

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 857 735**

51 Int. Cl.:

**G01N 35/00** (2006.01)

**B01L 3/00** (2006.01)

**G01N 35/10** (2006.01)

**G01F 13/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.11.2016 E 16199213 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.01.2021 EP 3324189**

54 Título: **Cartucho giratorio con múltiples cámaras medidoras**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**29.09.2021**

73 Titular/es:

**F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (100.0%)**  
**Grenzacherstraße 124**  
**4070 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**BOEHM, CHRISTOPH;**  
**LUTZ, SASCHA y**  
**KELLER, THOMAS**

74 Agente/Representante:

**LINAGE GONZÁLEZ, Rafael**

ES 2 857 735 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

Cartucho giratorio con múltiples cámaras medidoras

5 **Campo de la invención**

La invención se refiere a dispositivos de prueba analíticos para muestras biológicas, en particular al diseño y uso de cartuchos giratorios para realizar una medición de una muestra biológica.

10 **Antecedentes y técnica relacionada**

15 Son conocidos dos clases de sistemas de análisis en el campo de análisis médico: sistemas de análisis húmedo y sistemas de análisis químico seco. Los sistemas de análisis húmedo, que funcionan esencialmente usando "reactivos húmedos" (reactivos líquidos), realizan un análisis por medio de una serie de etapas requeridas, tales como, por ejemplo, proporcionar una muestra y un reactivo en un recipiente de reactivo, mezclar la muestra y el reactivo juntos en el recipiente de reactivo, y cuantificar y analizar la mezcla para determinar una característica variable de medición para proporcionar un resultado analítico deseado (resultado del análisis). Dichas etapas a menudo se realizan usando instrumentos de análisis que funcionan en línea, técnicamente complejos y grandes, que permiten múltiples movimientos de elementos participantes. Esta clase de sistema de análisis se usa típicamente en grandes laboratorios medicoanalíticos.

20 Por otra parte, los sistemas de análisis químico seco funcionan usando "reactivos secos" que se integran típicamente en un elemento de prueba y se implementan como una "tira reactiva", por ejemplo. Cuando se usan estos sistemas de análisis químico seco, la muestra líquida disuelve los reactivos en el elemento de prueba, y la reacción de muestra y reactivo disuelto da como resultado un cambio de una variable de medición, que se puede cuantificar en el propio elemento de prueba. Sobre todo, los sistemas de análisis ópticamente analizables (en particular, colorimétricos) son típicos en esta clase, en la que la variable de medición es un cambio de color u otra variable ópticamente medible. Los sistemas electroquímicos también son típicos de esta clase, en la que se puede cuantificar una característica variable de medición eléctrica para el análisis, en particular una corriente eléctrica tras la aplicación de una tensión definida, en una zona de cuantificación del elemento de prueba usando electrodos proporcionados en la zona de cuantificación.

25 Los instrumentos de análisis de los sistemas de análisis químico seco normalmente son compactos, y algunos de ellos son portátiles y funcionan con batería. Los sistemas se usan para análisis descentralizado, por ejemplo, en médicos especialistas, en las plantas de los hospitales y en el denominado "seguimiento en el hogar" durante el seguimiento de parámetros medicoanalíticos por el propio paciente (en particular, análisis de glucemia por diabéticos o estado de coagulación por pacientes con warfarina).

30 En los sistemas de análisis húmedo, los instrumentos de análisis de alto rendimiento permiten el rendimiento de secuencias de reacción de múltiples etapas más complejas ("protocolos de prueba"). Por ejemplo, los análisis inmunoquímicos a menudo requieren una secuencia de reacción de múltiples etapas, en la que es necesaria una "separación unida/libre" (en adelante "separación b/f"), es decir, una separación de una fase unida y una fase libre. De acuerdo con un protocolo de prueba, por ejemplo, la sonda se puede transportar en primer lugar a través de una matriz sólida porosa, que contiene un reactivo de unión específico para el analito. Posteriormente, se puede hacer que un reactivo de marcado fluya a través de la matriz porosa, para marcar el analito unido y permitir su detección. Para lograr un análisis preciso, se debe realizar una etapa de lavado, en la que el reactivo de marcado no unido se retira completamente. Son conocidos numerosos protocolos de prueba para determinar múltiples analitos, que difieren en múltiples formas, pero que comparten el rasgo característico de que requieren un manejo complejo que tiene múltiples etapas de reacción, en particular siendo necesario también, posiblemente, una separación b/f.

35 Las tiras reactivas y los elementos de análisis similares normalmente no permiten secuencias de reacción de múltiples etapas controladas. Son conocidos elementos de prueba similares a las tiras reactivas, que permiten otras funciones, tales como la separación de los glóbulos rojos de la sangre completa, además de suministrar reactivos en forma seca. Sin embargo, normalmente no permiten un control preciso de la secuencia temporal de las etapas de reacción individuales. Los sistemas de laboratorio químicos húmedos ofrecen estas capacidades, pero son demasiado grandes, demasiado costosos y demasiado complejos de manejar para muchas aplicaciones.

40 Para cerrar estas brechas, se han sugerido sistemas de análisis que funcionan usando elementos de prueba que se implementan de tal manera que al menos se produce una etapa de transporte de líquido controlada externamente (es decir, usando un elemento fuera del propio elemento de prueba) en el mismo ("elementos de prueba controlables"). El control externo se puede basar en la aplicación de diferencias de presión (sobrepresión o baja presión) o en el cambio de acciones de fuerza (por ejemplo, cambio de la dirección de acción de la gravedad por cambio de inclinación del elemento de prueba o por fuerzas de aceleración). El control externo se realiza con especial frecuencia por fuerzas centrífugas, que actúan sobre un elemento de prueba giratorio como función de la velocidad de rotación.

45 Son conocidos los sistemas de análisis que tienen elementos de prueba controlables y típicamente tienen una carcasa,

que comprende un material plástico dimensionalmente estable, y un canal de análisis de muestra encerrado por la carcasa, que a menudo comprende una secuencia de múltiples secciones de canal y cámaras expandidas en comparación con las secciones de canal que se extienden entre ellas. La estructura del canal de análisis de muestra que tiene sus secciones de canal y cámaras se define por el perfilado de las piezas plásticas. Este perfilado se puede generar por técnicas de moldeo por inyección o termograbado. Sin embargo, las microestructuras, que se generan por procedimientos de litografía, se usan cada vez más, más recientemente.

Los sistemas de análisis que tienen elementos de prueba controlables permiten la miniaturización de las pruebas que solo se han podido realizar usando grandes sistemas de laboratorio. Además, permiten la paralelización de procedimientos por la aplicación repetida de estructuras idénticas para el procesamiento paralelo de análisis similares de una muestra y/o análisis idénticos de diferentes muestras. Otra ventaja es que los elementos de prueba se pueden producir típicamente usando procedimientos de producción establecidos y que también se pueden cuantificar y analizar usando procedimientos de análisis conocidos. También se pueden emplear procedimientos y productos conocidos en los componentes químicos y bioquímicos de dichos elementos de prueba.

A pesar de estas ventajas, existe una necesidad adicional de mejora. En particular, los sistemas de análisis que funcionan usando elementos de prueba controlables todavía son demasiado grandes. Las dimensiones más compactas posibles son de gran importancia práctica para muchas aplicaciones previstas.

La patente de Estados Unidos US 8.114.351 B2 divulga un sistema de análisis para el análisis de una muestra de líquido corporal para determinar un analito. El sistema de análisis proporciona un elemento de prueba y un instrumento de análisis que tiene un puesto de dosificación y un puesto de medición. El elemento de prueba tiene una carcasa y (al menos) un canal de análisis de muestra encerrado por la carcasa. El elemento de prueba puede girar alrededor de un eje de rotación que se extiende a través del elemento de prueba.

La patente de Estados Unidos 8.470.588 B2 divulga un elemento de prueba y un procedimiento para detectar un analito. El elemento de prueba tiene esencialmente forma de disco y es plano, y puede girar alrededor de un eje preferentemente central que es perpendicular al plano del elemento de prueba en forma de disco.

Kim, Tae-Hyeong, *et al.*, "Flow-enhanced electrochemical immunosensors on centrifugal microfluidic platforms". *Lab on a Chip* 13.18 (2013): 3747-3754, doi: 10.1039/c3lc50374g, (en adelante "Kim *et al.*") divulga un dispositivo microfluídico centrífugo totalmente integrado con rasgos característicos para la captura de antígenos diana de muestras biológicas, por medio de un ensayo inmunoanalítico de adsorción basado en microesferas y detección electroquímica potenciada por flujo. Esto está integrado en discos microfluídicos centrífugos, también conocidos como "laboratorio en un disco" o CD microfluídicos.

Martinez-Duarte, Rodrigo, *et al.* "The integration of 3D carbon-electrode dielectrophoresis on a CD-like centrifugal microfluidic platform". *Lab on a Chip* 10.8 (2010): 1030-1043, doi: 10.1039/B925456K, (en adelante "Martinez-Duarte *et al.*") divulga un filtro asistido por dielectroforesis (DEP) con una plataforma centrífuga basada en disco compacto (CD). Los electrodos de carbono 3D se fabrican usando la técnica C-MEMS y se usan para implementar un filtro activo habilitado para DEP para atrapar partículas de interés.

La publicación de solicitud de patente de Estados Unidos US 2011/195502 A1 divulga un rotor centrífugo para suministrar y analizar muestras biológicas. Las cámaras dentro del rotor centrífugo se usan para dividir una muestra biológica, que comprende componentes celulares biológicos y líquidos biológicos, en partes separadas por fuerza centrífuga después de que la muestra biológica se diluye, mide y distribuye por el rotor centrífugo.

La publicación de solicitud de patente de Estados Unidos US 2014/287524 A1 divulga un dispositivo microfluídico y un procedimiento de control. El dispositivo microfluídico incluye una plataforma que incluye una cámara configurada para alojar una muestra, un canal conectado a la cámara y una unidad medidora conectada a la cámara por el canal y configurada para medir una cantidad de la muestra. La unidad medidora incluye una cámara medidora configurada para cuantificar la cantidad de la muestra, y una cámara de alojamiento conectada a la cámara medidora y configurada para alojar la muestra para evitar que la muestra se desborde fuera de la cámara medidora.

La publicación de solicitud de patente de Estados Unidos US 2012/028852 A1 divulga un dispositivo microfluídico giratorio para llevar a cabo simultáneamente dos o más ensayos. El dispositivo incluye una plataforma que puede girar, una primera unidad que se dispone en una parte de la plataforma y detecta un material diana de una muestra usando una superficie sobre la que se fija una sonda de captura que se une selectivamente al material diana, y una segunda unidad que se dispone en otra parte de la plataforma y detecta un material diana incluido en la muestra por una reacción diferente a la reacción llevada a cabo en la primera unidad.

## Sumario

La invención proporciona un procedimiento, un cartucho y un analizador automático en las reivindicaciones independientes. Se dan modos de realización en las reivindicaciones dependientes.

El uso de cartuchos giratorios con estructuras fluidicas para realizar pruebas en muestras biológicas puede proporcionar cartuchos y sistemas analizadores automáticos que se pueden distribuir a lugares tales como clínicas o consultorios médicos. Pueden proporcionar una forma muy conveniente y exacta de proporcionar resultados de diagnóstico de forma económica y rápida. Una dificultad es que muchas veces los médicos u otros cuidadores pueden estar interesados en obtener múltiples resultados de pruebas. Esto puede significar que es necesario obtener un volumen comparativamente grande de una muestra biológica para tener suficiente muestra biológica para colocar en múltiples cartuchos.

No es nada fácil dividir una muestra biológica en múltiples porciones para tener pruebas independientes en el mismo cartucho. Un problema importante es que muchas muestras biológicas tienen múltiples componentes. Por ejemplo, una muestra de sangre completa puede comprender plasma sanguíneo, eritrocitos y lípidos. El acto de dividir una muestra de sangre completa en múltiples porciones para diferentes pruebas de diagnóstico puede tener el efecto de cambiar la proporción de plasma, eritrocitos y lípidos dentro de las múltiples porciones. Esto puede dar como resultado resultados de prueba sesgados o inexactos.

Las pruebas empíricas de los cartuchos giratorios mostraron que la alimentación de múltiples cámaras medidoras simultáneamente con sangre completa da como resultado resultados de prueba inexactos. También se probaron otras estructuras de prueba. También se realizaron experimentos donde se llenaron secuencialmente una serie de cámaras medidoras. A medida que giraba el disco, la sangre completa se forzaba a pasar, en primer lugar, a una primera cámara medidora. Se usaron canales de distribución de muestra para conectar las cámaras medidoras secuencialmente o en serie. A continuación, esto provocó que las cámaras medidoras se llenaran una después de la otra. Estos cartuchos de prueba también proporcionaron resultados de prueba sesgados o inexactos. La proporción relativa del plasma sanguíneo, los eritrocitos y los lípidos era incorrecta. Las múltiples pruebas fueron inconsistentes entre sí.

Los modos de realización de la invención pueden proporcionar un medio de división de una muestra biológica en múltiples porciones mientras se mantiene su composición original suficientemente cerca de modo que se puedan realizar pruebas exactas en cada una de las muestras.

Los cartuchos de ejemplo hacen esto proporcionando dos vías separadas para llenar las cámaras medidoras con la muestra biológica. Los modos de realización tienen una cámara de retención que almacena inicialmente la muestra biológica. Las cámaras medidoras individuales están distribuidas alrededor de la cámara de retención. Existe un tubo de conexión para cada una de las cámaras medidoras que se conecta entre la cámara de retención y una entrada de la cámara medidora respectiva. Cada una de las cámaras medidoras tiene una entrada y una salida de muestra. Las cámaras medidoras se conectan por una serie de canales de distribución de muestra. Los canales de distribución de muestra se conectan desde la salida de una cámara medidora a la entrada de una cámara medidora contigua. Los canales de distribución de muestra provocan que las cámaras medidoras se llenen en serie o una después de la otra.

Los tubos de conexión proporcionan una vía de llenado paralela o simultánea para las cámaras medidoras, y los canales de distribución forman una vía de llenado secuencial para la cámara medidora. Cuando el cartucho gira alrededor de su eje de rotación, la muestra biológica, a continuación, se fuerza a pasar a través de los tubos de conexión y cada una de las cámaras medidoras comienza a llenarse. A medida que las cámaras medidoras comienzan a llenarse completamente, el exceso se dirige a través de un canal de distribución a una cámara medidora vecina o contigua. El efecto de usar ambos medios de llenado de las cámaras medidoras es que la muestra biológica en las cámaras medidoras se parece más a la composición de la muestra biológica que se colocó originalmente en la cámara de retención de muestra.

La estructura descrita anteriormente se sometió a prueba con sangre completa. El efecto también es válido para otras muestras biológicas tales como el semen, una muestra de heces mezclada con líquido u otros líquidos que tienen múltiples componentes. También es beneficioso usarlo con muestras biológicas que normalmente no se considera que tengan múltiples componentes, porque una muestra biológica puede estar contaminada. Por ejemplo, la orina podría estar contaminada con células o incluso con cristales de calcio. El uso de los cartuchos descritos en el presente documento puede proporcionar una estructura de prueba que proporciona resultados más exactos, uniformes y sólidos cuando la muestra biológica original se divide en múltiples submuestras usando dos o más cámaras medidoras.

Un cartucho como se usa aquí también engloba cualquier elemento de prueba para procesar la muestra biológica para suministrar una muestra biológica procesada. El cartucho puede incluir estructuras o componentes que posibilitan realizar una medición en la muestra biológica. Un cartucho es un elemento de prueba como se define y explica en las patentes de EE. UU. 8.114.351 B2 y 8.470.588 B2. Un cartucho como se usa en el presente documento también se puede denominar disco microfluídico centrífugo, también conocido como "laboratorio en un disco" o CD microfluídico.

Se entiende que las referencias a muestras y productos biológicos a continuación y en las reivindicaciones se pueden modificar de modo que se refieran a muestras de sangre y/o productos sanguíneos y/o sangre completa.

Una muestra biológica como se usa en el presente documento engloba un producto químico derivado, copiado, duplicado o reproducido de una muestra tomada de un organismo.

En un aspecto, la invención proporciona un procedimiento de determinación de una cantidad de al menos dos analitos en una muestra biológica usando un cartucho. La muestra biológica comprende un líquido. El cartucho se puede hacer funcionar para hacerse girar alrededor de un eje de rotación.

5 La invención también puede proporcionar un procedimiento de determinación de una cantidad de un analito al menos dos veces (para incrementar la precisión del análisis) en una muestra biológica usando un cartucho.

10 El cartucho comprende una entrada de cartucho para recibir la muestra biológica. El cartucho comprende además una cámara de retención de muestra conectada a la entrada de cartucho. El cartucho comprende además dos o más cámaras medidoras para recibir un volumen predeterminado de la muestra biológica. Cada una de las dos o más cámaras medidoras comprende una entrada de muestra. Cada una de las dos o más cámaras medidoras comprende una salida de muestra. Cada una de las dos o más cámaras medidoras comprende una salida para un volumen de muestra medido. El volumen de muestra medido es una porción del volumen predeterminado de la muestra biológica que entra en cada una de las cámaras medidoras.

15 El cartucho comprende además un tubo de conexión para cada una de las dos o más cámaras medidoras que conectan de forma fluida la entrada de muestra con la cámara de retención de muestra. El cartucho comprende además al menos un canal de distribución de muestra. Cada uno de los al menos un canal de distribución de muestra se conecta entre la salida de muestra de una primera cámara medidora seleccionada con la entrada de muestra de una segunda cámara medidora seleccionada. Las dos o más cámaras medidoras comprenden la primera cámara medidora seleccionada. Las dos o más cámaras medidoras comprenden la segunda cámara medidora seleccionada. La segunda cámara medidora seleccionada es contigua a la primera cámara medidora seleccionada.

20 El tubo de conexión conecta las cámaras medidoras individuales directamente con la cámara de retención de muestra. Los canales de distribución de muestra se configuran para conectar en serie las cámaras medidoras. Esto proporciona dos rutas distintas para que la muestra biológica fluya hacia cada una de las dos o más cámaras medidoras.

25 El cartucho comprende además una estructura microfluídica para cada una de las dos o más cámaras medidoras. La estructura microfluídica se conecta a la salida de muestra. La estructura microfluídica se configura para procesar el volumen de muestra de medición para suministrar una muestra procesada. El cartucho comprende además una estructura de medición para cada una de las dos o más cámaras medidoras para posibilitar la medición de la muestra procesada para determinar una concentración del analito en la muestra procesada. La concentración del analito está directamente relacionada con la concentración del analito en la muestra biológica. La estructura de medición se conecta de forma fluida a la estructura microfluídica.

30 La estructura de medición puede adoptar diferentes formas en diferentes ejemplos. Por ejemplo, en un ejemplo, la estructura de medición puede ser una membrana cromatográfica con anticuerpos que se fijan a marcadores en la muestra procesada. A continuación, se pueden usar marcadores fluorescentes para realizar la medición de la cantidad del analito. En otros ejemplos, la muestra procesada se puede transportar a un recipiente o región ópticamente transparente que a continuación se puede someter a mediciones espectrográficas.

35 El procedimiento comprende colocar la muestra biológica en la entrada de cartucho para llenar al menos parcialmente la cámara de retención de muestra. El procedimiento comprende además hacer girar el cartucho alrededor del eje de rotación para transportar una porción de la muestra desde la cámara de retención de muestra a cada una de las dos o más cámaras medidoras. La rotación del cartucho provoca el transporte simultáneo de una primera parte de la porción de la muestra a cada una de las dos o más cámaras medidoras por medio del tubo de conexión para cada una de las dos o más cámaras medidoras. La rotación del cartucho provoca además el transporte de una segunda parte de la porción de la muestra a cada una de las dos o más cámaras medidoras en serie por medio del al menos un canal de distribución de muestra. La transferencia simultánea de líquido por medio de dos rutas diferentes a las dos o más cámaras medidoras puede ser beneficiosa porque la composición del volumen predeterminado de la muestra biológica puede tener una composición o constitución que es más cercana a la muestra biológica si solo se usa una de las dos rutas. Por ejemplo, las muestras biológicas de múltiples componentes, tales como sangre completa, contienen esencialmente un sólido, tal como células de sangre completa, plasma sanguíneo y también lípidos. El uso de múltiples formas de llenar las dos o más cámaras medidoras puede proporcionar mejores resultados. El procedimiento comprende además controlar la rotación del cartucho alrededor del eje de rotación para transportar la muestra medida desde cada una de las dos o más cámaras medidoras a la estructura microfluídica. El procedimiento comprende además controlar la rotación del cartucho alrededor del eje de rotación para procesar la muestra para suministrar la muestra procesada. El procedimiento comprende además controlar la rotación del cartucho para transferir la muestra procesada desde la estructura microfluídica de cada una de las dos o más cámaras medidoras a la estructura de medición. El procedimiento comprende además cuantificar la cantidad de los al menos dos analitos usando la estructura de medición de cada una de las dos o más cámaras medidoras y un sistema de medición. La medición puede incluir, pero no se limita a: medición de transmisión fotométrica, medición de la dispersión de la luz, quimioluminiscencia, fluorescencia, medición electroquímica y electroquimioluminiscente (ECL).

65 Este modo de realización puede ser beneficioso porque proporcionar múltiples rutas para la muestra biológica a las

dos o más cámaras medidoras puede proporcionar una medición más exacta de la cantidad de los al menos dos analitos.

5 En otro modo de realización, la entrada de cartucho está localizada más cerca del eje de rotación que la cámara de retención de muestra. La cámara de retención de muestra se alarga a lo largo de una trayectoria alargada. La trayectoria alargada rodea al menos parcialmente el eje de rotación. La cámara de retención de muestra tiene un borde más alejado del eje de rotación. La distancia desde el borde más alejado hasta el eje de rotación se incrementa a lo largo de la trayectoria alargada. El tubo de conexión para cada una de las dos o más cámaras medidoras se conecta a la cámara de retención de muestra en el borde más alejado. Este modo de realización puede ser beneficioso porque la estructura de la cámara de retención de muestra puede forzar a la sangre a pasar a través de cada uno de los tubos de conexión en las dos o más cámaras medidoras individualmente.

15 En otro modo de realización, la muestra biológica es un líquido de múltiples componentes. Un líquido de múltiples componentes como se usa en el presente documento engloba un fluido que se mezcla con uno cualquiera de los siguientes: con un sólido o sedimento, un segundo líquido, células biológicas, una suspensión coloidal, un aceite, un lípido, suero sanguíneo y combinaciones de los mismos.

20 En otro aspecto, la invención proporciona un cartucho para determinar una cantidad de al menos dos analitos en una muestra biológica. El cartucho se puede hacer funcionar para hacerse girar alrededor de un eje de rotación. El cartucho comprende una entrada de cartucho para recibir la muestra biológica. El cartucho comprende además una cámara de retención de muestra conectada a la entrada de cartucho. El cartucho comprende además dos o más cámaras medidoras para la muestra biológica para recibir un volumen predeterminado de la muestra biológica. Cada una de las dos o más cámaras medidoras comprende una entrada de muestra. Cada una de las dos o más cámaras medidoras comprende una salida medida. El cartucho comprende además un tubo de conexión para cada una de las dos o más cámaras medidoras que conectan de forma fluida la entrada de muestra con la cámara de retención de muestra. El cartucho comprende además al menos una cámara de distribución de muestra.

30 Cada una de la al menos una cámara de distribución de muestra se conecta con la salida de muestra de una primera cámara medidora seleccionada con una entrada de muestra y una segunda cámara medidora seleccionada. Las dos o más cámaras medidoras comprenden la primera cámara medidora seleccionada. Las dos o más cámaras medidoras comprenden la segunda cámara medidora seleccionada. La segunda cámara medidora seleccionada es contigua a la primera cámara medidora seleccionada. El cartucho comprende además una estructura microfluidica para cada una de las dos o más cámaras medidoras. La estructura microfluidica se conecta a la salida de muestra. La estructura microfluidica se configura para procesar la muestra biológica para suministrar una muestra procesada. El cartucho comprende además una estructura de medición para cada una de las dos o más cámaras medidoras para posibilitar la medición de la muestra procesada para determinar la cantidad del analito en la muestra. La estructura de medición se conecta de forma fluida a la estructura microfluidica.

40 En otro modo de realización, las dos o más cámaras medidoras comprenden una primera cámara medidora llena y una o más cámaras medidoras llenadas secuencialmente. El término primera cámara medidora llena es una etiqueta que se usa para referirse a una de las cámaras medidoras. Cada una de las una o más cámaras medidoras llenadas secuencialmente comprende un canal de derivación de muestra que conecta de forma fluida la entrada de muestra con la salida de muestra. El uso del canal de derivación de muestra puede ser beneficioso porque puede posibilitar que el cartucho distribuya la muestra biológica a cada una de las dos o más cámaras medidoras cuando la cámara de retención de muestra se llena en exceso.

En otro modo de realización, cada uno de los dos analitos comprende uno cualquiera de los siguientes: troponina T, troponina I, CKMB, NTproBNP, dímero D, mioglobina, hormona estimulante del tiroides (TSH) y procalcitonina (PCT).

50 En otro modo de realización, el cartucho se forma a partir de un disco de plástico y una placa de cubierta. Al menos una parte de la cámara de muestra es visible a través de la placa de cubierta y/o el disco de plástico. Hacer visible la parte de la cámara de muestra puede ser útil para ayudar a un operario del cartucho a ver cuándo la cámara de muestra se llena apropiadamente.

55 En otro modo de realización, la cámara de retención de muestra se configura para recibir la muestra con un volumen entre 30  $\mu$ l y 500  $\mu$ l. El amplio intervalo puede ser beneficioso porque no es necesario que el usuario del cartucho cuantifique con exactitud la muestra biológica antes de colocarla en la entrada de cartucho.

60 En otro modo de realización, cada una de las estructuras de medición es una membrana cromatográfica.

En otro modo de realización, la estructura de medición comprende una lana de residuos o una zona absorbente.

65 La membrana cromatográfica se puede denominar zona capilarmente activa. En un modo de realización, la zona capilarmente activa comprende una matriz porosa, absorbente. En un modo de realización del elemento de prueba de acuerdo con la invención, el segundo extremo de la zona capilarmente activa cercano al eje colinda con otro material absorbente o una estructura absorbente de modo que pueda absorber líquido desde la zona capilarmente activa. La

zona capilarmente activa y el otro material absorbente típicamente se solapan ligeramente para este propósito. El otro material o la otra estructura absorbente sirven, por una parte, para ayudar a la acción de succión de la zona capilarmente activa y, en particular, de la matriz porosa, absorbente y, por otra parte, sirven como zona de retención para el líquido que ya ha pasado a través de la zona capilarmente activa. A este respecto, el otro material puede consistir en materiales iguales o materiales diferentes a la matriz. Por ejemplo, la matriz puede ser una membrana y el otro material absorbente puede ser una lana o un papel. Son igualmente posibles otras combinaciones, por supuesto.

La estructura fluidica puede contener una zona de reactivo que contiene un conjugado de un compañero de unión a analito (típicamente un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo inmunológicamente activo que se puede unir al analito si el analito es un antígeno o hapteno, o un antígeno o hapteno si el analito es un anticuerpo) y un marcador que se puede detectar directa o indirectamente por medios visuales, ópticos o electroquímicos, en la que el conjugado se puede disolver por la muestra líquida. Los marcadores adecuados son, por ejemplo, enzimas, marcadores fluorescentes, marcadores quimioluminiscentes, grupos electroquímicamente activos o los denominados marcadores directos tales como marcadores de metal o carbono o redes coloreadas. Esta zona también se puede denominar zona de conjugado.

La zona de conjugado puede servir también como una zona de aplicación de muestra o se puede localizar una zona de aplicación de muestra separada en el elemento de prueba. La zona de conjugado también puede contener, además del conjugado de compañero de unión a analito y marcador descritos anteriormente, un conjugado adicional de un segundo compañero de unión a analito (que a su vez es típicamente un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo inmunológicamente activo que se puede unir al analito) y una sustancia marcadora que es por sí misma un compañero en un par de unión. La sustancia marcadora puede ser, por ejemplo, biotina, estreptavidina o digoxigenina y se puede usar para inmovilizar un complejo de tipo sándwich que consiste en conjugado marcado, analito y conjugado con marca en la zona de detección y/o control.

La membrana cromatográfica puede comprender adicionalmente una zona de detección que contiene un compañero de unión permanentemente inmovilizado (es decir, uno que no se puede separar por la muestra líquida) para el analito o para los complejos que contienen el analito. El compañero de unión inmovilizado es a su vez típicamente un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo inmunológicamente activo que se puede unir al analito o un antígeno o (poli)hapteno. Si se usa uno de los conjugados con marca mencionados anteriormente que comprende, por ejemplo, biotina o digoxigenina conjuntamente con un compañero de unión a analito, el compañero de unión inmovilizado también puede ser estreptavidina o poliestreptavidina y un anticuerpo antidigoxigenina.

Finalmente, también puede existir una zona de control en o sobre la membrana cromatográfica que contiene un compañero de unión permanentemente inmovilizado para el conjugado del compañero de unión a analito y marcador, por ejemplo, en forma de un polihapteno inmovilizado que actúa como un análogo de analito y se puede unir al compañero de unión a analito del conjugado marcado. La zona de control puede contener adicionalmente uno o más compañeros de unión permanentemente inmovilizados para el analito o para complejos que contienen el analito. Los últimos compañeros de unión se pueden seleccionar de los mismos compuestos que se describieron anteriormente en relación con los compañeros de unión inmovilizados de la zona de detección. Estos compañeros de unión inmovilizados en la zona de detección y en la zona de control son típicamente idénticos. Sin embargo, también pueden ser diferentes, por ejemplo, en que un compañero de unión para un conjugado con marca biotina (por consiguiente, por ejemplo, poliestreptavidina) se inmoviliza en la zona de detección y un anticuerpo antianalito se inmoviliza en la zona de control además del polihapteno. En el último caso, el anticuerpo antianalito que se inmoviliza adicionalmente en la zona de control se debe dirigir frente a (otro) epítipo independiente y, por tanto, uno que no se reconozca por los anticuerpos conjugados (conjugado con marca biotina y conjugado marcado).

En otro modo de realización, la estructura absorbente es una lana de residuos.

En otro modo de realización, la membrana cromatográfica puede contener una o más zonas que contienen reactivos inmovilizados.

Los reactivos de unión específicos, por ejemplo, compañeros de unión específicos tales como antígenos, anticuerpos, (poli)haptenos, estreptavidina, biotina, poliestreptavidina, ligandos, receptores, hebras de ácido nucleico (sondas de captura) se inmovilizan típicamente en la zona capilarmente activa y, en particular, en la matriz porosa, absorbente. Se usan para capturar específicamente el analito o las especies derivadas del analito o relacionadas con el analito de la muestra que fluye a través de la zona capilarmente activa. Estos compañeros de unión pueden estar presentes inmovilizados en o sobre el material de la zona capilarmente activa en forma de líneas, puntos, patrones o se pueden unir indirectamente a la zona capilarmente activa, por ejemplo, por medio de las denominadas microesferas. Por tanto, por ejemplo, en el caso de inmunoensayos, un anticuerpo frente al analito puede estar presente inmovilizado sobre la superficie de la zona capilarmente activa o en la matriz porosa, absorbente que a continuación captura el analito (en este caso un antígeno o hapteno) de la muestra y también la inmoviliza en la zona capilarmente activa tal como, por ejemplo, la matriz absorbente. En este caso, el analito se puede hacer detectable, por ejemplo, por medio de un marcador que se puede detectar visual, óptica u ópticamente con fluorescencia por otras reacciones, por ejemplo, poniéndolo en contacto adicionalmente con un compañero unible marcado.

- 5 En otro modo de realización, la estructura fluidica contiene un primer compañero de unión específico del analito con un marcador detectable y un segundo compañero de unión específico con un marcador de captura. Ambos forman un complejo de unión con el analito. Esto puede consistir en un primer compañero de unión específico, un segundo compañero de unión específico y un analito. Esto puede proporcionar adicionalmente una estructura de medición dentro del compañero de unión inmovilizado específico para el marcador de captura del segundo compañero de unión específico.
- 10 En otro modo de realización, la detección está basada en fluorescencia.
- En otro modo de realización, el marcador es un marcador fluorescente basado en partículas.
- 15 En otro modo de realización, la membrana cromatográfica contiene una zona de calibración óptica. La zona de calibración óptica puede ser, por ejemplo, una región sobre la estructura de medición que contiene una cantidad definida del marcador inmovilizado y proporciona un medio para verificar si la óptica del instrumento funciona apropiadamente y si no, calibrarla adecuadamente. En otros modos de realización, la zona de calibración óptica está localizada en diferentes localizaciones en el elemento de prueba.
- 20 En otro modo de realización, la estructura de medición contiene un reactivo y una zona de control de flujo. Esto puede proporcionar un medio de verificación de si el cartucho funciona apropiadamente en términos de reactivos e inmunocromatografía. Pueden existir, por ejemplo, dos zonas de control diferentes, una zona de reactivo/control de flujo y una de calibración óptica como zona de control del instrumento para corregir la intensidad de la fuente de radiación o excitación cuando se realiza una medición óptica.
- 25 En otro modo de realización, el cartucho tiene forma de disco o al menos parcialmente forma de disco.
- En otro modo de realización, el cartucho puede tener un borde exterior que encaje dentro de un círculo dibujado alrededor del eje de rotación.
- 30 En otro modo de realización, el cartucho tiene un borde exterior. El borde exterior puede tener una parte o partes que son circularmente simétricas alrededor del eje de rotación.
- En otro modo de realización, las dos o más cámaras medidoras son una cualquiera de las siguientes: tres cámaras medidoras, cuatro cámaras medidoras y cinco cámaras medidoras.
- 35 En otro modo de realización, las dos o más cámaras medidoras comprenden una última cámara medidora llena. El término última cámara medidora llena es una etiqueta para una cámara medidora particular. El cartucho comprende además un depósito de residuos conectado a la salida de muestra de la cámara medidora. Cuando las dos o más cámaras medidoras se llenan secuencialmente, la última cámara medidora llena es la que está más alejada en la cadena de canales de distribución de muestra.
- 40 En otro modo de realización, la entrada de cartucho está localizada más cerca del eje de rotación que la cámara de retención de muestra. La cámara de retención de muestra se alarga a lo largo de una trayectoria alargada. La trayectoria alargada rodea al menos parcialmente el eje de rotación. La cámara de retención de muestra tiene un borde más alejado del eje de rotación. La distancia desde el borde más alejado hasta el eje de rotación se incrementa a lo largo de la trayectoria alargada. El tubo de conexión para cada una de las dos o más cámaras medidoras se conecta a la cámara de retención de muestra en el borde más alejado.
- 45 En otro modo de realización, el tubo de conexión de cada una de las dos o más cámaras medidoras se conecta además a uno de los al menos un canal de distribución de muestra contiguo a la entrada de muestra. Esto puede ser beneficioso porque proporciona un lugar común para que la muestra biológica se introduzca en la cámara medidora.
- 50 En otro modo de realización, el tubo de conexión de cada una de las dos o más cámaras medidoras comprende un tope capilar. El uso del tope capilar puede ser beneficioso porque el fluido en la cámara de retención de muestra no fluye ni se mueve hacia las dos o más cámaras medidoras hasta que comienza una rotación del cartucho alrededor del eje de rotación. Esto puede resultar beneficioso para controlar el flujo de la muestra biológica hacia las dos o más cámaras medidoras.
- 55 En otro modo de realización, el fluido biológico es uno cualquiera de los siguientes: sangre completa, orina, semen, saliva, una muestra de heces mezclada con un líquido, plasma sanguíneo, suero sanguíneo y líquido intersticial.
- 60 En otro modo de realización, la estructura de medición comprende dos o más electrodos y/o una estructura de medición óptica. El sistema de medición comprende un sistema para realizar una medición eléctrica. El sistema de medición comprende un sistema para realizar mediciones ópticas.
- 65 En algunos modos de realización, la estructura de medición óptica puede ser una estructura transparente o una

estructura ópticamente transparente. El sistema de medición comprende un sistema de medición óptico.

En algunos ejemplos, ópticamente transparente puede incluir infrarrojo cercano y ultravioleta cercano. En otros ejemplos, ópticamente transparente puede excluir el infrarrojo cercano o el ultravioleta cercano.

5 Algunos ejemplos pueden tener tanto la estructura de medición con la estructura transparente como también los electrodos para pruebas más complicadas. Por ejemplo, la estructura de medición puede ser una estructura para realizar mediciones de electroquimioluminiscencia donde los electrodos provocan una excitación óptica en una muestra.

10 En otros ejemplos, la estructura de medición comprende dos o más electrodos para realizar una medición eléctrica o medición ECL de la muestra biológica procesada. Por ejemplo, las estructuras de medición de Martínez-Duarte *et al.* o Kim *et al.* se pueden incorporar en un cartucho.

15 Los ejemplos también pueden tener solo un electrodo. Por ejemplo, en una estructura de detección electroquímica, se puede usar un electrodo para cuantificar una corriente provocada por el resultado de una reacción enzimática.

20 En otro aspecto, el analizador automático comprende además un dispositivo giratorio de cartuchos para controlar la rotación del cartucho alrededor del eje de rotación. El analizador automático comprende además un sistema de medición para cuantificar la cantidad de los al menos dos analitos usando la estructura de medición de cada una de las dos o más cámaras medidoras.

25 El analizador automático comprende además una memoria para almacenar instrucciones ejecutables por máquina y un procesador para controlar el analizador automático. La ejecución de las instrucciones ejecutables por máquina provoca además que el procesador controle el dispositivo giratorio de cartuchos para girar el cartucho alrededor del eje de rotación para transportar una porción de una muestra biológica desde la cámara de retención de muestra a cada una de las dos o más cámaras medidoras. La rotación del cartucho provoca el transporte simultáneo de una primera parte de la porción de la muestra biológica a cada una de las dos o más cámaras medidoras por medio de los tubos de conexión para cada una de las dos o más cámaras medidoras. La rotación del cartucho provoca el transporte de una segunda parte de la porción de la muestra biológica a cada una de las dos o más cámaras medidoras en serie por medio del al menos un canal de distribución de sangre.

35 La ejecución de las instrucciones ejecutables por máquina provoca además que el procesador controle el dispositivo giratorio de cartuchos para controlar la rotación del cartucho alrededor del eje de rotación para transportar una muestra medida desde cada una de las dos o más cámaras medidoras a la estructura microfluídica. La ejecución de las instrucciones ejecutables por máquina provoca además que el procesador controle el dispositivo giratorio de cartuchos para controlar la rotación del cartucho alrededor del eje de rotación para procesar la muestra medida para suministrar una muestra procesada. La ejecución de las instrucciones ejecutables por máquina provoca además que el procesador controle el dispositivo giratorio de cartuchos para controlar la rotación del cartucho para transferir la muestra procesada desde la estructura microfluídica de cada una de las dos o más cámaras medidoras a la estructura de medición. La ejecución de las instrucciones ejecutables por máquina provoca además que el procesador cuantifique la cantidad de al menos dos analitos usando la estructura de medición de cada una de las dos o más cámaras medidoras y un sistema de medición.

45 En otro modo de realización, la muestra biológica es una muestra de sangre completa. Las dos o más cámaras medidoras son dos o más cámaras de separación de plasma. La cámara de separación de plasma también se puede denominar cámara de separación de sangre. La patente de Estados Unidos US 2009/0191643 A1 ilustra una estructura microfluídica en un disco giratorio que puede separar suero o plasma de la fracción de células sanguíneas (principalmente los eritrocitos) de una muestra de sangre completa.

50 La ejecución de las instrucciones ejecutables por máquina provoca además que el procesador controle el dispositivo giratorio de cartuchos para controlar la rotación del cartucho alrededor del eje de rotación para separar el plasma sanguíneo de la porción de la muestra de sangre completa en cada una de las dos o más cámaras de separación de plasma por centrifugación.

55 Se entiende que uno o más de los modos de realización de la invención mencionados anteriormente se pueden combinar siempre que los modos de realización combinados no sean mutuamente excluyentes.

**Breve descripción de los dibujos**

60 En lo que sigue, se explican modos de realización de la invención en mayor detalle, solo a modo de ejemplo, haciendo referencia a los dibujos, en los que:

65 la fig. 1 ilustra un ejemplo de un cartucho;

la fig. 2 ilustra otro ejemplo de un cartucho;

la fig. 3 muestra otra vista del cartucho de la fig. 2;

la fig. 4 muestra otra vista del cartucho de la fig. 2;

la fig. 5 muestra otra vista del cartucho de la fig. 2;

la fig. 6 muestra otra vista del cartucho de la fig. 2;

la fig. 7 muestra otra vista del cartucho de la fig. 2;

la fig. 8 ilustra otro ejemplo de un cartucho;

la fig. 9 muestra otra vista del cartucho de la fig. 8;

la fig. 10 ilustra un ejemplo de un analizador automático; y

la fig. 11 muestra un diagrama de flujo que ilustra un procedimiento de uso del analizador automático de la fig. 10.

## Descripción detallada

Los elementos numerados similarmente en estas figuras son elementos equivalentes o bien realizan la misma función. Los elementos que se han analizado previamente no se analizarán necesariamente en figuras posteriores si la función es equivalente.

La fig. 1 muestra un ejemplo de un cartucho. El cartucho 100 tiene un eje de rotación 102. El cartucho también comprende una entrada de cartucho 104. En este ejemplo, la entrada de cartucho 104 está localizada donde está el eje de rotación 102. Sin embargo, la entrada de cartucho 104 también podría estar fuera del eje de rotación 102. La entrada de cartucho 104 se conecta a una cámara de retención de muestra 106. En este ejemplo, la cámara de retención de muestra 106 sigue una trayectoria alargada 110. La trayectoria alargada envuelve parcialmente el eje de rotación 102. La cámara de retención de muestra 106 tiene un borde más alejado 112 que es el borde más alejado del eje de rotación 102.

Se puede ver que la cámara de retención de muestra 106 de la fig. 1 contiene una muestra biológica 108 que se ha colocado en la cámara de retención de muestra 106. Dentro de diversas estructuras del cartucho 100 se pueden ver una serie de acontecimientos 114. El cartucho 100 comprende además una primera cámara medidora 116, una segunda cámara medidora 118 y una última cámara medidora 120. Cada cámara medidora 116, 118, 120 tiene una entrada de muestra 122, una salida de muestra 124 y una salida medida 126. Existe un tubo de conexión 128 para cada una de las cámaras medidoras 116, 118, 120 que se conecta directamente desde la entrada de muestra 122 al borde más alejado 112 de la cámara de retención de muestra 106. El líquido puede discurrir directamente desde la cámara de retención de muestra 106 a las entradas de muestra 122.

En la fig. 1 también se muestran dos canales de distribución de muestra 132. Los canales de distribución de muestra 132 se usan para llenar también secuencialmente las cámaras medidoras 116, 118, 120. Uno de los canales de distribución de muestra 132 conecta la salida de muestra 124 de la primera cámara medidora 116 con la entrada de muestra 122 de la segunda cámara medidora 118. Existe un segundo canal de distribución de muestra 132 conectado a la salida de muestra 124 de la segunda cámara medidora 118 y conectado a la entrada de muestra 122 de la última cámara medidora 120. La combinación de los tubos de conexión 128 y los canales de distribución de muestra 132 provoca que las cámaras medidoras 116, 118, 120 se llenen tanto en serie como en paralelo. Este procedimiento de llenado puede ser en particular beneficioso cuando la muestra biológica comprende múltiples componentes.

Por ejemplo, si la muestra biológica 108 contiene un sólido tal como glóbulos rojos, a medida que gira, puede provocar que los glóbulos rojos se concentren en la primera cámara medidora 116. También usando como ejemplo, la sangre completa también contiene componentes grasos tales como lípidos. Cuando se realizan múltiples tareas usando una única muestra, es beneficioso que la muestra biológica original tenga una composición en las cámaras medidoras 116, 118, 120 que sea lo más cercana posible a la composición de la muestra biológica 108. Se ha demostrado experimentalmente que el uso tanto de los tubos de conexión 128 para llenar en paralelo como de los canales de distribución de muestra 132 para llenar en serie proporciona muestras en las cámaras medidoras 116, 118, 120 que coinciden con la composición de la muestra biológica 108 más estrechamente que si el llenado de las cámaras medidoras 116, 118, 120 se realiza usando solo llenado en serie o en paralelo. Cuando se usa solo el llenado en paralelo, el problema no es la composición de las múltiples muestras, sino la dificultad en la distribución equitativa de los volúmenes de cada una de las muestras. Con el llenado en paralelo solo, es difícil asegurarse de que cada estructura medidora se llene completamente.

Cada una de las cámaras medidoras 116, 118, 120 comprende una salida medida 126 que se conecta a un elemento

- fluídico. El elemento fluídico 134 representado en la fig. 1 era un elemento de prueba usado para simular una estructura microfluídica y una estructura de medición en un disco de prueba. La estructura fluídica 134 se puede usar para recoger la muestra biológica medida. Los elementos fluídicos 134 se pueden reemplazar fácilmente con otras estructuras tales como una estructura microfluídica para procesar la muestra medida para suministrar una muestra procesada y también una estructura de medición. Dichas estructuras se muestran en algunas figs. posteriores.
- 5 El cartucho 100 se muestra conteniendo opcionalmente un depósito de residuos 136 que se conecta a la salida de muestra 124 de la última cámara medidora 120.
- 10 Las figs. 2-7 ilustran la distribución de una muestra biológica en tres cámaras medidoras. El cartucho 100 ilustrado en las figs. 2-7 es idéntico al cartucho 100 en la fig. 1 excepto con la adición de canales de derivación de muestra 200 que conectan la entrada de muestra 122 a la salida de muestra 124 de la segunda cámara medidora 118 y la última cámara medidora 120. En los experimentos, se ha demostrado que la adición del canal de derivación de muestra 200 es eficaz para preservar la composición de la muestra biológica 108 cuando se distribuye a las cámaras medidoras 116, 118, 120 llenas cuando la cámara de retención de muestra 106 se llena en exceso.
- 15 En la fig. 2, la muestra biológica 108 se ha colocado en la cámara de retención de muestra 106 por medio de la entrada de cartucho 104. En la fig. 2, el cartucho 100 aún no ha girado alrededor del eje de rotación 102.
- 20 La fig. 3 muestra el cartucho 100 poco después de que el cartucho 100 ha comenzado a girar alrededor del eje de rotación 102. La fuerza centrífuga fuerza a la muestra biológica 108 a pasar a lo largo del borde más alejado 112. Las tres cámaras medidoras 116, 118, 120 comienzan a llenarse por medio de los tubos de conexión 128.
- 25 La fig. 4 muestra el cartucho 100 después de que ha girado durante más tiempo que el que se muestra en la fig. 3. La cantidad de muestra biológica 108 en la cámara de retención de muestra 106 se ha agotado. La cantidad de muestra biológica 108 ha disminuido al punto de que la última cámara medidora 120 ya no se llena con la muestra biológica 108 por el tubo de conexión 128. Sin embargo, la primera cámara medidora 116 y la segunda cámara medidora 118 todavía se están llenando.
- 30 La fig. 5 muestra el disco 108 después de que ha estado girando más tiempo del que se muestra en la fig. 4. En la fig. 5, la muestra biológica 108 ha abandonado casi completamente la cámara de retención de muestra 106. La segunda cámara medidora 118 y la última cámara medidora 120 ya no se llenan por los tubos de conexión 128. Sin embargo, la primera cámara medidora 116 en este punto se ha llenado completamente. La muestra biológica 108 fluye ahora fuera de la salida de muestra 124 y a través del primer canal de distribución de muestra 132 a la entrada de muestra 122 de la segunda cámara medidora 118.
- 35 La fig. 6 muestra el cartucho 100 después de que ha estado girando durante más tiempo que el que se muestra en la fig. 5. En la fig. 6, el cartucho 100 se muestra en el punto donde se han llenado las tres cámaras medidoras 116, 118, 120. Se puede mostrar que parte de la muestra biológica 108 discurre a través de los canales de distribución de muestra 132. Después de que se llenó la segunda cámara medidora 118, la muestra biológica comenzó a fluir desde la salida de muestra 124 de la segunda cámara medidora 118 a la entrada de muestra 122 de la última cámara medidora 120.
- 40 La fig. 7 muestra el cartucho 100 después de que ha girado durante más tiempo que el que se muestra en la fig. 6. El cartucho continúa girando hasta que el exceso de muestra biológica 108 se transporta al depósito de residuos 136.
- 45 La fig. 8 muestra una vista anterior y la fig. 9 muestra una vista posterior de un cartucho 100 que es similar al mostrado en las figs. 2-7. En este ejemplo, la primera, segunda y última cámaras medidoras 116, 118 y 120 son cámaras para separar el plasma de la sangre completa. En este ejemplo existe una estructura microfluídica que comprende dos cámaras de reactivo. Las dos cámaras de reactivos se pueden usar para combinar uno o más reactivos con plasma sanguíneo que sale a través de la salida medida 126. La estructura microfluídica 800 se conecta a una estructura de medición 804. La estructura de medición comprende una membrana cromatográfica 806 que está en contacto con una lana de residuos 808. El lado posterior del cartucho representado en la fig. 9 muestra una ventana de detección 810 que posibilita que un instrumento espectrográfico realice una medición en la membrana cromatográfica 806. El lado posterior del cartucho también muestra una serie de ampollas o depósitos 812 llenos con tampón de lavado. La parte frontal del cartucho mostrado en la fig. 8 muestra una serie de estructuras para dividir en alícuotas 814 para distribuir el tampón de lavado múltiples veces para lavar o limpiar la membrana cromatográfica 806. Las estructuras para dividir en alícuotas 814 son similares en función a las estructuras para distribuir múltiples alícuotas de un líquido que se ilustran en la solicitud de patente internacional WO 2015/185763.
- 50 La fig. 10 muestra un ejemplo de un analizador automático 1000. El analizador automático 1000 se adapta para recibir un cartucho 100. Existe un dispositivo giratorio de cartuchos 1002 que se puede hacer funcionar para hacer girar el cartucho 100 alrededor del eje de rotación 102. El dispositivo giratorio de cartuchos 1002 tiene un motor 1004 fijado a un dispositivo de agarre 1006 que se fija a una parte del cartucho 1008. El cartucho 100 se muestra además teniendo una estructura de medición o transparente 1010. El cartucho 300 puede girar de modo que la estructura de medición 1010 vaya delante de un sistema de medición 1012 que puede realizar, por ejemplo, una medición óptica en la muestra
- 55
- 60
- 65

biológica procesada.

5 El dispositivo giratorio de cartuchos 1002 y el sistema de medición 1012 se muestran todos conectados a una interfaz de equipo informático 1016 de un controlador 1014. El controlador 1014 contiene un procesador 1018 en comunicación con la interfaz de equipo informático 1016, el almacenamiento electrónico 1020, la memoria electrónica 1022 y una interfaz de red 1024. La memoria electrónica 1030 tiene instrucciones ejecutables por una máquina que posibilitan que el procesador 1018 controle el funcionamiento y la función del analizador automático 1000. Se muestra el almacenamiento electrónico 1020 como conteniendo una medición 1032 que se adquirió cuando las instrucciones 1030 se ejecutaron por el procesador 1018. La interfaz de red 1024 posibilita que el procesador 1018 envíe la medición 1032 por medio de la interfaz de red 1026 a un sistema de información de laboratorio 1028.

15 La fig. 11 muestra un diagrama de flujo que ilustra un procedimiento de funcionamiento del analizador automático 1000 de la fig. 10. En primer lugar, en la etapa 1100, se controla el dispositivo giratorio de cartuchos 1002 para que haga girar el cartucho 100 alrededor del eje de rotación para transportar una porción de una muestra biológica desde la cámara de retención de muestra a cada una de las dos o más cámaras medidoras. La rotación del cartucho provoca el transporte simultáneo de una primera parte de la porción de la muestra biológica a cada una de las dos o más cámaras medidoras por medio del tubo de conexión para cada una de las dos o más cámaras medidoras. La rotación del cartucho provoca el transporte de la segunda parte de la porción de la muestra biológica a cada una de las dos o más cámaras medidoras en serie por medio del al menos un canal de distribución de sangre. Seguidamente, en la etapa 1102, se controla además el dispositivo giratorio de cartuchos 1002 para que controle la rotación del cartucho 100 alrededor del eje de rotación para transportar una muestra medida desde cada una de las dos o más cámaras medidoras a la estructura microfluídica. Seguidamente, en la etapa 1104, se controla el dispositivo giratorio de cartuchos 1002 para que haga girar el cartucho alrededor del eje de rotación para procesar la muestra medida para suministrar la muestra procesada. Seguidamente, en la etapa 1106, se controla el dispositivo giratorio de cartuchos 25 1002 para que haga girar el cartucho para transferir la muestra procesada desde la estructura microfluídica de cada una de las dos o más cámaras medidoras a su estructura de medición 804. Finalmente, en la etapa 1108, se controla el sistema de medición 1012 para cuantificar la cantidad de al menos dos analitos usando la estructura de medición 804 de cada una de las dos o más cámaras medidoras.

30 **Lista de números de referencia**

- 100 cartucho
- 102 eje de rotación
- 35 104 entrada de cartucho
- 106 cámara de retención de muestra
- 40 108 muestra biológica
- 110 trayectoria alargada
- 45 112 borde más alejado
- 114 ventilación
- 116 primera cámara medidora
- 50 118 segunda cámara medidora
- 120 última cámara medidora
- 55 122 entrada de muestra
- 124 salida de muestra
- 126 salida medida
- 60 128 tubo de conexión
- 130 tope capilar
- 132 canal de distribución de muestra
- 65 134 elemento fluídico

	136	depósito de residuos
5	200	canal de derivación de muestra
	800	estructura microfluídica
	802	cámara de reactivo
10	804	estructura de medición
	806	membrana cromatográfica
	808	lana de residuos
15	810	ventana de detección
	812	ampolla con tampón de lavado
20	814	estructura para dividir en alícuotas
	1000	analizador automático
	1002	dispositivo giratorio de cartuchos
25	1004	motor
	1006	dispositivo de agarre
30	1008	parte de cartucho
	1010	estructura de medición
	1012	sistema de medición
35	1014	controlador
	1016	interfaz de equipo informático
40	1018	procesador
	1020	almacenamiento electrónico
	1022	memoria electrónica
45	1024	interfaz de red
	1026	conexión de red
50	1028	sistema de información de laboratorio
	1030	instrucciones ejecutables
	1032	medición

## REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento de determinación de una cantidad de al menos dos analitos en una muestra biológica (108) usando un cartucho (100), en el que la muestra biológica comprende un líquido, en el que el cartucho se puede hacer funcionar para que gire alrededor de un eje de rotación (102), en el que el cartucho comprende:
- una entrada de cartucho (104) para recibir la muestra biológica;
  - una cámara de retención de muestra (106) conectada de forma fluida a la entrada de cartucho;
  - dos o más cámaras medidoras (116, 118, 120) para recibir un volumen predeterminado de la muestra biológica, en el que cada una de las dos o más cámaras medidoras comprende una entrada de muestra (122), en el que cada una de las dos o más cámaras medidoras comprende una salida de muestra (124), en el que cada una de las dos o más cámaras medidoras comprende una salida medida (126) para distribuir un volumen predeterminado;
  - un tubo de conexión (128) para cada una de las dos o más cámaras medidoras que conecta de forma fluida la entrada de muestra con la cámara de retención de muestra;
  - al menos un canal de distribución de muestra (132), en el que cada uno de los al menos un canal de distribución de muestra conecta la salida de muestra de una primera cámara medidora seleccionada con una entrada de muestra de una segunda cámara medidora seleccionada, en el que las dos o más cámaras medidoras comprenden la primera cámara medidora seleccionada, en el que la segunda cámara medidora seleccionada es contigua a la primera cámara medidora seleccionada;
  - una estructura microfluídica (800) para cada una de las dos o más cámaras medidoras, en el que la estructura microfluídica se conecta a la salida medida, en el que la estructura microfluídica se configura para procesar la muestra biológica para suministrar una muestra procesada;
  - una estructura de medición (804) para cada una de las dos o más cámaras medidoras para posibilitar la medición de la muestra procesada para determinar una concentración del analito en la muestra procesada, en el que la estructura de medición se conecta de forma fluida a la estructura microfluídica;
- en el que el procedimiento comprende:
- colocar la muestra biológica en la entrada de cartucho para llenar al menos parcialmente la cámara de retención de muestra;
  - hacer girar (1100) el cartucho alrededor del eje de rotación para transportar una porción de la muestra desde la cámara de retención de muestra a cada una de las dos o más cámaras medidoras, en el que la rotación del cartucho provoca el transporte simultáneo de una primera parte de la porción de la muestra a cada una de las dos o más cámaras medidoras por medio del tubo de conexión para cada una de las dos o más cámaras medidoras, en el que la rotación del cartucho provoca el transporte de una segunda parte de la porción de la muestra a al menos una de las dos o más cámaras medidoras en serie por medio del al menos un canal de distribución de muestra;
  - controlar (1102) la rotación del cartucho alrededor del eje de rotación para transportar una muestra biológica medida desde cada una de las dos o más cámaras medidoras a la estructura microfluídica, en el que la muestra biológica medida tiene el volumen predeterminado;
  - controlar (1104) la rotación del cartucho alrededor del eje de rotación para procesar la muestra biológica medida para suministrar la muestra procesada;
  - controlar (1106) la rotación del cartucho para transferir la muestra procesada desde la estructura microfluídica a la estructura de medición; y
  - cuantificar (1108) la cantidad de al menos dos analitos usando la estructura de medición de cada una de las dos o más cámaras medidoras y un sistema de medición.
2. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que la entrada de cartucho está localizada más cerca del eje de rotación que la cámara de retención de muestra, en el que la cámara de retención de muestra se alarga a lo largo de una trayectoria alargada (110), en el que la trayectoria alargada rodea al menos parcialmente el eje de rotación, en el que la cámara de retención de muestra tiene un borde más alejado (112) del eje de rotación, en el que la distancia desde el borde más alejado al eje de rotación se incrementa a lo largo de la trayectoria alargada, en el que el tubo de conexión para cada una de las dos o más cámaras medidoras se conecta a la cámara de retención de muestra en el borde más alejado.

3. El procedimiento de la reivindicación 1 o 2, en el que el líquido es un líquido de múltiples componentes que comprende al menos un sólido, al menos un líquido y al menos un lípido.
4. El procedimiento de la reivindicación 1, 2 o 3, en el que la muestra biológica es una muestra de sangre completa y en el que las dos o más cámaras medidoras son cámaras de separación de plasma.
5. Un cartucho (100) para determinar una cantidad de al menos dos analitos en una muestra biológica, en el que el cartucho se puede hacer funcionar para que gire alrededor de un eje de rotación (102),
- 10 en el que el cartucho comprende:
- una entrada de cartucho (104) para recibir la muestra biológica;
  - una cámara de retención de muestra (106) conectada de forma fluida a la entrada de cartucho;
  - dos o más cámaras medidoras (116, 118, 120) para la muestra biológica para recibir un volumen predeterminado de la muestra biológica, en el que cada una de las dos o más cámaras medidoras comprende una entrada de muestra (122), en el que cada una de las dos o más cámaras medidoras comprende una salida de muestra (124), en el que cada una de las dos o más cámaras medidoras comprende una salida medida (126) para distribuir un volumen predeterminado;
  - un tubo de conexión (128) para cada una de las dos o más cámaras medidoras que conecta de forma fluida la entrada de muestra con la cámara de retención de muestra;
  - al menos un canal de distribución de muestra (132), en el que cada una de la al menos una cámara de distribución de muestra conecta la salida de muestra de una primera cámara medidora seleccionada con una entrada de muestra de una segunda cámara medidora seleccionada, en el que las dos o más cámaras medidoras comprenden la primera cámara medidora seleccionada, en el que las dos o más cámaras medidoras comprenden la segunda cámara medidora seleccionada, en el que la segunda cámara medidora seleccionada es contigua a la primera cámara medidora seleccionada;
  - una estructura microfluídica (800) para cada una de las dos o más cámaras medidoras, en el que la estructura microfluídica se conecta a la salida medida, en la que la estructura microfluídica se configura para procesar la muestra para suministrar una muestra procesada; y
  - una estructura de medición (804) para cada una de las dos o más cámaras medidoras para posibilitar la medición de la muestra procesada para determinar la cantidad del analito en la muestra procesada, en el que la estructura de medición se conecta de forma fluida a la estructura microfluídica.
6. El cartucho de la reivindicación 5, en el que las dos o más cámaras medidoras comprenden una primera cámara medidora (116) llena y una o más cámaras medidoras (118, 120) llenadas secuencialmente, en el que cada una de las una o más cámaras medidoras llenadas secuencialmente comprende un canal de derivación de muestra (200) que conecta de forma fluida la entrada de muestra con la salida de muestra.
7. El cartucho de la reivindicación 5 o 6, en el que cada uno de los al menos dos analitos comprende uno cualquiera de los siguientes: troponina T, troponina I, CKMB, NTproBNP, dímero D, mioglobina, TSH y PCT.
8. El cartucho de una cualquiera de las reivindicaciones 5, 6 o 7, en el que el cartucho se forma a partir de un disco de plástico y una placa de cubierta, en el que al menos una parte de la cámara de muestra es visible a través de la placa de cubierta y/o el disco de plástico.
9. El cartucho de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, en el que la cámara de retención de muestra se configura para recibir la muestra biológica con un volumen entre 30  $\mu$ l y 500  $\mu$ l.
10. El cartucho de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 9, en el que la entrada de cartucho está localizada más cerca del eje de rotación que la cámara de retención de muestra, en el que la cámara de retención de muestra se alarga a lo largo de una trayectoria alargada (110), en el que la trayectoria alargada al menos parcialmente rodea el eje de rotación, en el que la cámara de retención de muestra tiene un borde más alejado (112) del eje de rotación, en el que la distancia desde el borde más alejado al eje de rotación se incrementa a lo largo de la trayectoria alargada, y en el que el tubo de conexión para cada una de las dos o más cámaras medidoras se conecta a la cámara de retención de muestra en el borde más alejado.
11. El cartucho de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 10, en el que el tubo de conexión de cada una de las dos o más cámaras medidoras se conecta además a uno de los al menos un canal de distribución de muestra contiguo a la entrada de muestra.

12. El cartucho de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 11, en el que el líquido biológico es uno cualquiera de los siguientes: sangre completa, orina, semen, saliva, una muestra de heces, plasma sanguíneo, suero sanguíneo y líquido intersticial.
- 5 13. Un analizador automático (1000) que comprende un cartucho (100) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 12, en el que el analizador automático comprende además un dispositivo giratorio de cartuchos (1002) para controlar la rotación del cartucho alrededor del eje de rotación (102), y en el que el analizador automático comprende además un sistema de medición (1012) para cuantificar la cantidad de los al menos dos analitos usando la estructura de medición (804) de cada una de las dos o más cámaras medidoras.
- 10 14. El analizador automático de la reivindicación 13, en el que el analizador automático comprende además una memoria (1022) para almacenar instrucciones ejecutables por máquina (1030) y un procesador (1018) para controlar el analizador automático, en el que la ejecución de las instrucciones ejecutables por máquina provoca que el procesador:
- 15 - controle (1100) el dispositivo giratorio de cartuchos para hacer girar el cartucho alrededor del eje de rotación para transportar una porción de una muestra biológica desde la cámara de retención de muestra a cada una de las dos o más cámaras medidoras, en el que la rotación del cartucho provoca el transporte simultáneo de una primera parte de la porción de la muestra biológica a cada una de las dos o más cámaras medidoras por medio del tubo de conexión para cada una de las dos o más cámaras medidoras, en el que la rotación del cartucho provoca el transporte de una segunda parte de la porción de la muestra biológica a cada una de las dos o más cámaras medidoras en serie por medio del al menos un canal de distribución de sangre;
- 20 - controle (1102) el dispositivo giratorio de cartuchos para controlar la rotación del cartucho alrededor del eje de rotación para transportar una muestra biológica medida desde cada una de las dos o más cámaras de separación de plasma a la estructura microfluidica, en el que la muestra biológica medida tiene el volumen predeterminado;
- 25 - controle (1104) el dispositivo giratorio de cartuchos para controlar la rotación del cartucho alrededor del eje de rotación para procesar la muestra biológica medida para suministrar la muestra procesada;
- 30 - controle (1106) el dispositivo giratorio de cartuchos para controlar la rotación del cartucho para transferir la muestra procesada desde la estructura microfluidica de cada una de las dos o más cámaras de separación de plasma a la estructura de medición; y
- 35 - cuantifique (1108) la cantidad de al menos dos analitos usando la estructura de medición de cada una de las dos o más cámaras de separación de plasma y un sistema de medición.
- 40 15. El analizador automático de la reivindicación 14, en el que la muestra biológica es una muestra de sangre completa, en el que las dos o más cámaras medidoras son dos o más cámaras de separación de plasma, en el que la ejecución de las instrucciones ejecutables por máquina provocan además que el procesador controle el dispositivo giratorio de cartuchos para controlar la rotación del cartucho alrededor del eje de rotación para separar el plasma sanguíneo de la porción de la muestra de sangre en cada una de las dos o más cámaras de separación de plasma por centrifugación.

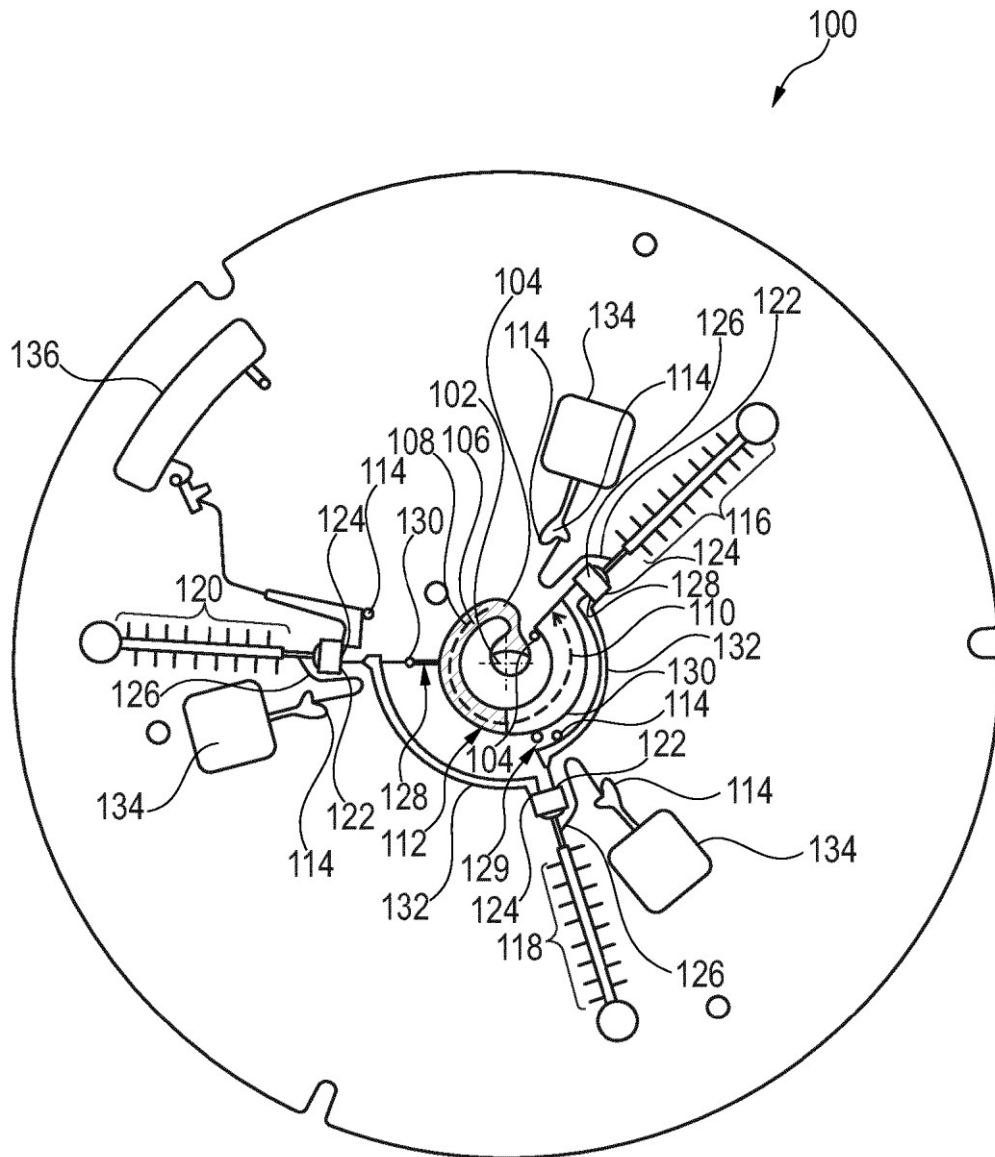


Fig. 1

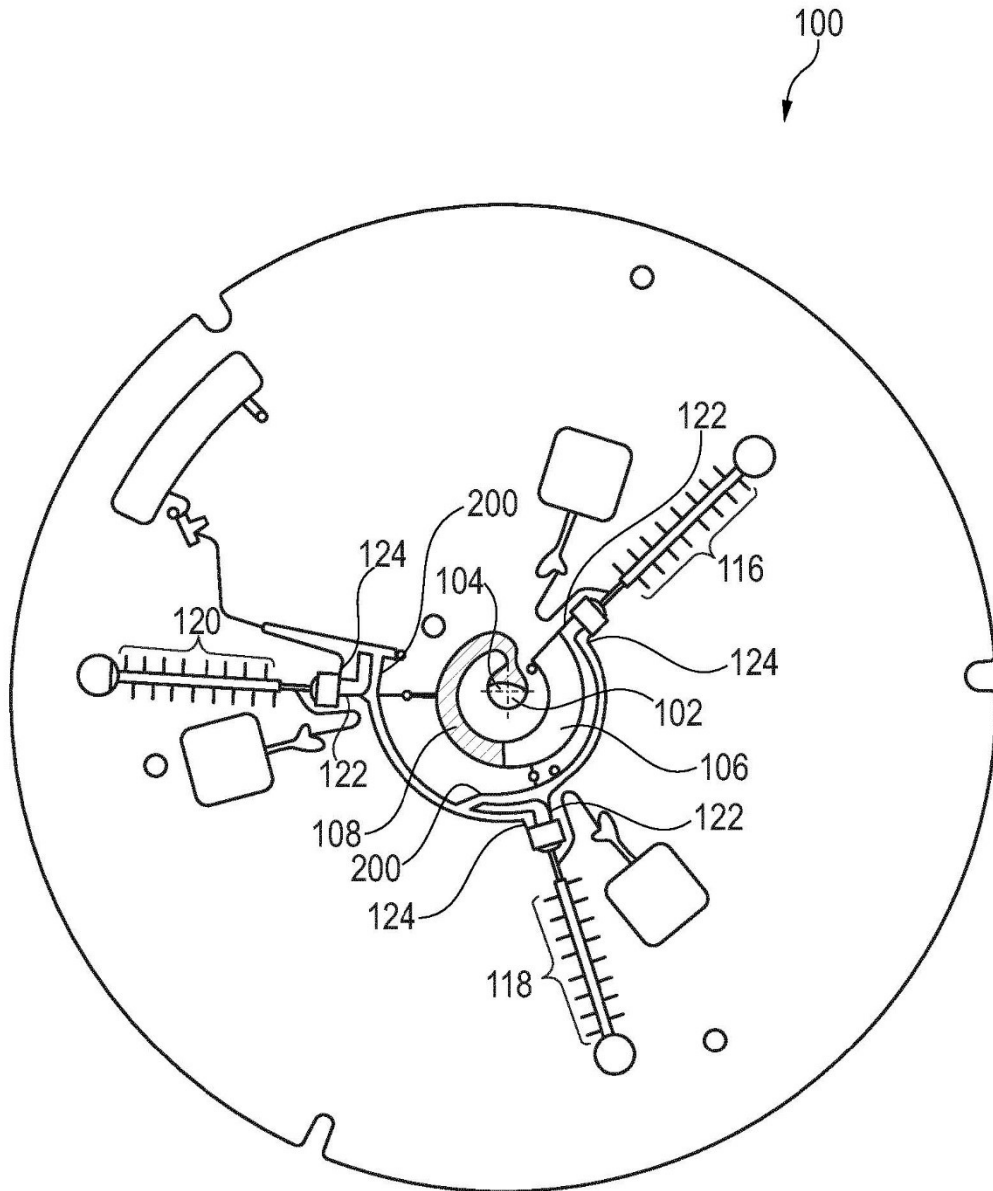


Fig. 2

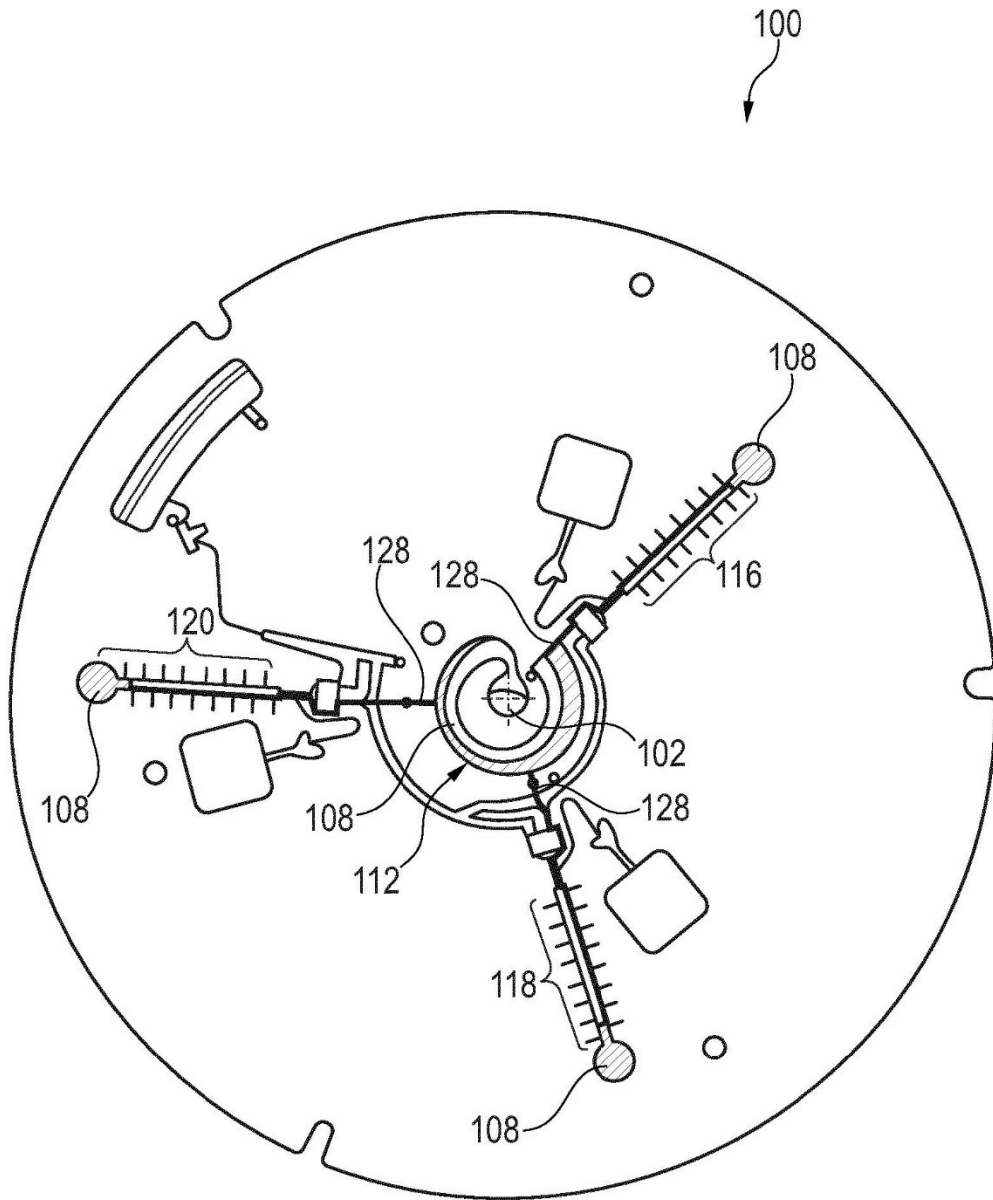


Fig. 3

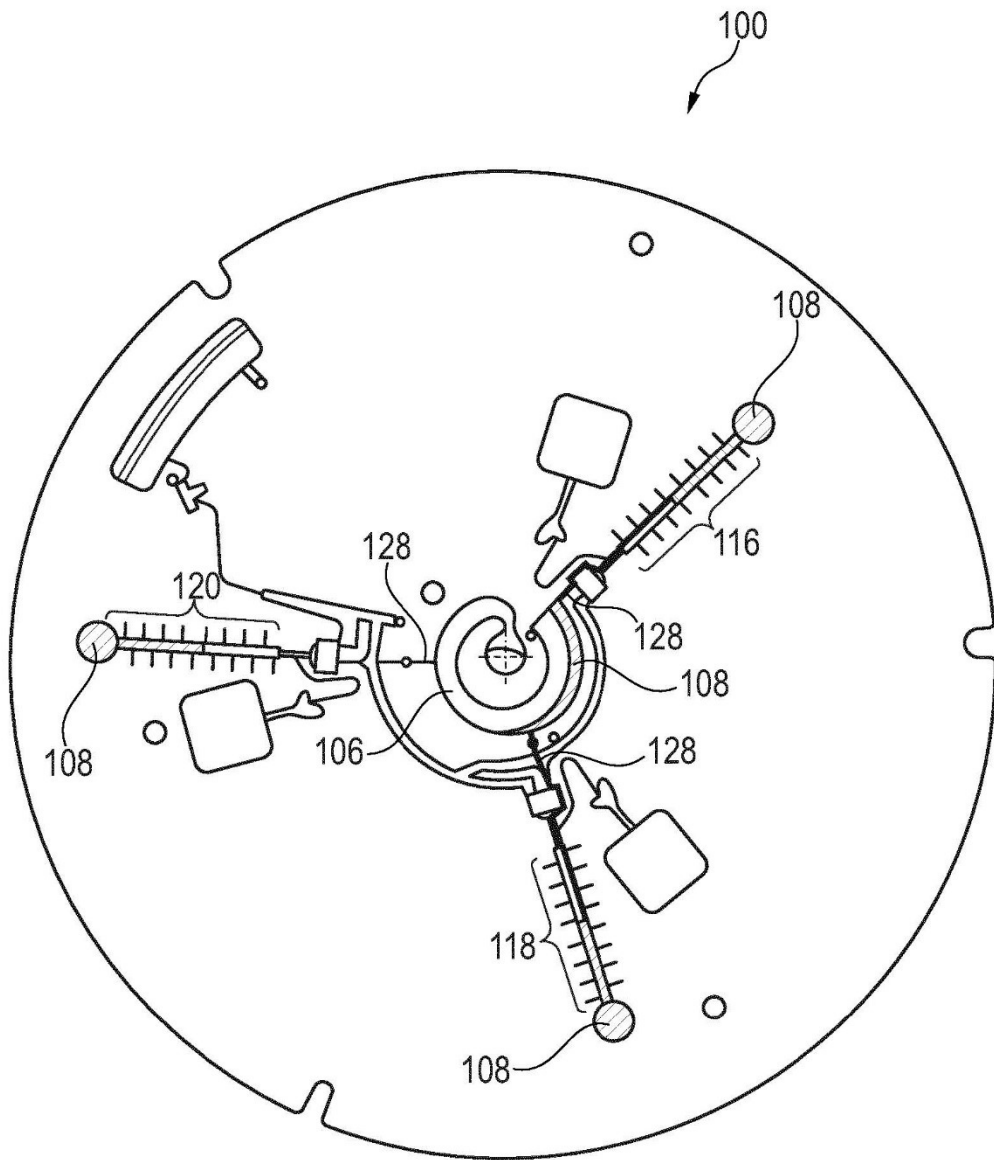


Fig. 4

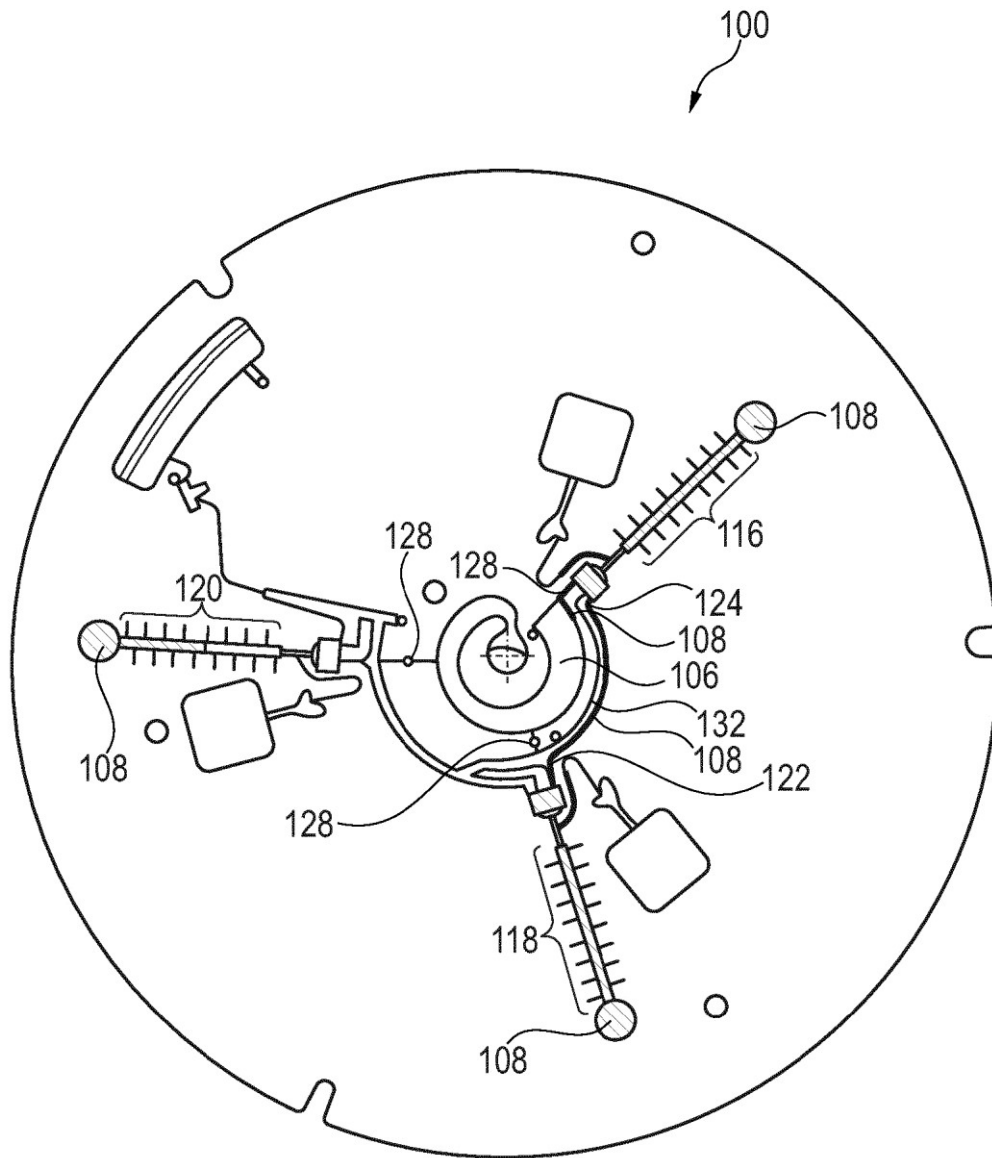


Fig. 5

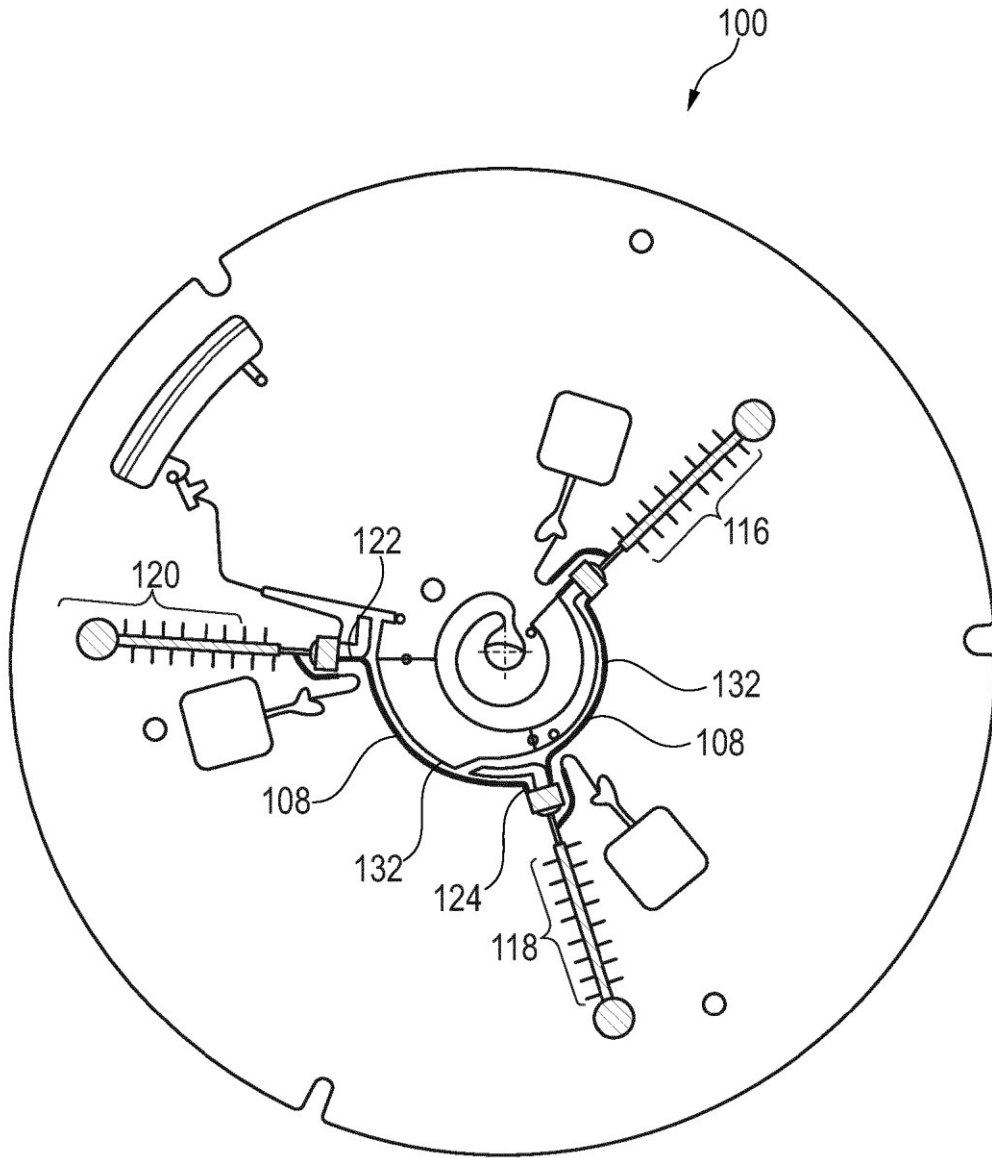


Fig. 6

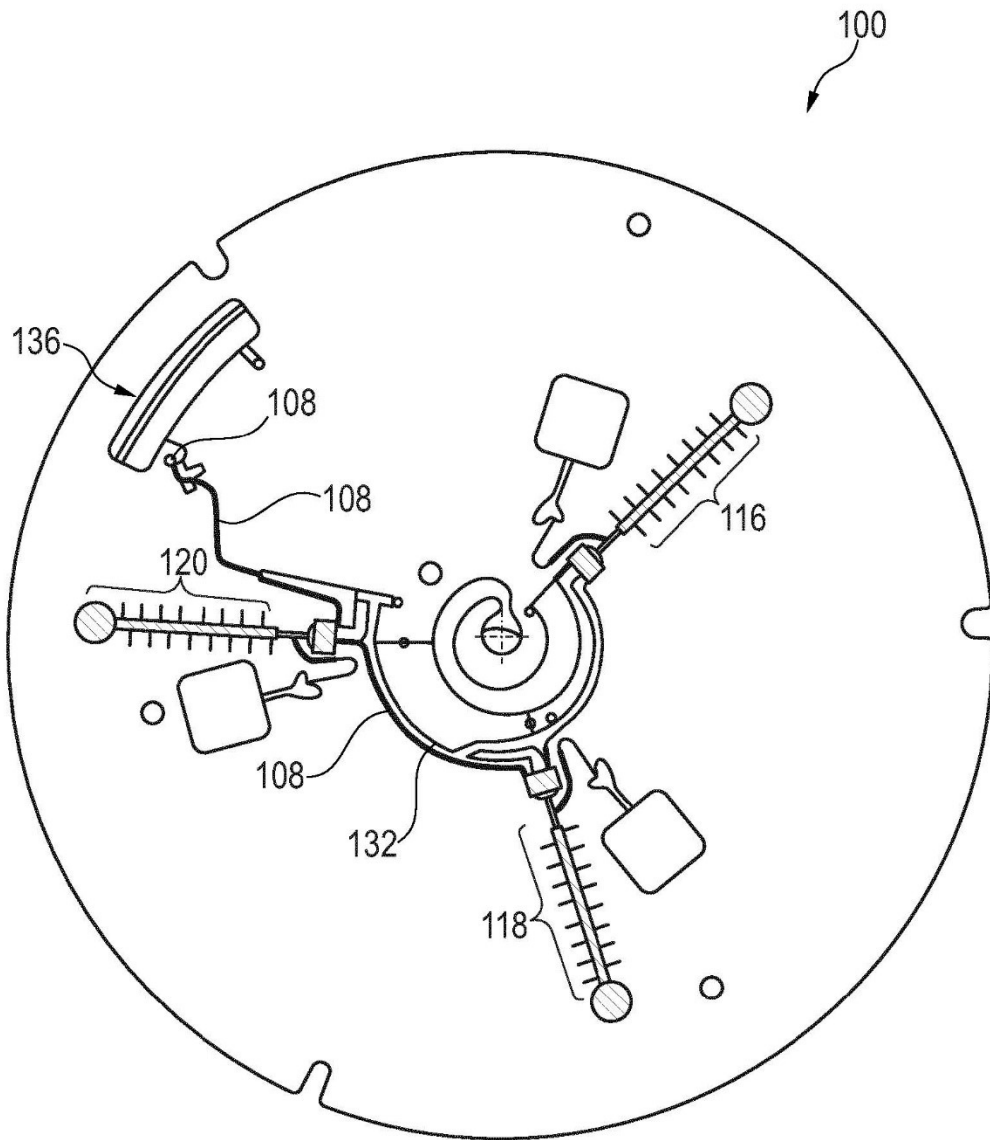


Fig. 7

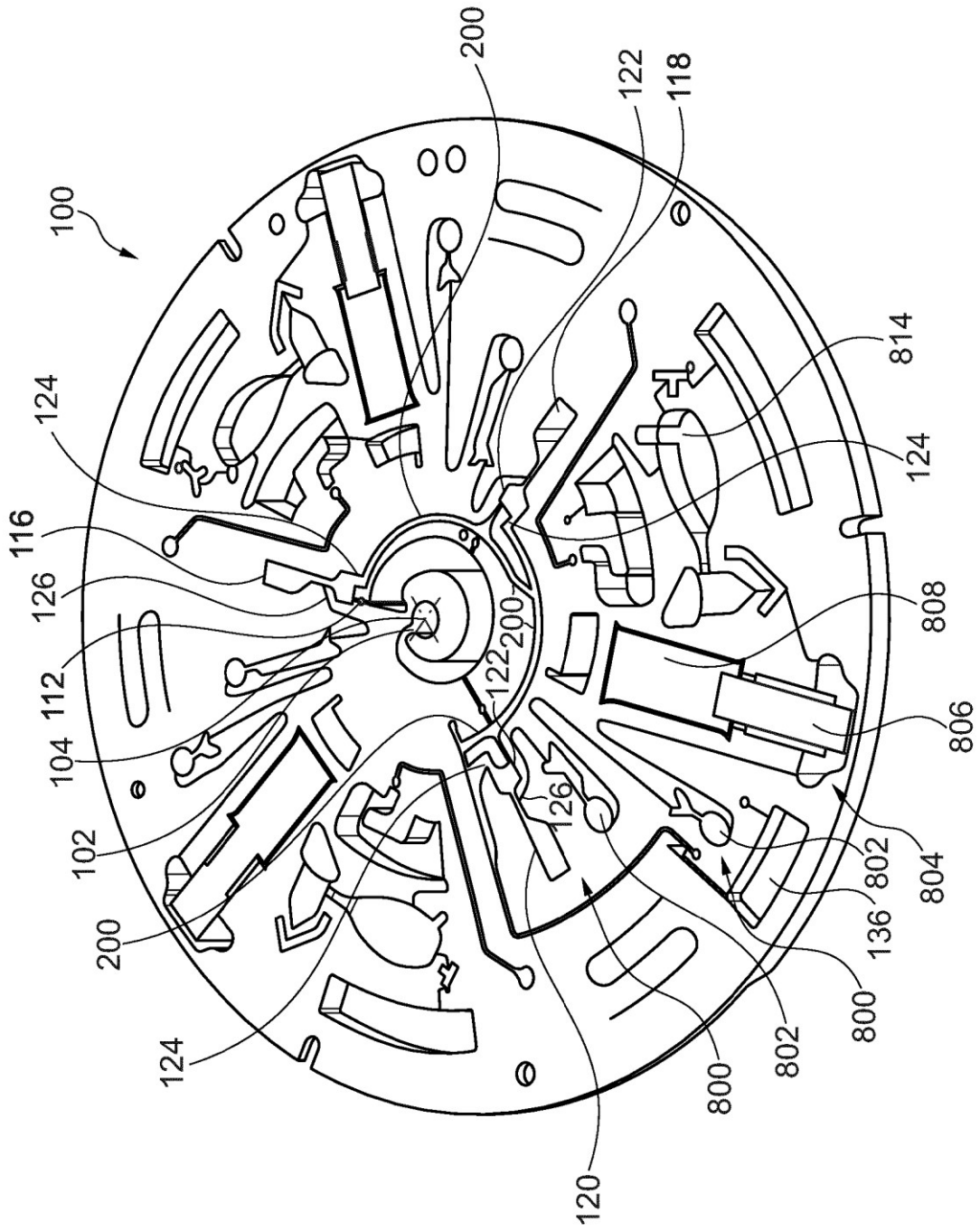


Fig. 8

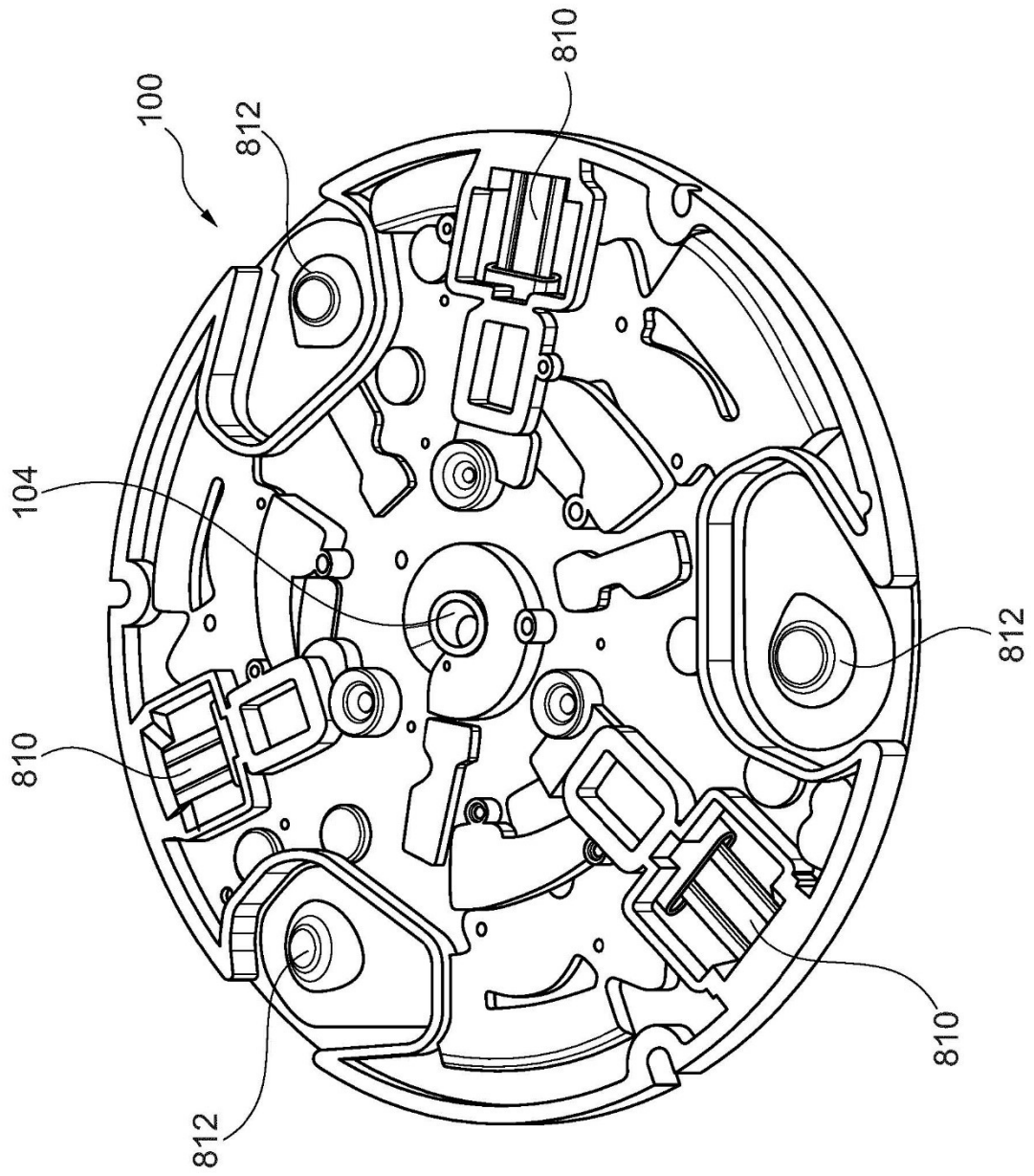


Fig. 9

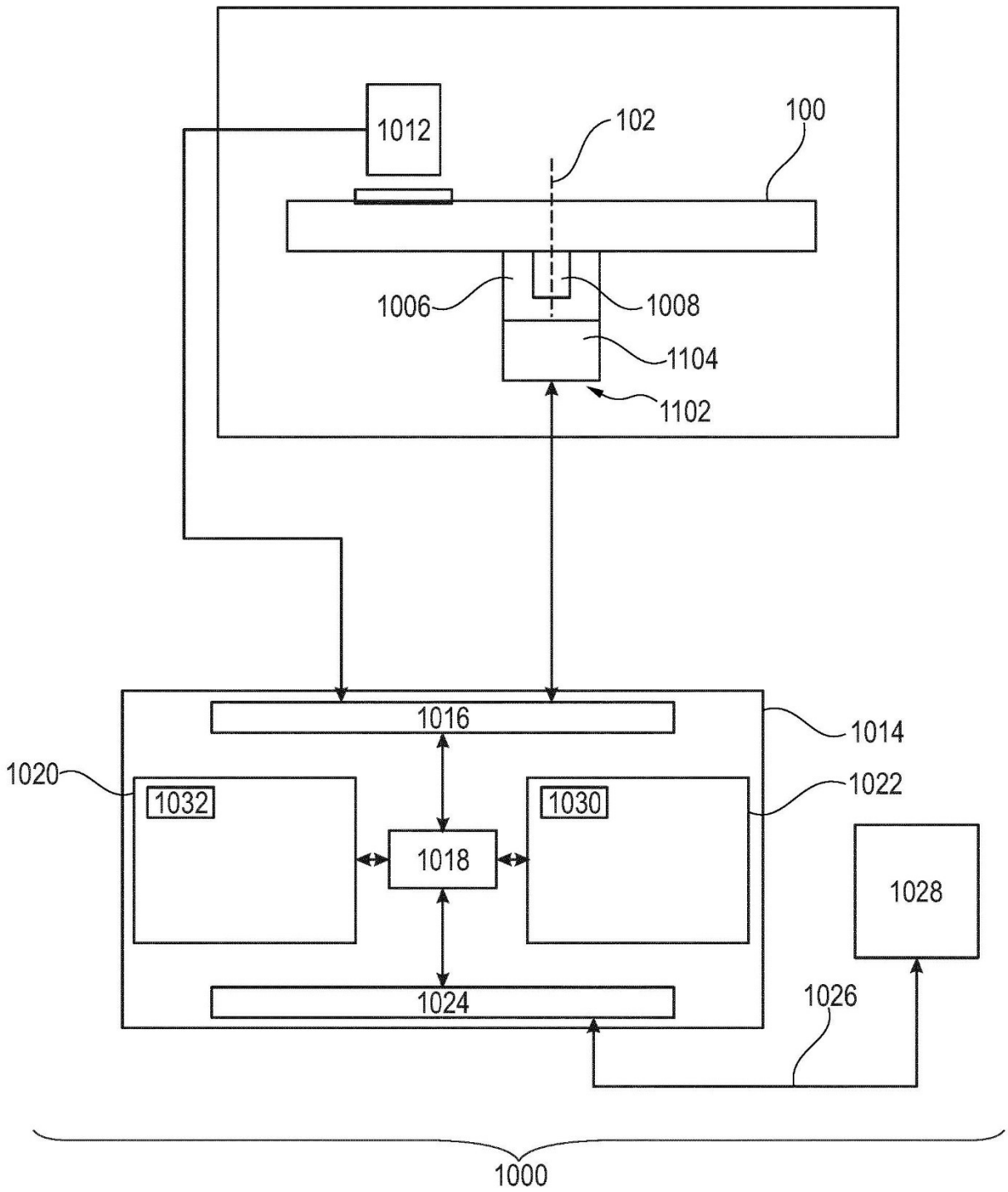


Fig. 10

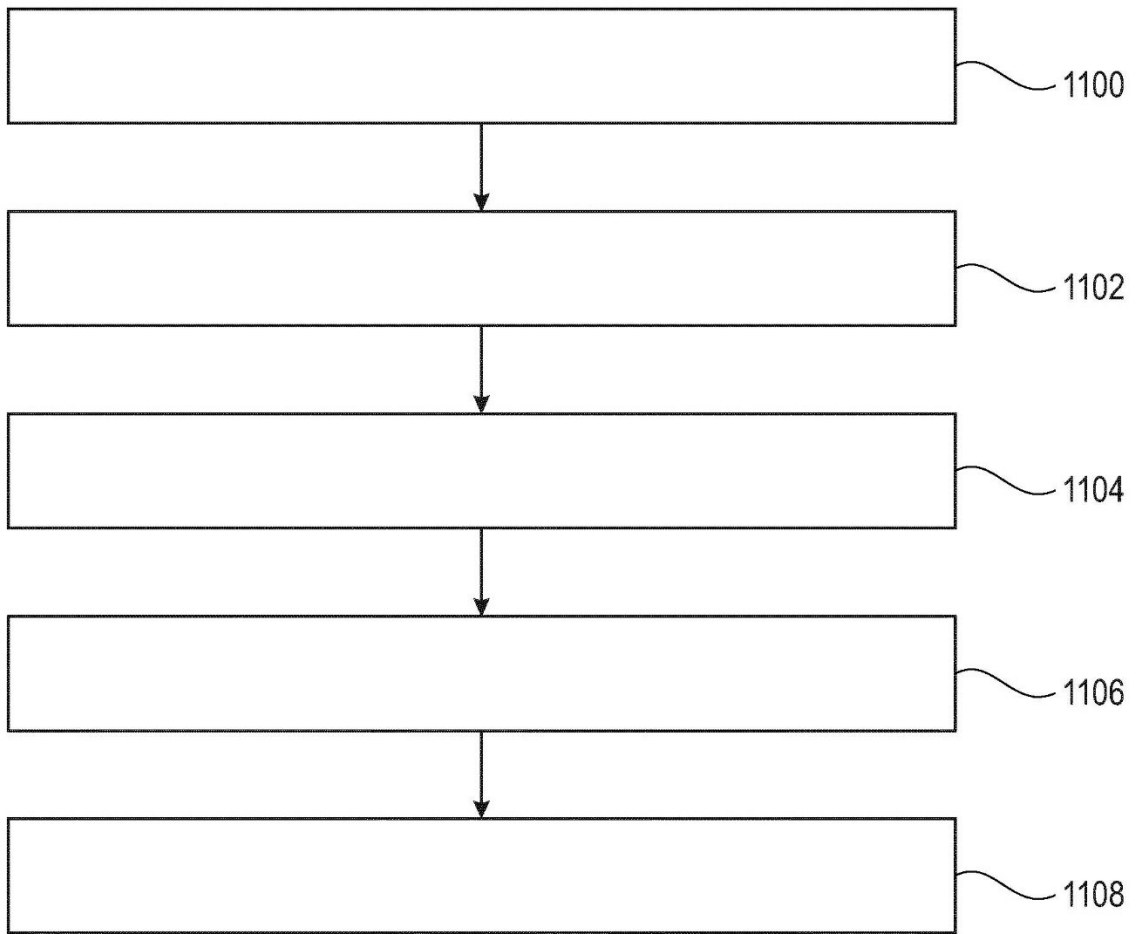


Fig. 11