado por el ordenador puede incluir varios componentes y circuitos conocidos, que incluyen una unidad de procesamiento (es decir, un procesador), un sistema de memoria, los dispositivos y las interfaces de entrada y salida (por ejemplo, un mecanismo de interconexión), así como también otros componentes, tales como la circuitería de transporte (por ejemplo, uno o más buses), un subsistema de entrada/salida (I/O) de datos de audio y video, hardware de propósito especial, así como también otros componentes y circuitería, como se describe más abajo con más detalle. Además, el sistema informático puede ser un sistema informático multiprocesador o puede incluir varias computadoras conectados a través de una red informática.

El sistema de control implementado por el ordenador puede incluir un procesador, por ejemplo, un procesador disponible comercialmente, tales como uno de la serie x86, los procesadores Celeron y Pentium, disponibles de Intel, los dispositivos similares de AMD y Cyrix, los microprocesadores de la serie 680X0 disponibles de Motorola, el microprocesador PowerPC de IBM y los procesadores ARM. Muchos otros procesadores están disponibles y el sistema del ordenador no está limitado a un procesador particular.

Un procesador típicamente ejecuta un programa llamado sistema operativo, del cual WindowsNT, Windows95 o 98, Windows 7, Windows 8, UNIX, Linux, DOS, VMS, MacOS y OSX e iOS son ejemplos, que controla la ejecución de otros programas del ordenador y proporciona programación, depuración, control de entrada/salida, contabilidad, compilación, asignación de almacenamiento, gestión de datos y gestión de memoria, control de las comunicaciones y los servicios relacionados. El procesador y el sistema operativo juntos definen una plataforma informática para la que se escriben los programas de aplicación en lenguajes de programación de alto nivel. El sistema de control implementado en el ordenador no está limitado a una plataforma de ordenador particular.

El sistema de control implementado por el ordenador puede incluir un sistema de memoria, que típicamente incluye un medio de grabación no volátil legible y escribible por el ordenador, del cual son ejemplos un disco magnético, un disco óptico, una memoria flash y una cinta. Un medio de grabación de este tipo puede ser extraíble, por ejemplo, un disquete, un CD de lectura/escritura o un lápiz de memoria o puede ser permanente, por ejemplo, un disco duro.

Un medio de grabación de este tipo almacena las señales, típicamente en forma binaria (es decir, una forma interpretada como una secuencia de uno y ceros). Un disco (por ejemplo, magnético u óptico) tiene una serie de pistas, en las que se pueden almacenar tales señales, típicamente en forma binaria, es decir, una forma interpretada como una secuencia de unos y ceros. Tales señales pueden definir un programa de software, por ejemplo, un programa de aplicación, para ser ejecutado por el microprocesador o la información para ser procesada por el programa de aplicación.

El sistema de memoria del sistema de control implementado por el ordenador también puede incluir un elemento de memoria de circuito integrado, que típicamente es una memoria volátil de acceso aleatorio, tales como una memoria dinámica de acceso aleatorio (DRAM) o una memoria estática (SRAM). Típicamente, en funcionamiento, el procesador hace que los programas y los datos se lean desde el medio de grabación no volátil en el elemento de memoria del circuito integrado, lo que típicamente permite un acceso más rápido a las instrucciones y datos del programa por parte del procesador que el medio de grabación no volátil.

El procesador generalmente manipula los datos dentro del elemento de memoria del circuito integrado de acuerdo con las instrucciones del programa y luego copia los datos manipulados al medio de grabación no volátil después de que se completa el procesamiento. Se conocen diversos mecanismos para gestionar el movimiento de los datos entre el medio de grabación no volátil y el elemento de memoria del circuito integrado y el sistema de control implementado por ordenador que implementa los métodos, pasos, sistemas y elementos de sistema descritos anteriormente en relación con la FIG. 13 no está limitado a ello. El sistema de control implementado por ordenador no se limita a un sistema de memoria particular.

Al menos parte de tal sistema de memoria descrito anteriormente puede usarse para almacenar una o más estructuras de datos (por ejemplo, tablas de consulta) o ecuaciones descritas anteriormente. Por ejemplo, al

menos parte del medio de grabación no volátil puede almacenar al menos parte de una base de datos que incluye una o más de tales estructuras de datos. Tal base de datos puede ser cualquiera de una variedad de tipos de bases de datos, por ejemplo, un sistema de archivos que incluye una o más estructuras de datos de archivos planos donde los datos se organizan en unidades de datos separadas por delimitadores, una base de datos relacional donde los datos se organizan en unidades de datos almacenados en tablas, una base de datos orientada a objetos donde los datos se organizan en unidades de datos almacenadas como objetos, otro tipo de base de datos o cualquier combinación de los mismos.

El sistema de control implementado por el ordenador puede incluir un subsistema de I/O de datos de audio y video. Una porción de audio del subsistema puede incluir un convertidor de analógico a digital (A/D), que recibe la información de audio analógica y la convierte en información digital. La información digital se puede comprimir mediante el uso de los sistemas de compresión conocidos para su almacenamiento en el disco duro para usar en otro momento. Una porción de video típica del subsistema de I/O puede incluir un compresor/descompresor de imágenes de video, muchos de los cuales son conocidos en la técnica. Tales compresores/descompresores convierten la información analógica de video en información digital comprimida y viceversa. La información digital comprimida puede almacenarse en el disco duro para su uso posterior.

El sistema de control implementado por el ordenador puede incluir uno o más dispositivos de salida. Los dispositivos de salida de ejemplo incluyen una pantalla de tubo de rayos catódicos (CRT), las pantallas de cristal líquido (LCD) y otros dispositivos de salida de video, impresoras, dispositivos de comunicación, tales como un módem o interfaz de red, dispositivos de almacenamiento, tales como un disco o cinta y los dispositivos de salida de audio, tales como un altavoz.

El sistema de control implementado por el ordenador también puede incluir uno o más dispositivos de entrada. Los dispositivos de entrada de ejemplo incluyen un teclado, teclado numérico, control del cursor, mouse, lápiz y tableta, dispositivos de comunicación, tales como los descritos anteriormente y dispositivos de entrada de datos, tales como los sensores y los dispositivos de captura de audio y video. El sistema de control implementado por ordenador no se limita a los dispositivos de entrada o salida descritos en el presente documento.

Se apreciará que pueden usarse uno o más de cualquier tipo de sistema de control implementado por el ordenador para implementar diversas modalidades descritas en la presente descripción. Los aspectos de la invención pueden implementarse en el hardware, software o microprograma o cualquier combinación de estos. El sistema de control implementado por el ordenador puede incluir un hardware de propósito especial especialmente programado, por ejemplo, un circuito integrado de aplicación específica (ASIC). Tal hardware de propósito especial puede configurarse para implementar uno o más de los métodos, etapas, simulaciones, algoritmos, sistemas y elementos del sistema descritos anteriormente como parte del sistema de control implementado por el ordenador descrito anteriormente o como un componente independiente.

El sistema de control implementado por el ordenador y los componentes del mismo pueden ser programables mediante el uso de cualquiera de una variedad de uno o más lenguajes de programación de computadora adecuados. Tales lenguajes pueden incluir los lenguajes de programación procedimental, por ejemplo, C, Pascal, Fortran y BASIC, lenguajes orientados a objetos, por ejemplo, C++, Java y Eiffel y otros lenguajes, tal como un lenguaje de secuencia de comandos o incluso un lenguaje de ensamble.

Los métodos, etapas, simulaciones, algoritmos, sistemas y elementos del sistema pueden implementarse mediante el uso de cualquiera de una variedad de lenguajes de programación adecuados, incluidos lenguajes de programación de procedimientos, lenguajes de programación orientados a objetos, otros lenguajes y sus combinaciones, que pueden ser ejecutados por tal sistema informático. Tales métodos, etapas, simulaciones, algoritmos, sistemas y elementos del sistema pueden implementarse como módulos separados de un programa de computadora o pueden implementarse individualmente como programas separados de computadoras. Tales módulos y programas se pueden ejecutar en computadoras separadas.

Dichos métodos, etapas, simulaciones, algoritmos, sistemas y elementos del sistema ya sea individualmente o en combinación, pueden implementarse como un producto del programa de computadora materializado tangiblemente como señales legibles por el ordenador en un medio legible por el ordenador, por ejemplo, un medio de grabación no volátil, un elemento de memoria de circuito integrado o una combinación de los mismos. Para cada método, etapa, simulación, algoritmo, sistema o elemento del sistema, tal producto del programa de computadora puede comprender las señales legibles por el ordenador incorporadas de forma tangible en el medio legible por el ordenador que definen las instrucciones, por ejemplo, como parte de uno o más programas, que, como resultado de ser ejecutado por una computadora, le indica a el ordenador que realice el método, etapa, simulación, algoritmo, sistema o elemento del sistema.

Se apreciará que pueden formarse diversas modalidades con una o más de las características descritas anteriormente. Los aspectos y características anteriores pueden emplearse en cualquier combinación adecuada, ya que la presente invención no está limitada en este respecto. También se apreciará que los dibujos

ilustran varios componentes y características que pueden incorporarse en diversas modalidades. Para simplificar, algunos de los dibujos pueden ilustrar más de una característica o componente opcional. Sin embargo, la invención no se limita a las realizaciones específicas que se muestran en los dibujos. Debe reconocerse que la invención abarca las modalidades que pueden incluir sólo una porción de los componentes

5 ilustrados en cualquier figura de dibujo y/o también puede abarcar las modalidades que combinan los componentes ilustrados en las múltiples figuras de dibujos diferentes.

Otras realizaciones preferidas

10 Se apreciará que los métodos de la presente invención pueden incorporarse en forma de una variedad de realizaciones, de las cuales sólo unas pocas se describen en el presente documento. Será evidente para el experto en la materia que existen otras realizaciones y que no se apartan del espíritu de la invención. Por lo tanto, las realizaciones descritas son ilustrativas y no deben interpretarse como restrictivas.

15 Ejemplos

Ejemplo 1

Estudios

20

En total, se han realizado siete estudios separados mediante el uso del modelo estadístico. Los estudios comprenden un total de 7647 hombres con PSA elevado y 2270 cánceres con cinco estudios que constituyen una validación externa. Además, los estudios se diseñaron sistemáticamente para cubrir un amplio intervalo de escenarios clínicos. Quizás lo más importante es que uno de los estudios incluyó un enfoque de historia

25 natural. Debido a que el resultado de la biopsia es un criterio de valoración sustituto, lo que importa no es si un hombre tiene cáncer de próstata, sino si está en riesgo de un cáncer de próstata que afectará su vida, el estudio ideal tomaría sangre de los pacientes y luego los seguiría durante varios años en ausencia de más exámenes para determinar los resultados del cáncer de próstata. Hemos tenido la suerte de poder realizar un estudio de este tipo [Vickers, AJ, y otros, Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2011. 20(2): p. 255-61].

30

La cohorte de Malmo Diet and Cancer es parte de un gran estudio poblacional para identificar los factores de riesgo dietético de la mortalidad por cáncer, 11 063 hombres que vivían en la ciudad de Malmo, Suecia y nacidos entre 1923 y 1945, proporcionaron la muestra de sangre anticoagulada con EDTA 1991 - 1996. La verificación de los resultados se realizó a través del Registro Sueco del Cáncer. Los valores de los marcadores

35 se obtuvieron de las muestras de sangre archivadas analizadas en 2008 que han sido previamente validadas para obtener las medidas precisas de la calicreína a partir de la sangre almacenada [Ulmert, D., y otros, Clin. Chem., 2006. 52(2): p. 235-9]. La velocidad de las pruebas del PSA fue muy baja, con casi todos los casos diagnosticados clínicamente. Como tal, el estudio sigue la "historia natural" del cáncer de próstata en los hombres con PSA elevado. De 792 hombres que tenían un PSA de 3 ng/ml al inicio del estudio, 474 fueron

40 subsecuentemente diagnosticados con cáncer de próstata, con una mediana de seguimiento de 11 años. La discriminación predictiva del modelo estadístico del panel de cuatro calicreína fue significativamente más alta que el PSA tanto para la predicción de cualquier cáncer como para los cánceres avanzados (etapa T3 o T4 o metastásico) exactamente aquellos cánceres con mayor probabilidad de ser fatales. Como se encontró en estudios anteriores, aproximadamente el 50 % de los hombres tenían un riesgo de cáncer de próstata del

45 modelo de menos del 20 %. Estimamos que solo 13 hombres de cada 1000 con PSA elevado tendrían un riesgo < 20 % de acuerdo con el modelo, sin embargo, serían diagnosticados con cáncer dentro de los cinco años; solo 1 hombre tendría un cáncer avanzado en el momento del diagnóstico.

La cohorte de Malmo demuestra varias características importantes de nuestro modelo predictivo. Primero, constituye una validación externa. En segundo lugar, muestra que el modelo predice los cánceres

50 diagnosticados clínicamente que, por definición, no constituyen un sobrediagnóstico. En tercer lugar, el estudio sugiere que los cánceres no detectados por el modelo son los que se consideran sobrediagnósticos: los datos de nuestros estudios de biopsia indican que el panel clasifica como de bajo riesgo a aproximadamente 60 hombres de cada 1000 que tienen cánceres detectables por biopsia; los datos de la cohorte de Malmo sugieren

55 que menos de 1 de cada 4 de estos se volverían clínicamente evidentes después de 5 años de seguimiento. En cuarto lugar, demuestra que el modelo es muy predictivo del tipo de cánceres agresivos con más probabilidades de acortar la vida de un hombre. Finalmente, los datos indican que el uso clínico del modelo no conllevaría un daño importante en términos de diagnóstico tardío ya que solo 1 hombre de cada 1000 tendría un riesgo bajo de cáncer de próstata de acuerdo con el modelo, pero subsecuentemente sería diagnosticado

60 con cáncer avanzado. En la Tabla 2 se ofrece una descripción general de nuestros estudios sobre nuestro modelo.

En resumen, nuestros estudios preliminares se pueden resumir de la siguiente manera:

65 1. Múltiples formas de la calicreína en la sangre (PSA total, PSA libre, PSA intacto y hK2) pueden predecir el resultado de la biopsia de próstata en hombres con PSA total elevado.

2. Se construyó un modelo de predicción estadística basado en las cuatro calicreínas mediante el uso de un único conjunto de entrenamiento.

5 3. Esto integra la información de los nuevos marcadores con el examen clínico para dar una probabilidad predicha del cáncer.

4. En total, el panel se ha aplicado a más de 7500 hombres diagnosticados con cerca de 2250 cánceres, con cinco estudios separados que constituyen una validación externa.

10 5. El modelo es altamente discriminatorio para el cáncer de próstata, con un AUC mucho más alto que un modelo estadístico basado solo en los predictores estándar (PSA total, edad y tacto rectal).

15 6. El uso del modelo de predicción estadística de las cuatro calicreínas para determinar la derivación a biopsia de próstata mejoraría, de acuerdo con el análisis de decisiones, el resultado clínico en comparación con las estrategias alternativas, tal como realizar biopsias en todos los hombres.

20 7. El modelo resultó valioso en un intervalo de entornos clínicos diferentes: con y sin detección previa; con y sin biopsia previa; con y sin estudio clínico antes de la derivación a biopsia.

Tabla 2. Resumen de los estudios

Cohorte	Descripción	Tamaño de la muestra	Incremento en AUC: cuatro modelo de la calicreína frente al PSA	Incremento en AUC: cuatro panel de la calicreína más DRE modelo frente a PSA + DRE
Ronda 1 de Gotemburgo	No cribado hombres	740	Cualquier cáncer: 0,832 frente a 0,680 grado alto: 0,870 frente a 0,816	Cualquier cáncer: 0,836 frente a 0,724 grado alto: 0,903 frente a 0,868
Rondas subsecuentes de Gotemburgo	Hombres con una prueba del PSA previa	1241	Cualquier cáncer: 0,674 frente a 0,564 grado alto: 0,819 frente a 0,658	Cualquier cáncer: 0,697 frente a 0,622 grado alto: 0,828 frente a 0,717
Ronda 1 de Rotterdam	No cribado hombres	2186	Cualquier cáncer: 0,764 frente a 0,637 grado alto: 0,825 frente a 0,776	Cualquier cáncer: 0,776 frente a 0,695 grado alto: 0,837 frente a 0,806
Rondas subsecuentes de Rotterdam	Hombres con una prueba del PSA previa	1501	Cualquier cáncer: 0,713 frente a 0,557 grado alto: 0,793 frente a 0,699	Cualquier cáncer: 0,711 frente a 0,585 grado alto: 0,798 frente a 0,709
Biopsia previa negativa de Rotterdam	PSA persistentemente elevado después de una biopsia negativa	925	No evaluado	Cualquier cáncer: 0,681 frente a 0,584 grado alto: 0,873 frente a 0,764
Tarn	Trabajo clínico antes de la biopsia	262	No evaluado	Cualquier cáncer: 0,782 frente a 0,628 grado alto: 0,870 frente a 0,767
Malmo	Seguimiento longitudinal sin biopsia ni cribar	792	Cualquier cáncer: 0,751 frente a 0,654 cáncer avanzado*: 0,824 frente a 0,716	No evaluado
*T3/T4 o metastásico en el momento del diagnóstico				

25 8. La aplicación del modelo a las muestras de sangre archivadas en hombres seguidas longitudinalmente sin cribar demostró que los hombres con PSA elevado, pero con bajo riesgo de acuerdo con el modelo estadístico, tenían muy pocas probabilidades de desarrollar cánceres agresivos durante los subsecuentes 5 a 10 años. Por el contrario, los cánceres agresivos diagnosticados clínicamente fueron comunes en los hombres con alto riesgo de acuerdo con el modelo.

Un modelo ilustrativo usado en este ejemplo:

Edad: ingrese la edad en años

tPSA: ingrese el PSA total en ng/ml

5

fPSA: ingrese el PSA libre en ng/ml

iPSA: ingrese el PSA intacto en ng/ml

10

hK2: ingrese hK2 en ng/ml

Si tPSA $\geq$ 25 entonces usar:

$$L = 0,0733628 \times \text{tPSA} - 1,377984$$

15

$$\text{riesgo del c\u00e1ncer de pr\u00f3stata} = \exp(L) / [1 + \exp(L)]$$

Si tPSA < 25, luego use una de las dos ecuaciones m\u00e1s abajo, una que incorpore la informaci\u00f3n cl\u00ednica y la otra no:

20

Las variables del spline c\u00fabico se determinan de la siguiente manera:

Spline1_tPSA

25

$$= - (162 - 4,4503) / (162 - 3) \times (\text{tPSA} - 3)^3 + \max(\text{tPSA} - 4,4503, 0)^3$$

Spline2_tPSA

30

$$= - (162 - 6,4406) / (162 - 3) \times (\text{tPSA} - 3)^3 + \max(\text{tPSA} - 6,4406, 0)^3$$

Si el fPSA < 11,8, entonces el Spline1_fPSA

$$= - (11,8 - 0,84) / (11,8 - 0,25) \times (\text{fPSA} - 0,25)^3 + \max(\text{fPSA} - 0,84, 0)^3$$

35

Si el fPSA > 11,8, entonces el Spline1_fPSA

$$= (11,8 - 0,84) \times (0,84 - 0,25) \times (11,8 + 0,84 + 0,25 - 3 \times \text{fPSA})$$

Si el fPSA < 11,8, entonces el Spline2_fPSA

40

$$= - (11,8 - 1,29) / (11,8 - 0,25) \times (\text{fPSA} - 0,25)^3 + \max(\text{fPSA} - 1,29, 0)^3$$

Si el fPSA > 11,8, entonces el Spline2_fPSA

45

$$= (11,8 - 1,29) \times (1,29 - 0,25) \times (11,8 + 1,29 + 0,25 - 3 \times \text{fPSA})$$

Para el modelo de laboratorio:

Defina lo siguiente:

50

$$x1 = 0,0846726 \times \text{tPSA} + -,0211959 \times \text{Spline1_tPSA} + ,0092731 \times \text{Spline2_tPSA}$$

$$x2 = -3,717517 \times \text{fPSA} - 0,6000171 \times \text{Spline1_fPSA} + 0,275367 \times \text{Spline2_fPSA}$$

55

$$x3 = 3,968052 \times \text{iPSA}$$

$$x4 = 4,508231 \times \text{hK2}$$

entonces:

60

$$L = -1,735529 + 0,0172287 \times \text{Edad} + x1 + x2 + x3 + x4$$

$$\text{riesgo del c\u00e1ncer de pr\u00f3stata} = \exp(L) / [1 + \exp(L)]$$

65

Esto da el riesgo del c\u00e1ncer de pr\u00f3stata en ausencia de cualquier informaci\u00f3n cl\u00ednica. Asumimos que, si este riesgo es alto, el m\u00e9dico le pedir\u00e1 al paciente que se presente para un examen cl\u00ednico y un tacto rectal digital.

El siguiente modelo entonces se ejecuta dos veces, con el DRE codificado como 0 o 1, para dar riesgos en dependencia de si el DRE es normal o anormal respectivamente.

Defina lo siguiente:

5

$$x1 = 0,0637121 \times \text{tPSA} - 0,0199247 \times \text{Spline1_PSA} + 0,0087081 \times \text{Spline2_tPSA}$$

$$x2 = -3,460508 \times \text{fPSA} - 0,4361686 \times \text{Spline1_fPSA} + 0,1801519 \times \text{Spline2_fPSA}$$

10 $x3 = 4,014925 \times \text{iPSA}$

$$x4 = 3,523849 \times \text{hK2}$$

Entonces el riesgo si el DRE es positivo es:

15

$$L = -1,373544 + 0,9661025 + 0,0070077 \times \text{Edad} + x1 + x2 + x3 + x4$$

Para el DRE negativo:

20

$$L = -1,373544 + 0,0070077 \times \text{Edad} + x1 + x2 + x3 + x4$$

Determine el riesgo como:

$$\text{riesgo del c\u00e1ncer de pr\u00f3stata} = \exp(L) / [1 + \exp(L)]$$

25

Para la recalibraci\u00f3n:

La recalibraci\u00f3n puede usarse para los hombres con biopsia negativa previa, pero la recalibraci\u00f3n puede usarse en otras situaciones donde las velocidades de los eventos son muy diferentes de la velocidad del evento observado en la cohorte de Rotterdam (no cribada previamente) (29 %).

30

Defina lo siguiente:

$$\text{probabilidades_c\u00e1ncer} = \text{Pr(c\u00e1ncer)} / (1 - \text{Pr(c\u00e1ncer)})$$

35

$$\text{probabilidades_predicci\u00f3n} = \text{riesgo previsto de c\u00e1ncer} / (1 - \text{riesgo previsto de c\u00e1ncer})$$

Entonces:

40

$$\text{bayes_factor} = \text{probabilidades_c\u00e1ncer} / \text{probabilidades_predicci\u00f3n}$$

$$y_adj = y + \log(\text{factor de bayes})$$

$$\text{riesgo recalibrado del c\u00e1ncer de pr\u00f3stata} = \exp(y_adj) / [1 + \exp(y_adj)]$$

45

Ejemplo 2 (Prof\u00e9tico)

Este es un ejemplo prof\u00e9tico que describe el uso de un casete y un analizador para realizar un ensayo para detectar el iPSA, fPSA, tPSA y hK2 en una muestra mediante el dep\u00f3sito de plata sin electricidad sobre las part\u00edculas de oro que est\u00e1n asociadas con la muestra. La Figura 14 incluye una ilustraci\u00f3n esquem\u00e1tica de un sistema de microfluidos 1500 de un casete usado en este ejemplo. El casete ten\u00eda una forma similar al casete 520 mostrado en la Figura. 7.

50

El sistema de microfluidos inclu\u00eda las regiones de an\u00e1lisis 1510A-1510F, la regi\u00f3n de contenci\u00f3n de desechos 1512 y una salida 1514. Las regiones de an\u00e1lisis incluyeron un canal de microfluidos de 50 micras de profundidad y 120 micras de ancho, con una longitud total de 175 mm. El sistema de microfluidos tambi\u00e9n inclu\u00eda el canal de microfluidos 1516 y las ramificaciones de los canales 1518 y 1520 (con las entradas 1519 y 1521, respectivamente). Las ramas del canal 1518 y 1520 ten\u00edan 350 micras de profundidad y 500 micras de ancho. El canal 1516 estaba formado por los subcanales 1515, que ten\u00edan 350 micras de profundidad y 500 micras de ancho, ubicados en lados alternos del casete, conectados por orificios pasantes 1517 que ten\u00edan un di\u00e1metro de aproximadamente 500 micras. Aunque la Figura 14 muestra que los reactivos se almacenaron en un solo lado del casete, en otras modalidades, los reactivos se almacenaron en ambos lados del casete. El canal 1516 ten\u00eda una longitud total de 390 mm y las ramas 1518 y 1520 ten\u00edan una longitud de 360 mm cada una. Antes de sellar los canales, los anticuerpos de captura anti-PSA y anti-hK2 se unieron a las superficies del sistema de microfluidos en los segmentos de las regiones de an\u00e1lisis 1510 y 1511, como se describe con m\u00e1s detalle m\u00e1s abajo.

55

60

65

Antes del primer uso, el sistema de microfluidos se cargó con los reactivos líquidos que se almacenaron en el casete. Se cargaron una serie de 7 tapones de lavado 1523-1529 (agua o tampón, aproximadamente 2 microlitros cada uno) mediante el uso de una pipeta en los subcanales 1515 del canal 1516 mediante el uso de los orificios pasantes. Cada uno de los tapones de lavado se separó mediante tapones de aire. El fluido 1528, que contiene una solución de sal de plata, se cargó en el canal de ramificación a través del puerto 1519 mediante el uso de una pipeta. El fluido 1530, que contiene una solución reductora, se cargó en el canal de ramificación 1520 a través del puerto 1521. Cada uno de los líquidos mostrados se separó de los otros líquidos mediante tapones de aire. Los puertos 1514, 1519, 1521, 1536, 1539 y 1540 se sellaron con una cinta adhesiva que se puede quitar o perforar fácilmente. Como tal, los líquidos se almacenaron en el sistema de microfluidos antes del primer uso.

En el primer uso, los puertos 1514, 1519, 1521, 1536, 1539 y 1540 se abrieron cuando un usuario despegó una cinta que recubría la abertura de los puertos. Un tubo 1544 que contiene los anticuerpos liofilizados anti-PSA y anti-hK2 marcados con oro coloidal y al que se le añadieron 10 microlitros de la muestra de sangre (1522), se conectó a los puertos 1539 y 1540. El tubo era parte de un conector de fluido que tenía la forma y configuración mostradas en la Figura 7. Esto creó una conexión de fluidos entre la región de análisis 1510 y el canal 1516, que de cualquier otra manera estaban desconectados y no en comunicación de fluidos entre sí antes del primer uso.

El casete que incluye el sistema de microfluidos 1500 se insertó en una abertura de un analizador. La carcasa del analizador incluyó un brazo colocado dentro de la carcasa que estaba configurado para acoplarse a una superficie de leva en el casete. El brazo se extendió al menos parcialmente en la abertura de la carcasa de manera que cuando el casete se insertó en la abertura, el brazo se empujó lejos de la abertura a una segunda posición lo que permitió que el casete entrara en la abertura. Una vez que el brazo enganchó la superficie con leva hacia dentro del casete, el casete se colocó y se retuvo dentro de la carcasa del analizador y la presión del resorte evitó que el casete se deslizara fuera del analizador. El analizador detecta la inserción del casete por medio de un sensor de posición.

Se usó un lector de identificación (lector RFID) colocado dentro de la carcasa del analizador para leer una etiqueta RFID en el casete que incluye la información de identificación del lote. El analizador usó este identificador para hacer coincidir la información del lote (por ejemplo, información de la calibración, fecha de vencimiento del casete, verificación de que el casete es nuevo y el tipo de análisis/ensayo que se realizará en el casete) almacenada en el analizador. Se le pidió al usuario que introdujera la información sobre el paciente (del cual se obtuvo la muestra) en el analizador mediante el uso de la pantalla táctil. Una vez que el usuario verificó la información sobre el casete, el sistema de control inició el análisis.

El sistema de control incluía las instrucciones programadas para realizar el análisis. Para iniciar el análisis, se envió una señal a la electrónica que controla un sistema de vacío, que era parte del analizador y se usó para proporcionar el flujo del fluido. Un colector con anillos O se presionó contra la superficie del casete mediante un solenoide. Un puerto en el colector sellado (mediante un anillo O) al puerto 1536 del sistema de microfluidos del casete. Este puerto en el colector se conectó mediante un tubo a una válvula solenoide simple que estaba abierta a la atmósfera. Un puerto de vacío separado en el colector sellado (mediante un anillo O) al puerto 1514 del sistema de microfluidos del casete. Se aplicó un vacío de aproximadamente -30 kPa al puerto 1514. A lo largo del análisis, el canal que incluye la región de análisis 1510 colocada entre los puertos 1540 y 1514 tuvo una caída de la presión distinta de cero sustancialmente constante de aproximadamente -30 kPa. La muestra 1522 se hizo fluir en la dirección de la flecha 538 en cada una de las regiones de análisis 1510A-1510H. A medida que el fluido atravesaba las regiones de análisis, las proteínas PSA y hK2 de la muestra 1522 se capturaron por los anticuerpos anti-PSA y anti-hK2 inmovilizados en las paredes de la región de análisis, como se describe con más detalle más abajo. La muestra tardó aproximadamente 7-8 minutos en pasar a través de las regiones de análisis, después de lo cual la muestra restante se capturó en la región de contención de desechos 1512.

El inicio del análisis también implicó que el sistema de control enviara una señal a los detectores ópticos, que se colocaron adyacentes a cada una de las regiones de análisis 1510, para iniciar la detección. Cada uno de los detectores asociados con las regiones de análisis registró la transmisión de luz a través de los canales de las regiones de análisis. A medida que la muestra pasó por cada una de las regiones de análisis, se produjeron los picos. Los picos (y valles) medidos por los detectores son señales (o se convierten en señales) que se envían al sistema de control que compara las señales medidas con las señales de referencia o con los valores preprogramados en el sistema de control. El sistema de control incluía un conjunto preprogramado de instrucciones para proporcionar retroalimentación al sistema de microfluidos basado, al menos en parte, en la comparación de las señales/valores.

En una primera región de análisis 1510-A del dispositivo 1500 de la Figura 14, las paredes del canal de esta región de análisis se bloquearon con una proteína de bloqueo (Albúmina de Suero Bovino) antes del primer uso (por ejemplo, antes de sellar el dispositivo). Pocas o ninguna proteína en la muestra de sangre se unió a

las paredes de la región de análisis 1510-A (excepto quizás alguna unión no específica que puede eliminarse por lavado). Esta primera región de análisis actuó como control negativo.

5 En una segunda región de análisis 1510-B, las paredes del canal de esta región de análisis se recubrieron con una gran cantidad predeterminada de un antígeno específico de la próstata (PSA) antes del primer uso (por ejemplo, antes de sellar el dispositivo) para actuar como un control alto o positivo. A medida que la muestra de sangre pasó a través de la segunda región de análisis 1510-B, poca o ninguna proteína del PSA en la sangre se unió a las paredes del canal. Es posible que los anticuerpos señales conjugados con oro en la muestra aún no estén unidos al PSA en la muestra y, por lo tanto, pueden unirse al PSA en las paredes del canal para actuar como un control alto o positivo.

15 En una tercera región de análisis 1510-C, las paredes del canal de esta región de análisis se recubrieron con el anticuerpo de captura, un anticuerpo anti-iPSA, que se une a un epítipo diferente en la proteína iPSA que el anticuerpo señal conjugado con oro. Las paredes se recubrieron antes del primer uso (por ejemplo, antes de sellar el dispositivo). A medida que la muestra de sangre fluyó a través de la cuarta región de análisis durante el uso, las proteínas iPSA en la muestra de sangre se unieron al anticuerpo anti-iPSA de una manera que es proporcional a la concentración de estas proteínas en la sangre. Dado que la muestra, que incluía iPSA, también incluía los anticuerpos anti-iPSA marcados con oro acoplados al iPSA, el iPSA capturado en las paredes de la región de análisis formó un inmunocomplejo tipo sándwich.

20 En una cuarta región de análisis 1510-D, las paredes del canal de esta región de análisis se recubrieron con el anticuerpo de captura, un anticuerpo anti-fPSA, que se une a un epítipo diferente en la proteína fPSA que el anticuerpo señal conjugado con oro. Las paredes se recubrieron antes del primer uso (por ejemplo, antes de sellar el dispositivo). A medida que la muestra de sangre fluyó a través de la cuarta región de análisis durante el uso, las proteínas fPSA de la muestra de sangre se unieron al anticuerpo anti-fPSA de una manera que es proporcional a la concentración de estas proteínas en la sangre. Dado que la muestra, que incluía al fPSA, también incluía los anticuerpos anti-fPSA marcados con oro acoplados al fPSA, el fPSA capturado en las paredes de la región de análisis formó un inmunocomplejo tipo sándwich.

30 En una quinta región de análisis 1510-E, las paredes del canal de esta región de análisis se recubrieron con el anticuerpo de captura, un anticuerpo anti-tPSA, que se une a un epítipo diferente en la proteína tPSA que el anticuerpo señal conjugado con oro. Las paredes se recubrieron antes del primer uso (por ejemplo, antes de sellar el dispositivo). A medida que la muestra de sangre fluyó a través de la quinta región de análisis durante el uso, las proteínas tPSA en la muestra de sangre se unieron al anticuerpo anti-tPSA de una manera que es proporcional a la concentración de estas proteínas en la sangre. Dado que la muestra, que incluía al tPSA, también incluía los anticuerpos anti-tPSA marcados con oro acoplados al tPSA, el tPSA capturado en las paredes de la región de análisis formó un inmunocomplejo tipo sándwich.

40 Aunque pueden usarse los anticuerpos anti-iPSA, anti-fPSA y anti-tPSA marcados con oro, en otras modalidades pueden usarse para la detección los anticuerpos anti-PSA marcados con oro que se unen a cualquier proteína del PSA.

45 Las regiones de análisis primera, segunda, tercera, cuarta y quinta se formaron en una única capa del sustrato. Se formaron las regiones de análisis sexta (1510-F), séptima (1510-G) y octava (1510-H) en una capa de sustrato separada (1511).

50 En la sexta región de análisis 1510-F, las paredes del canal de esta región de análisis se recubrieron con el anticuerpo de captura, un anticuerpo anti-hK2, que se une a un epítipo diferente en la proteína hK2 que el anticuerpo señal conjugado con oro. Las paredes se recubrieron antes del primer uso (por ejemplo, antes de sellar el dispositivo). A medida que la muestra de sangre fluía a través de la sexta región de análisis durante el uso, las proteínas hK2 en la muestra de sangre se unieron al anticuerpo anti-hK2 de una manera que es proporcional a la concentración de estas proteínas en la sangre. Dado que la muestra, que incluía a la hK2, también incluía los anticuerpos anti-hK2 marcados con oro acoplados a hK2, la hK2 capturada en las paredes de la región de análisis formó un inmunocomplejo tipo sándwich.

55 La séptima región de análisis 1510-G puede usarse como un control negativo como se describió anteriormente para la región de análisis 1510-A. La octava región de análisis 1510-H puede usarse como un control alto o positivo como se describió anteriormente para la región de análisis 1510-B.

60 Opcionalmente, puede usarse una novena región de análisis (no mostrada) como un control bajo. En tal modalidad, las paredes del canal de esta región de análisis pueden recubrirse con una cantidad baja predeterminada del PSA antes del primer uso (por ejemplo, antes de sellar el dispositivo) para actuar como un control bajo. A medida que la muestra de sangre fluía a través de esta región de análisis, poca o ninguna proteína del PSA en la muestra se une a la pared del canal. Los anticuerpos señales conjugados con oro en la muestra pueden unirse al PSA en las paredes del canal para actuar como un control bajo.

Los fluidos de lavado 1523-1529 siguieron la muestra a través de las regiones de análisis 1510 hacia la región de contención de desechos 1512 en la dirección de la flecha 1538. A medida que los fluidos de lavado pasaron a través de las regiones de análisis, eliminaron los componentes restantes no unidos de la muestra. Cada tapón de lavado limpió los canales de las regiones de análisis, lo que proporciona una limpieza progresivamente más completa. El último líquido de lavado 1529 (agua) eliminó las sales que podrían reaccionar con las sales de plata (por ejemplo, cloruro, fosfato, azida).

Como se muestra en el gráfico ilustrado en la Figura 15, mientras los fluidos de lavado fluían a través de las regiones de análisis, cada uno de los detectores asociados con las regiones de análisis mide un patrón 1620 de picos y depresiones. Las depresiones correspondían a los tapones de lavado (que son líquidos claros y, por lo tanto, proporcionan la máxima transmisión de la luz). Los picos entre cada tapón representan el aire entre cada tapón de líquido transparente. Dado que el ensayo incluyó 7 tapones de lavado, están presentes 7 depresiones y 7 picos en el gráfico 1600. La primera depresión 1622 generalmente no es tan profunda como las otras depresiones 1624 dado que el primer tapón de lavado a menudo atrapa las células sanguíneas que quedan en el canal y, por lo tanto, no está completamente limpio.

El pico final de aire 1628 es mucho más largo que los picos anteriores porque no hubo tapones de lavado a continuación. Cuando un detector detecta la longitud de este pico de aire, se envía una o más señales al sistema de control que compara el período de tiempo de este pico con una señal de referencia preestablecida o con un valor de entrada que tiene una longitud particular. Si el período de tiempo del pico medido es lo suficientemente largo en comparación con la señal de referencia, el sistema de control envía una señal a la válvula de ventilación de control electrónico 1536 para accionar la válvula e iniciar la mezcla de los fluidos 1528 y 1530. (Tenga en cuenta que la señal del pico de aire 1628 puede combinarse con una señal que indique 1) la intensidad del pico; 2) donde este pico está colocado en función del tiempo y/o 3) una o más señales que indican que ya ha pasado una serie de picos 1620 de intensidad particular. De esta manera, el sistema de control distingue el pico de aire 1628 de otros picos de larga duración, tales como el pico 1610 de la muestra, por ejemplo, mediante el uso de un patrón de señales.)

Con referencia de nuevo a la Figura 14, para iniciar la mezcla, se cierra el solenoide conectado por el colector al puerto de ventilación 1536. Dado que el vacío permanece encendido y no puede entrar aire a través de la válvula de ventilación 1536, el aire entra al dispositivo a través de los puertos 1519 y 1521 (que están abiertos). Esto fuerza a los dos fluidos 1528 y 1530 en los dos canales de almacenamiento aguas arriba de la válvula de ventilación 1536 a moverse de manera sustancialmente simultánea hacia la salida 1514. Estos reactivos se mezclan en la intersección de los canales para formar un reactivo de amplificación (una solución de plata reactiva) que tiene una viscosidad de aproximadamente 1×10^{-3} Pa·s. La relación de los volúmenes de los fluidos 1528 y 1530 fue de aproximadamente 1:1. El reactivo de amplificación continuó a través del canal de almacenamiento aguas abajo, a través del tubo 1544, a través de las regiones de análisis 1510 y luego a la región de contención de desechos 1512. Después de un período de tiempo establecido (12 segundos), el analizador volvió a abrir la válvula de ventilación 1536 de manera que el aire fluye a través de la válvula de ventilación 1536 (en lugar de los puertos de ventilación). Esto dejó algo de reactivo en los canales de almacenamiento aguas arriba 1518 y 1520 del dispositivo. Esto también da como resultado un solo tapón de reactivo mezclado de amplificación. Los 12 segundos de cierre de la válvula de ventilación dan como resultado un tapón de amplificación de aproximadamente 50 μ L. (En lugar de una sincronización simple, otra forma de activar la reapertura de la válvula de ventilación sería detectar el reactivo de amplificación cuando ingresa por primera vez a las regiones de análisis.)

Debido a que el reactivo mezclado de amplificación es estable solo durante unos pocos minutos (generalmente menos de 10 minutos), la mezcla se realizó menos de un minuto antes de su uso en la región de análisis 1510. El reactivo de amplificación es un líquido transparente, por lo que cuando entra en las regiones de análisis, la densidad óptica es la más baja. A medida que el reactivo de amplificación pasó a través de las regiones de análisis, se depositó plata sobre las partículas de oro capturadas para aumentar el tamaño de los coloides para amplificar la señal. (Como indicó anteriormente, las partículas de oro pueden estar presentes en las regiones de análisis de control positivo alto y bajo y, en la medida en que el PSA y hK2 estén presentes en la muestra, en la región de análisis de prueba). La plata se puede depositar luego en la parte superior de la plata ya depositada, lo que deja cada vez más plata depositada en las regiones de análisis. Finalmente, la plata depositada reduce la transmisión de la luz a través de las regiones de análisis. La reducción de la luz transmitida es proporcional a la cantidad de plata depositada y puede estar relacionada con la cantidad de los coloides de oro capturados en las paredes del canal. En una región de análisis donde no se deposita plata (el control negativo por ejemplo o el área de prueba cuando la muestra no contiene ninguna de la proteína diana), no habrá aumento (o mínimo) en la densidad óptica. En una región de análisis con una deposición de plata significativa, la pendiente y el nivel final del patrón de la densidad óptica creciente serán altos. El analizador monitorea el patrón de esta densidad óptica durante la amplificación en el área de prueba para determinar la concentración del analito en la muestra. En una versión de la prueba, el patrón se monitorea dentro de los primeros tres minutos de amplificación. Se registró la densidad óptica en cada una de las regiones de análisis en función del tiempo y se muestran como las curvas 1640-1647 en la Figura 14. Estas curvas correspondían a las señales que se produjeron en las regiones de análisis. Después de tres minutos de amplificación, el

analizador detiene la prueba. No se registran más mediciones ópticas y el colector se desconecta del dispositivo.

- 5 A partir de las curvas, los valores (por ejemplo, las concentraciones) de los marcadores sanguíneos (por ejemplo, iPSA, tPSA, tPSA y/o hK2) se determinan mediante el uso de una computadora (por ejemplo, dentro del analizador). Los valores se envían a un procesador (que está en comunicación electrónica con el analizador) que está programado para evaluar un modelo de regresión logística (por ejemplo, como se describió en la presente descripción) basado, al menos en parte, en los valores recibidos para determinar una probabilidad del riesgo del cáncer de próstata en el paciente, una indicación de un volumen estimado de la glándula prostática y/o una indicación de una posibilidad de que una biopsia de cáncer de próstata sea positiva en el paciente.
- 10

- El resultado de la prueba se muestra en la pantalla del analizador y se comunica a una impresora, computadora o cualquier salida que el usuario haya seleccionado. El usuario puede eliminar el dispositivo del analizador y desecharlo. La muestra y todos los reactivos usados en el ensayo permanecen en el dispositivo. El analizador está listo para otra prueba.
- 15

- Este ejemplo profético muestra que el análisis de una muestra que contiene iPSA, fPSA, tPSA y/o hK2 se puede realizar en un solo sistema de microfluidos mediante el uso de un analizador que controla el flujo del fluido en el casete y mediante el uso de la retroalimentación de una o más señales medidas para modular el flujo del fluido. Este ejemplo profético también muestra que los resultados de dicho análisis pueden usarse para determinar una probabilidad del riesgo del cáncer de próstata en el paciente, una indicación de un volumen estimado de la glándula prostática y/o una indicación de la posibilidad de que una biopsia de cáncer de próstata será positiva en el paciente.
- 20

REIVINDICACIONES

1. Un método que comprende:

5 introducir una muestra en un dispositivo que comprende:

una primera región de análisis que comprende una primera pareja de unión; y

una segunda región de análisis que comprende un segundo socio de unión,

10 en donde el primer compañero de unión está adaptado para unirse con al menos uno de antígeno prostático específico libre, fPSA, antígeno prostático específico intacto, iPSA y PSA total, tPSA y

15 en donde el segundo compañero de unión está adaptado para unirse con al menos otro de fPSA, iPSA y tPSA, y

permitir que cualquiera de los fPSA, iPSA y/o tPSA de la muestra se una con la primera y/o segunda pareja de unión en la primera y segunda región de análisis;

20 determinar una característica de fPSA, iPSA y/o tPSA usando uno o más detectores asociados con el primero y regiones de segundo análisis;

25 ingresar la característica de fPSA, iPSA y/o tPSA en un procesador programado para evaluar un modelo de regresión logística basado en la información recibida de uno o más detectores para tomar una determinación asociada con el cáncer de próstata en una persona, en donde evaluar el modelo de regresión logística comprende:

seleccionar un primer modelo de regresión logística de una pluralidad de modelos de regresión logística cuando un valor de tPSA es igual o mayor que un umbral, y seleccionar un segundo modelo de regresión logística de una pluralidad de modelos de regresión logística cuando el valor de tPSA está por debajo del umbral, en donde el primer modelo de regresión logística comprende $L = \beta_0 + \beta_1(\text{Edad}) + \beta_2(\text{tPSA})$, y el segundo modelo de regresión logística usa un coeficiente diferente para cada una de una pluralidad de variables, en donde la pluralidad de variables incluye edad y al menos dos variables incluidas en la información recibida de uno o más detectores y se selecciona del grupo que consiste en fPSA, iPSA y tPSA;

35 determinar si el modelo de regresión logística seleccionado incluye todos los marcadores o menos de todos los marcadores;

40 en un caso en el que el modelo de regresión logística seleccionado incluye menos de todos los marcadores, determinar una probabilidad de una biopsia positiva para cáncer de próstata utilizando el primer modelo de regresión logística;

45 en un caso donde el modelo de regresión logística seleccionado incluye todos los marcadores, determinar una probabilidad de una biopsia positiva para cáncer de próstata utilizando el segundo modelo de regresión logística,

50 en donde un logit L, se determina multiplicando cada una de la pluralidad de variables en el modelo de regresión logística seleccionado por el valor del coeficiente correspondiente para producir variables escaladas, y sumando los valores de las variables escaladas y la probabilidad de una biopsia positiva de próstata. el cáncer se determina usando la ecuación,

$$\text{Probabilidad} = \frac{e^L}{1 + e^L}$$

55 2. El método de la reivindicación 1, en el que el primer compañero de unión está adaptado para unirse con tPSA.

3. El método de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que el segundo compañero de unión está adaptado para unirse con fPSA.

60 4. El método de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el primer compañero de unión es un anticuerpo de captura anti-tPSA.

5. El método de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el segundo compañero de unión es un anticuerpo de captura anti-fPSA.

65

6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además el uso de al menos un anticuerpo de detección que reconoce uno o más de iPSA, fPSA y tPSA.
- 5 7. El método de la reivindicación 6, en el que al menos un anticuerpo de detección comprende una etiqueta fluorescente.
8. El método de la reivindicación 6, en el que al menos un anticuerpo de detección comprende un primer anticuerpo de detección que reconoce un primer compañero de unión y un segundo anticuerpo de detección que reconoce un segundo compañero de unión
- 10 9. El método de la reivindicación 8, en el que el primer anticuerpo de detección comprende una primera etiqueta fluorescente y el segundo anticuerpo de detección el anticuerpo comprende una segunda etiqueta fluorescente.
- 15 10. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que uno o más detectores miden una señal seleccionada del grupo que consta de una señal óptica, una señal eléctrica y una señal magnética.
11. El método de la reivindicación 10, en el que la señal óptica es fluorescencia.
12. El método de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además generar la
- 20 determinación asociada con cáncer de próstata a un usuario.
13. El método de la reivindicación 12, en el que el usuario es un médico o un paciente.
14. El método de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el dispositivo comprende una tercera
- 25 región de análisis que comprende una tercer socio de unión adaptado para unirse a fPSA, iPSA y/o tPSA, opcionalmente en el que el dispositivo comprende un cuarto región de análisis que comprende un cuarto compañero de unión adaptado para unirse a hK2.

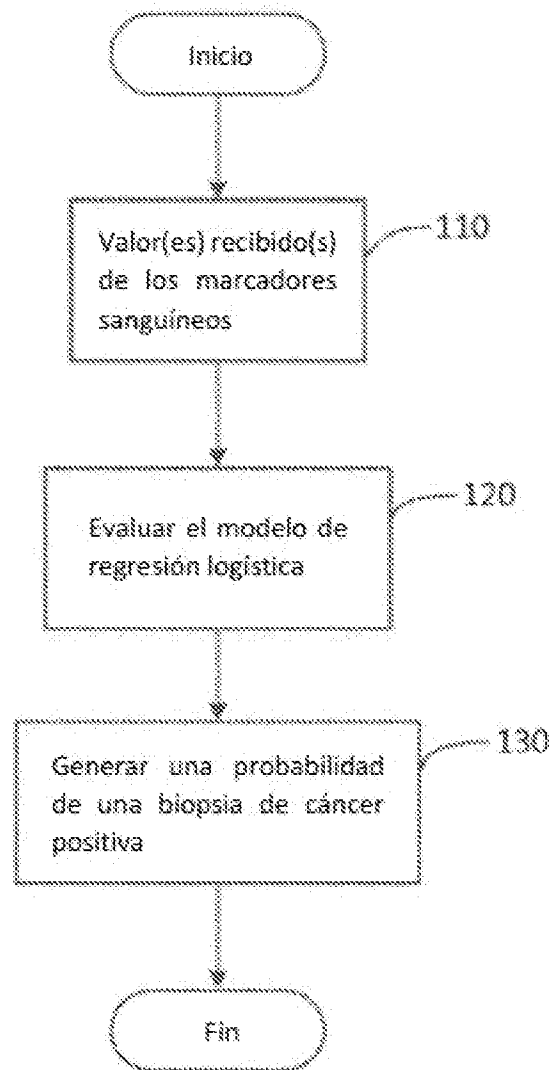


FIG. 1

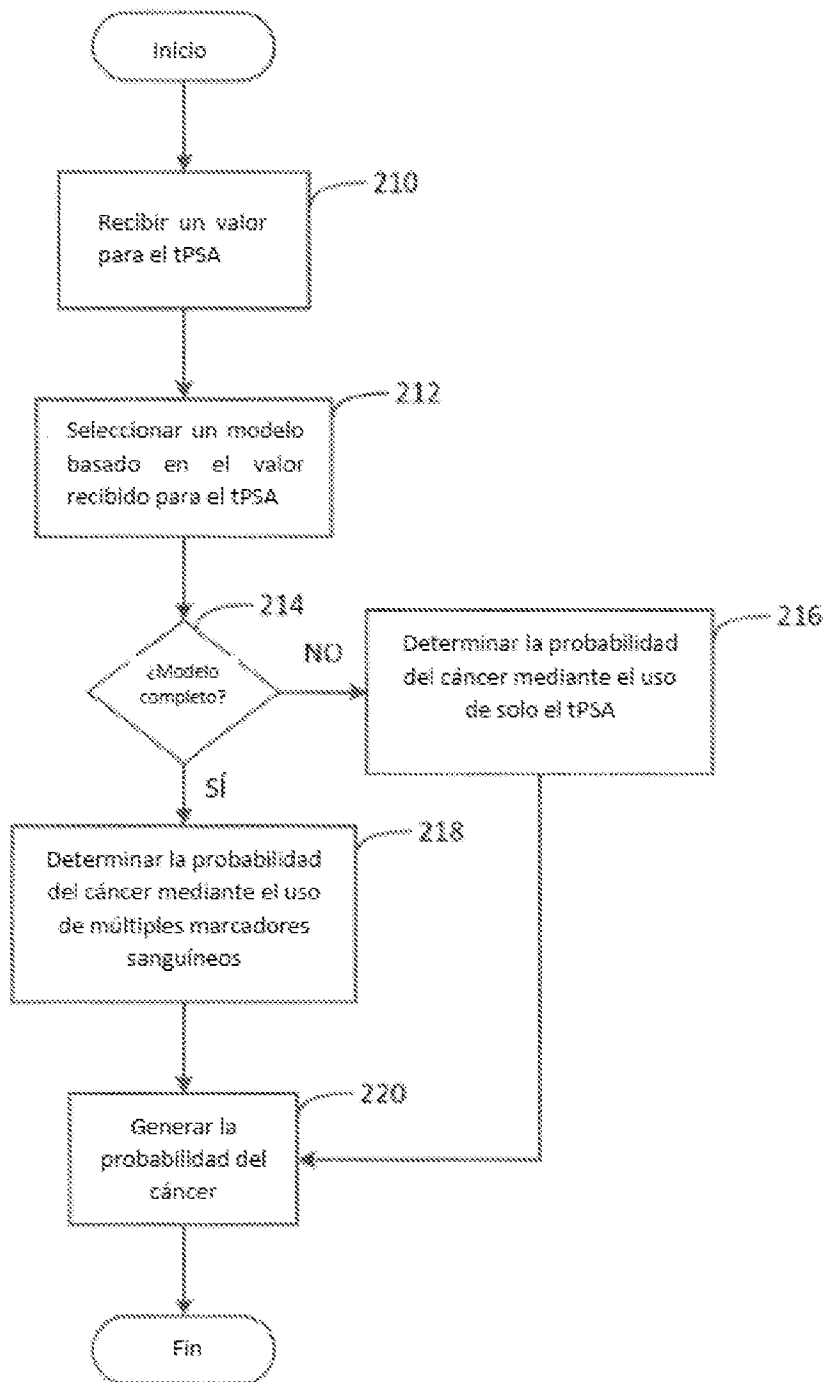


FIG. 2

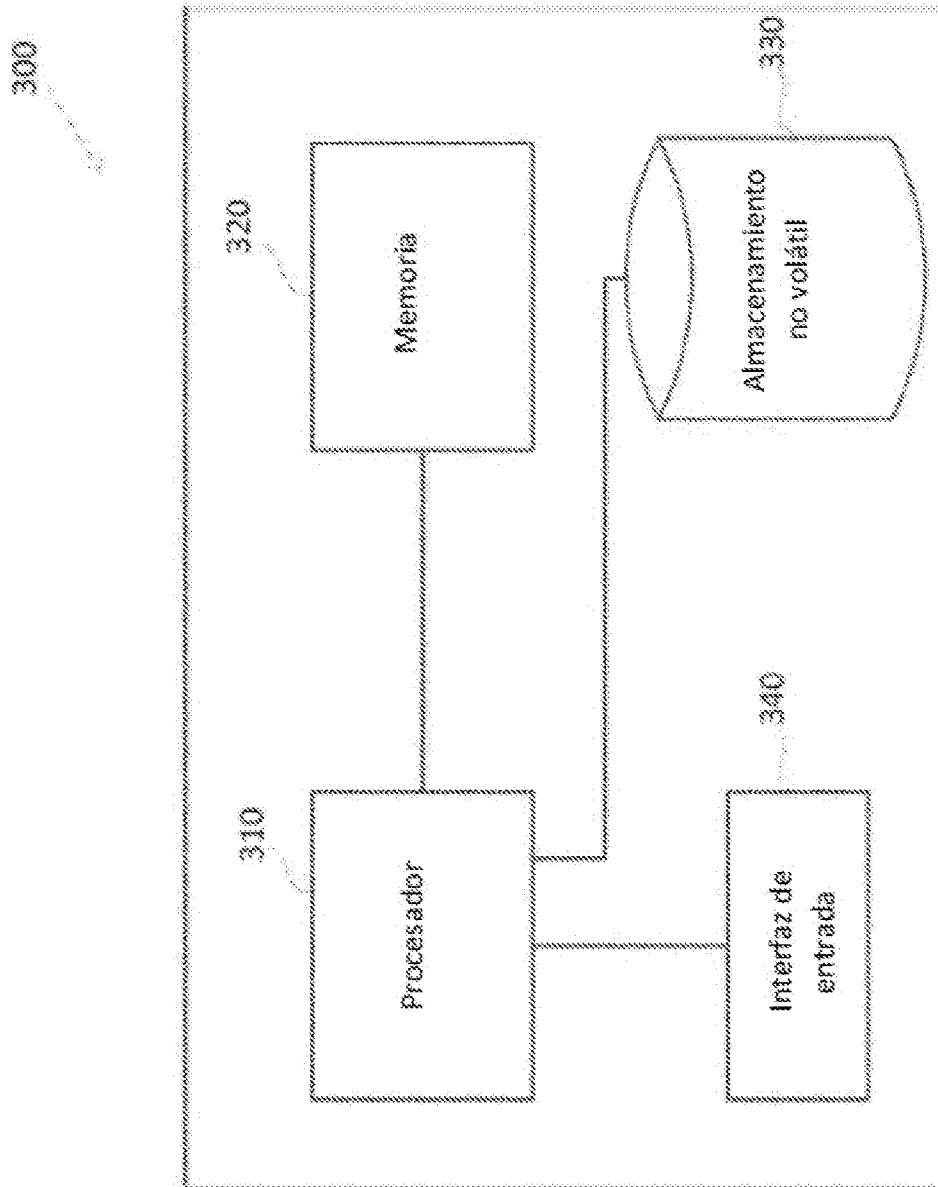


FIG. 3

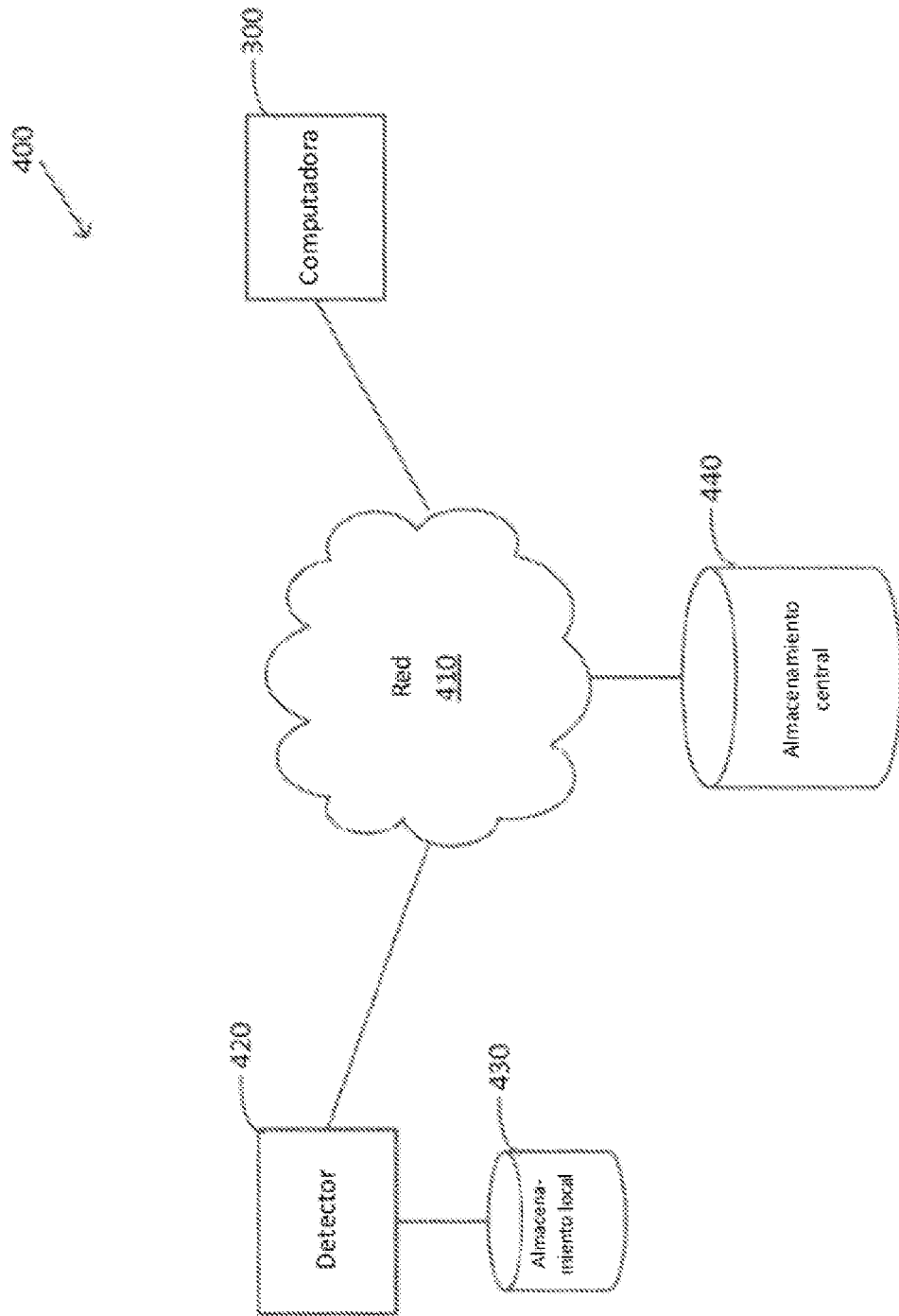


FIG. 4

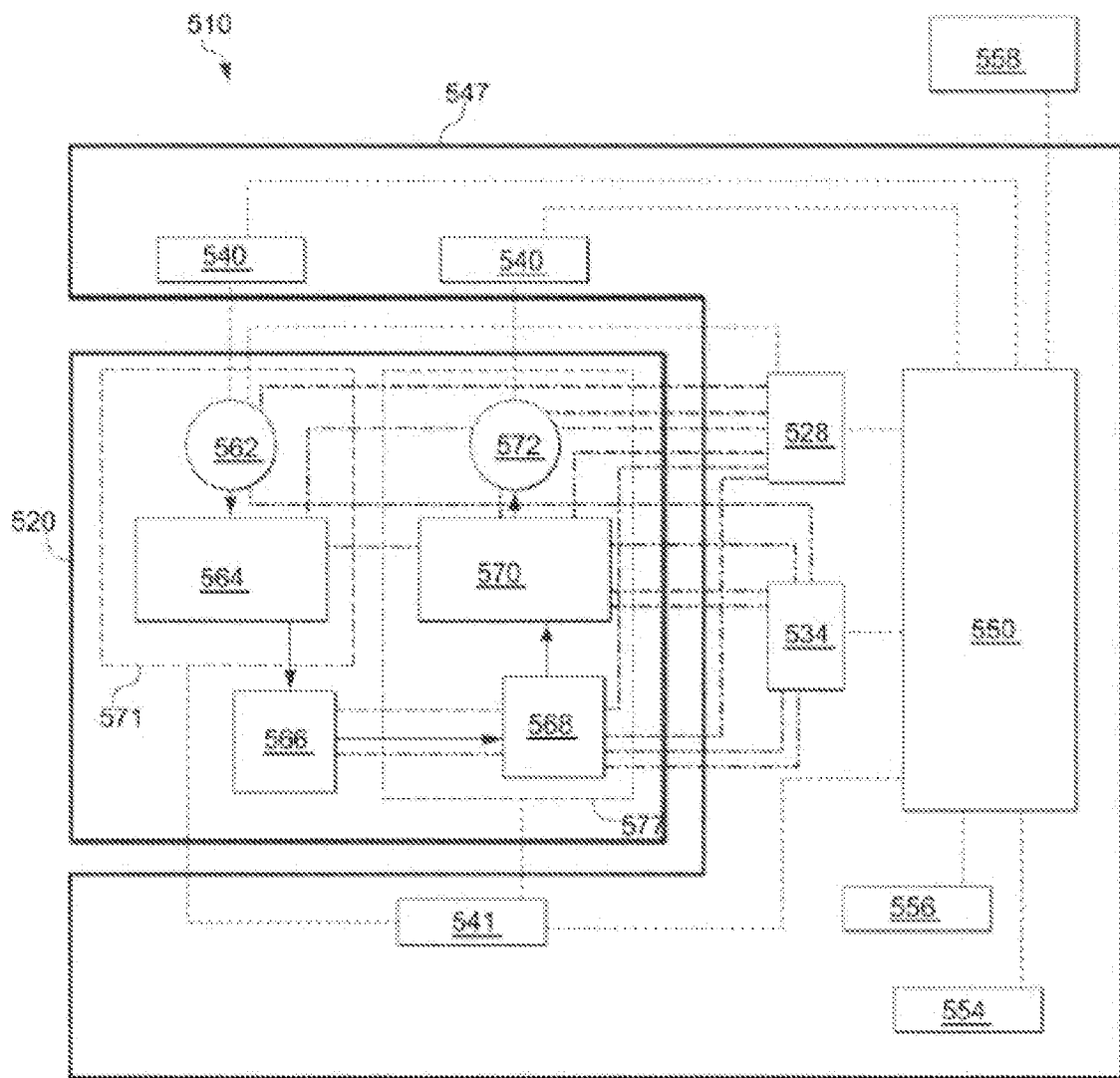


FIG. 5

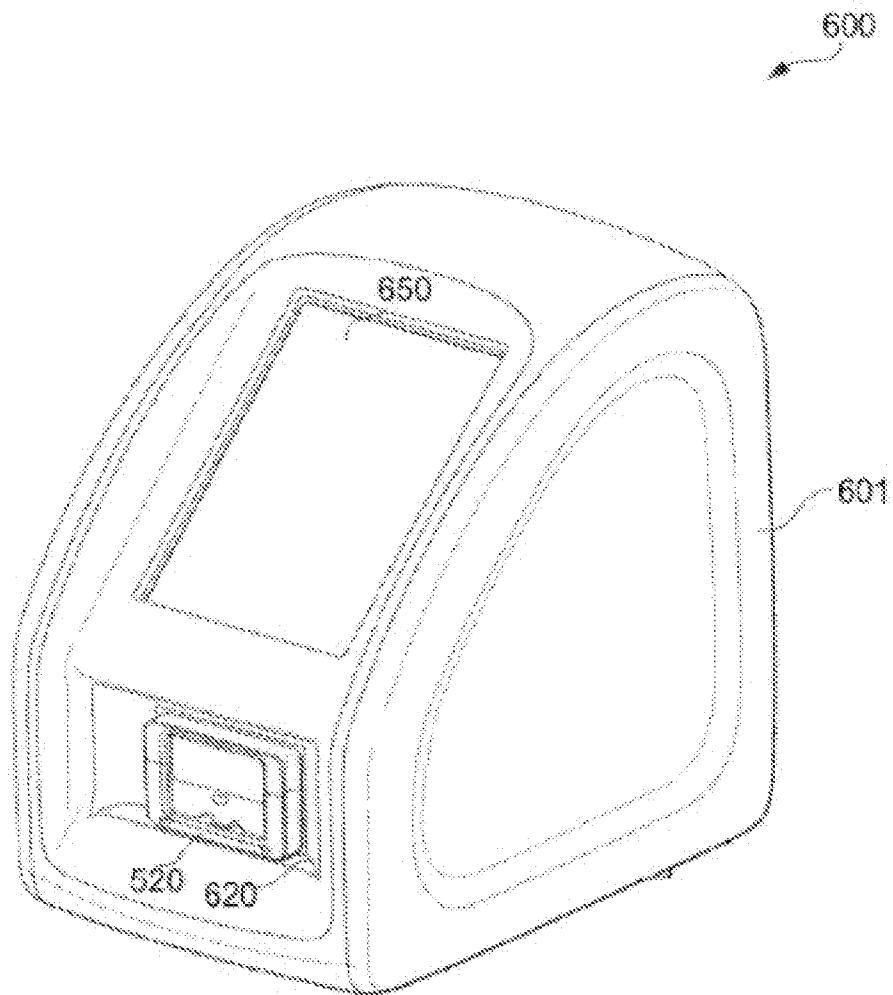


FIG. 6

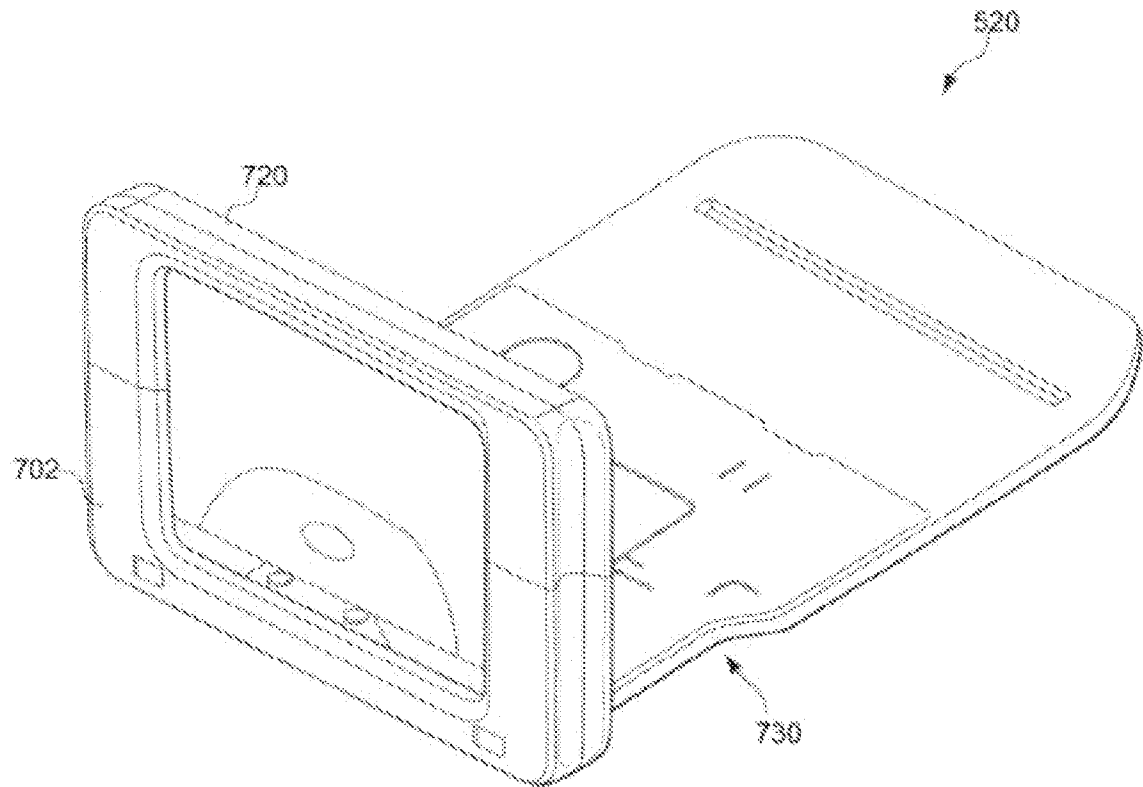


FIG. 7

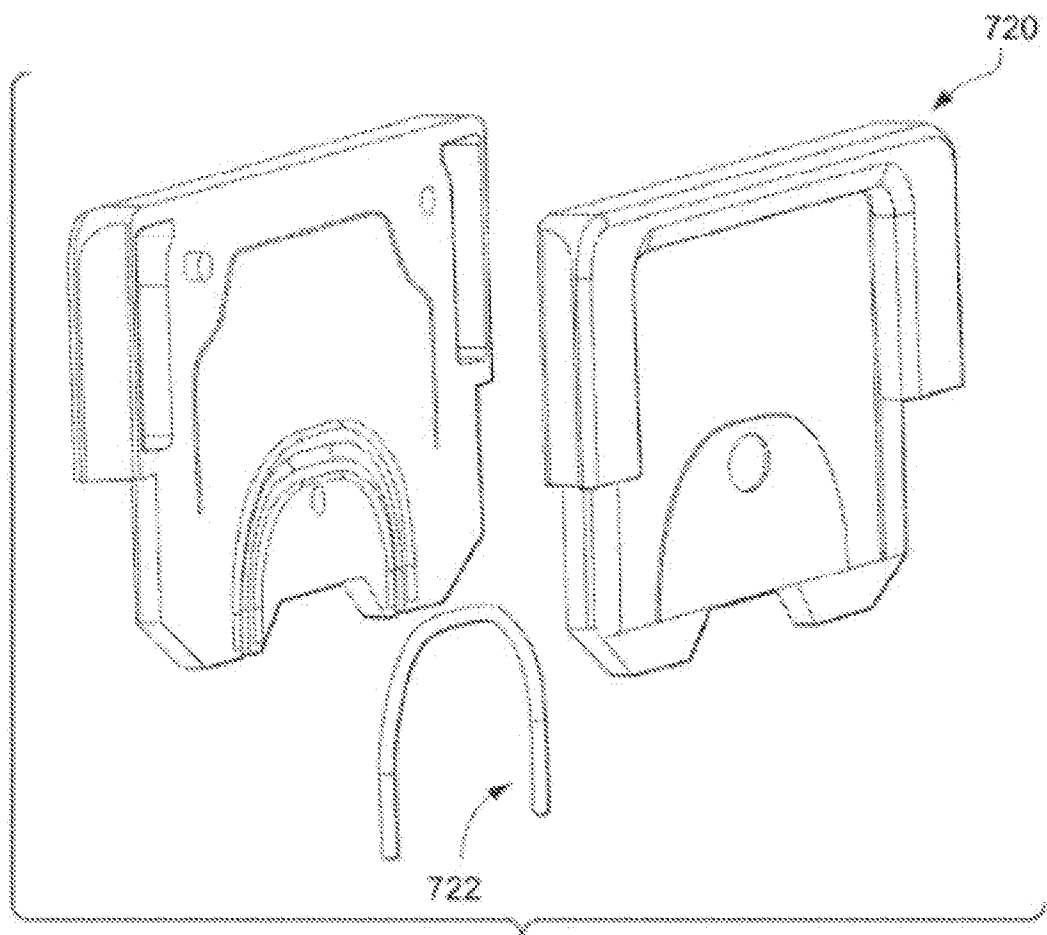


FIG. 8

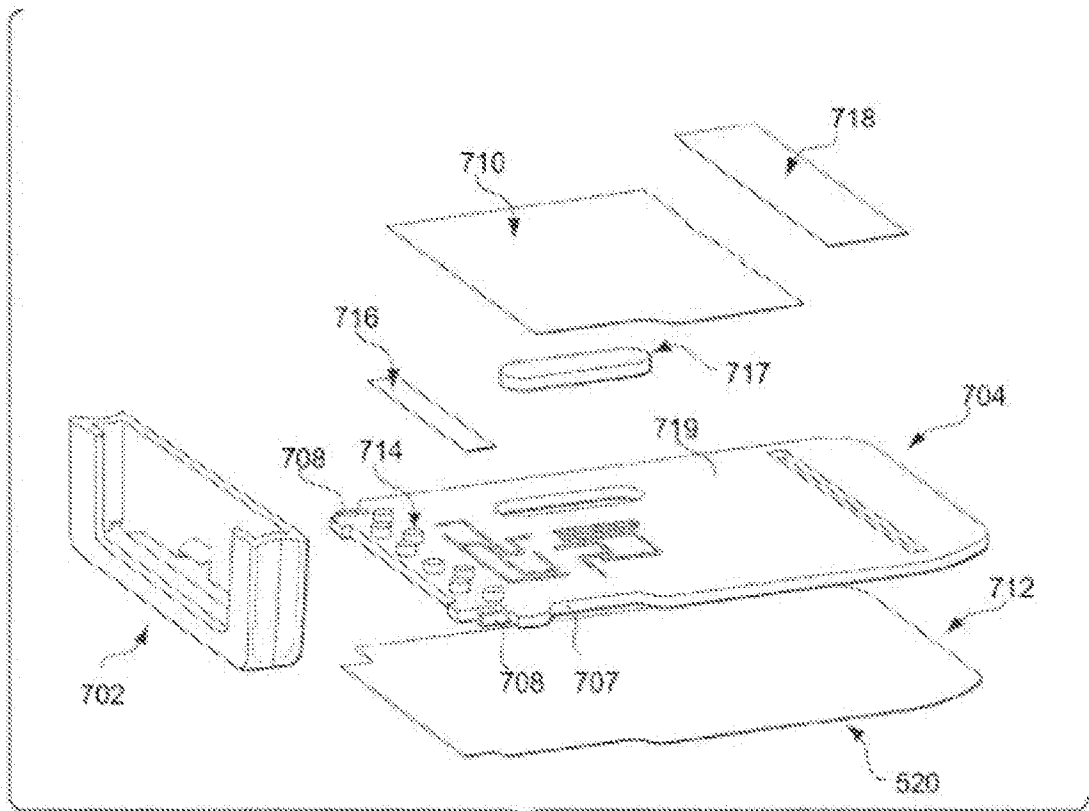


FIG. 9

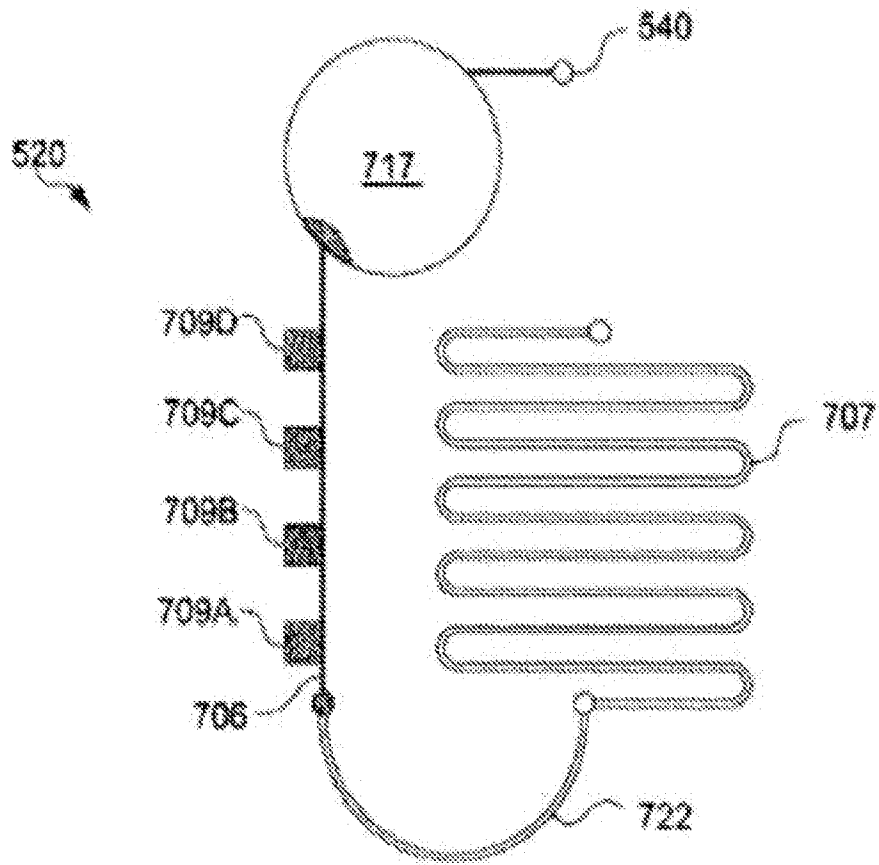


FIG. 10

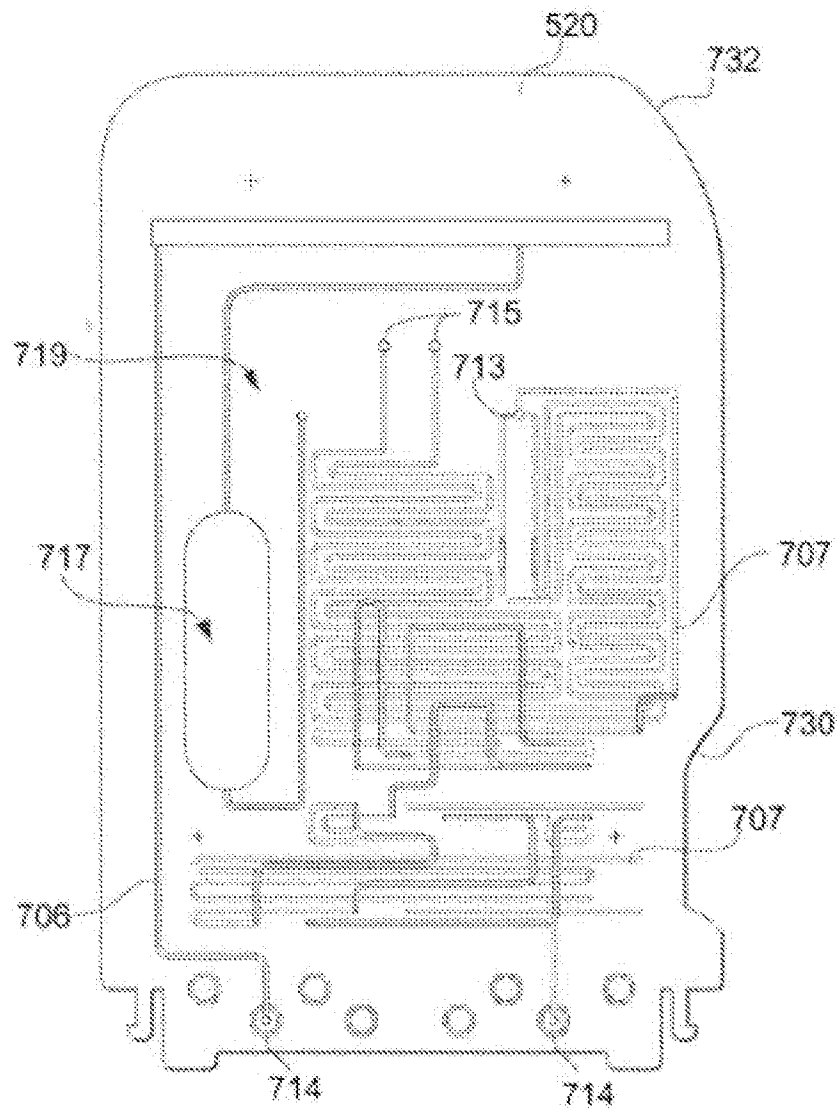


FIG. 11A

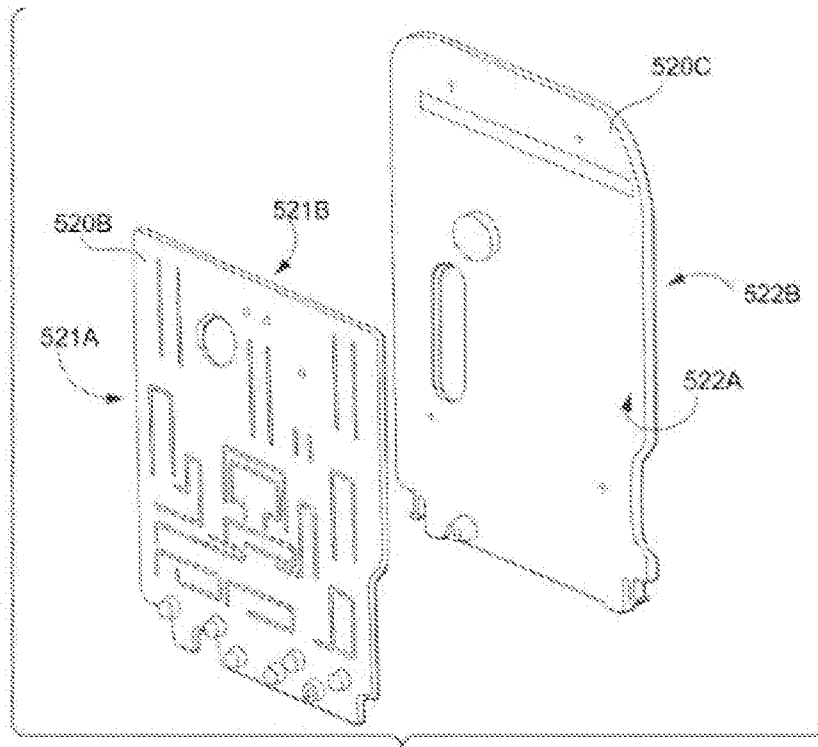


FIG. 11B

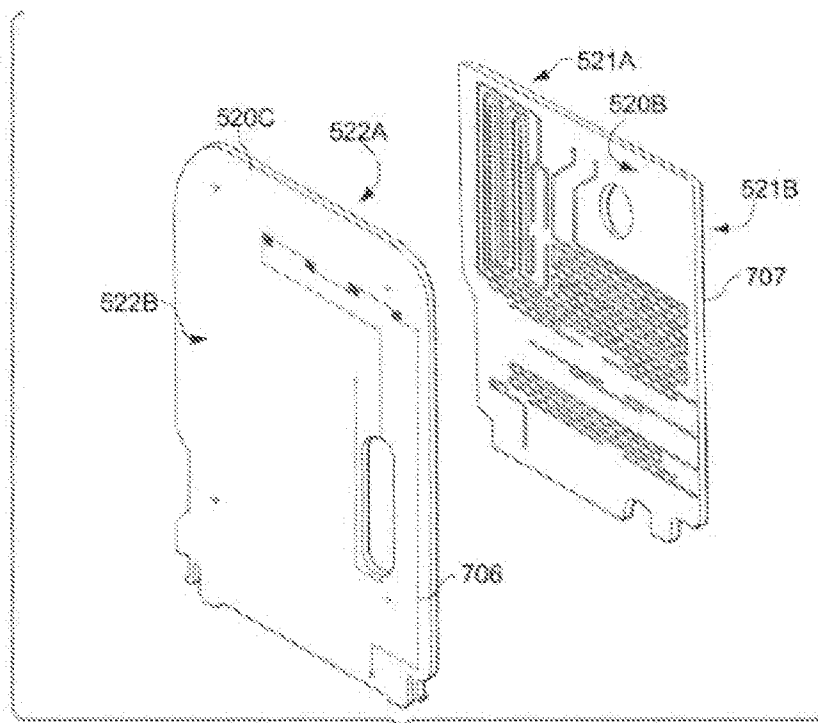


FIG. 11C

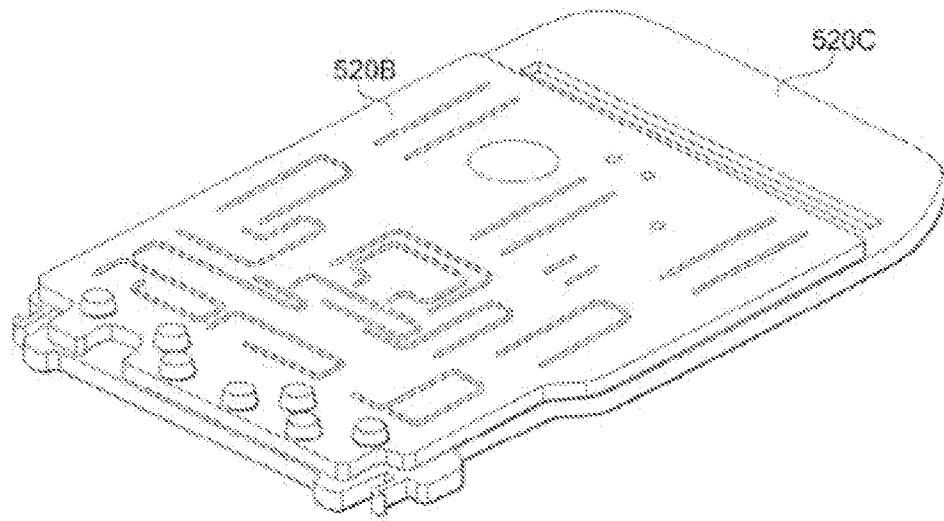


FIG. 11D

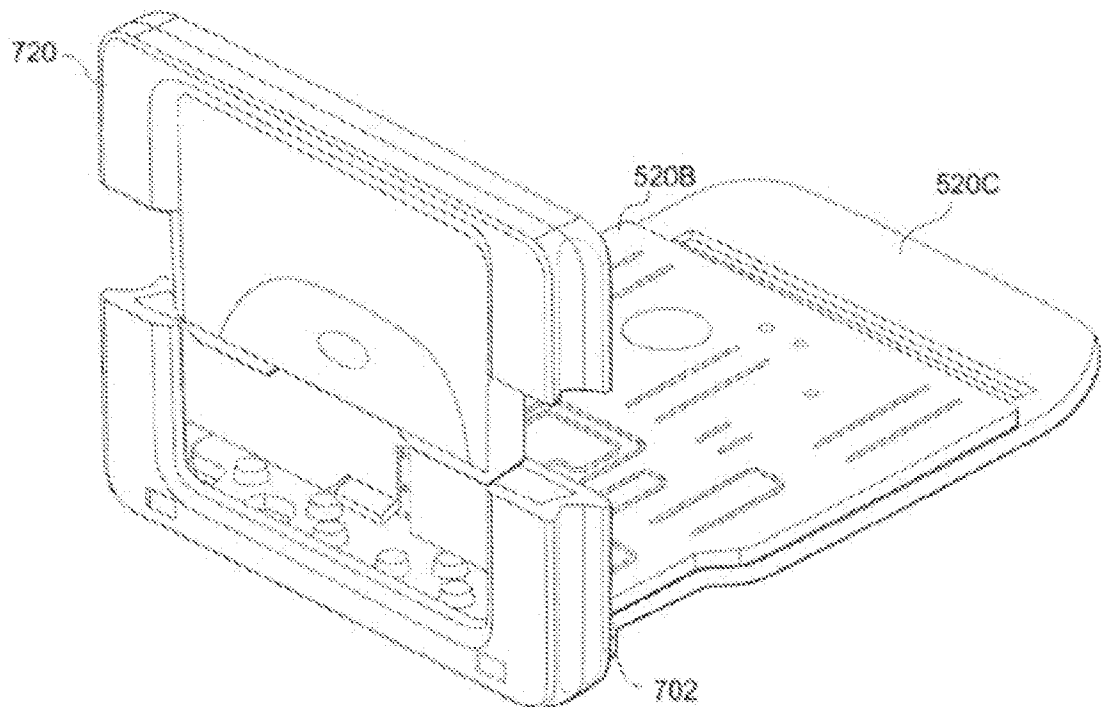


FIG. 11E

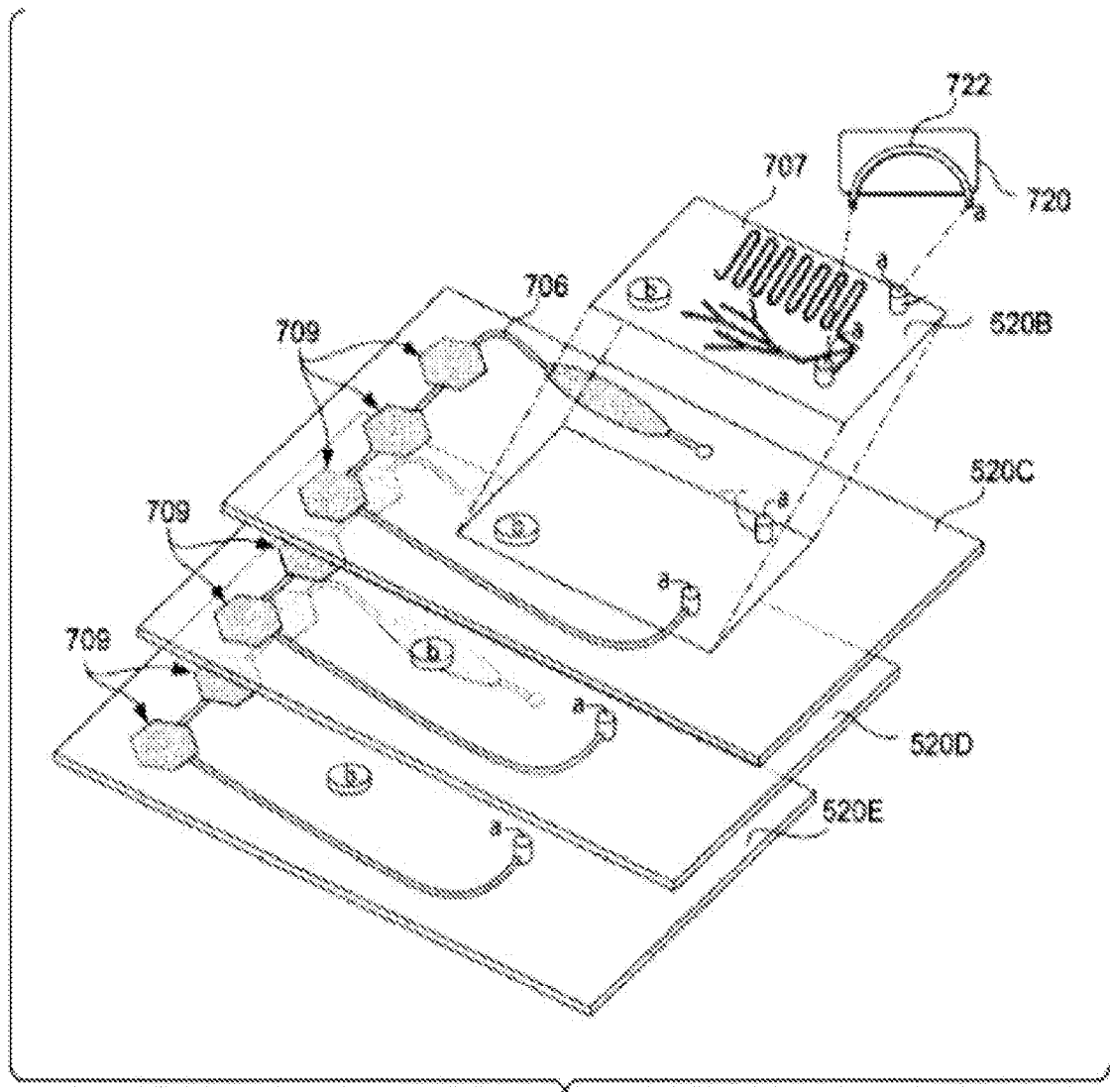


FIG. 11F

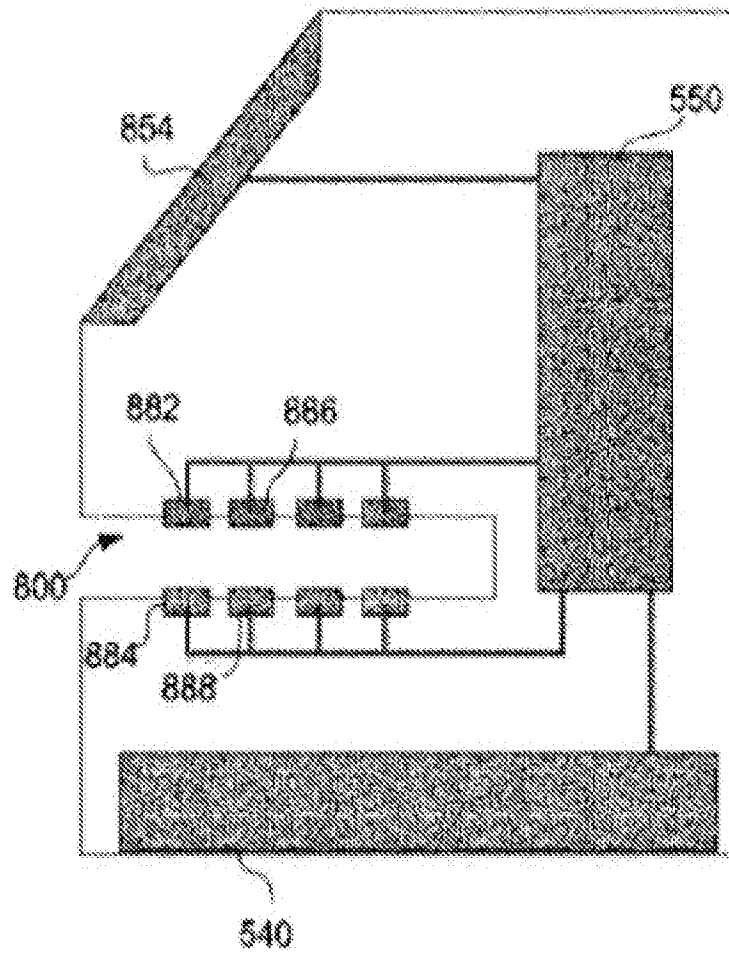


FIG. 12

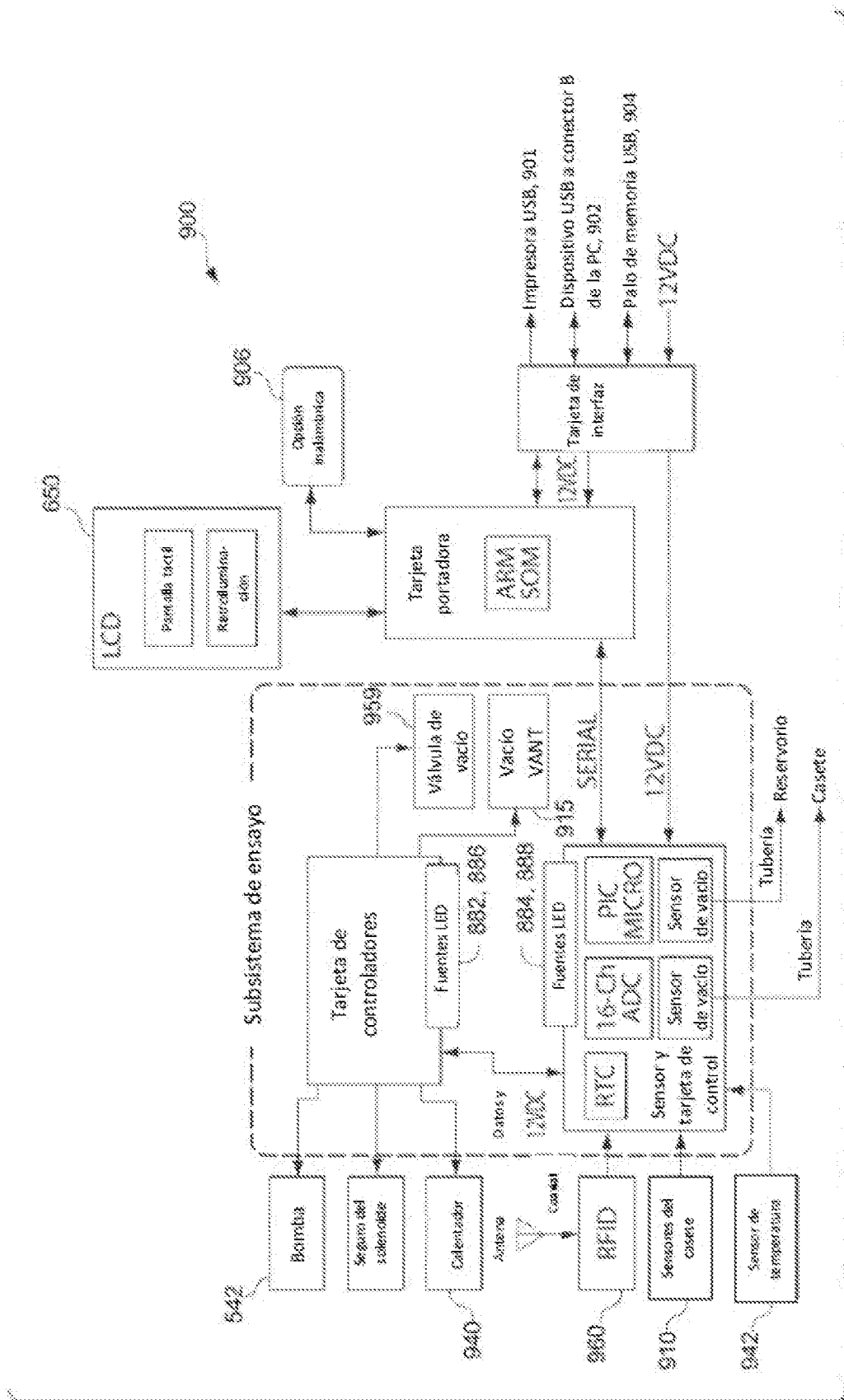


FIG. 13

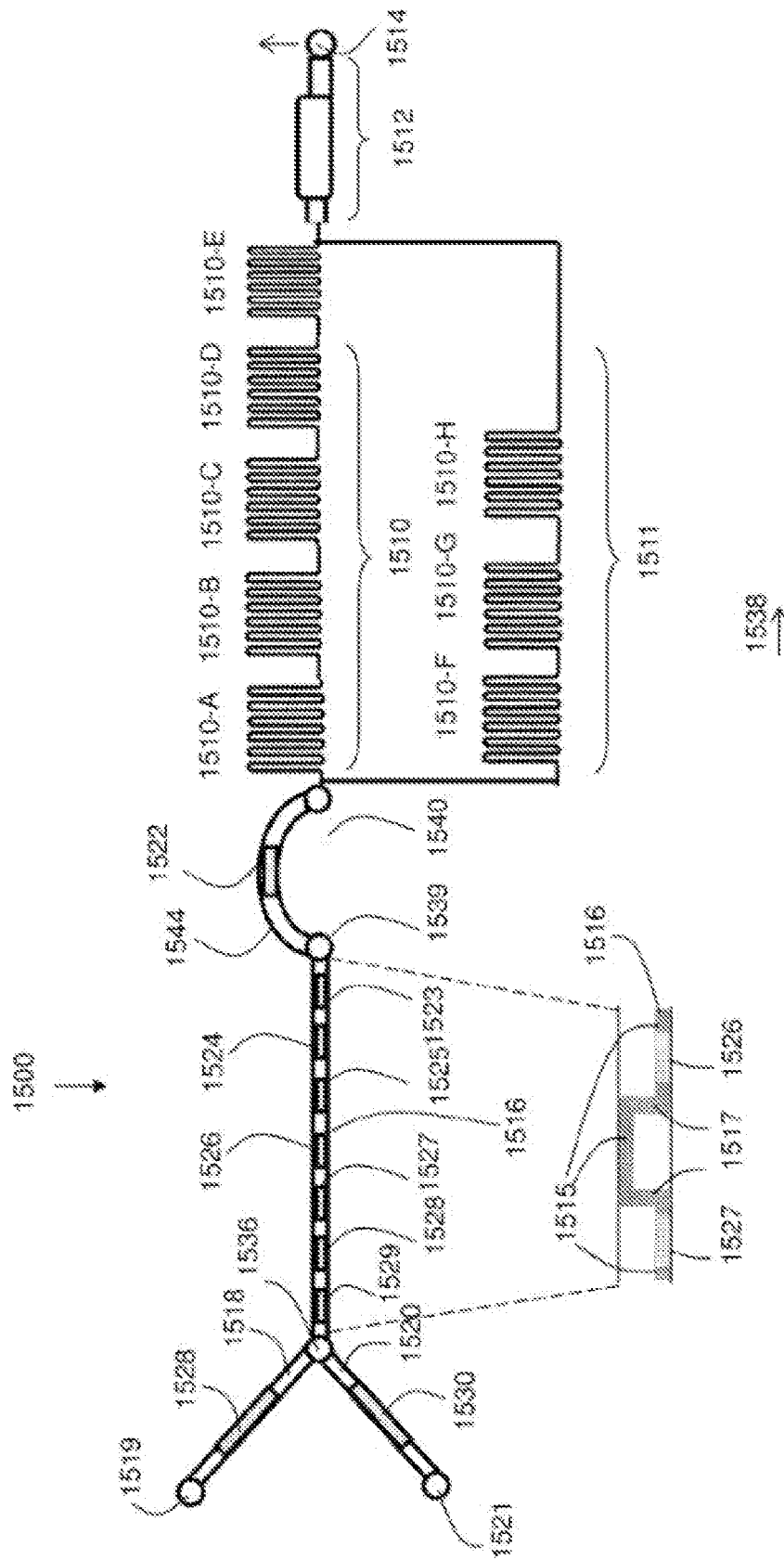


FIG. 14

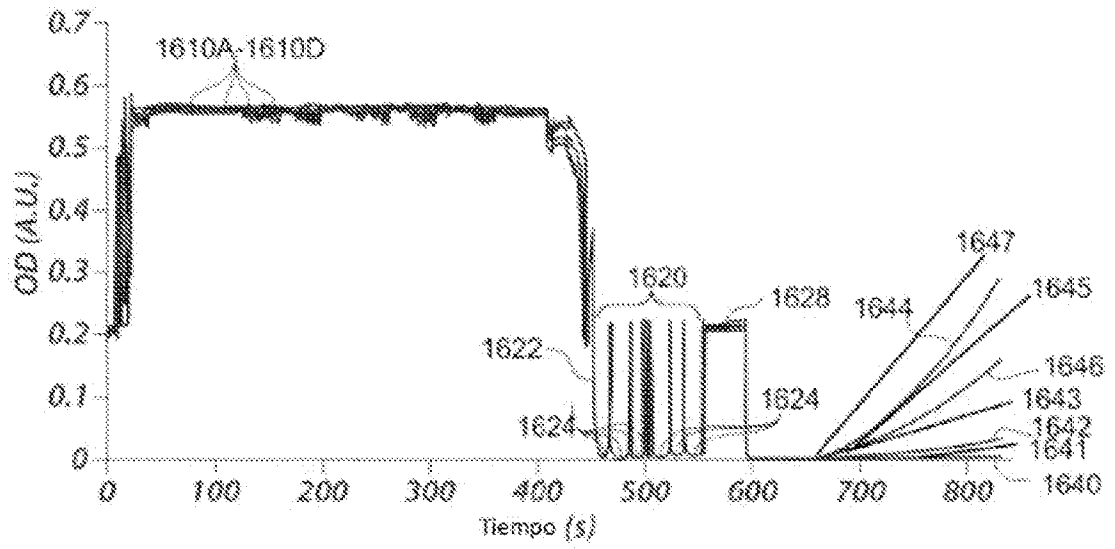


FIG. 15