



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 302 029**

(51) Int. Cl.:

G01N 35/00 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Número de solicitud europea: **04767978 .2**

(86) Fecha de presentación : **04.08.2004**

(87) Número de publicación de la solicitud: **1664799**

(87) Fecha de publicación de la solicitud: **07.06.2006**

(54) Título: **Aparato para procesar una muestra de fluido.**

(30) Prioridad: **21.08.2003 GB 0319671**

(73) Titular/es:
**THE SECRETARY OF STATE FOR DEFENCE
DSTL Porton Down
Salisbury, Wiltshire SP4 0JQ, GB**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.07.2008

(72) Inventor/es: **Squirrell, David James;
Bown, Kevin John y
Walsh, Philip**

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.07.2008

(74) Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

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

Aparato para procesar una muestra de fluido.

5 Esta invención se refiere a un aparato y a un método asociado para procesar una muestra de fluido.

El análisis de las muestras de fluido, por ejemplo muestras clínicas o ambientales, se puede realizar por varias razones. Un campo de interés actual es el desarrollo de un método para identificar positivamente el material biológico en una muestra de fluido, por ejemplo una muestra clínica o ambiental. Tal método permitiría la diagnosis temprana de los estados de una enfermedad, lo cual a su vez permitiría el tratamiento rápido y el control de la infección, o la identificación de los contaminantes y elementos similares ambientales. Aunque la amplificación del ácido nucleico, por ejemplo por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), es un método útil y extensamente usado para la identificación positiva del material biológico en de tal manera muestras, existen varios problemas al intentar desarrollarla con éxito para la identificación rápida del material en muestras individuales en un ambiente distinto del laboratorio referentes al punto de cuidado en la diagnosis de la enfermedad. Uno de los problemas principales reside en el hecho de que, antes de someter una muestra clínica o ambiental típica a la amplificación de ácidos nucleicos, la propia muestra necesita a menudo ser purificada y/o concentrada. Esto se realiza por una secuencia de etapas de proceso usando reactivos, algunos de los cuales son peligrosos. Sin embargo, la amplificación de ácidos nucleicos es apenas uno de los muchos ejemplos posibles diferentes de una técnica en que se requiere la manipulación de una muestra, especialmente una muestra de fluido, lo cual implica cierto número de etapas de proceso simultáneas o secuenciales. Las propias etapas de proceso pueden ser muchas y variadas y pueden incluir, por ejemplo etapas químicas, ópticas, eléctricas, térmicas, mecánica, acústicas, de proceso, detección o monitorización, además de posibles etapas de dilución y concentración.

Hasta la fecha tal proceso complejo del fluido se realiza generalmente en los laboratorios en donde las muestras se tratan manualmente una por una, o se trata con el uso de instalaciones de robótica especializada en las que se pueden procesar en paralelo muchas muestras diferentes. Sin embargo, hay varios problemas asociados a estos métodos. Éstos incluyen que son lentos, intensivos en recursos, costosos, sujetos a error y a la contaminación de muestras cruzadas. Un enfoque alternativo es utilizar los sistemas de proceso de fluidos convencionales que requieren que las muestras de fluido fluyan secuencialmente a través de una serie de cámaras diferentes donde cada cámara se utiliza para una sola etapa en una secuencia. Sin embargo, de tal manera sistemas dan lugar a la pérdida de muestra, lo cual es crítico cuando se procesan volúmenes pequeños, y la automatización de de tal manera procesos requiere el uso de complejos conjuntos de fluidos y algoritmos de proceso.

Mientras tanto, sigue habiendo una necesidad de desarrollar un aparato mejorado mediante el que una muestra de fluido, particularmente muestras de fluido de bajo volumen, se pueda procesar usando una serie de etapas secuenciales predeterminadas, para obtener un producto final deseado. Tal aparato se debe adaptar fácilmente para el uso en un ambiente fuera del laboratorio y por un operador con poca formación de laboratorio o ninguna que de manera que puede ser utilizado para manipular una muestra de fluido, por ejemplo una muestra clínica o ambiental, antes del análisis, por ejemplo por amplificación de ácidos nucleicos. Un aparato de este tipo aseguraría que los resultados analíticos se podrían obtener rápidamente, liberaría al trabajador experto de tareas repetitivas y reduciría costes. Además, un aparato de este tipo debería tener suficiente consistencia y exactitud para prevenir el fallo de las pruebas posteriores, y debería comprender idealmente componentes desechables para reducir al mínimo la probabilidad de contaminación cruzada y para eliminar la necesidad de esterilización.

Una búsqueda en la técnica anterior ha identificado el documento US 6.374.684 que describe un sistema de control y proceso de fluidos que comprende una pluralidad de cámaras y un cuerpo de válvula móvil que se puede utilizar para facilitar el procesamiento de una muestra de fluido según un protocolo dado. Aunque esto proporciona un desarrollo en el campo de un aparato para procesar una muestra de fluido, sigue habiendo varios problemas. Un problema de este tipo es que, para exponer la muestra de fluido secuencialmente a diferentes disoluciones, es necesario girar el cuerpo de válvula para conectar sucesivamente, vía varias bocas externas, una cámara de proceso de muestras con un depósito de cada disolución de proceso. Un aparato de este tipo no resulta adecuado para su uso en un ambiente fuera del laboratorio por un técnico de laboratorio sin conocimiento técnico porque, entre otras razones, hay una necesidad de conectar las bocas externas con los depósitos de la disolución, lo cual no resulta práctico y en el caso de productos químicos peligrosos puede plantear un riesgo de seguridad. Además, el aparato utiliza una sola cámara de desplazamiento de fluido para entregar cada disolución de proceso a la muestra sucesivamente, y para quitar cualquier material de desecho, que puede dar lugar a la mezcla del material residual en la cámara de desplazamiento de fluido y a un fallo potencial de las secuencias de proceso sensibles. Sigue habiendo una necesidad de desarrollar un aparato para procesar una muestra de fluido que supere los problemas antes mencionados.

Se conoce el uso de partículas magnéticas para manipular los materiales objetivo en una disolución de la muestra. Un ejemplo de esto se describe en el documento WO 94118565 que expone un método y un aparato asociado para un ensayo aglomerante específico. El aparato comprende dos o varias recipientes en los cuales se realiza una determinación inmunológica. El analito se liga a una fase sólida, por ejemplo partículas magnéticas, y después se mueve, usando un agitador, desde un recipiente a otro en secuencia. Una reacción de separación, y cualquier otra reacción requerida, se realizan sucesivamente en cada uno de los recipientes y finalmente las partículas ligadas al analito objetivo se desplazan a un recipiente de medición. Nuevamente, aunque esto proporciona un cierto avance en el campo de la manipulación de la muestra, el aparato es solamente adecuado para la manipulación simple de la muestra y como tal no es adecuado para el proceso altamente complejo en múltiples etapas, como el que se requiere, por ejemplo, para

ES 2 302 029 T3

purificar y para concentrar una muestra antes de la amplificación de ácidos nucleicos. Sigue habiendo una necesidad de desarrollar tal aparato.

Se han desarrollado actualmente un aparato, y un método asociado, que superan los problemas antedichos. El 5 aparato comprende las características definidas en la reivindicación 1.

La muestra se introduce en la primera cámara. La plataforma entonces se coloca entonces de tal manera que el brazo está directamente encima del componente funcional. El brazo se baja, se une al componente funcional, y después se levanta. La plataforma entonces se mueve de tal manera que ahora la cámara está directamente debajo del brazo, y 10 el brazo bajado de tal modo que hace bajar el componente funcional al interior de la cámara. Mientras está *in situ* el componente funcional puede interactuar con la cámara o con la muestra contenida en ésta. Cuando la interacción es completa, el brazo se puede levantar quitando de tal modo el componente funcional de la cámara, se desplaza la plataforma, y el componente funcional o bien se sustituye en la plataforma o bien se hace bajar adicionalmente 15 para interactuar con otro componente en la plataforma. Alternativamente, se puede separar el brazo del componente funcional y la plataforma se mueve de tal modo que deja el componente funcional unido a la cámara.

El aparato puede ser adaptado de tal manera que el componente funcional puede interactuar con la muestra para realizar una amplia gama de procesos físicos. Los ejemplos de procesos físicos incluyen técnicas térmicas, acústicas, ópticas, de ultrasonidos, de procesamiento eléctrico, de detección o de monitorización. Por ejemplo el componente 20 funcional podría ser un calentador o un Baño de Ultrasonidos que se maniobran según lo descrito y se colocado dentro de la cámara para someter la muestra al proceso físico. Alternativamente, el componente funcional se podía utilizar para quitar un analito de la muestra de la cámara. Un movimiento del analito de este tipo podría comprender opcionalmente un material aglomerante en fase sólida que es capaz de ligar un analito elegido en la muestra para formar un complejo que pueda entonces ser desplazado de la cámara sobre la plataforma con ayuda del componente 25 funcional y el movimiento del brazo y de la plataforma y depositado en otra cámara. Además el componente funcional podía interactuar con la propia cámara, por ejemplo podría comprender un cortador para perforar un sello, introducir una membrana de filtro en una cámara, o actuar simplemente como tapa para sellar una cámara si se requiere.

Se puede también adaptar el aparato para el proceso químico de una muestra de fluido conjuntamente con la 30 interacción con el componente funcional según lo precisado anteriormente. En cualquier cámara, el analito puede o bien interactuar con un reactivo funcional o bien puede ser sometido al procesamiento físico o ambas cosas. De este modo es posible diseñar el aparato de tal manera que se pueda someter al analito a una serie de etapas de proceso según los requisitos del protocolo predeterminado. Como ya se ha descrito, se puede utilizar el componente funcional para mover el analito de una cámara a otra cámara en una plataforma de tal modo que le permita reaccionar con unos 35 o varios reactivos funcionales uno tras otro. Alternativamente, podría ser utilizado para mover unos o varios reactivos y para depositarlos en la cámara de muestras sucesivamente de tal modo que se someta a la muestra a una serie de manipulaciones químicas.

Puede observarse por tanto que un aparato según la presente invención es muy flexible y de tal manera se puede 40 diseñar para realizar una amplia serie de manipulaciones de fluidos de muestra diferentes. Sin embargo el aparato es particularmente adecuado para procesar una muestra de fluido que comprende un analito biológico antes de la amplificación del analito por una reacción de amplificación de ácidos nucleicos o alternativamente un ensayo inmunológico o alternativamente un ensayo que implique bioluminiscencia o incluso un ensayo de secuenciación de ADN, especialmente una pirosecuenciación.

45 El aparato se puede mejorar de varias maneras. Éstas incluyen que la plataforma puede ser esencialmente circular y moverse por rotación; el aparato puede comprender más de un componente funcional, de tal modo que aumenta la posible manipulación potencial de muestras; el aparato puede comprender además uno o varios medios adicionales de procesamiento físico que, más bien que situados en la plataforma, estén situados por encima de la plataforma y que 50 se puedan bajar a cualquier cámara dada según se requiera; una o varias de las cámaras pueden ser desechables de tal manera que se puedan retirar y sustituir para prevenir la contaminación cruzada de muestras; una o varias de las cámaras se pueden cargar previamente con cualquier reactivo funcional para reducir la complejidad; y el aparato está ligado a unos medios de control de tal manera que su funcionamiento está completamente automatizado. Diseñar el 55 aparato para que tenga una o varias cámaras desmontables tiene la ventaja adicional que se puede fabricar varias cámaras de dimensiones idénticas y entonces llenar cada una por separado con los reactivos necesarios para un protocolo diferente. El usuario puede después seleccionar e insertar la cámara deseada para el uso en cada caso de tal modo que aumenta la utilidad del aparato.

Este aparato tiene varias ventajas. Éstas incluyen que al diseñar el aparato de tal manera que la plataforma se mueve, el propio brazo necesita moverse solamente en una sola dimensión, reduciendo de este modo la complejidad. Otra ventaja adicional de este aparato es que la plataforma puede comprender una variedad de componentes funcionales por ejemplo un calentador, un cortador de hojas, un baño de ultrasonidos, pero todavía por el uso de un solo brazo es capaz de unir de manera desmontable a cada uno de éstos, se puede manipular cada uno sucesivamente para interconectar con una o varias cámaras también situadas en la plataforma para hacer funcionar un protocolo de proceso de muestras predeterminado. El aparato es flexible, de tal manera que su funcionamiento se puede ajustar fácilmente según una variedad de diferentes protocolos como se desee. Además se puede establecer una secuencia de procesamiento compleja de la muestra sin necesidad de un aparato que comprenda caminos de fluido y bombas para mover la muestra a través 60 65

del aparato. Esto también elimina la probabilidad de que los reactivos se mezclen unos con otros durante el protocolo. Otras ventajas incluyen que se puede automatizar completamente el aparato reduciendo los errores del usuario, la contaminación de la muestra y el riesgo del usuario. Además se puede diseñar el aparato para que sea completamente portátil para su uso en campo.

5 Es un objeto de la presente invención desarrollar un aparato, y un método asociado, para procesar una muestra de fluido. Es un objeto adicional de esta invención diseñar un aparato de este tipo que sea capaz de someter una muestra de fluido a una serie de etapas de proceso secuenciales químicas o físicas en una secuencia predeterminada, preferiblemente para purificar y para concentrar una muestra de fluido antes de una reacción de amplificación de 10 ácidos nucleicos. Es otro objeto de esta invención diseñar tal aparato de forma que sea tan flexible como sea posible, que sea sencillo de utilizar por un trabajador con poco o ningún entrenamiento de laboratorio en un ambiente fuera del laboratorio con una exposición reducida del usuario a la muestra, a los productos químicos o a los residuos. Es otro objeto de esta invención diseñar los componentes aparato de forma que sea barato de fabricar de tal manera 15 que se puedan desechar después de un único uso reduciendo la contaminación cruzada de muestras y de eliminando la necesidad de esterilizar grandes cantidades de equipos. Éstos, y otros objetos de esta invención, llegarán a ser evidentes a la luz de la descripción siguiente.

Compendio de la invención

20 Según un primer aspecto, esta invención se refiere al aparato, como se define en la reivindicación 1, para procesar una muestra de fluido.

Según un segundo aspecto, esta invención se refiere al uso de un aparato según la presente invención, como se 25 define en la reivindicación 22, para el procesamiento de una muestra previamente a una reacción de amplificación de ácidos nucleicos.

Según un tercer aspecto, esta invención se refiere al procesamiento de una muestra de fluido en el cual el método comprende:

- 30 (i) colocar una muestra que comprende un analito en una primera cámara situada en una plataforma de un aparato según la reivindicación 1;
- (ii) aglomerar el analito con un material aglomerante para formar un complejo de analito-material aglomerante;
- 35 (iii) bajar unos medios para atraer de manera reversible dicho complejo al interior de dicha primera cámara y permitir que el complejo sea atraído a esos medios;
- (iv) elevar dichos medios desde la primera cámara;
- 40 (v) desplazar dicha plataforma de tal manera que una segunda cámara quede alineada ahora con los medios para atraer reversiblemente dicho complejo;
- (vi) bajar dichos medios para atraer dicho complejo al interior de la segunda cámara y permitir que el complejo se separe de dichos medios;

45 en el cual el analito es sometido a una etapa de procesamiento físico bien en la primera cámara o bien en la segunda cámara.

Según un cuarto aspecto esta invención se refiere al uso de un método según la presente invención para el procesamiento de una muestra antes de una reacción de amplificación de ácidos nucleicos.

Según un quinto aspecto, esta invención se refiere al uso de un material aglomerante en un método según la presente invención para el procesamiento de una muestra antes de una reacción de amplificación de ácidos nucleicos.

55 Descripción detallada de la invención

Según se utiliza aquí el término “muestra de fluido” significa cualquier muestra que exista como un gas, un líquido, una disolución que comprenda una muestra disuelta por un disolvente, o un sistema fluido que comprenda una o varias fases, por ejemplo una emulsión. Una “muestra de fluido” también se toma para significar una muestra que se puede introducir en el aparato inicialmente como un sólido o líquido viscoso pero que después es dispersada o disuelta por la adición de un volumen de disolvente. Una “muestra de fluido” también se toma de manera semejante para significar una muestra de gas que se hace pasar a través de un ciclón durante el cual la materia de partículas de la muestra de gas se suspende en un disolvente adecuado. Los ejemplos de muestras incluyen, pero no se limitan en modo alguno, una muestra de fluido recogida del ambiente, tal manera como un río, una muestra de fluido recogida de un paciente, tal 60 como una muestra de orina, una muestra viscosa recogida de un paciente, tal como una impregnación de compresa, una muestra de fluido recogida cuando se hace pasar el aire a través de un ciclón de tal manera que la materia en partículas en el aire sea arrastrada al interior de una cámara de recogida de fluidos, tal como se describe en el documento WO 65 02/29380 y similares.

ES 2 302 029 T3

Según se utiliza aquí, el término “agente funcional” significa un agente químico, biológico o físico sólido que se usa en el aparato o en el método de la presente invención. Puede comprender uno o varios reactivos químicos o biológicos dosificados como un polvo sólido, gránulos, cápsula, tableta comprimida y similares. Los ejemplos adecuados de reactivos incluyen, pero no sin limitarse, los siguientes: reactivos de lisis, por ejemplo, sales caotróficas, 5 objetivos de ácido nucleico, controles sintéticos de ácido nucleico, bacteriófago, enzimas liofilizadas, pigmentos, detergentes, antibióticos, anticuerpos y similares. Un reactivo de este tipo puede ser también procesado de tal manera que comprenda un material aglomerante en fase sólida capaz de ligar un analito a la muestra de fluido, por ejemplo unas partículas magnéticas cubiertas opcionalmente con un anticuerpo o similar. Sin embargo, el término agente funcional 10 se debe también entender como comprendiendo los medios físicos para interactuar con la muestra de fluido. Éstos podrían incluir, sin limitarse a ellos, una ristra agitadora, un baño de ultrasonidos, unos medios de calentamiento, y otros similares.

Tal como se usa aquí, el término “componente funcional” se considerará que significar un elemento del aparato que se ha diseñado de tal manera que puede unirse de manera reversible al brazo del aparato. Se puede diseñar el 15 componente funcional para que tenga una amplia variedad de aplicaciones, como será evidente a partir de la descripción adjunta. El uso específico de uno o varios componentes funcionales se puede identificar fácilmente por la persona calificada en función del uso específico del aparato. Por ejemplo, el componente funcional puede comprender unos medios para interactuar con la muestra de fluido. Tales medios pueden proporcionar algún procesamiento físico a la muestra, por ejemplo calentamiento, enfriamiento, elementos ópticos, ultrasonidos, y tratamientos similares. El 20 componente funcional puede comprender alternativamente unos medios para interactuar con la propia cámara, por ejemplo actuando como cortador para perforar un sello de hoja, para encapsular la cámara, para introducir un filtro y aplicaciones similares. Además el componente funcional puede actuar como colector para desplazar la muestra, o un analito contenido en ella a otra cámara del aparato.

25 Los elementos del aparato se describen más detalladamente a continuación.

Esta invención se refiere a un aparato para procesar una muestra del líquido como se define en la reivindicación 1.

El aparato se diseña de tal manera que es adecuado para someter una muestra a una o varias etapas de proceso. 30 Estos etapas de proceso pueden incluir etapas de procesamiento químico, tales como diluir la muestra, lavar la muestra secuencialmente con una o varias disoluciones tampón, hacer reaccionar la muestra con uno o varios reactivos químicos, pero también pueden incluir etapas físicas, por ejemplo irradiar la muestra de fluido con una radiación térmica, someter la muestra de fluido a un procesamiento acústico y otras similares.

35 El aparato comprende una plataforma que a su vez abarca una primera cámara y un componente funcional. La cámara se puede conocer también como la cámara de muestras puesto que ésta es la cámara en la cual la muestra, preferiblemente una muestra de fluido y más preferiblemente comprendiendo un analito, se introduce primeramente en el aparato. La cámara de muestras se puede integrar opcionalmente en la plataforma del aparato, o alternativamente puede ser desmontable de la plataforma de tal manera que se puede llenar con la muestra en cualquier otra parte y 40 después ser colocada en la plataforma.

El componente funcional se diseña de tal manera que se puede unir de modo desmontable al brazo del aparato. Se prefiere que el brazo y el componente funcional se puedan unir el uno al otro mediante el funcionamiento del aparato, sin necesidad de cualquier interacción del usuario para poder automatizar completamente el funcionamiento 45 del aparato. También se prefiere que el brazo se una mecánicamente al componente funcional. Son posibles varios diseños diferentes. Una solución simple es que cualquier componente funcional esté diseñado de forma que comprenda un labio bajo el cual pueda entrar en una ranura un componente del brazo en forma de horquilla. Una vez que el brazo esté en posición, el movimiento del brazo en una dirección esencialmente vertical permite el movimiento del componente funcional esencialmente en la misma dirección. Una ventaja de este diseño es que el movimiento de la 50 plataforma puede ser utilizado para interconectar la horquilla del brazo con el labio del componente funcional. Es también necesario que ningún componente funcional esté fijado permanentemente a la plataforma del aparato sino que en vez de ello esté sostenido en su lugar sobre la plataforma del aparato de una manera que permita que se suelte cuando así se requiera. Nuevamente son posibles muchos diseños diferentes. Un ejemplo es que la plataforma comprenda simplemente un agujero en el cual caiga el componente funcional y que el componente funcional comprenda un labio 55 para impedir que caiga a través de la plataforma.

El aparato comprende también un brazo capaz de ser levantado y bajado y capaz de ser unido al componente funcional de manera desmontable. El diseño del brazo dependerá en parte del diseño de los medios para unir el brazo al componente funcional. Según lo indicado anteriormente, se prefiere que el brazo esté diseñado de tal manera que sea 60 capaz de unirse mecánicamente al componente funcional. Un ejemplo de un diseño simple es que el brazo comprenda una horquilla en la base del brazo que esté en un plano perpendicular al del propio brazo y que puede ajustarse alrededor del componente funcional. Se prefiere que la ranura y los medios de inserción estén orientados de manera esencialmente perpendicular al movimiento del brazo de tal manera que no se requieran otros medios para unir el brazo y el componente funcional.

65 Se prefiere que el aparato comprenda unos medios para levantar y bajar el brazo de manera preferible en una dirección sustancialmente vertical. Los medios son preferiblemente unos medios mecánicos que funcionen preferiblemente de manera eléctrica. La trayectoria del movimiento del brazo debe ser tan simple como sea posible. Se prefiere que el

5 brazo se mueva simplemente en una sola dimensión hacia arriba y hacia abajo con respecto a la cámara. El diseño del aparato, que permite que se mueva la propia plataforma, asegura que no exista generalmente otro requisito para que el brazo se mueva una vez se haya levantado o se haya bajado para ajustar su orientación con respecto a la plataforma o cualquier componente funcional o cámara de la misma.

10 El aparato también comprende unos medios capaces de mover la plataforma de tal manera que se puede alterar la posición de cualquier componente dado de la plataforma con respecto a la posición del brazo. En el caso en el que la situación donde se dispone la plataforma sea tal que los componentes funcionales y las cámaras estén alineados linealmente sobre una plataforma, la propia plataforma se mueve en un dirección lineal de un lado al otro para alinear apropiadamente los componentes funcionales o las cámaras. Alternativamente, si la plataforma se dispone de tal manera que los componentes funcionales y las cámaras estén dispuestas en una formación sobre la plataforma, los medios trasladarán la plataforma para alinear apropiadamente los componentes funcionales o las cámaras. Alternativamente de nuevo, si la plataforma se diseña de tal manera que los componentes funcionales y las cámaras están dispuestos de manera circular sobre la plataforma, la plataforma girará para alinear apropiadamente los componentes funcionales o las cámaras. Esto tiene no sólo la ventaja de simplificar la mecánica para el movimiento del brazo sino que también permite, en un aparato diseñado para el uso en una reacción de procesamiento de muestra complejo de etapas múltiples, se puedan colocar también otros medios de procesamiento físicos por encima de la plataforma para que se hagan bajar al interior de las cámaras según se requiera. Si la propia plataforma no pudiera moverse, entonces el brazo y cualquier medio de procesamiento físico adicional necesitarían ser programados usando una mecánica compleja tridimensional tanto para orientarlos con el componente funcional o la cámara deseada de la plataforma en la secuencia correcta como para bajarlos y levantarlos después hacia la plataforma según se requiera.

15 La propia plataforma puede tener cualquier tamaño y forma. Sin embargo se prefiere que la plataforma sea esencialmente circular y capaz de moverse girando para alinear las cámaras o los componentes funcionales con respecto al brazo o a otros medios físicos. Esto también tiene la ventaja de reducir al mínimo el tamaño del aparato cuando están implicados varios componentes diferentes. Opcionalmente, la plataforma puede equiparse con un mecanismo de detección para tener permitir la colocación correcta del componente funcional o de la cámara mientras que la plataforma se mueve bajo el brazo u otros medios de físicos de procesamiento situados por encima de la plataforma.

20 30 Según lo precisado anteriormente, el componente funcional puede tener una amplia variedad de usos diferentes. Por una parte, puede comprender un componente que está diseñado para interactuar con la muestra. Por ejemplo puede comprender un baño de ultrasonidos, un calentador, un detector óptico, unos medios para proporcionar una señal óptica y otros similares que se almacenan en la plataforma. Cuando se requiere el componente funcional es levantado por el brazo del aparato, bajado al interior de la cámara deseada y se le hace funcionar como sea necesario. En tales casos, 35 puede ser útil que la conexión entre el componente funcional y el brazo del aparato establezca también una conexión eléctrica suficiente para proporcionar energía al componente funcional durante su uso.

40 45 Alternativamente, se puede diseñar el componente funcional para interactuar con una cámara situada sobre la plataforma. Nuevamente, hay muchas interacciones diferentes que son posibles dependiendo del uso deseado del aparato. Los ejemplos incluyen que el componente funcional pueda ser diseñado de tal manera que pueda funcionar como un cortador para perforar cualesquiera sellos o membrana que estén presentes en cualquier cámara del aparato. Se prefiere que cualquiera cortador de este tipo se diseñe de forma que incluya una hendidura en los medios de corte de tal manera que si se utilizan para cortar un sello de una cámara que comprenda una muestra de fluido, la muestra de fluido no resulte aspirada al interior del propio cortador y se mantenga allí por tensión superficial. Alternativamente, se puede diseñar el componente funcional de manera que comprenda un filtro que se pueda levantar colocándolo en su lugar por el brazo y se ajuste sobre la parte superior de una cámara según se requiera. Opcionalmente, puede ser diseñado de forma que comprenda una tapa que pueda ser ajustada de nuevo sobre la parte superior de una cámara si se requiere. Además, una posición dada sobre la plataforma puede comprender varios de tales componentes funcionales apilados encima unos encima de otros en una posición dada sobre la plataforma en donde cada uno puede ser desplazado sucesivamente por el brazo del aparato.

50 Además, se puede utilizar el componente funcional para mover el analito o un reactivo desde una cámara de la plataforma a otra cámara de la plataforma. En una realización, se utiliza un componente funcional de este tipo conjuntamente con un agente aglomerante en fase sólida adecuado para ligar el analito o el reactivo según se desee en un complejo. El agente aglomerante en fase sólida y el reactivo del analito o del producto químico se colocan en contacto entre sí de tal manera que se puede formar un complejo. El componente funcional usado para mover el complejo se une después al brazo del aparato y se baja al interior de la primera cámara según lo descrito. Se atrae el complejo al componente funcional, se levanta el componente funcional, se desplaza la plataforma de tal manera que una segunda cámara se coloca ahora debajo del brazo, se hace bajar el componente funcional y el complejo se desprende moviendo así el material aglomerado desde una cámara a otra. Puesto que es necesario que el componente funcional pueda retirar el complejo de la primera cámara, la naturaleza del componente funcional dependerá del material aglomerante que se ha utilizado. Además es necesario que el componente funcional pueda depositar el complejo en una segunda cámara del aparato y como tal la interacción entre el componente funcional y el complejo aglomerado debe necesariamente ser reversible. Se prefiere que el componente funcional sea capaz de desplazar el agente aglomerante tanto cuando 60 65 esté en un complejo con el analito como también cuando el agente aglomerante esté solo. Esto tiene el resultado de que no sólo puede el componente funcional ser utilizado para desplazar el complejo desde una cámara a otra, sino que también tiene la ventaja de que se puede agregar o quitar el agente aglomerante a cualquier cámara dada o desde la misma si se requiere.

ES 2 302 029 T3

- Se puede utilizar una amplia variedad de materiales aglomerantes diferentes en fase sólida a condición de que puedan ligar el analito objetivo para formar un complejo. Los materiales aglomerantes adecuados se pueden determinar fácilmente por la persona calificada y dependerán del analito y del protocolo. Los ejemplos incluyen los granos de sílice, sales, reactivos que contienen antígenos capaces de aglomerar anticuerpos o proteínas de ligado de ADN y aglomerantes similares. La aglomeración del analito al material aglomerante puede ocurrir según cierto número de maneras. El analito puede ser adsorbido a la superficie del material aglomerante, alternativamente puede ser absorbido en la superficie del material aglomerante, alternativamente el analito puede ser atraído al material aglomerante por cargas de Coulomb, alternativamente se pueden desarrollar vínculos químicos formales entre el material aglomerante y el analito o el material aglomerante puede comprender alternativamente emplazamientos bioquímicos aglomerantes capaces de ligar el analito específico en cuestión. Cualquier mecanismo aglomerante es adecuado para la presente invención a condición de que la adherencia sea suficientemente fuerte de tal manera que si se mueve el material aglomerante desde una cámara a otra el analito permanece unido al material aglomerante. Se prefiere que la adherencia del analito al material aglomerante sea reversible de tal manera que en la cámara de reacción el analito se puede liberar del material aglomerante para el procesamiento químico o físico adicional. Se puede utilizar cualquier medio adecuado para quitar el analito del material aglomerante, incluyendo calentamiento, dilución, disolución (solubilización) y similares. Opcionalmente el material aglomerante puede estar presente en una cámara antes de la adición del material en cuestión, puede ser agregado alternativamente a una cámara después de la adición del material, o además, en el caso de un reactivo, se puede formular el reactivo de tal manera que ya comprenda el agente aglomerante.
- Se prefiere que el material aglomerante comprenda granos magnéticos de sílice. Los granos adecuados incluyen los suministrados por Roche, Promega y Estapor. Se prefiere como tal que el propio componente funcional sea un imán al cual son atraídos los granos o alternativamente que pueda ser utilizado conjuntamente con un imán al cual atraigan los granos. Por lo tanto se prefiere que el componente funcional comprenda una funda que proporcione una interfaz entre los medios para atraer el complejo y el propio complejo. La funda se establece preferiblemente en la plataforma y se hace de un material tal que cuando el imán está dentro de la funda el complejo será atraído a la funda. En una realización de este tipo se prefiere que los aparatos comprendan un imán colocado con el brazo del aparato que se puede bajar al interior de la funda para aplicar un campo magnético y levantar sacándolo de la funda para quitar el campo magnético. La funda se coloca entonces en una cámara del aparato que comprende el complejo aglomerado. El imán se hace bajar dentro de la funda y el complejo se pega a la funda. La funda y el imán se levantan entonces. La plataforma se mueve de tal manera que una nueva cámara se alinea, la funda y el imán se hacen bajar a continuación y el imán se retira. Cuando se retira el imán, el complejo caerá lejos de la funda al interior de la segunda cámara. Unos movimientos pequeños de la funda hacia arriba y hacia abajo por el brazo se asegurarán de que ningún resto del complejo permanezca pegado a la funda y también actuarán para mezclar el complejo con cualquier reactivo o disolución en la nueva cámara. Alternativamente, el analito puede ser lavado de los granos por cualesquiera medios adecuados. Si el aparato se diseña para comprender tal realización es necesario que el imán y el brazo estén diseñados para interactuar el uno con el otro sin afectar el funcionamiento del otro, de tal manera que la funda se puede levantar y bajar independientemente con el imán en su lugar o sin él. Este funcionamiento se puede repetir para quitar el complejo o los propios granos durante el protocolo.
- Se prefiere que el aparato esté diseñado de tal manera que uno o varios componentes del aparato se puedan separar de la plataforma y quitar del aparato. Esto permite que las cámaras sean sustituidas fácilmente durante el funcionamiento del aparato o antes o después de su uso. Por ejemplo, una muestra de fluido se podía cargar remotamente en una cámara de muestras y la cámara de muestras entonces cargada en la plataforma del aparato de la presente invención. Alternativamente, siguiendo el procesamiento de la muestra, puede ser útil que la cámara final, que comprende el analito procesado, se pueda quitar fácilmente del aparato de la presente invención para la manipulación adicional o el procesamiento del material en otra parte. De manera semejante, puede ser útil que uno o varios componentes del aparato se puedan alternar dependiendo del uso específico del aparato. Por ejemplo una de las cámaras puede comprender un reactivo predispensado, dependiendo el reactivo específico requerido del método de ensayo en cuestión. Si tal cámara puede ser intercambiada fácilmente, el usuario podría elegir la cámara requerida y cargarla en el aparato antes de su uso. Si la plataforma comprende tales cámaras intercambiables se prefiere que el aparato comprenda unos medios de fijación para asegurar la cámara en posición durante su uso, de tal manera que las cámaras no se muevan durante el movimiento de la plataforma. Además es útil que tales cámaras intercambiables sean cifrados por colores o marcadas con un código de barras y elementos similares de tal manera que el usuario puede identificar la cámara que se requiere para cada uso. El aparato puede comprender opcionalmente un lector de código de barras o similar, con lo cual el propio aparato puede identificar la cámara que está siendo utilizada y utilizar esta información para seleccionar uno de los varios ciclos de procesamiento de la muestra preprogramados.
- También se prefiere que el aparato esté diseñado de tal manera que la plataforma entera puede ser retirada y ser sustituida fácilmente. Esto permite que después de cualquier secuencia de proceso de la muestra dada la plataforma usada y potencialmente contaminada se pueda quitar y sustituir para permitir el uso del aparato en otro procedimiento. Si el aparato está diseñado así, se prefiere que la plataforma se pueda montar fácilmente y con seguridad en el aparato para facilidad de uso, por ejemplo, usando un ajuste de cierre por torsión con un simple bloqueo.

Opcionalmente, el aparato de la presente invención puede comprender también otras cámaras. Dependiendo del uso del aparato, estas cámaras posteriores pueden tener varios papeles. Un ejemplo de una cámara de este tipo incluiría una o varias cámaras que contienen una disolución tampón o agua que se requieren según el protocolo de procesamiento de muestras para diluir o lavar la muestra o alternativamente para lavar un componente funcional antes o después de su uso a fin de prevenir que la contaminación se extienda a partir de una muestra a otra o desde una cámara a otra. El

aparato puede comprender alternativamente una cámara que contiene dentro de la misma cualquier reactivo específico requerido para someter a proceso la muestra predeterminada, por ejemplo un agente de lisis de la célula tal como sales caotróficas. Las cámaras de este tipo se pueden llenar previamente con las disoluciones o los reactivos requeridos durante la fabricación para prevenir los errores del usuario, para reducir al mínimo el equipo requerido en campo,

5 para prevenir la contaminación de la muestra y para reducir al mínimo el riesgo para el usuario de los materiales peligrosos. El número de cámaras requeridas y de reactivos necesarios dependerá del protocolo de procesamiento predeterminado elegido para la muestra. Estas cámaras se pueden utilizar en el protocolo moviendo el analito desde una cámara a otra según se ha descrito. Alternativamente se pueden mover de nuevo los reactivos desde una cámara a otra según se ha descrito. Si se va a desplazar el analito y los reactivos durante un protocolo dado, se prefiere que el

10 complejo aglomerante sea igual en cada caso de tal manera que se requiera un solo componente funcional para mover los materiales. Opcionalmente, se podría diseñar el aparato de tal manera que uno o varios reactivos sean secados, preferiblemente liofilizados, sobre la superficie externa de un componente funcional o alternativamente que uno o varios reactivos sean liofilizados sobre el exterior de una unión desmontable adecuada que se pueda mover por el componente funcional. De este modo, se pueden introducir los reactivos en el protocolo de proceso de la muestra

15 por el componente funcional o por la unión desmontable adecuada que se hace bajar al interior de una cámara y los reactivos son solubilizados en el exterior del componente funcional. La unión desmontable adecuada puede ser, por ejemplo, simplemente un cuerpo de plástico con un extremo de metal que se puedan mover por medio del uso de un componente funcional magnético y al cual los reactivos se pueden liofilizar en su superficie externa. Se puede preparar un componente funcional de este tipo o una unión desmontable adecuada en tandas y se supera el problema

20 del desprendimiento de granos magnéticos pequeños que es a veces obstaculizado debido a la tensión superficial creada. Una mejora adicional es que los reactivos se puedan liofilizar a diferentes alturas en el componente funcional o en la funda de tal manera que cada uno se puede solubilizar sucesivamente al descender progresivamente el material liofilizado en la cámara deseada. Esto permite que se solubilicen diferentes reactivos sucesiva o alternativamente, que se solubilicen diferentes cantidades de un agente dado sucesivamente de tal manera que pueda ser agregado con

25 eficacia a una mezcla de reacción a lo largo del tiempo. Esto mejora nuevamente la flexibilidad del diseño de un aparato según la presente invención para cualquier protocolo dado.

Opcionalmente, el aparato puede comprender por tanto varias poblaciones diferentes de complejos de aglomeración en fase sólida en los que uno o varios reactivos y/o analitos diferentes se unen a cada población. Es útil si tales poblaciones diferentes, aunque mantengan esencialmente las mismas características en el material aglomerante de fase sólida, comprenden pequeñas diferencias para tener en cuenta permitir la separación fácil de las diferentes poblaciones. Por ejemplo las poblaciones pueden diferir en sus características magnéticas permitiendo la separación de aquéllas con propiedades más débiles que las otras usando el mismo componente funcional y diseño de aparato pero variando simplemente la fuerza del campo magnético aplicado. Alternativamente, las poblaciones pueden diferir en su tamaño, carga eléctrica, características de fluorescencia, o propiedades cuando se aplica un vórtice de tal manera que cada una de éstas se podría utilizar para separar las diferentes poblaciones dentro de un aparato según la presente invención. Esto mejora las posibilidades del aparato como unidad para realizar un protocolo dado de preparación de muestras.

Los reactivos adecuados que se pueden utilizar en unas u otras cámaras del aparato incluyen una disolución tampón seleccionada del grupo que consiste en una disolución acuosa de acetato de potasio y tris-clorhidrato, o una disolución alcohólica acuosa de acetato de potasio y tris-clorhidrato o un disolvente orgánico o mezclas de los mismos, un reactivo de lisis tal como sales caotróficas; un reactivo que comprenda uno o varios reactivos de amplificación de ácidos nucleicos, preferiblemente un reactivo seleccionado del grupo que consiste en iniciadores de ácidos nucleicos, sondas de ácidos nucleicos, tintes fluorescentes, acumuladores intermedios de enzimas, los nucleótidos, sales magnésicas, albúm de suero vacuno, anticuerpos, y desnaturizantes.

Las cámaras adecuadas para su uso con la presente invención pueden incluir aquéllas que abarcan varias áreas diferentes, separadas por una membrana e integradas en una sola unidad para facilidad de selección por parte del usuario. Por ejemplo, la cámara de muestras se puede integrar también con una segunda cámara que contiene los reactivos necesarios para un protocolo dado. Alternativamente, una cámara puede comprender dos áreas separadas por una membrana que pueda ser perforada. Esto permite que tenga lugar una primera etapa de manipulación en la primera área, que se perfure la membrana, que el material sea procesado para entrar en la segunda área y después tenga lugar una segunda etapa de manipulación en una segunda área.

55 Además, también se pueden diseñar una o varias cámaras del aparato de tal manera que también pueden ser unidas al brazo del aparato de forma desmontable. Esto permite que, si fuera necesario, se puede quitar mecánicamente una cámara del aparato. Opcionalmente se puede diseñar la plataforma de forma que tenga un entrante de tal manera que se puede bajar cualquier cámara quitada de la plataforma, por medio del brazo, a través del entrante de tal manera que forme interfaz directamente con un aparato adicional o que se retire del aparato manualmente por el usuario.

60 Se prefiere que cualquier cámara para su uso en el aparato, especialmente aquéllas que comprenden reactivos distribuidos previamente, sea sellada en el punto de fabricación para prevenir la contaminación o la degradación de los materiales antes de su uso. Si una cámara comprende una o varias cámaras diferentes separadas por una membrana, se prefiere que cada una sea sellada por separado para poderlas abrir individualmente. Unos medios preferidos para sellar tales cámaras son los hechos por medio de un sello de metal, preferiblemente un sello de metal laminado. Alternativamente, la cámara de la muestra puede comprender una tapa que se selle de tal manera que después de la recogida de la muestra en el campo se pueda cerrar la tapa para prevenir la contaminación antes de la inserción de la cámara de muestra en el aparato. Se prefiere que este tipo de sello forme un entrante en la tapa del aparato para que

ES 2 302 029 T3

cuando la tapa se cierre la tapa, el pulgar o el dedo del usuario no se ponga en contacto con el sello mientras la tapa está siendo cerrada. Esto previene que la contaminación del usuario contamine la muestra inadvertidamente, lo cual podría entonces dar lugar a un resultado de ensayo falso. Esto es particularmente importante en los casos en los que el usuario haya recogido una variedad de muestras de diferentes emplazamientos o las muestras impliquen material

- 5 biológico que podría estar presente en la piel del usuario. Una tapa de este tipo podría tener el sello con entrante en el lado de la tapa que se pone en contacto con el usuario mientras que se está cerrando la tapa. Preferiblemente, el sello tiene un entrante respecto a ambos lados de la tapa de tal manera que el sello no entra en contacto con el usuario accidentalmente antes o durante del cierre de la tapa. De este modo, esta invención se refiere también a una
10 tapa, adecuada para el cierre de un recipiente, comprendiendo dicha tapa una membrana y caracterizada porque la membrana presenta un entrante dentro de la tapa. Cualquier sello se puede quitar indistintamente por el operador antes del uso de la cámara. El aparato puede comprender alternativamente un cortador que pueda funcionar mecánicamente para perforar cualquier sello según se requiera se ha precisado en la descripción anterior.

Una o varias cámaras del aparato puede comprender opcionalmente un miembro de atrape. Los miembros de atrape
15 adecuados incluyen una viruta de microfluído, un material en fase sólida, un filtro, un apilado de filtros, una matriz de afinidad, una matriz magnética de separación, una columna de exclusión por tamaño, un tubo capilar y mezclas de los mismos. Se pueden utilizar éstos para filtrar una muestra cuando se introduce inicialmente en el aparato o para proporcionar alternativamente una etapa de filtración durante el protocolo de proceso de la muestra si se requiriera.

20 Según lo ya precisado, el procesamiento de la muestra puede incluir etapas de proceso físicas. Tales etapas pueden incluir técnicas térmicas, acústicas, ópticas, de baños de ultrasonidos, de procesamiento eléctrico, de detección o de monitorización y similares. Tales etapas de procesamiento físico se pueden proporcionar en cierto número de maneras diferentes. Según lo precisado anteriormente, éstas se pueden aportar a la muestra dentro de una cámara usando un componente funcional que se ha guardado en la plataforma y que ha sido desplazado por el brazo del aparato según
25 se ha descrito. El aparato puede comprender preferiblemente unos medios físicos de procesamiento o varios que se colocan dentro del aparato sobre la plataforma de una manera similar al brazo del aparato. Los medios de este tipo se diseñan idealmente de tal manera que pueden ser bajados a una cámara dada, situada directamente debajo de los medios, según se requiera y después quitados de la cámara cuando ya no hagan falta. Puesto que la plataforma del aparato puede moverse, puede también moverse para colocar cualquier cámara dada con respecto a tales medios
30 físicos de procesamiento. Opcionalmente, el aparato comprende unos medios para asegurar que la plataforma se coloca correctamente con respecto a estos medios físicos de procesamiento adicionales si se requiere. Los ejemplos de medios de este tipo incluyen, pero sin limitarse a ellos, medios para calentar el contenido de una cámara, medios para someter a baño de ultrasonidos el contenido de una cámara, medios para introducir una señal óptica en una cámara, medios para detectar una señal óptica procedente de una cámara, medios para introducir una señal eléctrica en una cámara
35 y otros similares. Se prefiere que el aparato comprenda uno o varios de los siguientes medios para el calentamiento o medios para someter a baño de ultrasonidos el contenido de la cámara. Éstos son particularmente útiles cuando el aparato se utiliza para procesar una muestra que comprende material biológico antes de la amplificación.

Alternativamente una cámara dada del aparato puede ser modificada de tal manera que cualquier material que
40 contenga pueda experimentar el procesamiento bien directamente en el aparato, o bien cuando el aparato se modifica para incluir los componentes adicionales requeridos o si la cámara se diseña para ser utilizada conjuntamente con un elemento adicional de aparato. Por ejemplo si la muestra necesita ser calentada durante el proceso, las paredes de la cámara pueden comprender los elementos de calentamiento que permitan que su contenido sea calentado, o pueden estar cubiertos alternativamente con un polímero eléctricamente conductor tal como se describe en el documento
45 WO98124548 de tal manera que la cámara puede ser calentada aplicando una corriente eléctrica. Además, las paredes de una o varias cámaras pueden ser flexibles permitir el procesamiento acústico, o alternativamente pueden ser transparentes a unas o a varias longitudes de onda de luz permitir el procesamiento óptico, la detección o el monitorizado. Si se requiere un procesamiento físico de este tipo, el aparato debe ser diseñado de tal manera que la cámara esté colocada para un acceso fácil y eficiente a cualquier medio requerido para el procesamiento físico. Cuando el aparato
50 se utiliza para procesar una muestra que comprenda un material biológico antes de una reacción de amplificación de ácidos nucleicos, se prefiere que una de las cámaras esté cubierta con un polímero eléctricamente conductor y tenga una ventana transparente de tal manera que esta cámara se pueda utilizar para la realización y la supervisión en tiempo real de la reacción de amplificación.

55 Si el aparato comprende una cámara en la cual se deba calentar o enfriar un material, se prefiere que la cámara tenga una relación elevada de área superficial a volumen, de tal manera que pueda tener lugar un intercambio de calor rápido. Un ejemplo de una cámara de este tipo es un tubo capilar. Éstos son ideales para el calentamiento o el enfriamiento rápido de pequeños volúmenes de muestras de fluido. Sin embargo, debido a la tensión superficial de una muestra de fluido, puede ser difícil cargar la muestra de fluido en un tubo capilar. Por lo tanto, se prefiere opcionalmente que se pueda hacer girar a la plataforma rápidamente para poder introducir la muestra de fluido en el tubo capilar por fuerza centrífuga. Esto proporciona una ventaja adicional de tener una plataforma esencialmente circular. Si se utiliza el aparato de esta manera, se prefiere que todas las cámaras que contienen fluido estén diseñadas con un entrante de tal manera que no se desprenda nada de cualquier fluido que estuviera dentro de tales cámaras durante la rotación de la plataforma. Se prefiere además que una o varias de las cámaras estén montadas en la plataforma usando un pivote, de modo que puedan oscilar libremente mientras que la plataforma esté girando de tal manera que el líquido se puede impulsar al tubo capilar.

ES 2 302 029 T3

Por lo tanto, según lo precisado arriba, se puede diseñar opcionalmente el aparato de la presente invención de forma que comprenda un componente funcional, incluyendo unos medios de procesamiento físicos, que sean cualquiera de los citados sobre la plataforma y que se puede mover para operar en la muestra que se procesa por el uso del brazo. Puede comprender alternativamente unos medios de procesamiento físicos situados sobre la plataforma que pueden interactuar con una cámara dada al ser los medios bajados mecánicamente al interior de la cámara según lo indicado. Se prefiere que esos medios, que son costosos y requieren energía para funcionar, estén situados permanentemente dentro del aparato por encima de la plataforma, por ejemplo unos medios para calentar una muestra, unos medios para someter a baño de ultrasonidos una muestra y otros similares. Para prevenir la contaminación de la muestra entre los usos del aparato, se deben limpiar estos medios. La plataforma puede comprender alternativamente unas cámaras que contengan reactivos de limpieza a los cuales se pueda hacer bajar a los medios después de su uso y este lavado se puede integrar en el funcionamiento automatizado del aparato. Se prefiere, de manera semejante, que esos componentes funcionales que se pueden diseñar fácilmente para que sean desechables estén colocados en la plataforma y se desplacen con el brazo del aparato. De este modo, al final del funcionamiento del aparato, la plataforma entera, incluyendo sus componentes constitutivos, se puede quitar del aparato y desechar la misma. Esto reduce al mínimo la contaminación de la muestra. Los ejemplos de tales componentes incluyen los cortadores, la funda para el movimiento de un complejo de material aglomerante con analito ligado, los filtros, las tapas y los elementos similares.

El aparato se puede integrar opcionalmente con otros medios para la manipulación del analito en cuestión o para la monitorización del analito. Por ejemplo, el aparato puede comprender un sistema óptico capaz de detectar uno o varios materiales en la cámara de reacción. Si el aparato comprende un detector óptico, o se va a utilizar conjuntamente con un detector óptico, se prefiere que el detector óptico pueda ser de luz sellada para asegurarse de que la detección puede proceder sin interferencia de la luz incidente.

El propio aparato puede tener una amplia variedad de diseños, formas, y tamaños diferentes y se puede hacer de muchos materiales diferentes dependiendo de su uso específico. A fin de reducir al mínimo el coste del aparato y asegurarse de que es económicamente viable, se prefiere que las cámaras se fabriquen de un material barato, tal como un material termoplástico, por ejemplo polietileno o un polipropileno, policarbonato, material acrílico, un copolímero de nilón o butadieno-estireno o mezclas de los mismos. El aparato o sus piezas componentes pueden ser transparentes o translúcidos u opacos. Ventajosamente, cualquier cámara puede ser también cifrada en color para ayudar directamente al usuario inexperto en cuanto al uso correcto del aparato.

Se prefiere que el aparato sea portátil, de tal manera que puede ser utilizado en campo. Por consiguiente, deben ser ligeros de peso, de un diseño simple, requerir la mínima energía y debe ser diseñados idealmente para ser utilizados en extremos de temperatura. Se prefiere que el aparato esté diseñado para funcionar con eficacia en una gama de temperaturas desde aproximadamente -30°C a aproximadamente +50°C.

También se prefiere que el funcionamiento del aparato esté completamente automatizado. Esto tiene varias ventajas que incluyen la facilidad de uso y error de usuario reducido. Para automatizar el aparato es probable que necesite interconectarse con un ordenador interno o externo u otros medios adecuados de control que se hayan programado adecuadamente. Opcionalmente, se pueden elegir los medios de control de tal manera que se puedan programar con más de un protocolo y el usuario pueda elegir el protocolo deseado de una interfaz opcional adecuada. Si el aparato está automatizado de tal manera, se prefiere que comprenda los medios de control para programar y controlar, por ejemplo, el ciclo térmico de la cámara de muestras y también para controlar de la óptica. Preferiblemente, la secuencia de automatización se diseña para reducir al mínimo el tiempo requerido para procesar una muestra.

Las realizaciones de la invención facilitan el proceso de una muestra de fluido según un protocolo predeterminado.

Esta invención también se relaciona con el uso de un aparato según la presente invención para el procesamiento de una muestra antes de una reacción de amplificación de ácidos nucleicos.

Según un aspecto adicional, esta invención se refiere a un método de procesar una muestra de fluido en el cual el método comprende:

- (i) colocar una muestra que comprende un analito en una primera cámara situada en una plataforma de un aparato como el definido en la reivindicación 1;
- (ii) aglomerar el analito con un material aglomerante para formar un complejo de analito - material ligante;
- (iii) hacer bajar unos medios para atraer reversiblemente dicho complejo al interior de dicha primera cámara y permitir que el complejo resulte atraído por dichos medios;
- (iv) levantar dichos medios de la primera cámara;
- (v) desplazar dicha plataforma de tal manera que una segunda cámara esté ahora alineada con los medios para atraer de manera reversible dicho complejo;
- (vi) hacer bajar dichos medios para atraer de manera reversible dicho complejo al interior de la segunda cámara y permitir que el complejo se desprenda de dichos medios.

ES 2 302 029 T3

caracterizado porque el analito se somete a una etapa de procesamiento físico en la primera cámara o en la segunda cámara.

Se prefiere que la etapa de procesamiento físico sea una etapa de baño de ultrasonidos o alternativamente que 5 sea una etapa de calentamiento. Además se prefiere que el método y cualquier aparato relacionado estén diseñados también de tal manera que la muestra se pueda someter además a una etapa de procesamiento químico. De este modo se asegura que el método se pueda adaptar flexiblemente a acomodar una amplia gama de protocolos de proceso de muestras diferentes.

10 Según un aspecto adicional más, esta invención se relaciona con el uso de un método según la presente invención para el procesamiento de una muestra antes de una reacción de amplificación de ácidos nucleicos. Como una primera etapa es habitual necesitar proceder a una lisis de cualquier material celular dentro de la muestra para desprender el material de ácido nucleico. La lisis se puede realizar opcionalmente por una etapa de lisis química, por ejemplo se usa un reactivo caotrófico tal como clorhidrato del guanidina, o alternativamente una etapa física de lisis, por ejemplo 15 usando un baño de ultrasonidos o ambas. El sometimiento a ultrasonidos de una muestra es particularmente útil para la disrupción inicial de las esporas que puedan estar presentes. A continuación se prefiere que el analito sea desplazado a través de dos cámaras diferentes cada una de las cuales comprende un almacenamiento intermedio para lavar el analito, contenido el almacenamiento intermedio etanol opcionalmente con un detergente y otros reactivos opcionales, por ejemplo tris-clorhidrato. se agregan entonces varios reactivos de PCR a la muestra, por ejemplo iniciadores, sondas, pigmentos fluorescentes, enzimas, nucleótidos, y compuestos similares. El material de ácido nucleico es lavado 20 opcionalmente del material aglomerante mediante el uso de un volumen pequeño de agua precalentada en la cual se solubilizan otros reactivos de la reacción de amplificación. Finalmente se somete la mezcla de reacción a un ciclo térmico con un análisis óptico en tiempo real opcional para monitorizar la reacción de amplificación y para identificar positivamente el objetivo.

25 Según otro aspecto adicional más, esta invención también se relaciona con el uso de un material aglomerante en un aparato según la presente invención para el procesamiento de una muestra antes de una reacción de amplificación de ácidos nucleicos.

30 Figuras

La Figura 1 muestra una vista en perspectiva del aparato.

35 La Figura 2 muestra un corte del aparato completo de lado.

La Figura 3 muestra una vista de lejos de la plataforma.

La Figura 4 muestra una vista en corte del funcionamiento de un componente funcional, aquí un cortador, perforando una membrana laminada en una cámara del aparato.

40 La Figura 5 muestra una vista que ilustra el detalle de la unión de un componente funcional, aquí un cortador, a la horquilla del brazo.

45 La Figura 6 muestra una vista en corte del funcionamiento de un componente funcional, aquí una funda, con un imán para retirar el analito ligado de la cámara de muestras.

La Figura 7 muestra una vista en corte del funcionamiento de los medios de procesamiento físicos, aquí unos medios de calentamiento, para calentar un volumen de disolución en una de las cámaras del aparato.

50 La Figura 8 muestra una vista en corte del funcionamiento de un componente funcional, aquí una funda, con un imán para lanzar el analito ligado en la cámara de reacción.

La Figura 9 muestra una vista en corte de la cámara de reacción, dotada con un componente funcional, aquí el cortador, en posición para sellar la cámara de reacción.

55 La Figura 10 muestra un corte de una tapa de la presente invención con un sello en entrante.

La Figura 1 muestra una vista en la perspectiva del aparato 1. El aparato comprende una plataforma 2 mantenida por un cierre 4 de torsión. La plataforma comprende varias cámaras y componentes funcionales (detallados en la Figura 60 3). La plataforma gira accionado por un motor de etapas 6 y una correa de accionamiento (no mostrada). La posición de la plataforma es monitorizada usando un sensor de índice (no mostrado) que también monitoriza el movimiento del motor de etapas 6. Situado sobre la plataforma 2 se encuentra el brazo 10 que comprende una horquilla 12 para unir de manera desmontable a los componentes funcionales (no detallados) en la plataforma 2. El brazo 10 se muestra en una posición levantada sosteniendo cabo una cámara 68 sobre la plataforma 2. El aparato comprende también 65 un imán 14 que está situado directamente sobre la horquilla del brazo 12. El imán 14 se muestra en la posición levantada. El aparato comprende también unos medios 16 de calentamiento. Éstos están situados también sobre la plataforma 2 y se muestran en una posición levantada. Además, el aparato comprende unos medios para someter a baño de ultrasonidos una muestra 18 nuevamente colocada sobre la plataforma 2 y mostrada otra vez en una posición

ES 2 302 029 T3

levantada. El movimiento lineal del brazo 10 y del imán 14 es accionado por un motor 20 unido a una correa de accionamiento 22 y controlado por un actuador lineal 24. El movimiento lineal de los medios de calentamiento 16 y los medios para someter a baño de ultrasonidos una muestra 18 es accionado de manera similar por el motor 20 unido a la correa de accionamiento 22 y controlado individualmente por los actuadores lineales 26 y 28 respectivamente. El aparato comprende también un panel de control 30 y una fuente de potencia 32.

La Figura 2 muestra un corte del aparato de la presente invención. Los componentes mostrados son iguales que los mostrados en la Figura 1 excepto que el actuador lineal 24 no se puede ver en esta vista. Esta vista muestra adicionalmente la correa de accionamiento 40 unida al motor 6 para hacer girar la plataforma y el sensor 42 para detectar la posición de la plataforma.

La Figura 3 muestra desde lejos un vista de la plataforma 2 del aparato, el cual se ha diseñado para procesar una muestra de fluido antes de la amplificación de ácidos nucleicos. La plataforma se monta en el aparato usando un mecanismo 4 de cierre por torsión. La plataforma comprende dos componentes funcionales, un cortador 50 y una funda 52. Cada componente funcional comprende un labio 54 a cada lado que permite que el componente funcional interactúe con el brazo del aparato (no mostrado). El labio se orienta de tal manera que conforme gira la plataforma el componente de horquilla del brazo puede deslizarse por debajo del labio del componente funcional. El aparato comprende también varias cámaras, 56, 58, 60, 62, 64, 66 y 68. Cada una de estas cámaras tiene un papel diferente según se precisa a continuación. Las cámaras 56, 58, 60, 64, 66 son ovales en su corte y comprenden un entrante de pozo circular en el fondo de la cámara 560, 580, 600 y 640 respectivamente. La cámara 62 es circular en su corte. La cámara 68 es circular en su corte y se angosta a un tubo capilar en la base de la cámara indicado por 680. La cámara 68 comprende adicionalmente un labio 70 que permite que la cámara interactúe con el brazo del aparato (no mostrado). La cámara 68 se monta en el aparato usando los husillos 72 montados en las bases 74. Las cámaras 60 y 62 se montan juntas en un solo recipiente 76. Este recipiente 76 es desmontable de la plataforma. La plataforma también comprende una sección 78 desprendida.

El uso del aparato y de la plataforma para el procesamiento de una muestra de fluido antes de la amplificación de ácidos nucleicos se precisa a continuación haciendo referencia a las figuras anteriores y adicionalmente a las Figuras 4 a 9.

Se selecciona un recipiente 76 que comprende una cámara 60 de muestras en base al análisis elegido. La cámara 62 se carga previamente con varios reactivos requeridos para dicho análisis. Se recoge una muestra de fluido que comprende un analito de ADN y se coloca en la cámara 60 de muestras. La cámara de muestras se carga previamente con un reactivo químico de lisis, clorhidrato de guanidina. Los granos magnéticos 100 de aglomerante se agregan entonces a la muestra y se cierra la tapa del recipiente de la muestra. El recipiente 76 que comprende la cámara 60 de la muestra la cámara 62 de la muestra y el reactivo se carga sobre la plataforma 2. La plataforma 2 se carga después en el aparato 1 y se cierra en su lugar usando la cerradura 4 de torsión. Se baja el brazo 10 y se hace girar la plataforma 2 de tal manera que la horquilla 12 engancha por debajo del labio 52 del cortador 50. El brazo 12 se levanta entonces y la plataforma 2 gira a continuación de tal manera que la cámara 56 se sitúa debajo del cortador 50. Se baja el brazo 10 y el cortador 50 perfora la membrana de metal laminado (no mostrada) que cubre la cámara 56. Esto se repite de tal manera que el cortador 50 perfora secuencialmente las membranas que cubren las cámaras 58, 60, 62, 64, 66 y 68.

La Figura 4 muestra una vista en corte del funcionamiento de un componente funcional, aquí un cortador 50, perforando una membrana laminada (no mostrada) sobre la parte superior de una cámara, por ejemplo 56, del aparato. La cámara 56 se une a la plataforma 2. La figura ilustra el labio del componente funcional 52 que se utiliza para enganchar con la horquilla del brazo (no mostrada).

La Figura 5 muestra una vista para ilustrar el detalle de la unión de un componente funcional, aquí un cortador 50, a la horquilla 12 del brazo 10. La horquilla 12 del brazo 10 engancha con el cortador por debajo del labio 52.

Una vez se han perforado todas las membranas laminadas del aparato, el cortador 50 es devuelto a su posición original respecto a la plataforma 2 por el giro de la plataforma 2, que hace bajar el brazo 10 y el giro de la plataforma en la dirección opuesta de tal manera que la horquilla del brazo 12 y el labio del cortador 52 se desenganjan.

La plataforma se hace girar entonces de tal manera que la cámara 60 de la muestra está situada ahora por debajo de los medios para someter a baño de ultrasonidos la muestra 18. Los medios para someter a baño de ultrasonidos la muestra 18 se hacen bajar al interior de la cámara 60 de la muestra y se inician los ultrasonidos sobre la muestra. Esto proporciona una etapa de lisis física para provocar la lisis de cualquier espora que esté presente en la muestra a fin de desprender cualquier ADN. Al mismo tiempo, el reactivo químico clorhidrato de guanidina actúa también para provocar la lisis química de cualquier célula de la muestra. Conforme se libera el ADN se liga al material aglomerante magnético para formar un complejo. Cuando los ultrasonidos se completan los medios para someter a ultrasonidos la muestra 18 se retiran de la cámara 60 de la muestra. Antes de ser guardados los medios para someter a ultrasonidos la muestra 18 primeramente se lavan en dos cámaras de lavado, las cámaras 56 y 58. Estas cámaras se cargan previamente con un almacenamiento intermedio adecuado, por ejemplo una disolución acuosa de etanol al 50% 80. Los medios para someter a baño de ultrasonidos la muestra 18 son levantados de la cámara 60 de la muestra, esa plataforma 2 gira de tal manera que la cámara 56 del almacenamiento intermedio está situada ahora por debajo de los medios para someter a baño de ultrasonidos la muestra 18, los medios para someter a baño de ultrasonidos la muestra bajan en la cámara 56 del almacenamiento intermedio, son activados brevemente y son levantados. El procedimiento se repite para

ES 2 302 029 T3

la cámara 58. Después del segundo lavado los medios para someter a baño de ultrasonidos la muestra 18 se levantan y se guardan.

- Se hace bajar entonces el brazo 10 y la plataforma 2 es girada de tal manera que el elemento 12 se engancha por debajo del labio 52 de la funda 54. Entonces se levanta el brazo 10 de tal modo que levanta la funda 54 por encima de la plataforma 2. La plataforma 2 se gira entonces de tal manera que la cámara 60 de la muestra está directamente debajo de la funda 54. Se hace bajar el brazo 10 de tal modo que baja la funda 54 al interior de la cámara 60 de la muestra. Entonces se hace bajar al imán 14 al interior de la funda 54 y los granos magnéticos 100 a los cuales el ADN está ligado se atraen a la funda 54. Se levanta entonces el brazo 10 levantando con ello la funda 54 sacándola de la cámara 60 de la muestra. El imán 14 se levanta simultáneamente con el brazo 10 de tal manera que permanece dentro de la funda 54.

La Figura 6 muestra una vista en corte del funcionamiento de un componente funcional, aquí una funda 54, con un imán 14 para retirar el analito aglomerado de la cámara 60 de la muestra. La cámara 60 está unida a la plataforma 2. La funda se hace bajar por medio del brazo (no mostrado) al interior de la muestra 102 contenida en la cámara 60 de la muestra. El imán 14 se inserta en la funda 54 y los granos magnéticos 100 con los cuales el ADN forma un complejo se atraen a la funda 54.

- El ADN ligado a los granos magnéticos 100 se lava entonces en dos almacenamientos intermedios. Se hace girar la plataforma 2 de tal manera que la primera cámara 64 del almacenamiento intermedio que contiene una disolución tampón de clorhidrato está directamente debajo de la funda 54 a la cual se atraen los granos magnéticos 100. Se hace bajar el brazo 10, bajando de este modo la funda 54 al interior de la cámara 64 de almacenamiento intermedio. Sin embargo, no se baja el imán 14. Esto significa que los granos 100 ya no son atraídos a la funda 54 sino que por el contrario la abandonan y caen en la disolución tampón. El rápido levantamiento y descenso del brazo 10 y por tanto de la funda 54 en pequeños movimientos verticales asegura que todos los granos 100 son expulsados de la funda 54 y se mezclan bien con la disolución tampón. Se baja entonces nuevamente la funda 54 dentro de la primera cámara 64 de almacenamiento intermedio, se baja el imán 14 dentro de la funda 54 y los granos magnéticos 100 con el ADN todavía ligado se vuelven a unir a la funda 54. El proceso se repite para lavar los granos 100 en un segundo almacenamiento intermedio que comprende la disolución acuosa de etanol al 50% contenida en una segunda cámara 66 de almacenamiento intermedio. Después de lavar los granos magnéticos 100 con el ADN ligado en la segunda cámara 66 de almacenamiento intermedio, se levanta el brazo 10 de tal modo que levanta la funda 54 y deja los granos magnéticos 100 en la cámara 66 de almacenamiento intermedio. La funda 54 sin embargo no se devuelve a la plataforma 2 sino que por el contrario es retenida unida al brazo 10.

- Se hace girar ahora la plataforma de tal manera que la cámara 68 de reacción quede entonces directamente debajo de los medios para el calentamiento 16. La cámara 68 de la reacción comprende un área inferior 90 que comprende un tubo capilar 680 y un área superior 92. El área inferior 90 está separada del área superior 92 por una membrana laminada intacta 94. El área superior comprende un pequeño volumen, aproximadamente 100 μl de agua 96. Los medios para el calentamiento 16 se hacen bajar a continuación al interior del área superior 92 de la cámara 68 de reacción y se activan para calentar el agua 96 a una temperatura de aproximadamente 90°C. Una vez que se calienta el agua 96 se levantan los medios para el calentamiento 16 y se retiran de la cámara 68 de reacción 38. Entonces se guardan los medios para el calentamiento 16 en el aparato 1 para uso futuro.

La Figura 7 muestra una vista en corte del funcionamiento de los medios de procesamiento físicos, aquí los medios de calentamiento 16, para calentar un volumen de la disolución 96 en una de las cámaras, aquí la cámara 68 de reacción, del aparato 1. La cámara de reacción está unida a la plataforma 2. Los medios de calentamiento calientan el agua 96 que se mantiene en la sección superior 92 de la cámara 68 de reacción. La sección superior 92 y la sección inferior 90 de la cámara 68 de reacción están separadas por una membrana 94 intacta.

- Se hace girar la plataforma otra vez de tal manera que la segunda cámara 66 de almacenamiento intermedio que comprende los granos magnéticos 100 a los cuales permanece el ADN ligado está directamente debajo de la funda 54. Se hace bajar el brazo 10 de tal modo que baja la funda 54 al interior de la segunda cámara 66 de almacenamiento intermedio. El imán 14 se baja otra vez al interior de la funda y nuevamente los granos 100 son atraídos a la funda 54. La funda 54 y el imán 14 están ambos levantados, se hace girar esa plataforma de tal manera que ahora la cámara 68 de reacción está directamente debajo de la funda 54. Se hace bajar el brazo 10 para bajar la funda 54 al interior de la sección superior 92 de la cámara 68 de reacción. Como antes, el imán 14 no se baja de tal manera que los granos 100 ya no son atraídos a la funda 54. Los granos 100 se sueltan en la sección superior 92 de la cámara 68 de reacción. Como previamente los pequeños levantamientos y bajadas del brazo 10 y de la funda 54 aseguran que los granos 100 son expulsados de la funda 54. El ADN es lavado a continuación de los granos 100 con el agua caliente 96. El brazo 10 se levanta de tal manera que la funda 54 se retira de la cámara 68 de reacción.

La Figura 8 muestra una vista en corte del funcionamiento de un componente funcional, aquí una funda 54, con un imán 14 para soltar el analito ligado 100 en la cámara 68 de reacción. Los granos magnéticos 100 se sueltan en la sección superior 92 de la cámara 68 de reacción donde el agua caliente 96 lava el ADN de los granos magnéticos 100.

- Se hace girar otra vez la plataforma de tal manera que ahora la cámara 62 de reactivo, en la cual se han cargado previamente los reactivos necesarios para una reacción de amplificación de ácidos nucleicos, está directamente debajo de la funda 54. Se hace bajar nuevamente el brazo 10 con lo cual se baja la funda 54 dentro de la cámara 62 de

ES 2 302 029 T3

reactivo. Los reactivos (no mostrados) se han formulado previamente de tal manera que también están ligados a los granos magnéticos (no mostrados). Una vez que la funda 54 está en su posición en la cámara 62 de reactivos, se baja el imán 14 dentro de la funda 54 y los granos magnéticos a los cuales los reactivos están ligados son atraídos a la funda 54. La funda 54 y el imán 14 juntos se levantan para retirar los reactivos (no mostrados) de la cámara 62 de reactivos.

5 Se hace girar a continuación la plataforma 2 de tal manera que la cámara 68 de reacción está ahora directamente debajo de la funda 54. Se baja luego el brazo 10 de tal modo que baja la funda 54 al interior de la sección superior de la cámara 92 de reacción. Nuevamente no se baja el imán 14 de tal manera que los granos magnéticos a los cuales los reactivos están ligados son expulsados de la funda 54 a la sección superior 92 de la cámara 68 de reacción. Los reactivos son lavados de los granos magnéticos por el agua caliente 96. Después de que el lavado se haya completado,

10 se hace bajar otra vez el brazo 10 con la funda 54 a su posición. El imán 14 se baja en la funda 54 y todos los granos magnéticos de la sección superior 92 de la cámara 68, es decir, los del analito y los del reactivo, son atraídos a la funda 54. La funda 54 y el imán 14 son ambos levantados para quitar los granos y se hace girar la plataforma 2. Los granos entonces se depositan como residuo en una de las cámaras usadas como almacenamiento intermedio. Después de que los granos se hayan expulsado de la funda 54, la funda es devuelta a su posición inicial respecto a la plataforma 2 usando nuevamente el movimiento del brazo 10 y el giro de la plataforma 2.

15

La sección superior 92 de la cámara 68 de reacción comprende ahora una muestra purificada de ácido nucleico y todos los reactivos requeridos para una reacción de amplificación. El brazo 10 se utiliza ahora para recoger el cortador 50. La plataforma 2 gira otra vez de tal manera que la cámara 68 de reacción está ahora directamente debajo del cortador 50. La sección superior 92 de la cámara 68 de reacción. El cortador 50 perfora la membrana 94 y el agua 96 que contiene el ADN y las gotas de reactivos en la sección inferior 90 de la cámara 68 de reacción. Más bien que usar el brazo para quitar el cortador 50, el cortador en lugar de esto se deja en su posición en la cámara 68 de reacción donde actúa ahora como un tapón para sellar la cámara 68 de reacción.

25 La Figura 9 muestra una vista en corte transversal de la cámara 68 de reacción, en este caso con un componente funcional, aquí el cortador 50, en la posición para sellar la cámara 68 de la reacción. El cortador 50 también se ha utilizado para perforar la membrana 94 que separaba la sección superior 92 y la sección inferior 90 de la cámara 68 de reacción de tal manera que el agua 96 que contiene el analito del ADN y los reactivos para una reacción de amplificación de ácidos nucleicos puede entrar en el tubo capilar 680. El cortador 50 permanece en su lugar para sellar la cámara 68 de reacción de tal manera que ningún disolvente puede evaporarse de la cámara durante la reacción de amplificación.

30 Para impulsar el agua 96 que contiene el ADN y los reactivos dentro del tubo capilar 680 de la cámara 68 de reacción, la plataforma 2 se hace girar a alta velocidad. La fuerza centrífuga impulsa el líquido 96 en el tubo capilar 680. Esto es ayudado por el hecho de que, durante la rotación, la cámara 68 de reacción puede girar en la plataforma por medio de los husillos 72 montados en las bases 74. Además, para prevenir el derramamiento del líquido contenido en las cámaras 56, 58, 60, 64 y 66 durante esta rotación a alta velocidad, estas cámaras se diseñan con un corte oval y un entrante circular en la base, según lo mostrado en la Figura 3. Este diseño interno previene cualquier derramamiento.

35 Despues de que el agua 96 que contiene el ADN y la amplificación nucleica ha entrado en el tubo capilar 680 la muestra está lista para experimentar una reacción de amplificación de ácidos nucleicos. En esta etapa la cámara 68 de reacción puede ser retirada manualmente del aparato 1 para su uso en otro aparato donde se realiza la amplificación de ácidos nucleicos. Sin embargo, en este caso el único aparato se ha adaptado para realizar además la amplificación de los ácidos nucleicos y la detección óptica de los mismos. Estas operaciones se realizan en la mitad inferior del aparato 1 (no mostrada). Para automatizar completamente el proceso, la cámara 68 de reacción se ha adaptado con un labio 98 de tal manera que puede ser manipulada por el brazo 10 del aparato de la misma forma que los otros componentes funcionales 50 y 54. Se baja el brazo 10 y se hace girar la plataforma 2 de tal manera que el labio 98 de la cámara 68 de reacción engancha con la horquilla 12 del brazo 10. Se levanta entonces el brazo 10 levantando con ello la cámara 68 de reacción. En las Figuras 1 y 2 se muestra la cámara 68 de reacción levantada. La plataforma gira entonces de tal manera que la sección desprendida 78 está alineada ahora debajo de la cámara 68 de reacción levantada. Se hace bajar el brazo a continuación de tal modo que baja la cámara de reacción a través de la sección desprendida 78 y al interior de la parte inferior del aparato 1. Cuando está situada en la parte inferior del aparato 1, se realiza la amplificación de ácidos nucleicos usando un variador térmico para calentar y para enfriar la mezcla de reacción en el tubo capilar 680 y un detector óptico para detectar los productos finales. Esto es ayudado por el hecho de que el tubo capilar está cubierto con un polímero eléctricamente conductor que permite el calentamiento y el enfriamiento rápidos del tubo capilar 680.

40 60 Despues de terminar la reacción de amplificación de ácidos nucleicos, la plataforma 2 que contiene el cortador 50, la funda 54 y las cámaras 56, 58, 60, 62, 64 y 66 y la cámara 68 de reacción son todas retiradas del aparato y desecharadas. Se puede entonces introducir una nueva plataforma que contiene los elementos necesarios en el aparato de tal manera que puede ser utilizado nuevamente en otra manipulación de muestras.

45 65 La Figura 10 muestra un corte transversal de una tapa 200 que no forma parte de la presente invención con una membrana con entrante 206 unida a un recipiente 212 de muestras. La muestra 210 se introduce en una cámara 212. A fin de sellar la cámara 212 para asegurarse de que la muestra 210 no está contaminada, se debe utilizar una tapa. La tapa 200 de la presente invención comprende una membrana 206, por ejemplo una membrana laminada, que se

ES 2 302 029 T3

puede perforar en orden para tener acceso a la muestra para su procesamiento adicional en un momento posterior. Para prevenir la contaminación cruzada de la muestra 210 de la membrana 206, la membrana 206 se coloca con entrante en la tapa 200. Esto tiene como resultado que si un usuario toca la tapa 200 para cerrarla tanto desde el lado superior como desde el lado inferior se produce un hueco 202 ó 204 respectivamente entre el usuario y la membrana 206. De tal modo el usuario no contamina la membrana 206. En este caso la tapa 200 se une a la cámara 212 de la muestra mediante un reborde con bisagras 208. No obstante, no es un requisito que la tapa se una a una cámara, se podría fabricar la tapa sola para su uso con una amplia variedad de recipientes de muestra diferentes.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Un aparato para procesar una muestra de fluido que comprende:

5 (i) una plataforma (2) que comprende:

(a) una cámara (60, 64 ó 66) adecuada para recibir una muestra;

10 (b) una segunda cámara (68) en la cual se puede introducir un analito extraído de la muestra o un reactivo; y

15 (c) un primer componente funcional que se mantiene de manera desmontable en su lugar en la plataforma y que comprende una funda (52) que proporciona una interfaz entre unos medios (14) para atraer un material aglomerante en fase sólida (100) y un material aglomerante en fase sólida;

(ii) un brazo (10) capaz de ser levantado y ser bajado y que incluye unos medios para unirlo de manera desmontable al componente funcional (52) de tal manera que dicho componente se puede levantar y bajar con el brazo (10); y

20 (iii) unos medios (6) para mover la plataforma (2) de tal manera que cualquier cámara (60, 62, 64, 66 ó 68) o el componente funcional (52) se puede alinear con respecto al brazo (10);

(iv) unos medios (14) para atraer el material aglomerante en fase sólida.

25 2. Un aparato según la reivindicación 1, en donde la plataforma (2) da apoyo a otro componente funcional (50) que comprende unos medios para interactuar con la cámara.

30 3. Un aparato según la reivindicación 2, en donde el componente funcional adicional puede actuar como un cortador (50) para perforar un sello de hoja en la cámara, o para tapar la cámara o para introducir un filtro.

4. Un aparato según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la plataforma (2) y los componentes funcionales (50, 52) son desecharables.

35 5. Un aparato según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la plataforma comprende una o varias cámaras adicionales (56, 58, 62) para los reactivos que son útiles en el procesamiento de la muestra.

6. Un aparato según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde una cámara (60, 64, 66 ó 68) o, en los casos en que se encuentre presente, otra cámara (56, 58, 62) contiene unos reactivos previamente distribuidos.

40 7. Un aparato según la reivindicación 6, en donde otra cámara (56, 58) contiene el líquido o el diluyente de lavado que comprende una disolución tampón o agua.

45 8. Un aparato según la reivindicación 6 ó la reivindicación 7, en donde una cámara adicional (62) contiene un reactivo requerido para su uso en el procesamiento.

9. Un aparato según la reivindicación 8, en donde el reactivo se liga a un material aglomerante en fase sólida.

10. Un aparato según la reivindicación 9, en donde dicho material aglomerante en fase sólida es sílice.

50 11. Un aparato según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la plataforma (2) es circular.

12. Un aparato según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el brazo (10) se une mecánicamente de manera desmontable a cada componente funcional (50, 52).

55 13. Un aparato según la reivindicación 12, en donde se coloca una horquilla (12) en el brazo (10), y está dispuesta para interactuar con un labio (54) situado en cada componente funcional.

60 14. Un aparato según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el brazo se puede mover en una única dimensión solamente.

15. Un aparato según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el aparato comprende unos medios (20) para levantar y bajar el brazo (10) en una dirección sustancialmente vertical.

65 16. Un aparato según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde los medios (14) para atraer el material aglomerante en fase sólida son un imán.

ES 2 302 029 T3

17. Un aparato según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el aparato comprende además unos medios de procesamiento físico (16, 18) capaces de efectuar técnicas térmicas, acústicas, ópticas, de ultrasonidos, de procesos eléctricos, de detección o de monitorización.
- 5 18. Un aparato según la reivindicación 17, en donde los medios de proceso físico son unos medios para calentar (16) el contenido de una cámara (60, 64, 66 ó 68) del aparato.
- 10 19. Un aparato según la reivindicación 17, en donde los medios de procesamiento físico son unos medios para someter a baño de ultrasonidos (18) el contenido de una cámara (60, 64, 66 ó 68) del aparato.
- 15 20. Un aparato según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde una cámara (68) del aparato está revestida al menos en parte con un polímero eléctricamente conductor.
- 20 21. Un aparato según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que se automatiza para el procesamiento de una muestra antes de una reacción de amplificación de ácidos nucleicos.
- 25 22. Un método de procesar una muestra de fluido en un aparato según la reivindicación 1, en el cual el método comprende:
- 20 (i) colocar una muestra que comprende un analito en una primera cámara (60) situada en una plataforma (2) de un aparato según la reivindicación 1;
- 25 (ii) ligar el analito a un material aglomerante (100) para formar un complejo analito - material aglomerante;
- 30 (iii) bajar una funda (52) que proporciona una interfaz entre unos medios (14) para atraer un material aglomerante en fase sólida (100) y el material aglomerante en fase sólida en dicha primera cámara (60), y unos medios (14) para atraer reversiblemente dicho complejo, al interior de la funda (52) y permitir que el complejo sea atraído a medios dichos;
- 35 (iv) levantar dicha funda (52) y unos medios (14) de la primera cámara;
- 40 (v) mover dicha plataforma móvil (2) de tal manera que una segunda cámara (64, 66 ó 68) esté ahora alineada con los medios para atraer reversiblemente dicho complejo;
- 45 (vi) bajar dicha funda (52) y medios (14) para atraer reversiblemente dicho complejo al interior de la segunda cámara (64, 66 ó 68) y eliminar dichos medios (14) permitiendo que el complejo se separe de la funda (52), donde el analito se somete a un etapa de procesamiento físico bien en la primera cámara (60) o bien en la segunda cámara (64, 66, ó 68).
- 40 23. Un método según la reivindicación 22, en donde la etapa de procesamiento físico es una etapa de ultrasonidos.
- 45 24. Un método según la reivindicación 22, en donde la etapa de procesamiento físico es una etapa de calentamiento.
- 50 25. Un método según una cualquiera de las reivindicaciones 22 a 24, en donde la muestra también se somete a una etapa de procesamiento químico.
- 55 26. Un método según una cualquiera de las reivindicaciones 22 a 25, para el procesamiento de una muestra antes de una reacción de amplificación de ácidos nucleicos.
- 60 27. Uso de un material aglomerante (100) en un método según la reivindicación 22 para el procesamiento de una muestra antes de una reacción de amplificación de ácidos nucleicos.

55

60

65

Fig.1.

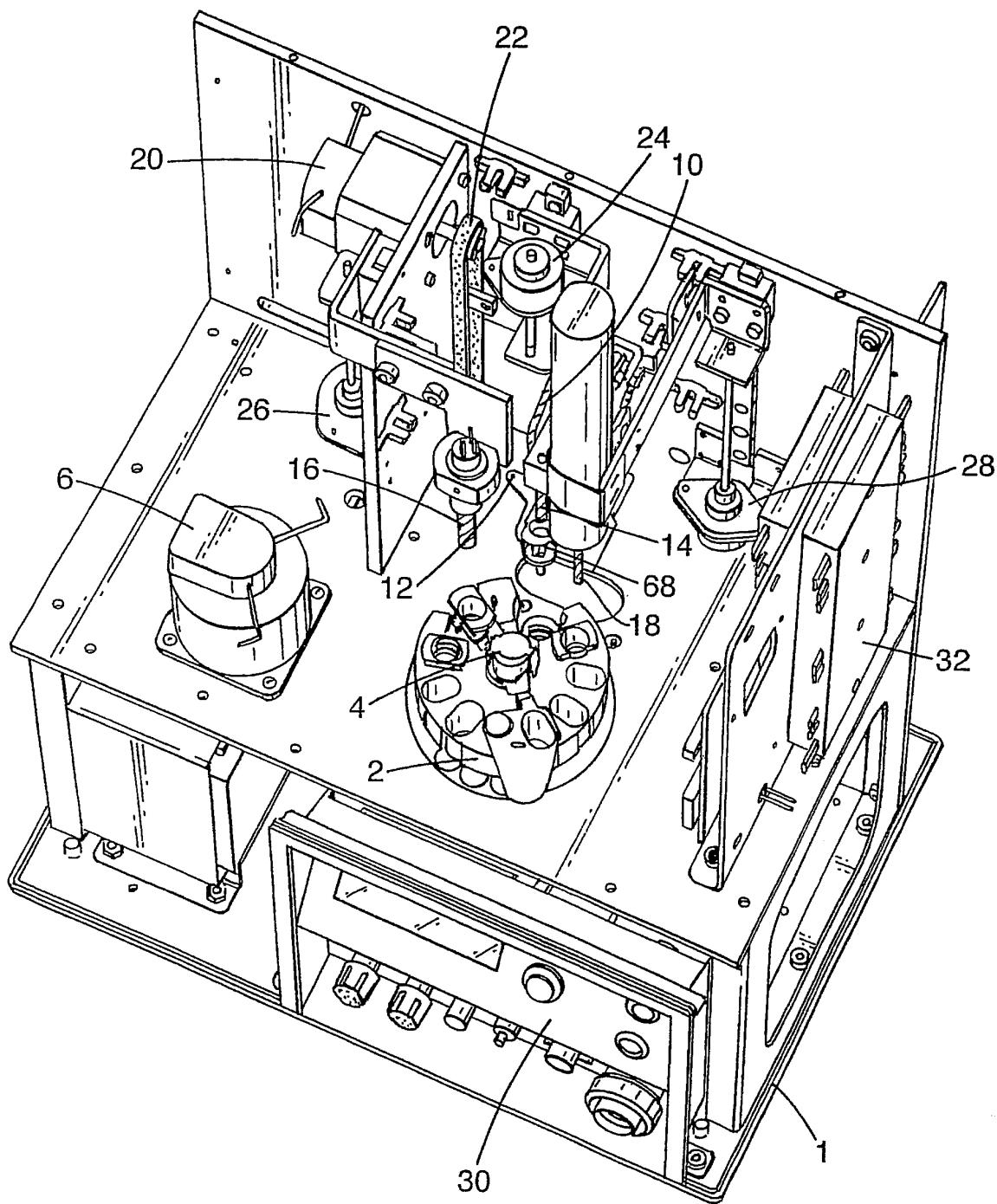


Fig.2.

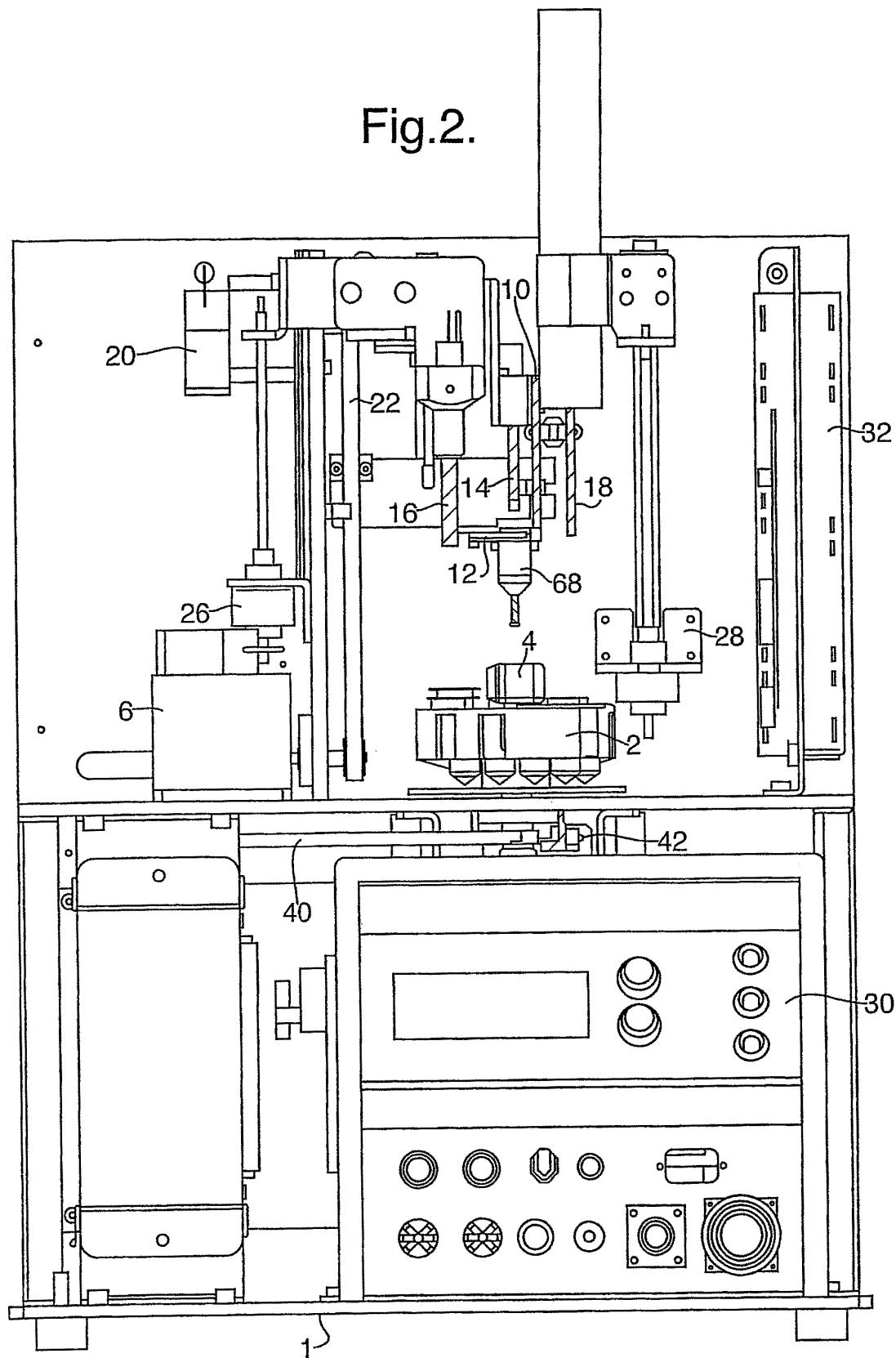


Fig.3.

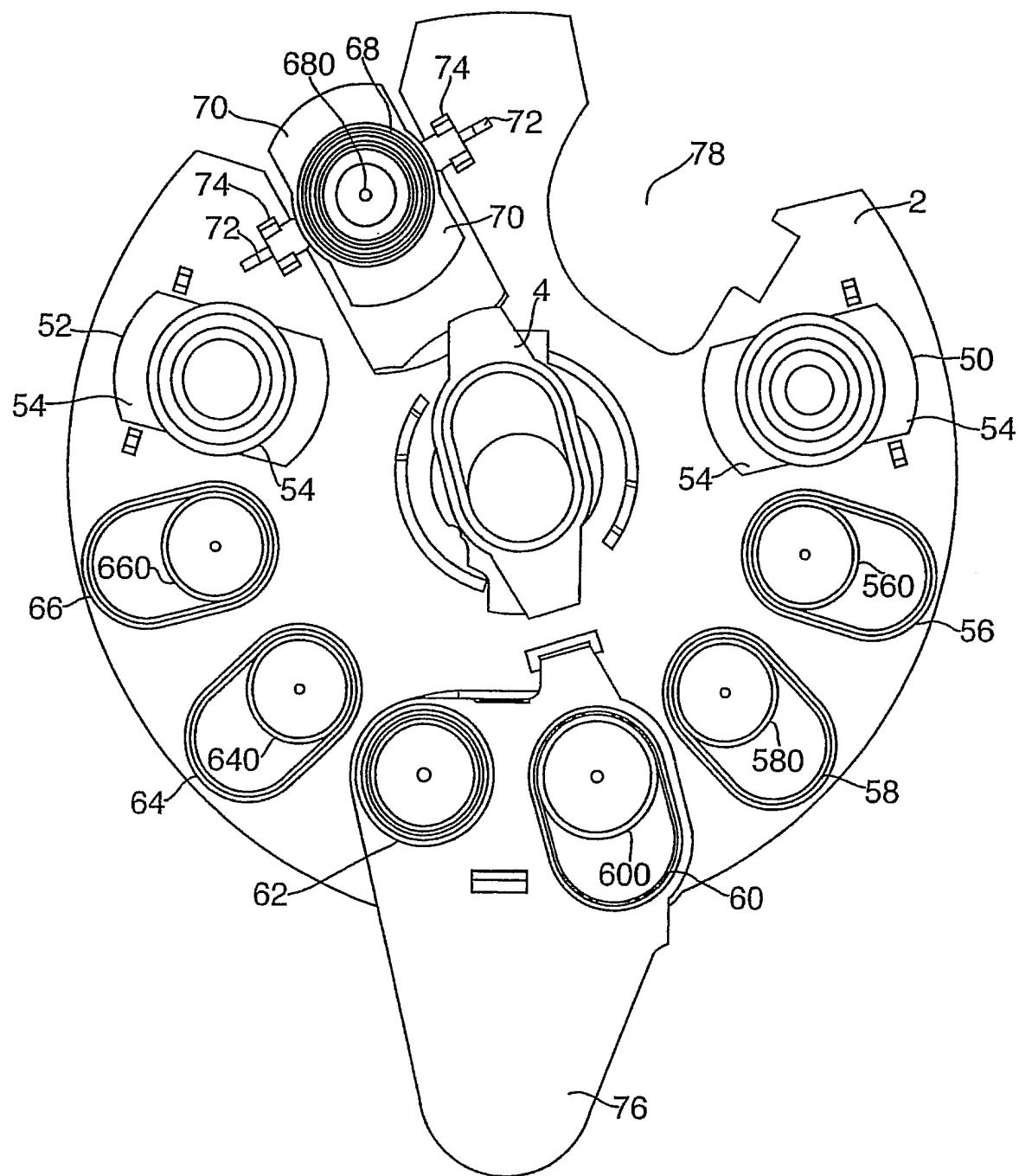


Fig.4.

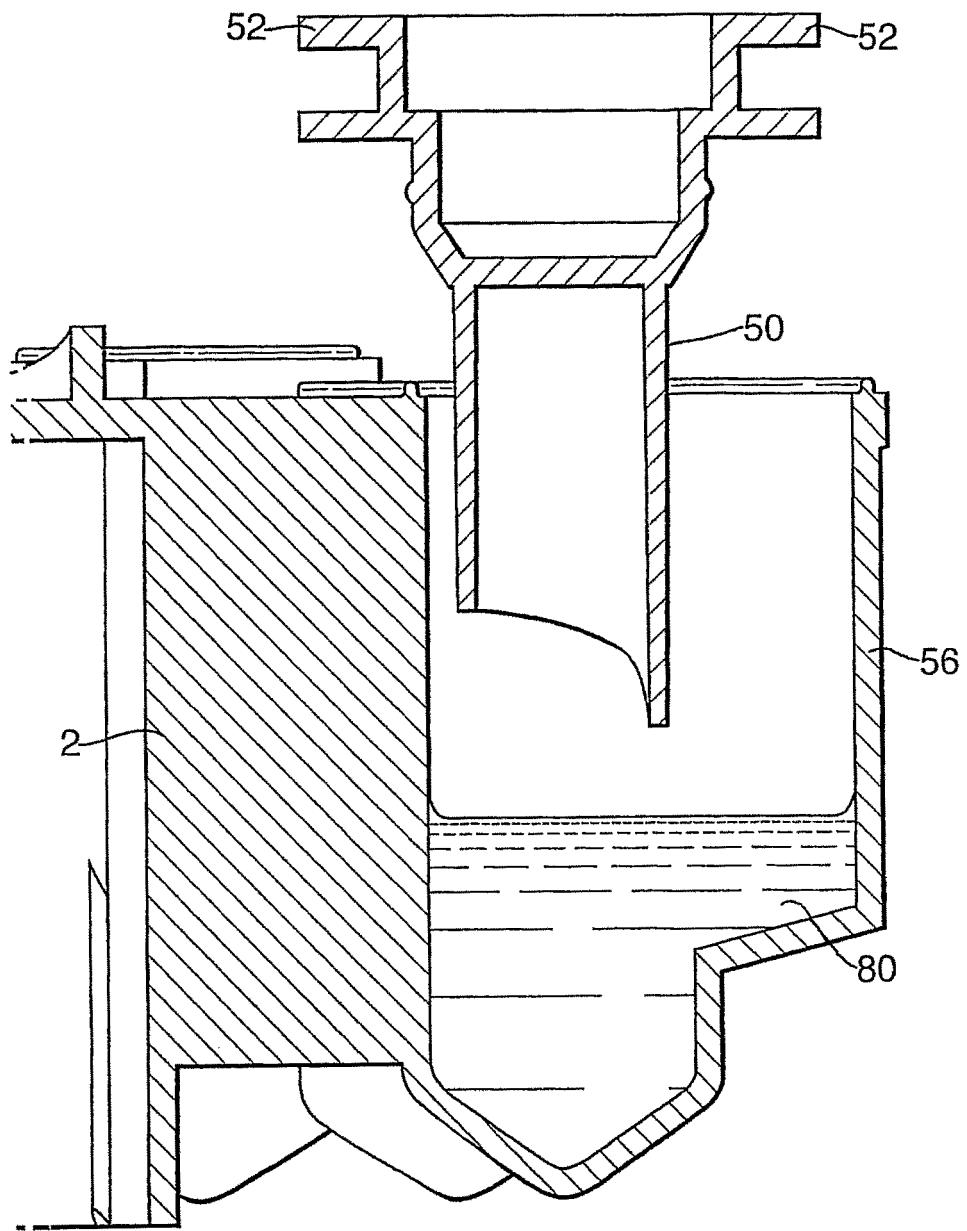


Fig.5.

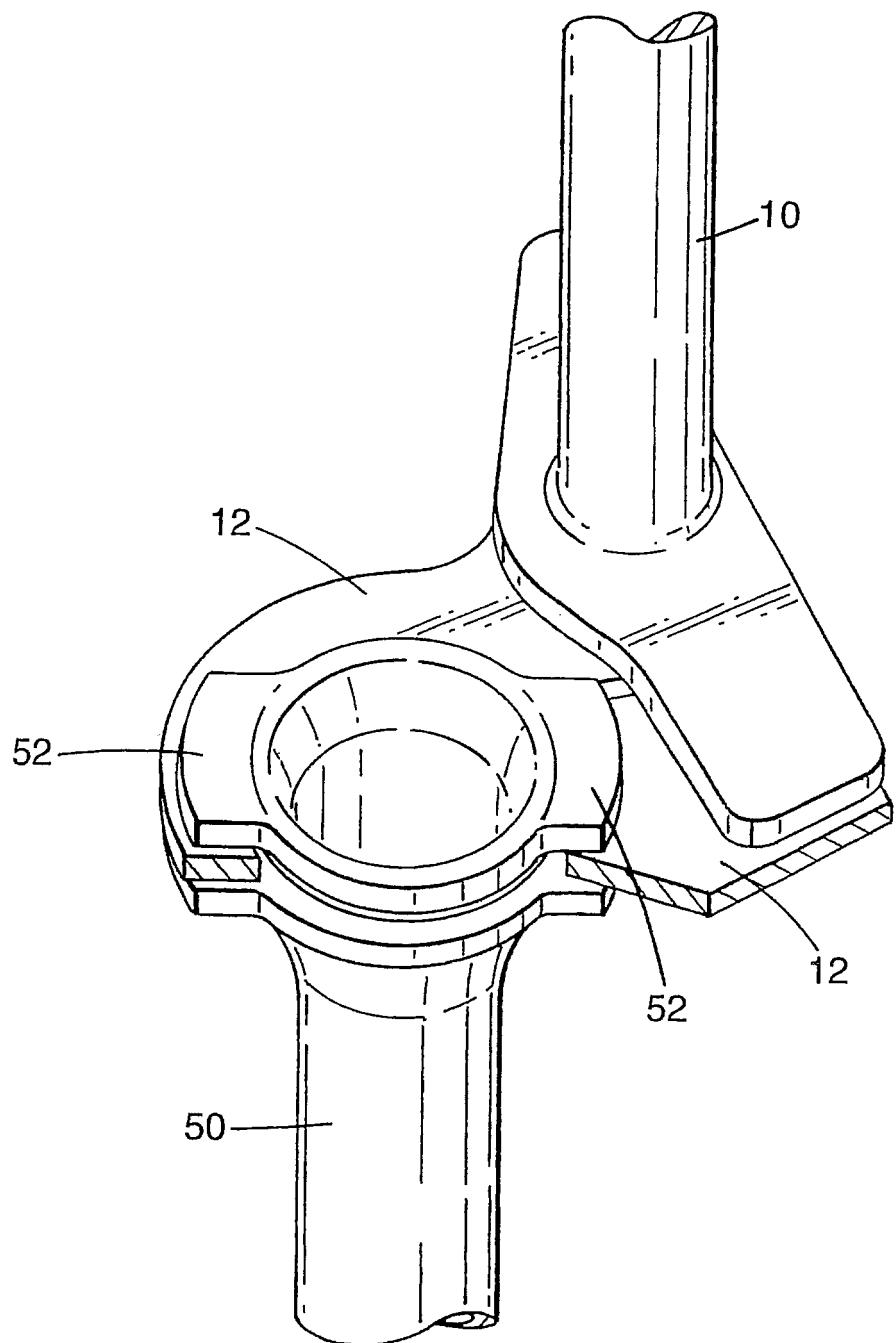


Fig.6.

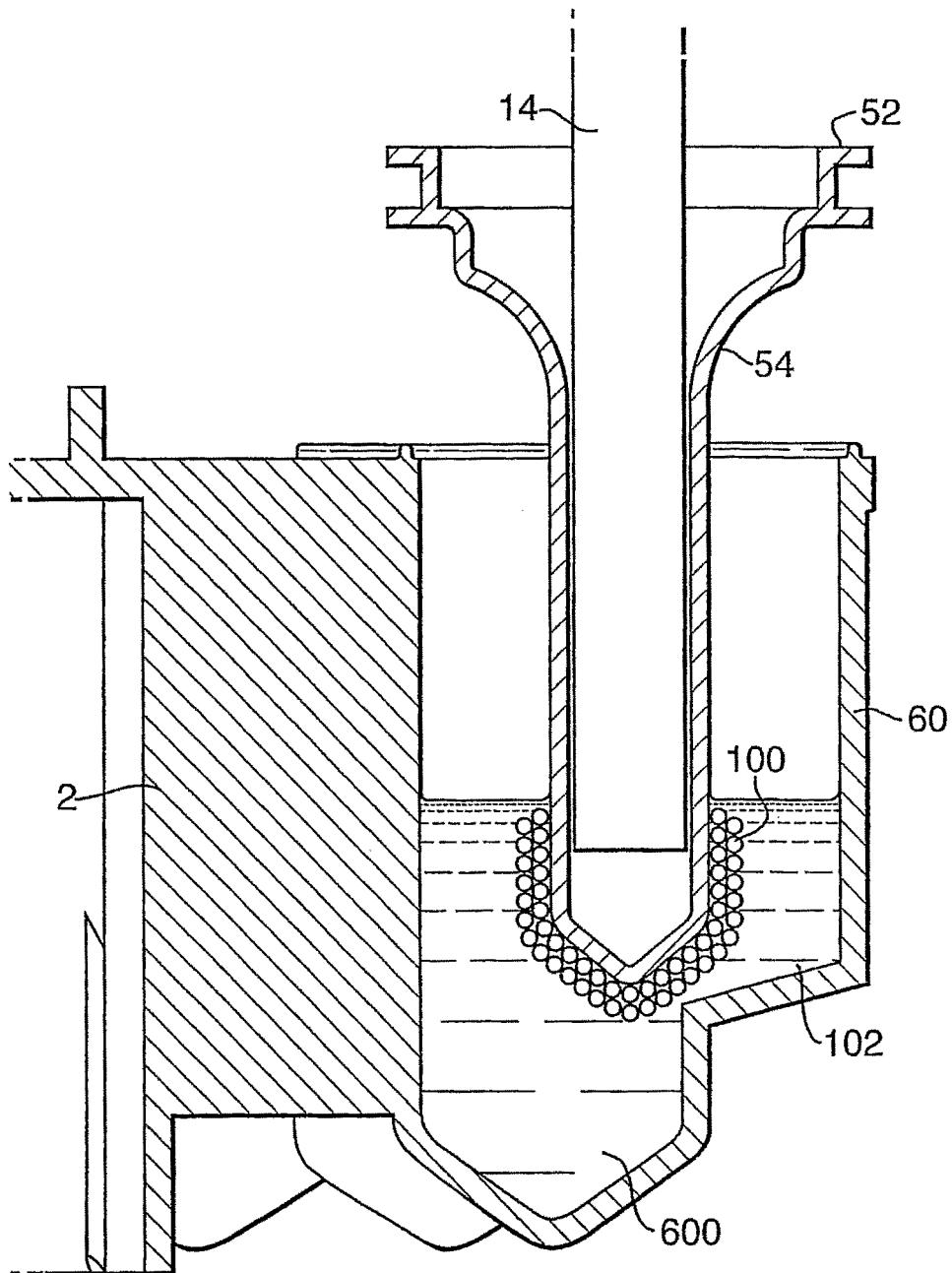


Fig.7.

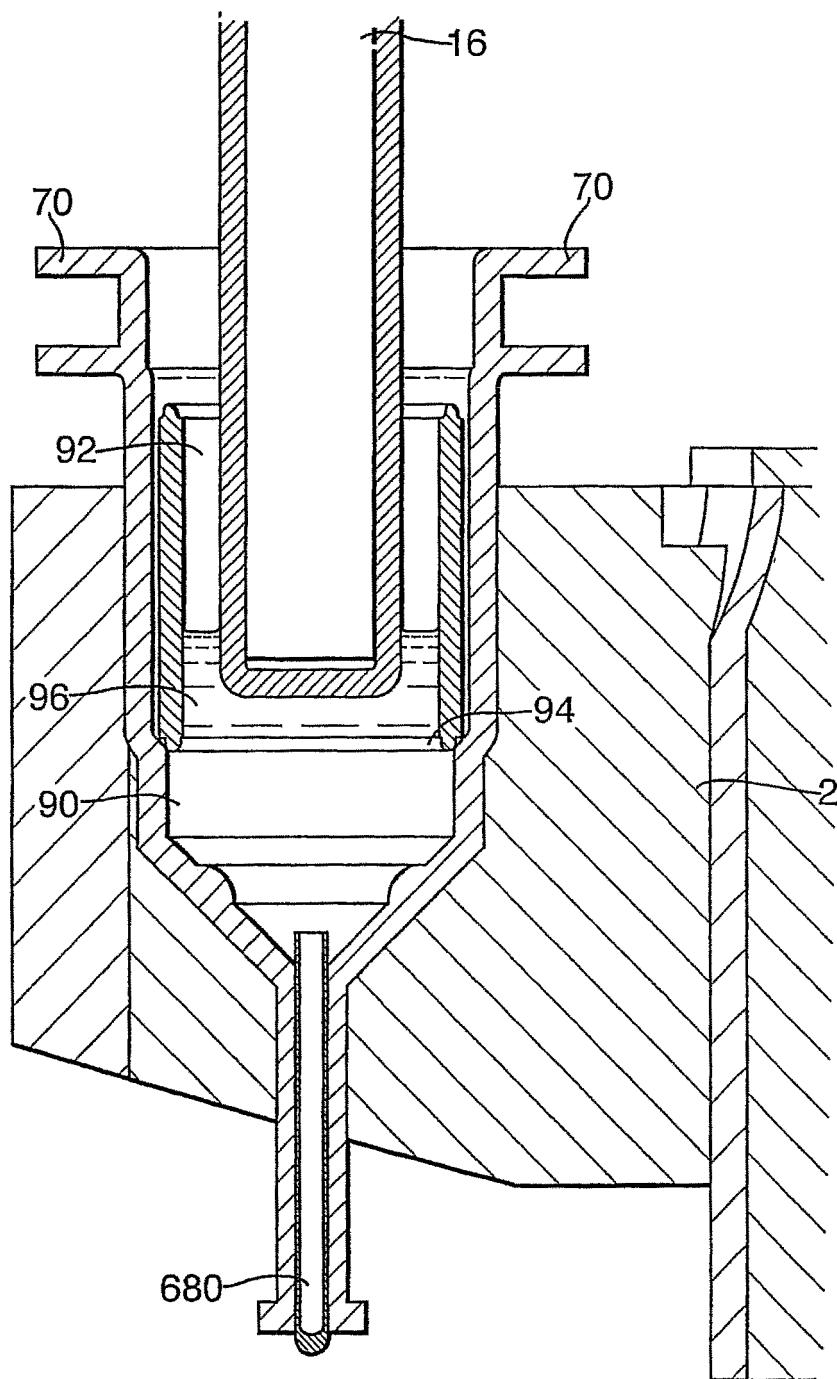


Fig.8.

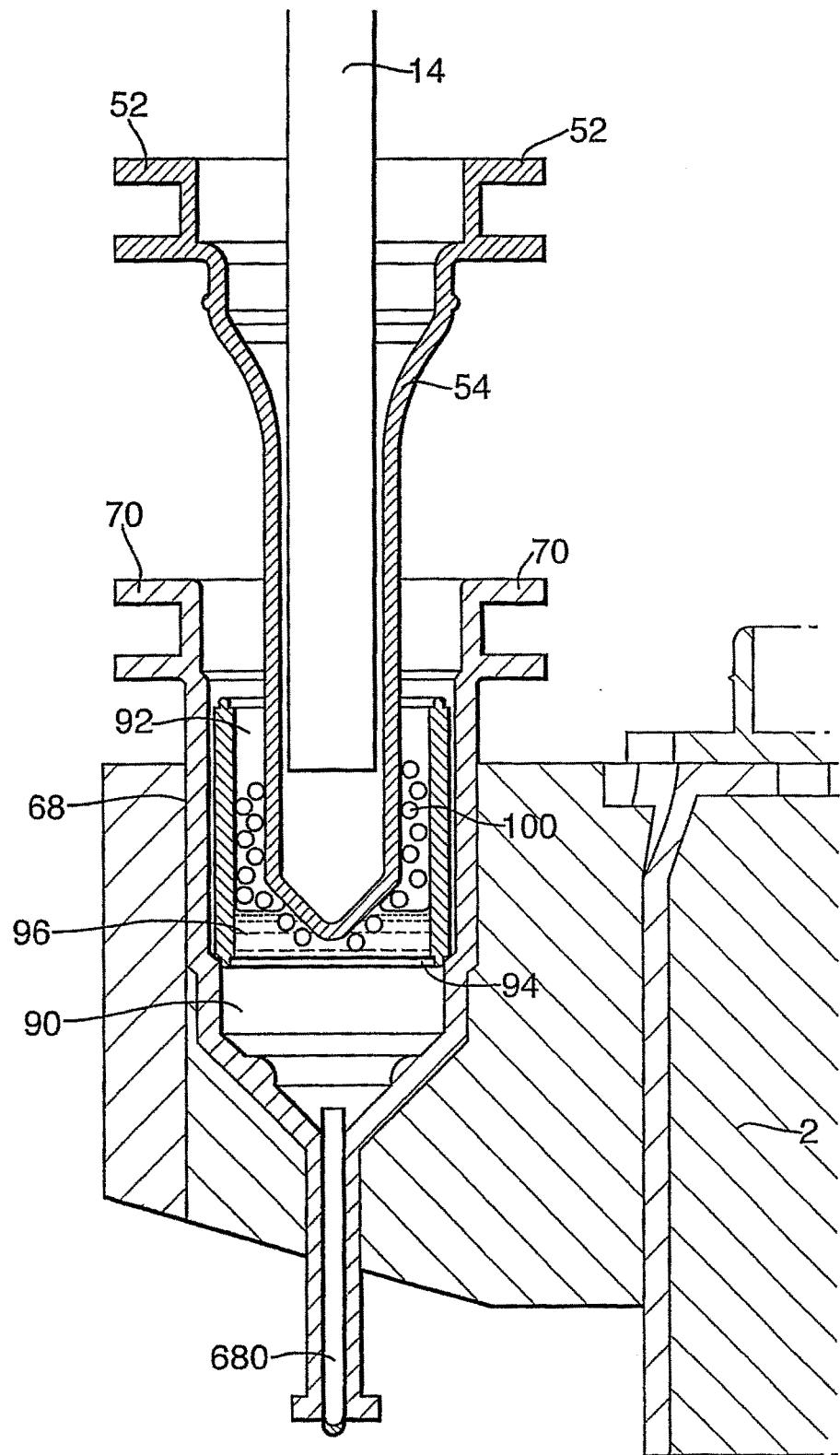


Fig.9.

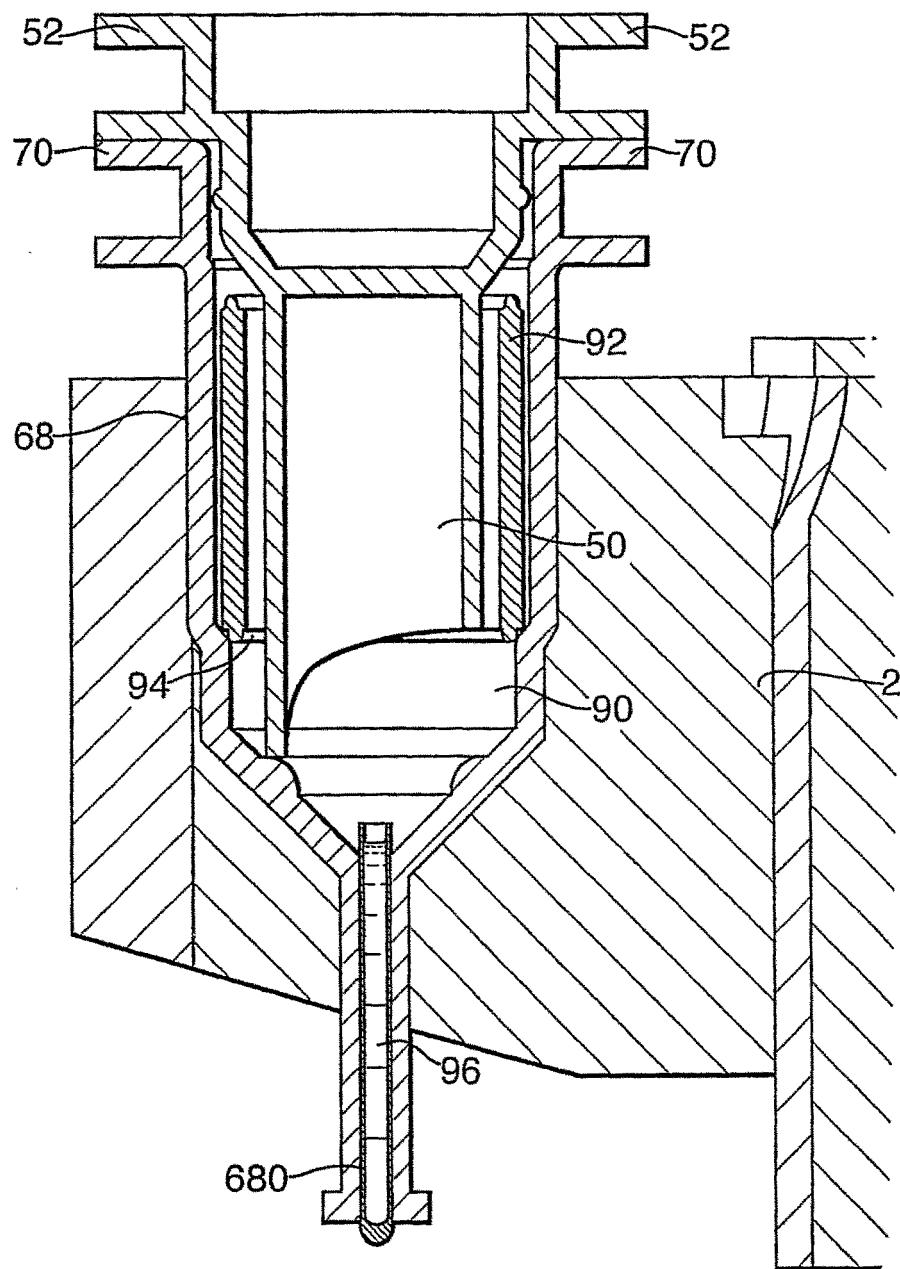


Fig.10.

