

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 812 260**

51 Int. Cl.:

**B01L 3/00** (2006.01)  
**G01N 21/03** (2006.01)  
**G01N 21/59** (2006.01)  
**G01N 33/53** (2006.01)  
**G01N 33/543** (2006.01)  
**G01N 33/545** (2006.01)  
**G01N 33/574** (2006.01)  
**G01N 21/05** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.02.2010 E 17178988 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.06.2020 EP 3278877**

54 Título: **Estructuras para controlar la interacción de luz con dispositivos microfluídicos**

30 Prioridad:

**02.02.2009 US 149253 P**

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

**16.03.2021**

73 Titular/es:

**OPKO DIAGNOSTICS, LLC (100.0%)  
4400 Biscayne Boulevard  
Miami FL 33137, US**

72 Inventor/es:

**STEINMILLER, DAVID y  
LINDER, VINCENT**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

**ES 2 812 260 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

**DESCRIPCIÓN**

Estructuras para controlar la interacción de luz con dispositivos microfluídicos

**5 CAMPO DE LA INVENCION**

La presente invención se refiere en general a sistemas microfluídicos, y más específicamente, a sistemas y procedimientos para controlar la interacción de la luz con dispositivos microfluídicos.

**ANTECEDENTES**

10

El análisis óptico de fluidos desempeña un papel importante en campos como la química, la microbiología y la bioquímica. Estos fluidos pueden incluir líquidos o gases y pueden proporcionar reactivos, disolventes, reactivos o enjuagues para procesos químicos o biológicos. Si bien varios procedimientos y dispositivos microfluídicos, como los análisis microfluídicos, pueden proporcionar plataformas analíticas económicas, sensibles y precisas, llevar a cabo mediciones ópticas precisas (por ejemplo, absorbancia o transmisión) en un sistema microfluídico puede ser difícil. Las mediciones ópticas de microcanales pueden requerir, por ejemplo, procedimientos de alineación que requieren mucho tiempo. Además, el ruido óptico producido por la luz incidente en áreas fuera de los canales puede degradar la calidad de la señal detectada a través de los canales. En consecuencia, serían beneficiosos avances en el campo que pudieran reducir los costes, simplificar el uso y/o mejorar la detección óptica en los sistemas microfluídicos.

20

El documento WO 2005/072858 A1 describe un procedimiento y un dispositivo para almacenar y/o suministrar fluidos, donde al menos un primer y un segundo fluido, tal como reactivos químicos o bioquímicos o soluciones de lavado, se mantienen separados entre sí en un recipiente común y se transfieren en serie desde el recipiente a un sitio de reacción para llevar a cabo una reacción química o bioquímica predeterminada.

25

Además, el documento US2002/071788 A1 describe un microchip que comprende una pluralidad de unidades de suministro capaces de suministrar una pluralidad de fluidos, una unidad común proporcionada normalmente para la pluralidad de unidades de suministro, y un paso de flujo que conecta cada unidad de suministro y la unidad común.

30

Por otra parte, el documento JP H03 223674 A describe una medida para medir simultáneamente muchos elementos con respecto a muchas muestras proporcionando una unidad de reacción que tiene un paso provisto de al menos una entrada de fluido y que tiene al menos una parte de fijación de reactivo en el camino del paso en el lado corriente abajo de la entrada de fluido.

**35 RESUMEN DE LA INVENCION**

La presente invención se dirige al sistema de ensayo múltiple según la reivindicación 1. Las reivindicaciones dependientes se refieren a realizaciones preferidas.

40

Se describen sistemas y procedimientos para controlar la interacción de la luz con dispositivos microfluídicos. El objetivo de la presente descripción implica, en algunos casos, productos interrelacionados, soluciones alternativas a un problema particular y/o una pluralidad de usos diferentes de uno o más sistemas y/o artículos.

45

En un conjunto de realizaciones, se proporciona una serie de dispositivos fluidicos. En una realización en particular, un dispositivo fluidico comprende un artículo que incluye lados opuestos primero y segundo y segmentos de canal microfluídico primero y segundo, cada uno integrado con el primer lado del artículo. El dispositivo fluidico también incluye una parte intermedia colocada sustancialmente entre el primer y el segundo segmento de canal microfluídico, y un primer elemento óptico integrado en el segundo lado del artículo y colocado sustancialmente entre los segmentos de canal primero y segundo, y opuesto a la parte intermedia. El primer elemento óptico está adaptado y dispuesto de manera que cuando una parte del artículo se expone a la luz a una primera intensidad, el primer elemento óptico redirige al menos una parte de la luz desde la parte intermedia, de manera que la parte intermedia no está expuesta a la luz o se expone a la luz a una segunda intensidad inferior a la intensidad de la luz en la parte intermedia en ausencia del primer elemento óptico.

50

En otra realización, un dispositivo fluidico comprende un artículo que comprende lados primero y segundo, un primer segmento de canal microfluídico integrado con el primer lado del artículo, y elementos ópticos primero y segundo, cada uno integrado con el segundo lado del artículo, donde el primer segmento de canal microfluídico está colocado sustancialmente entre los elementos ópticos primero y segundo. Se coloca una tapa sobre el primer segmento de canal microfluídico de manera que confine sustancialmente el primer segmento de canal microfluídico. Además, se

60

coloca una parte de superficie intermedia en el segundo lado del artículo sustancialmente entre los elementos ópticos

primero y segundo, siendo la parte de superficie intermedia sustancialmente paralela a una parte de superficie de la tapa que confina sustancialmente el primer segmento de canal microfluídico.

5 En otra realización, un dispositivo fluídico comprende un artículo que comprende lados primero y segundo, y segmentos de canal microfluídicos primero y segundo, cada uno integrado con el primer lado del artículo. El dispositivo fluídico incluye también un primer elemento óptico sustancialmente triangular integrado con el segundo lado del artículo y colocado sustancialmente entre los segmentos de canal primero y segundo.

10 En algunos casos, los segmentos de canal microfluídicos primero y/o segundo descritos anteriormente y en la presente memoria son secciones de un canal microfluídico que comprende una configuración serpenteante que incluye múltiples giros, siendo cada giro del canal serpenteante un segmento de canal diferente.

15 Otras ventajas y características novedosas de la presente invención se harán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada de diversas realizaciones no limitativas de la invención cuando se considera conjuntamente con las figuras adjuntas.

#### BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

20 Las realizaciones no limitativas de la presente invención se describirán a modo de ejemplo con referencia a las figuras adjuntas, que son esquemáticas y no pretenden estar dibujadas a escala. En las figuras, cada componente idéntico o casi idéntico ilustrado se representa normalmente por un único número. Con fines de claridad, no todos los componentes están rotulados en cada figura, ni se muestran todos los componentes de cada realización de la invención cuando la ilustración no es necesaria para permitir que los expertos en la materia entiendan la invención. En las figuras:

25 las FIG. 1A-1E incluyen diagramas esquemáticos de un dispositivo que incluye elementos ópticos que pueden usarse para controlar la interacción de la luz sobre o dentro del dispositivo, de acuerdo con un conjunto de realizaciones;

30 las FIG. 2A-2B incluyen diagramas esquemáticos en sección transversal de dispositivos que muestran interacciones de luz en los dispositivos, de acuerdo con un conjunto de realizaciones;

las FIG. 3A-3C incluyen, de acuerdo con un conjunto de realizaciones, diagramas esquemáticos de configuraciones de canal en ciertos dispositivos;

35 las Fig. 4A-4B incluyen diagramas en sección transversal que ilustran un procedimiento de fabricación, de acuerdo con un conjunto de realizaciones;

la FIG. 5 incluye un gráfico de densidad óptica en función de la concentración de colorante, de acuerdo con un conjunto de realizaciones;

40 las FIG. 6A-6D incluyen diagramas esquemáticos en sección transversal y gráficos asociados de luz transmitida en función de la posición del detector, de acuerdo con un conjunto de realizaciones;

las FIG. 7A-7C incluyen diagramas esquemáticos en sección transversal, micrografías ópticas y un gráfico de densidad óptica en función de la concentración de colorante, de acuerdo con un conjunto de realizaciones;

45 las FIG. 8A-8C incluyen diagramas esquemáticos que ilustran varios diseños de sensores, de acuerdo con un conjunto de realizaciones;

las FIG. 9A-9D incluyen gráficos de luz transmitida en función de la posición del sensor, de acuerdo con un conjunto de realizaciones; y

la FIG. 10 incluye un gráfico de densidad óptica en función de la concentración de colorante, de acuerdo con un conjunto de realizaciones.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA

50 Se describen sistemas y procedimientos para la medición mejorada de la absorbancia/transmisión a través de sistemas fluídicos. Específicamente, en un conjunto de realizaciones, los elementos ópticos están fabricados en un lado de un dispositivo fluídico transparente opuesto a una serie de canales fluídicos. Los elementos ópticos pueden guiar la luz incidente que pasa a través del dispositivo de manera que la mayor parte de la luz se dispersa desde áreas específicas del dispositivo, tales como partes intermedias entre los canales fluídicos. Al disminuir la cantidad de luz incidente sobre

55 estas partes intermedias, la cantidad de ruido en la señal de detección puede reducirse cuando se usan ciertos sistemas de detección óptica. En algunas realizaciones, los elementos ópticos comprenden surcos triangulares formados sobre o en una superficie del dispositivo. El ángulo de inclinación de los surcos triangulares puede elegirse de manera que la luz incidente normal a la superficie del dispositivo se redirija en un ángulo dependiente de los índices de refracción del medio externo (por ejemplo, aire) y el material del dispositivo.

60

Ventajosamente, ciertos elementos ópticos descritos en la presente memoria pueden fabricarse junto con los canales fluídicos del dispositivo en una etapa, reduciendo así los costes de fabricación. Además, en algunos casos, los elementos ópticos no requieren alineación con un detector y, por lo tanto, facilitan el montaje y/o el uso por un usuario final. A continuación, se describen con más detalle otras ventajas.

5

Se pueden emplear técnicas adicionales para reducir la cantidad de luz parásita transmitida a través del dispositivo fluídico. Por ejemplo, en algunos casos, pueden reducirse las anchuras de las partes intermedias entre los segmentos de canal. Además, la fuente luminosa puede estar dispuesta de manera que la luz se emita solo sobre partes del dispositivo que se encuentran por encima de los segmentos de canal. Ambas técnicas pueden reducir la cantidad de

10

luz transmitida a través de las partes intermedias, mejorando así la calidad de la imagen óptica. En algunas realizaciones, el dispositivo fluídico puede incluir una disposición de detectores dispuesta de manera que las áreas de la disposición bajo los segmentos de canal sean sensibles a la luz, mientras que las otras áreas de la disposición no lo son.

15

Los sistemas y procedimientos descritos en la presente memoria pueden encontrar aplicación en una diversidad de campos. En algunos casos, los sistemas y procedimientos pueden usarse para mejorar el rendimiento óptico de cualquier sistema microfluídico, como, por ejemplo, plataformas de diagnóstico de puntos de atención microfluídicas, sistemas de análisis químico de laboratorio microfluídicos, sistemas de seguimiento óptico en cultivos celulares o biorreactores, entre otros. Las mediciones ópticas en sistemas microfluídicos se pueden usar para llevar a cabo un

20

seguimiento de cualquier reacción química y/o biológica adecuada a medida que tiene lugar, de diagnóstico o de otro tipo. Como ejemplo específico, puede usarse una etapa de medición óptica durante la síntesis de ADN para verificar el rendimiento de cada adición de bases (por ejemplo, seguimiento óptico de tritilo) y durante algunas formas de amplificación de PCR para seguir el procedimiento.

25

Los sistemas anteriores, como los descritos en la Publicación de Patente Internacional n.º WO2006/113727 (solicitud de patente internacional n.º de serie PCT/US2006/014583), presentada el 19 de abril de 2006 y titulada "Estructuras fluídicas que incluyen canales serpenteantes y anchos", han usado un microcanal serpenteante para obtener imágenes de un espacio bidimensional. Por ejemplo, un canal microfluídico puede tener la forma de una "S" estrecha que tiene múltiples segmentos de canal, formando un área de 2 mm aproximadamente, por ejemplo, un "área de medición" que

30

incluye regiones tanto de canal como de no canal. En ciertas realizaciones, esta área de medición no requiere una alineación fina para mediciones ópticas (a diferencia de un único canal recto) y forma un área de medición que puede ser investigada fácilmente desde un punto de vista óptico. Por ejemplo, un detector puede colocarse sobre la totalidad o una parte del área de medición formada por regiones de canales y no canales. Sin embargo, una limitación del uso de estructuras serpenteantes en el contexto de la medición de transmisión es que parte de la luz que brilla a través de estas áreas de medición pasará a través de las partes intermedias entre los segmentos de los canales microfluídicos (es decir, las regiones de no canal). Esta luz puede llegar al detector óptico sin reflejar cambios en la densidad óptica de los contenidos del microcanal. Esta "luz parásita" puede reducir el rendimiento general de la detección óptica. Este efecto puede ser especialmente problemático cuando se realizan mediciones de canales con altos niveles de densidad óptica. Una gran cantidad de luz parásita en el detector puede eliminar cualquier cambio en pequeñas cantidades de

40

luz que pasa a través de los microcanales. Los autores de la invención han descubierto dentro del contexto de la invención que la cantidad de luz que pasa a través de una parte intermedia entre canales microfluídicos o segmentos de canal puede reducirse o eliminarse sustancialmente fabricando, en el dispositivo, al menos un elemento óptico. El elemento óptico puede redirigir al menos

45

una parte de la luz desde la parte intermedia, de manera que la parte intermedia no quede expuesta a la luz o quede expuesta a la luz a una segunda intensidad inferior a la intensidad de luz a la que la parte intermedia estaría expuesta en ausencia del elemento óptico. La incorporación de elementos ópticos en los sistemas de canales microfluídicos mejora el rendimiento del sistema de detección, lo que permite el uso de ópticas simplificadas sin comprometer la calidad de las mediciones ópticas.

50

Además, los sistemas y procedimientos descritos en la presente memoria se pueden usar para mejorar la alineación en sistemas de detección óptica a microescala. Algunos procedimientos para la detección/mediciones ópticas en microsistemas son difíciles de aplicar, ya que requieren una alineación precisa de la óptica con características de microescala (por ejemplo, microcanales). Dicha alineación se puede realizar manualmente (por ejemplo, con un microscopio y una fase micrométrica) de una manera que requiere mucho trabajo o de una manera automatizada (por ejemplo, usando sistemas de posicionamiento robóticos complejos). Sin embargo, estas técnicas a menudo requieren un operador hábil y atento o una automatización costosa y delicada, lo que las convierte en subóptimas para ciertas aplicaciones. La capacidad de los elementos ópticos de redirigir la luz lejos de una o más partes intermedias entre los segmentos de canal microfluídicos puede eliminar o reducir la necesidad de estos complicados procedimientos de

55

alineación.

60

Además, la colocación de un detector sobre un área de medición sin la necesidad de precisión es una ventaja, ya que pueden no ser necesarios equipos externos (y posiblemente, caros) tales como microscopios, lentes y fases de alineación. En su lugar, la alineación puede realizarse a simple vista, o mediante procedimientos de bajo coste que pueden no requerir una etapa de alineación por parte del usuario. Por ejemplo, en una realización, un dispositivo 5  
fluido que comprende uno o más elementos ópticos y un área de medición que incluye tanto regiones de canal como de no canal puede colocarse en un soporte simple (es decir, en una cavidad que tiene la misma forma que el dispositivo fluido), y el área de medición se puede alinear automáticamente con un haz de luz del detector.

10 Debe observarse que los sistemas y procedimientos descritos en la presente memoria se pueden usar para guiar la luz en cualquier sistema adecuado que use estructuras microfabricadas, y no se limitan a los sistemas microfluídicos y/o a las configuraciones de canal específicas descritos en la presente memoria.

A continuación, se describen con más detalle las ventajas adicionales de los dispositivos que incluyen elementos 15  
ópticos construidos para redirigir la luz.

Los artículos, sistemas y procedimientos descritos en la presente memoria se pueden combinar con los descritos en la Publicación de Patente Internacional n.º WO2005/066613 (solicitud de patente internacional n.º de serie PCT/US2004/043585), presentada el 20 de diciembre de 2004 y titulada "Dispositivo y procedimiento de ensayo"; la 20  
publicación de Patente Internacional n.º WO2005/072858 (solicitud de patente internacional n.º de serie PCT/US2005/003514), presentada el 26 de enero de 2005 y titulada "Sistema y procedimiento de suministro de fluidos"; la publicación de patente internacional n.º WO2006/113727 (solicitud de patente internacional n.º de serie PCT/US06/14583), presentada el 19 de abril de 2006 y titulada "Estructuras fluidicas que incluyen canales serpenteantes y anchos"; la solicitud de patente de EE.UU. n.º de Serie 12/113.503, presentada el 1 de mayo de 2008  
25 y titulada "Conectores fluidicos y sistemas microfluídicos"; la solicitud de patente de EE.UU. n.º de serie 12/196.392, presentada el 22 de agosto de 2008, titulada "Contención de líquido para ensayos integrados"; la solicitud de patente de EE.UU. n.º de serie 12/428.372, presentada el 22 de abril de 2009, titulada "Control de flujo en sistemas microfluídicos"; la solicitud de patente de EE.UU. n.º de serie 61.263.981, presentada el 24 de noviembre de 2009, titulada "Mezcla y suministro de fluidos en sistemas microfluídicos"; y la solicitud patente de EE.UU. n.º de serie  
30 12/640.420 presentada el 17 de diciembre de 2009 y titulada "Almacenamiento mejorado de reactivos en sistemas microfluídicos y artículos y procedimientos relacionados" y la Solicitud de Patente Provisional de EE.UU. n.º de serie 61/149.253, presentada el 2 de febrero de 2009, titulada "Estructuras para controlar la interacción de la luz con dispositivos microfluídicos".

35 A continuación, se proporcionan ejemplos de dispositivos fluidicos y procedimientos asociados a los mismos.

Las FIG. 1A-1E muestran varias partes de un dispositivo fluido que incluyen elementos ópticos que se pueden usar para controlar la interacción de la luz sobre o dentro del dispositivo. La FIG. 1A muestra una sección transversal y la FIG. 1B muestra una vista en perspectiva de un dispositivo fluido 10 que incluye un artículo 12 que tiene una primera 40  
superficie 14 y una segunda superficie 16, así como un primer lado 20 y un segundo lado 22.

Tal como se usa en la presente memoria, "lados primero y segundo" de un artículo se refiere generalmente a la orientación relativa de dos partes del artículo. Los lados primero y segundo pueden referirse a superficies primera y segunda del artículo, o a una parte del artículo que no abarca una superficie, por ejemplo, una parte del artículo que 45  
está incrustado dentro del volumen del artículo. Por ejemplo, un primer y un segundo segmento de canal microfluídico que se dice que forman parte integral del primer lado del artículo pueden estar integrados con una superficie en el primer lado del artículo o integrados dentro del artículo en el primer lado. La FIG. 1A también muestra el primer lado opuesto al segundo lado. Se dice que dos lados son "opuestos" cuando son sustancialmente paralelos entre sí y están separados por una distancia.

50 Como se muestra de forma ilustrativa en las FIG. 1A y 1C, el primer lado 20 incluye una pluralidad de segmentos de canal (primero 26, segundo 28 y tercero 30) formados en el mismo. Un segmento de canal se refiere a una parte de un canal fluido que se extiende a una sección transversal completa del canal y tiene una longitud sustancialmente paralela al flujo de fluido. Un segmento de canal puede tener cualquier longitud adecuada, por ejemplo, al menos 1 mm, al menos 5 mm, al menos 1 cm o al menos 5 cm en ciertas realizaciones. Aunque en la FIG. 1A se muestran tres 55  
segmentos de canal, los sistemas y procedimientos descritos en la presente memoria pueden comprender cualquier número adecuado de segmentos de canal y se pueden configurar en cualquier disposición adecuada. Por ejemplo, los segmentos de canal de un dispositivo pueden formar parte del mismo canal fluido, o pueden formar parte de canales fluidicos separados que no están en comunicación fluida entre sí.

60

En algunas realizaciones, los segmentos de canal se refieren a una serie de unidades repetitivas de uno o más canales; por ejemplo, cada canal de una disposición de canales puede ser un segmento de canal. En otro ejemplo, un canal incluye una pluralidad de áreas de reacción colocadas en serie, y cada parte de canal asociada con un área de reacción distinta es un segmento de canal. En ciertos casos, los segmentos de canal son secciones de un canal fluídico que tiene una configuración serpenteante, siendo cada "giro" del canal serpenteante un segmento de canal diferente. Como se usa en la presente memoria, un "canal serpenteante" (es decir, un canal que tiene una región serpenteante) incluye al menos un primer segmento que tiene un camino de flujo en una primera dirección y un segundo segmento que tiene un camino de flujo en una segunda dirección sustancialmente opuesta (por ejemplo, a más de 135 grados) con respecto a la primera dirección. A menudo, un canal serpenteante incluirá más de dos segmentos de canales alternos que se extienden en direcciones opuestas. A continuación, se proporcionan ejemplos de regiones de canales serpenteantes.

En algunas realizaciones, los dos o más segmentos de canal de un dispositivo están separados entre sí por partes intermedias, es decir, partes que no son de canal. Por ejemplo, el primer lado 20 incluye las partes intermedias 27 y 29. Una parte intermedia puede incluir partes de una superficie de un artículo (por ejemplo, la parte de superficie 14' de la figura 1A) y/o una parte del artículo que no comprende una superficie (por ejemplo, partes 15 de la FIG. 1A). En algunas realizaciones, una parte intermedia tiene una o más dimensiones (por ejemplo, anchura, altura y/o longitud) de al menos 0,5 mm, al menos 1 mm, al menos 5 mm, al menos 1 cm, o al menos 5 cm en ciertas realizaciones. Una dimensión de una parte de intervención puede, por ejemplo, definir la distancia entre dos segmentos de canal.

El dispositivo fluídico ilustrado en las FIG. 1A y 1C también incluye una cubierta 31 colocada sobre la pluralidad de segmentos de canal. La cubierta puede colocarse sobre los segmentos de canal para confinar sustancialmente los segmentos de canal. En algunos casos, la cubierta puede comprender una cinta (por ejemplo, cinta flexible), vidrio (por ejemplo, un cubreobjetos), plástico rígido o cualquier otro material adecuado como se describe en más detalle a continuación.

En el conjunto de realizaciones ilustradas en las FIG. 1A y 1C, el segundo lado 22 incluye una pluralidad de elementos ópticos (primero 32 y segundo 34) formados en el mismo. Como se usa en la presente memoria, el término "elemento óptico" se usa para referirse a cualquier característica formada o colocada sobre o en un artículo o dispositivo que cambie la dirección (por ejemplo, por refracción o reflexión), el foco, la polarización y/u otra propiedad de radiación electromagnética incidente con respecto a la luz incidente sobre el artículo o dispositivo en ausencia del elemento. Por ejemplo, un elemento óptico puede comprender una lente (por ejemplo, cóncava o convexa), espejo, red, ranura u otra característica formada o colocada en o sobre un artículo. Sin embargo, un artículo en sí que no posea una característica especial no constituiría un elemento óptico, aun cuando una o más propiedades de la luz incidente pudieran cambiar al interactuar con el artículo.

Las FIG. 1A y 1C también muestran una parte de superficie intermedia 33 entre los elementos ópticos primero y segundo. Como se muestra en la FIG. 1A, la parte de superficie intermedia puede ser sustancialmente paralela a la parte de superficie de la cubierta que rodea sustancialmente a los segmentos de canal microfluídicos. Si bien en las FIG. 1A y 1C se muestran dos elementos ópticos, los artículos descritos en la presente memoria pueden comprender cualquier número adecuado de elementos ópticos y cualquier cantidad adecuada de partes superficiales intermedias entre los elementos ópticos. Además, algunos artículos no incluyen partes superficiales intermedias entre los elementos ópticos, por ejemplo, una serie de elementos ópticos pueden configurarse para formar crestas y surcos alternos de forma ondulada.

Los elementos ópticos descritos en la presente memoria pueden ser, en algunos casos, sustancialmente transparentes (por ejemplo, a luz visible, radiación infrarroja, etc.) En otras realizaciones, los elementos ópticos pueden comprender un material sustancialmente opaco. En algunos casos, los elementos ópticos pueden comprender una o más superficies reflectantes. Por ejemplo, un elemento óptico puede comprender un canal, cuyas paredes están recubiertas con un material reflectante tal como un metal (por ejemplo, Ni, Ag, Au, Pt) o un semiconductor (por ejemplo, Si, vidrio).

Un elemento óptico puede comprender un surco, que puede ser abierto o estar sustancialmente confinado. Como se muestra en la realización ilustrada en las FIG. 1A y 1C, los elementos ópticos 32 y 34 están en forma de surcos que son sustancialmente triangulares; sin embargo, son posibles también otras formas. Por ejemplo, en otras realizaciones, la sección transversal de un elemento óptico puede tener cualquier forma adecuada, tal como una semiesfera, un cuadrado, un rectángulo, un trapecioide, etc. Algunos elementos ópticos tienen una forma semiesférica o semiovalada. La forma y/o el ángulo del surco se pueden seleccionar de manera que la luz incidente normal a la superficie del dispositivo se redirija alejándose del área situada directamente debajo del surco. Esto puede aumentar la probabilidad de que incida poca o ninguna luz en áreas no deseadas alrededor de los canales (por ejemplo, las partes intermedias 27 y 29), lo que reduce la cantidad de ruido en la señal de detección. En consecuencia, un elemento óptico puede

tener cualquier tamaño, configuración y/o forma adecuados para lograr mejoras en la señal-ruido, como se describe con más detalle a continuación.

- En algunos casos, un elemento óptico puede ser una característica que sobresale de la superficie de un artículo. Por ejemplo, la FIG. 1D incluye elementos ópticos triangulares 32 y 34 formados en forma de prisma. Debe entenderse que los elementos ópticos "triangulares" incluyen cualquier elemento que sea triangular en sección transversal, ya sea formado en un sustrato (por ejemplo, como en la FIG. 1A) o sobre un sustrato (por ejemplo, como en la FIG. 1D). Otras formas que pueden formarse incluyen, por ejemplo, semicilindros, prismas rectangulares, etc.
- 10 Un elemento óptico puede comprender, en algunos casos, uno o más fluidos (por ejemplo, un colorante). Por ejemplo, en un conjunto de realizaciones, el elemento óptico se forma como un canal (por ejemplo, colocando una cubierta sobre la superficie 16 del artículo) y el canal se llena con un fluido absorbente de luz tal como un colorante opaco. Se pueden usar colorantes de cualquier concentración adecuada. En algunas realizaciones, la concentración del colorante puede ser de al menos aproximadamente 0,1 gramos, al menos aproximadamente 0,5 gramos, al menos aproximadamente 1 gramo, al menos aproximadamente 5 gramos, al menos aproximadamente 10 gramos, al menos aproximadamente 50 gramos o al menos aproximadamente 100 gramos de material colorante por mL de disolvente (por ejemplo, agua).
- La FIG. 1C muestra un diagrama esquemático de un dispositivo óptico durante el funcionamiento, de acuerdo con un conjunto de realizaciones. Durante el funcionamiento, el dispositivo fluido 10 se coloca entre una fuente luminosa 36 y un detector óptico 38 de manera que el primer lado 20 (que comprende uno o más segmentos de canal) esté frente al detector y el segundo lado 22 (que comprende uno o más elementos ópticos) y esté frente a la fuente luminosa 36 y esté expuesto a la luz 42. El detector puede estar asociado con uno o más segmentos de canales fluidicos en el dispositivo fluido, por ejemplo, para determinar la transmisión de luz a través de uno o más de los segmentos de canal. En un conjunto de realizaciones, cuando una parte del artículo se expone a la luz a una primera intensidad, los elementos ópticos redirigen al menos una parte de la luz desde las partes intermedias. Por ejemplo, uno o más elementos ópticos pueden estar adaptados y dispuestos para redirigir al menos una parte de la luz desde una parte de superficie del primer lado, estando la parte de superficie adyacente a al menos un segmento de canal. En la FIG. 1C, el elemento óptico 32 está adaptado y dispuesto para redirigir la luz desde la parte intermedia 27, que incluye la parte de superficie 14'. De forma similar, el elemento óptico 34 está adaptado y dispuesto para redirigir la luz desde la parte intermedia 29, que incluye la parte de superficie 49. Redirigir la luz puede incluir, por ejemplo, reflejar la luz (por ejemplo, alejándose del artículo), refractar la luz (por ejemplo, a través del artículo en una dirección que se aleja de la parte intermedia), o ambas cosas.
- 35 Pueden construirse uno o más elementos ópticos y disponerse de manera que redirijan al menos aproximadamente el 10 %, al menos aproximadamente el 25 %, al menos aproximadamente el 50 %, al menos aproximadamente el 75 % o al menos aproximadamente el 90 % de luz incidente alejándose desde una parte intermedia. A medida que se redirige la luz, las partes intermedias no se exponen a la luz o se exponen a la luz a una segunda intensidad inferior a la intensidad de la luz en la parte intermedia en ausencia de los elementos ópticos. Por ejemplo, en algunos casos, al menos un elemento óptico está adaptado y dispuesto de manera que las partes intermedias están expuestas a la luz a una segunda intensidad al menos aproximadamente un 50 % inferior, al menos aproximadamente un 75 % inferior o al menos aproximadamente un 90 % inferior que una intensidad de la luz en la parte intermedia sin los elementos ópticos.
- 45 En algunas realizaciones, uno o más elementos ópticos están adaptados y dispuestos de manera que redirijan al menos una parte de la luz alejándose del plano central (por ejemplo, 32' y 34' en la FIG. 1A) del elemento óptico, de manera que la parte subyacente del dispositivo directamente debajo del elemento óptico no está expuesta a la luz o está expuesta a la luz a una segunda intensidad más baja (por ejemplo, aproximadamente un 25 % inferior) que la intensidad a la que estaría expuesta la parte subyacente si el elemento óptico estuviera ausente. Como se usa en la presente memoria, una región está "directamente debajo" de un objeto cuando se encuentra en el lado de un objeto opuesto al que está expuesto a la luz procedente de la fuente. La región directamente debajo de un objeto puede extenderse a toda la anchura del objeto y a toda la profundidad del artículo perpendicular a la superficie más externa en el primer o segundo lado del objeto. Por ejemplo, en la FIG. 1C, la región 52 se encuentra directamente debajo del elemento óptico 34.
- 55 En la FIG. 1C se muestra un ejemplo del uso de elementos ópticos para redirigir la luz. Como se ilustra en la FIG. 1C, la parte 44 del artículo 12 está expuesta a la luz 42 desde la fuente luminosa. En algunos casos, la fuente luminosa y el dispositivo están orientados de manera que el ángulo de incidencia de la luz sobre la superficie 16 está entre aproximadamente 85° y aproximadamente 95°, o sustancialmente a 90°. En la superficie 16, la luz que incide en áreas sin los elementos ópticos se transmite al volumen del dispositivo sin un cambio sustancial en la dirección, como indican

las flechas 42. Sin embargo, la luz incidente sobre el elemento óptico 32 interactúa en un ángulo sustancialmente diferente de 90°. El elemento óptico 32 redirige al menos una parte de la luz desde la parte intermedia 27, por ejemplo, mediante reflexión, refracción y/o ambas. Las flechas 46' representan luz que se refleja desde el elemento óptico, mientras que las flechas 46 ilustran la luz que se refracta a través del artículo, pero alejándose de las partes intermedias entre los canales fluidicos. Por lo tanto, la parte intermedia 27 no está expuesta a la luz, o está expuesta a la luz a una intensidad menor de la que habría sido en ausencia del elemento óptico 32. Además, aunque no se muestra en esta figura, la luz puede ser absorbida por el artículo o redirigida en otros ángulos, reduciendo así la cantidad de luz detectada por el detector en la parte intermedia 27. El elemento óptico 34 funciona de manera similar, en este caso redirige la luz alejándola de la parte intermedia 29 y generalmente se aleja de la región 52 directamente debajo del elemento óptico.

En algunos casos, uno o más elementos ópticos están adaptados y dispuestos para redirigir al menos una parte de la luz incidente en uno o más canales fluidicos en el lado opuesto del artículo. Por ejemplo, como se muestra en la FIG. 1C, una parte de la luz incidente sobre el elemento óptico 32 se refracta a través del artículo y se redirige a los canales fluidicos 26 y 28. Ventajosamente, así se puede aumentar la cantidad de luz usada para investigar una muestra en los canales fluidicos 26 y 28.

Se debe entender que aunque gran parte de la descripción y las figuras de la presente memoria describen la colocación de elementos ópticos en un lado de un artículo opuesto a los canales, en algunos casos los elementos ópticos pueden colocarse en el mismo lado que los canales. Por ejemplo, los elementos ópticos 32 y 34 de las FIG. 1A-1D pueden formarse en la superficie 14 y opcionalmente pueden incluir una superficie reflectante para redirigir la luz 42' desde la parte 43 del detector. En otros casos, un artículo puede incluir una combinación de elementos ópticos formados en o sobre las dos superficies del artículo. La geometría del dispositivo y la configuración de las características se pueden elegir, en algunos casos, de manera que cualquier luz que pase a través de la mayor parte del artículo desde un primer lado se redirija hacia los canales en el lado opuesto del artículo. El diseño de un sistema con elementos ópticos puede emprenderse con el objetivo tanto de reflejar la luz como de redirigir la luz lejos de las partes intermedias entre los canales. Sin desear estar sujeto a ninguna teoría, el diseño de un dispositivo fluidoico puede tener en cuenta lo siguiente:

La trayectoria de la luz refractada está determinada por la Ley de Snell:

$$n_1 \sin(\beta_1) = n_2 \sin(\beta_2) \quad [1]$$

donde  $n_1$  y  $n_2$  son los índices de refracción del medio donde se origina y se transmite, respectivamente,  $\beta_1$  es el ángulo entre el ángulo de incidencia y la normal a la interfaz, y  $\beta_2$  es el ángulo de refracción, como se indica en la FIG. 1E.

Las características de diseño que pueden variarse para aumentar la cantidad de luz que se redirige fuera de las partes intermedias incluyen, por ejemplo, el ancho del canal (W), el tono de los elementos ópticos (P1), el tono de los canales (P2), la profundidad del canal (D), el ancho de los elementos ópticos (V), el ángulo de inclinación de los elementos ópticos ( $\alpha$ ), el grosor del sustrato microfluídico (T), el índice de refracción del sustrato microfluídico ( $n_2$ ), el índice de refracción del medio externo ( $n_1$ ) y el ángulo de incidencia de la luz sobre el sustrato (suponga que es perpendicular al sustrato).

Por ejemplo, la FIG. 2A incluye un dispositivo 210 que comprende un sustrato 211 en el que se forman los canales 212, 213 y 214 y los elementos ópticos 216, 217, 218 y 219. El grosor del sustrato se ilustra mediante la dimensión 220 en la FIG. 2A. La anchura de un canal se mide como la dimensión en sección transversal más ancha del canal sustancialmente paralela a la superficie en la que se forma. Por ejemplo, la anchura del canal 213 está indicada por la dimensión 221 en la FIG. 2A. La anchura media del canal 214 está indicada por la dimensión 222. De manera similar, la anchura de un elemento óptico también se mide como la dimensión en sección transversal más ancha del elemento sustancialmente paralelo a la superficie en la que se forma. Por ejemplo, la anchura del elemento óptico 218 está indicada por la dimensión 224 en la FIG. 2A. Las profundidades de los canales, como se indica por la dimensión 226 en la FIG. 2A, se miden perpendiculares a la superficie en la que se forman.

El paso de dos canales se mide como la distancia entre un primer punto en un primer canal y un segundo punto en un segundo canal, donde el primer y el segundo punto están situados en posiciones similares dentro de sus respectivos canales. En otras palabras, el paso es igual a la anchura de un canal más el espacio entre ese canal y el canal adyacente. Por ejemplo, en la FIG. 2A, el paso de los canales 213 y 214 puede medirse como la distancia entre bordes similares de los canales, como se indica por la dimensión 230. En algunas realizaciones, los pasos de todos los canales adyacentes son sustancialmente constantes, como se indica en la FIG. 2A; sin embargo, en otros casos, los pasos entre los canales pueden variar. El paso de dos elementos ópticos se mide de manera similar a la mostrada, por ejemplo, mediante la dimensión 232 en la FIG. 2A. En algunas realizaciones, los pasos de todos los elementos ópticos

adyacentes pueden ser sustancialmente constantes, o pueden variar, por ejemplo, dependiendo de la interacción de luz deseada en particular.

Para minimizar la luz parásita, se obtienen resultados mejorados en algunas realizaciones cuando el paso (P1) de los elementos ópticos coincide con el paso de los canales (P2). La anchura de los elementos ópticos (V) puede elegirse de manera que el área entre los elementos ópticos (P-V) sea menor que la anchura del canal (W). A medida que (P-V) disminuye en relación con W, el porcentaje de luz incidente que es redirigido por los elementos ópticos aumenta. Para aumentar la cantidad de luz que los elementos ópticos redirigen desde las partes intermedias, el grosor del sistema puede establecerse de manera que la luz refractada por los elementos ópticos se dirija a los canales. Como puede haber múltiples canales, puede haber múltiples grosores preferidos para el sistema.

Se puede crear un modelo para calcular grosores preferidos imaginando un rayo de luz incidente (por ejemplo, perpendicular al artículo) que incide sobre el artículo a medio camino entre la parte inferior y el borde del elemento óptico (véase, por ejemplo, el rayo de luz 240 en la figura 2A). El grosor del artículo puede seleccionarse de manera que esta luz llegue al centro de un canal. Para determinar este grosor, se puede comenzar por calcular el ángulo de la luz refractada a la vertical dentro del sustrato ( $\beta$ ). Este ángulo es una función del ángulo de incidencia, el ángulo de inclinación del elemento óptico y el ángulo de refracción. Al examinar la geometría, se puede ver:

$$\beta_1 = 90 \text{ grad.} - \alpha \quad [2]$$

$$\theta = 90 \text{ grad.} - \alpha - \beta_2 = \beta_1 - \beta_2 \quad [3]$$

20

Usando la Ley de Snell (Ecuación 1), el ángulo de refracción ( $\beta_2$ ) se puede calcular como:

$$\beta_2 = \sin^{-1} \left( \frac{n_1}{n_2} \sin \beta_1 \right) \quad [4]$$

25 Por lo tanto:

$$\theta = 90 \text{ grad.} - \alpha - \sin^{-1} \left( \frac{n_1}{n_2} \sin(90 \text{ grad.} - \alpha) \right) \quad [5]$$

si se supusiera un ángulo de inclinación ( $\alpha$ ) de  $35,3^\circ$ , un índice de refracción del artículo ( $n_2$ ) de 1,57 (por ejemplo, poliestireno), y un índice de refracción de aire ( $n_1$ ) de aproximadamente 1,0, el ángulo interno de refracción sería de  $23,4^\circ$ .

Siguiendo este rayo desde el centro del lado del elemento óptico al centro de un canal, este ángulo se puede usar para calcular una medida intermedia de grosor (t):

35

$$\tan \theta = \frac{x}{t} \quad [6]$$

La distancia (x) desde el punto situado bajo la luz incidente y el centro de un canal más cercano es la mitad del paso menos la distancia entre la parte inferior del elemento óptico y el borde (V/4). El centro de cualquier canal adicional es un múltiplo del paso. Debe observarse que en la FIG. 2A, el grosor fue elegido de manera que dirija la luz hacia un canal a dos canales de distancia ( $n = 2$ ) del canal más cercano bajo la luz incidente. En la FIG. 2B,  $n = 3$ .

40

$$x = \left( \frac{P}{2} - \frac{V}{4} \right) + nP \quad [7]$$

45 Esto produce:

$$t = \frac{\left( \frac{P}{2} - \frac{V}{4} \right) + nP}{\tan \theta} \quad [8]$$

El grosor total del sustrato también incluye la profundidad de los canales y la mitad de la profundidad de los elementos ópticos triangulares. Por lo tanto, un grosor preferido para un dispositivo que incluye elementos ópticos triangulares y segmentos de múltiples canales puede calcularse como:

$$T = t + D + \frac{\left(\frac{V}{2}\right)}{\tan \alpha} \quad [9]$$

El Ejemplo 2 incluye una descripción de experimentos realizados usando un dispositivo diseñado de esta manera.

La FIG. 2B incluye una imagen de trazado de rayos generada por Mathematica (plug-in de Lenslab) de un diseño propuesto de un sistema que incluye elementos ópticos colocados sobre los canales microfluídicos. En la FIG. 2B, el dispositivo 310 comprende el artículo 312 en el que se forman los canales 314 y los elementos ópticos 316. Los rayos de luz 318 están dirigidos hacia la superficie 320 del artículo, donde una parte de la luz se refracta a través del artículo. El dispositivo está construido y dispuesto de manera que la luz se dirija alejándose de las partes intermedias 322, y hacia los canales 314 y finalmente los componentes del detector 324. Debe observarse que, en algunos casos, la luz que incide sobre un canal no interacciona necesariamente con el detector en una posición directamente debajo del canal. Por ejemplo, los rayos de luz 330 interaccionan con el canal 314' y el componente detector 324', que no está directamente debajo (indicado por la región 332) del canal 314'.

Se debe entender que, aunque en las FIG. 1-2 se muestran elementos ópticos triangulares, se puede realizar un análisis similar con dispositivos que tienen elementos ópticos de otras formas y configuraciones.

La dispersión de luz o la luz parásita pueden reducirse fabricando las paredes de estos elementos ópticos para que sean muy lisas. En algunas realizaciones, la rugosidad de superficie cuadrática media (RMS) puede ser, por ejemplo, menor que aproximadamente 1 μm. En otras realizaciones, la rugosidad de la superficie RMS puede ser menor que aproximadamente 0,8 μm, menor que aproximadamente 0,5 μm, menor que aproximadamente 0,3 μm o menor que aproximadamente 0,1 μm. La rugosidad de superficie RMS es un término conocido por los expertos en la materia, y se puede expresar como:

$$\sigma_h = \left[ \left\langle (z - z_m)^2 \right\rangle \right]^{1/2} = \left[ \frac{1}{A} \int_A (z - z_m)^2 dA \right]^{1/2}$$

donde A es la superficie que se va a examinar, y |z - z<sub>m</sub>| es la desviación de altura local con respecto a la media. La rugosidad sustancial en la superficie de un elemento óptico puede dar como resultado una dispersión o una redirección de la luz no deseadas en un ángulo no deseado.

Como se describe en la presente memoria, los elementos ópticos pueden tener diversas formas, tamaños y configuraciones. Por ejemplo, en un conjunto de realizaciones, la dimensión de sección transversal más grande de un elemento óptico es de al menos aproximadamente 300 micrómetros, 500 micrómetros, 700 micrómetros, 1 mm, 1,5 mm, 2 mm o más (normalmente, menos de 1 cm). En algunas realizaciones, la dimensión de sección transversal más grande de un elemento óptico es su anchura. Por ejemplo, como se muestra en la FIG. 2A, la dimensión de sección transversal más grande del elemento óptico 218 es su anchura 224.

En algunos casos, por ejemplo, como se ilustra en la FIG. 2A, al menos un elemento óptico (por ejemplo, elemento óptico 218) está colocado entre segmentos de canal primero y segundo (por ejemplo, segmentos 213 y 214, respectivamente) y el elemento óptico tiene una dimensión de sección transversal mayor (por ejemplo, anchura 224) mayor o igual que la anchura de una parte intermedia colocada sustancialmente entre los segmentos de canal primero y segundo, pero menor que la combinación de las anchuras de los dos segmentos de canal y la anchura de la parte intermedia.

Los elementos ópticos pueden, en algunos casos, comprender al menos aproximadamente el 50 %, al menos aproximadamente el 60 %, al menos aproximadamente el 70 %, al menos aproximadamente el 80 % o al menos aproximadamente el 90 % de la longitud de uno o más segmentos de canal en o sobre el artículo. Por ejemplo, en la FIG. 1B, los elementos ópticos 32 y 34 comprenden toda la longitud de los segmentos de canal 26, 28 y 30.

En algunos dispositivos fluidicos descritos en la presente memoria, uno o más elementos ópticos y/o canales tienen un ángulo de inclinación no nulo. Como saben los expertos en la materia, un ángulo de inclinación es la magnitud de

la conicidad, por ejemplo, para piezas moldeadas o de colada, perpendiculares a la línea de separación. Por ejemplo, como se muestra en la FIG. 3A, un canal 110 sustancialmente rectangular, que tiene paredes 112-A y 112-B que son sustancialmente perpendiculares a la superficie 114 (por ejemplo, una línea de partición), tiene un ángulo de inclinación 116 de 0°. Por otra parte, las secciones transversales de los canales fluidicos que tienen ángulos de inclinación

- 5 distintos de cero pueden parecerse a un triángulo, un paralelogramo, un trapecoide, etc. Por ejemplo, como se muestra en la realización ilustrada en la FIG. 3B, el canal 120 tiene una sección transversal sustancialmente triangular. El ángulo de inclinación 116 está formado por el ángulo entre una línea perpendicular a la superficie 114 y la pared 127-A del canal, y no es cero en esta realización.
- 10 El ángulo de inclinación de un elemento óptico, canal u otro componente puede estar, por ejemplo, entre aproximadamente 1° y aproximadamente 40°, entre aproximadamente 1° y aproximadamente 30°, entre aproximadamente 1° y aproximadamente 20°, entre aproximadamente 1° y aproximadamente 10°, entre aproximadamente 2° y aproximadamente 15°, entre aproximadamente 3° y aproximadamente 10°, o entre aproximadamente 3° y aproximadamente 8°. Por ejemplo, el ángulo de inclinación puede ser mayor o igual que
- 15 aproximadamente 1°, 2°, 3°, 4°, 5°, 6°, 7°, 8°, 9° o 10°, 20°, 37,5° o 40°. En algunos casos, es deseable que los elementos o canales ópticos tengan ángulos de inclinación específicos para que sean compatibles con una determinada técnica de detección.

- Como se describe en la presente memoria, los elementos ópticos se pueden combinar con un dispositivo fluidoico que comprende uno o más canales serpenteantes. Como se muestra en una vista desde arriba de la realización ilustrativa de la FIG. 3C, el canal 208 incluye una región serpenteante (por ejemplo, un serpentín) que tiene un sistema de canal densamente empaquetado que tiene una serie de giros 210 y segmentos de canal 212 que se extienden sobre un área grande (A) con relación a la anchura del canal. El área comprendida por el canal serpenteante (es decir, el área de la región serpenteante) es el área unida por los puntos más exteriores del canal serpenteante a lo largo de cada eje, que
- 20 se muestra aproximadamente en la FIG. 3C por las líneas discontinuas. Esta área puede constituir un área de medición sobre la cual se puede colocar un detector, incluyendo el área de medición tanto los segmentos de canal 212 como las partes de canal intermedio 220 (es decir, segmentos de no canal).

- La FIG. 3C también muestra una pluralidad de elementos ópticos 236 intercalados entre los segmentos de canal en las partes de canal intermedias 220. Un área de medición puede incluir, por ejemplo, más de 3, 5, 8, 10, 15, 20, 30, 40 o 50 elementos ópticos. Los elementos ópticos pueden ser iguales o diferentes entre sí, y pueden tener cualquier forma o tamaño adecuado como se describe en la presente memoria. Además, como se ilustra, un dispositivo fluidoico puede incluir elementos ópticos que se extienden más allá del área de medición y/o más allá de los segmentos de canal. Esta configuración puede permitir el control de la luz incluso en los giros 210 de los segmentos de canal.
- 30

- Como se muestra en la FIG. 3C, la longitud de los segmentos de canal 212-A y 212-C es la misma. Sin embargo, en otras realizaciones las longitudes de los segmentos de canal serpenteante varían dentro del canal. Los segmentos de canal que tienen diferentes longitudes pueden dar como resultado un área de medición que tiene diferentes formas. El canal serpenteante (y el área del canal) puede diseñarse de manera que tenga cualquier forma adecuada, por ejemplo, una forma cuadrada, rectangular, circular, ovalada, triangular, espiral o irregular, ya que en ciertos casos la forma general no afecta a las condiciones de flujo de fluido dentro del canal.
- 35

- En la Fig. 3C, el área (A) que comprende el canal serpenteante está definida por el área superficial dada por la dimensión B (x) la dimensión C. Normalmente, el área comprendida por el canal (es decir, vista desde arriba del canal, perpendicular a la dirección del flujo de fluido) es del orden de milímetros cuadrados (mm<sup>2</sup>). Por ejemplo, el área puede ser mayor o igual que 0,5 mm<sup>2</sup>, mayor o igual que 1 mm<sup>2</sup>, mayor o igual que 2 mm<sup>2</sup>, mayor o igual que 5 mm<sup>2</sup>, mayor o igual que 10 mm<sup>2</sup> o mayor que o igual que 50 mm<sup>2</sup>. Sin embargo, en otras realizaciones, por ejemplo, dependiendo del procedimiento usado para la detección, el área comprendida por un canal serpenteante puede estar entre 0,25 mm<sup>2</sup> y 0,5 mm<sup>2</sup>, o entre 0,1 mm<sup>2</sup> y 0,25 mm<sup>2</sup>. Normalmente, el área comprendida por el canal serpenteante está
- 40 diseñada para ser relativamente grande (por ejemplo, del orden de mm<sup>2</sup>) en comparación con los sistemas microfluidicos convencionales, de manera que se puede usar un área amplia para la detección y así la cantidad total de señal que puede ser detectada se incrementa, especialmente en combinación con uno o más elementos ópticos descritos en la presente memoria.
- 45

- En algunas realizaciones, los elementos ópticos descritos en la presente memoria están integrados en una superficie del artículo. En el presente documento, "integrado" se refiere a una condición de ser una única construcción unitaria, a diferencia de en partes separadas que están conectadas por otros medios. Por ejemplo, los elementos ópticos integrados del artículo pueden formarse en una superficie del artículo. Los elementos ópticos integrados pueden ser cóncavos o convexos con relación con la superficie sobre la que están formados. Por ejemplo, los elementos ópticos
- 50
- 60 32 y 34 en las FIG. 1A-1B se muestran como elementos ópticos cóncavos integrados en la superficie 16. En algunos

casos, dichos elementos ópticos, o moldes para los elementos ópticos, se fabrican usando un procedimiento de fotolitografía, por ejemplo, como se muestra en las FIG. 4A-4B y como se describe con más detalle a continuación.

Tal como se muestra en diversas realizaciones en la presente memoria, uno o más elementos ópticos pueden estar situados sustancialmente entre dos segmentos de canal y/o uno o más segmentos de canal pueden estar situados sustancialmente entre dos elementos ópticos. Se dice que un primer objeto se coloca "sustancialmente entre" otros objetos segundo y tercero cuando sustancialmente todo el primer objeto se encuentra entre los planos centrales de los objetos segundo y tercero. Tal como se usa en la presente memoria, un "plano central" de un objeto se refiere a un plano imaginario que interseca el centro geométrico de la sección transversal del objeto y es sustancialmente perpendicular al sustrato en el cual se coloca o forma el objeto. El término "centro geométrico" (o "centroide") tiene su significado normal en la técnica. Por ejemplo, en la FIG. 1A, los canales 26, 28 y 30 comprenden los planos centrales 26', 28' y 30', que intersecan los centros geométricos 26", 28" y 30", respectivamente. Además, los elementos ópticos 32 y 34 comprenden planos centrales 32' y 34' que intersecan los centros geométricos 32" y 34", respectivamente. El elemento óptico 32 está colocado sustancialmente entre los canales 26 y 28, y el elemento óptico 34 está colocado sustancialmente entre los canales 28 y 30. El segmento de canal 28 está colocado sustancialmente entre los elementos ópticos 32 y 34.

En algunas realizaciones, uno o más elementos ópticos de un dispositivo se encuentran en un plano sustancialmente diferente al de uno o más canales del dispositivo. Por ejemplo, en la FIG. 1A, el plano 60 que interseca los ejes centrales de los elementos ópticos (situados en los centros geométricos y que se extienden desde y hacia la página) no interseca el plano 62 que interseca los ejes centrales de los canales. En algunas realizaciones, ninguna línea trazada entre cualquier primer punto sobre o dentro de un primer segmento de canal microfluídico y cualquier segundo punto sobre o dentro de un segundo segmento de canal microfluídico interseca cualquier punto sobre o dentro de un elemento óptico. En algunos casos, ninguna línea trazada entre cualquier primer punto sobre o dentro de un primer elemento óptico y cualquier segundo punto sobre o dentro de un segundo elemento óptico interseca cualquier punto sobre o dentro de un segmento de canal microfluídico.

Sin embargo, en otras realizaciones una parte o la totalidad de un elemento óptico se encuentra en el mismo plano que uno o más canales o segmentos de canales. Por ejemplo, un elemento óptico puede formarse en o sobre la misma superficie que los canales. En otro ejemplo, se forma un elemento óptico en un lado opuesto a un canal, pero se extiende de manera que un plano perpendicular a la superficie del artículo pasa a través del canal y del elemento óptico. En algunos casos, una línea trazada entre un primer punto sobre o dentro de un primer segmento de canal y un segundo punto sobre o dentro de un segundo segmento de canal interseca un punto sobre o dentro del elemento óptico.

Los dispositivos fluidicos descritos en la presente memoria que comprenden elementos ópticos pueden combinarse opcionalmente con otras características (por ejemplo, ciertos sistemas de detección, lentes, etc.) para reducir la cantidad de luz parásita y/o para aumentar la relación señal-ruido. Las FIG. 5-10 muestran varios ejemplos de sistemas de detección y resultados de experimentos realizados cuando dichos sistemas se usaron en combinación con dispositivos descritos en la presente memoria. Sin embargo, en algunos casos, estas características se pueden implementar independientemente de los elementos ópticos descritos en la presente memoria.

En algunas realizaciones, se pueden emplear técnicas adicionales que compensan la transmisión de luz parásita a través del dispositivo microfluídico. Por ejemplo, el tamaño (por ejemplo, anchura, área superficial, volumen) de las partes intermedias en el sistema puede reducirse, reduciendo así el porcentaje de luz incidente en las partes intermedias. Debe observarse que si bien puede no ser práctico eliminar las partes intermedias entre los canales, como se analiza en la Publicación de Patente Internacional n.º WO2006/113727, partes intermedias más delgadas y/o canales fluidicos más anchos pueden dar como resultado menos transmisión de luz parásita y, por lo tanto, un rendimiento mejorado.

Los efectos de reducir el tamaño de las partes intermedias sobre la cantidad de luz parásita transmitida se pueden evaluar midiendo la transmisión o la absorbancia en el sistema cuando los microcanales se llenan con un fluido perfectamente absorbente. La transmisión a través de dicho sistema se calcula como:

$$Trans = \frac{I}{I_0} \quad [10]$$

donde  $I_0$  es la intensidad de la luz transmitida con un fluido perfectamente claro (índice ajustado) en los canales, e  $I$  es la intensidad de la luz transmitida con un fluido perfectamente absorbente en el canal.

La densidad óptica (DO) es una medida de la absorbancia en un sistema de este tipo, que se calcula como el registro de transmisión negativo:

$$DO = -\text{reg}(Trans) \quad [11]$$

5

Un sistema con una cantidad mínima de transmisiones de luz parásita da como resultado una gran DO. En teoría, una zona de medición llena con un fluido perfectamente absorbente y sin partes intermedias y sin luz parásita tendría una transmisión del 0 % y una DO muy grande. En la práctica, es difícil eliminar por completo la luz parásita en cualquier sistema. Una medición de transmisión a través de un fluido extremadamente absorbente en un micropocillo (sin paredes, o incluso canales) podría ser del 0,01 %, produciendo una DO de 4. En general, sin embargo, puede ser difícil lograr mediciones de transmisión por debajo del 1 %. Un intervalo razonable de DO que se puede lograr puede estar dentro del intervalo de aproximadamente 0 a aproximadamente 2.

Suponiendo un fluido perfectamente absorbente en los canales, la transmisión a través de una región de canal serpenteante (sin elementos ópticos para bloquear o redirigir la luz) es simplemente una función de la anchura de las partes intermedias y de la anchura del canal. Por ejemplo, en un sistema con partes intermedias con anchuras de  $x$  y canales con anchuras de  $y$ , la transmisión mínima sería  $x / (x + y)$ . En el caso de un canal serpenteante con anchuras idénticas para todas las partes y canales intermedios, el valor de  $x / (x + y)$  es del 50 % (produciendo una DO máxima de 0,3). De manera similar, un sistema con canales con el doble de anchura que las partes intermedias produciría una transmisión mínima del 33 % (una DO máxima de 0,477). Existe un intervalo superior (e inferior) para las anchuras de canal basado en el flujo requerido en el sistema, ya que un aumento en la anchura del canal produce un incremento en la sección transversal y cambios en las propiedades de los canales, como una reducción en la resistencia al flujo. Del mismo modo, existe un intervalo inferior en el cual las partes intermedias se pueden fabricar de manera fiable (por ejemplo, dependiendo de la técnica de fabricación). El Ejemplo 3 describe un conjunto de experimentos en los que se variaron las anchuras de las partes intermedias.

En algunas realizaciones, un sistema de detección incluye la medición de la luz transmitida a través de las partes de canal independientemente de la luz transmitida a través de las partes intermedias. Por ejemplo, se puede crear una imagen del área de medición con una cámara digital, medir la intensidad de la luz en los píxeles que corresponden a los canales y descartar los píxeles correspondientes a las paredes del canal o las partes intermedias. Opcionalmente, se pueden incorporar lentes para enfocar la imagen en el plano de los canales. Dicho sistema de medición podría proporcionar un rendimiento extremadamente alto (evitando la luz parásita) y producir una DO máxima mayor de aproximadamente 2, por ejemplo,  $DO = 2-4$ .

Sin embargo, en algunos casos, incluir un sistema de cámara/imagen puede producir un coste relativamente alto del dispositivo de imagen, un coste relativamente alto de las lentes, un requisito de precisión en la colocación y la alineación, robustez frente a los golpes o las condiciones ambientales e implementación de software para identificar los píxeles que se deben medir y los que se deben ignorar. En consecuencia, estos factores pueden ponderarse con sus beneficios y pueden ser adecuados para ciertas aplicaciones, pero no para todas.

40

En una realización, se desarrolló un sistema de formación de imágenes relativamente económico y robusto para un sistema de canales que usa un sensor de imágenes lineal. Un sensor de imagen lineal es una disposición unidimensional de múltiples detectores ópticos pequeños que se pueden medir individualmente. Las FIG. 8A y 8B incluyen diagramas esquemáticos de sistemas de formación de imágenes ilustrativos usados para medir la transmisión a través de canales serpenteantes. El detector óptico 810 en la FIG. 8A es un fotodiodo único que puede representar una parte sustancial del canal serpenteante. Por otra parte, en la FIG. 8B, el detector óptico 812 comprende un sensor de imagen lineal que mide solo partes del canal serpenteante. Opcionalmente, se pueden usar componentes ópticos tales como una lente de colimación para la fuente luminosa y/o una lente de focalización para transmitir la imagen al sensor de imagen lineal (no mostrado) para mejorar la formación de imágenes. La FIG. 8C incluye una micrografía de un canal serpenteante usado en un conjunto de realizaciones. Un área de medición típica para un sensor de imagen lineal se indica como región 820. En algunos dispositivos, cada detector óptico de un sensor de imagen lineal puede medirse individualmente. Dicho sistema se puede usar para medir la transmisión a través de solo una parte de un sistema. Por ejemplo, un sensor de imagen lineal situado debajo de una región de canal serpenteante como se muestra en la FIG. 8C se puede usar para medir la transmisión de luz solo a través de los canales. Para hacer esto, solo se registran las lecturas de los detectores debajo de los canales. Se pueden ignorar otros detectores colocados bajo partes que no sean de canal (por ejemplo, partes intermedias) y sobre los que incide luz parásita. De esta manera, los sensores de imágenes lineales pueden usarse para medir selectivamente la transmisión de luz a través de los canales en una región de canal serpenteante, eliminando el problema de la luz parásita y produciendo mediciones de transmisión/absorbancia precisas para el sistema microfluidico.

55

Los ejemplos de sensores de imágenes lineales incluyen el Hamamatsu S9227, una matriz de 6,4 mm de longitud de 512 píxeles de 250 micrómetros de anchura con una separación de 12,5 micrómetros, el Fairchild Imaging CMOS 1421, una matriz de 14,5 mm de longitud y 2.048 píxeles de 7 micrómetros de anchura con 7  $\mu\text{m}$  de separación de centro a centro, y el Panavision SVI LIS-500, una matriz de 3,9 mm de longitud con 500 píxeles de 62,5 de anchura y 7,8  $\mu\text{m}$  de separación de centro a centro. El Ejemplo 4 describe el uso de un sensor de imagen lineal junto con los dispositivos y procedimientos descritos en la presente memoria.

En algunos casos, el sistema puede diseñarse para eliminar la luz parásita potencial antes de que llegue al dispositivo 10 fluídico. Por ejemplo, la luz parásita puede eliminarse creando una fuente luminosa que incluya una geometría que coincida con el patrón de canal o canales, dirigiendo la luz solo hacia los canales y alejándose de las paredes del canal o las partes intermedias.

Se pueden usar diversas técnicas de determinación (por ejemplo, medición, cuantificación, detección y cualificación) 15 con los dispositivos descritos en la presente memoria. Las técnicas de determinación pueden incluir técnicas con base óptica tales como transmisión de luz, absorbancia de luz, dispersión de luz, reflexión de luz, así como técnicas de luminiscencia tales como fotoluminiscencia (por ejemplo, fluorescencia), quimioluminiscencia, bioluminiscencia y/o electroquimioluminiscencia. Los expertos en la materia saben cómo modificar dispositivos microfluídicos de acuerdo con la técnica de determinación usada. Por ejemplo, para dispositivos que incluyen especies quimioluminiscentes 20 usadas para la determinación, puede preferirse un sustrato opaco y/u oscuro. Para determinar el uso de coloides metálicos, se puede preferir un sustrato transparente. Además, puede usarse cualquier detector adecuado con los dispositivos descritos en la presente memoria. Por ejemplo, pueden usarse detectores ópticos simplificados, así como espectrofotómetros y lectores ópticos convencionales (por ejemplo, lectores de placas de 96 pocillos).

25 Cuando se realiza más de una reacción química y/o biológica (por ejemplo, un ensayo múltiple) en un dispositivo, la adquisición de la señal puede llevarse a cabo moviendo un detector sobre cada región de análisis. En un enfoque alternativo, un único detector puede detectar señal o señales en cada una de las regiones de análisis simultáneamente. En otra realización, un analizador puede incluir, por ejemplo, una serie de sensores/detectores ópticos paralelos, cada uno alineado con una región de análisis y conectado con la electrónica de un lector. Se describen con más detalle 30 ejemplos adicionales de detectores y procedimientos de detección en la solicitud de patente de EE.UU. n.º de serie: 12/196.392, presentada el 22 de agosto de 2008, titulada "Contención de líquidos para ensayos integrados".

Como se describe en la presente memoria, un canal serpenteante de una región de análisis puede configurarse y disponerse de modo que esté alineado con un detector de manera que tras la alineación, el detector puede medir una 35 señal individual a través de más de un segmento de canal adyacente del canal serpenteante. En algunas realizaciones, el detector es capaz de detectar una señal dentro de al menos una parte del área del canal serpenteante y a través de más de un segmento del canal serpenteante de manera que una primera parte de la señal, medida desde un primer segmento de la señal canal serpenteante, es similar a una segunda parte de la señal, medida a partir de un segundo segmento del canal serpenteante. En dichas realizaciones, debido a que la señal está presente como parte de más 40 de un segmento del canal serpenteante, no hay necesidad de una alineación precisa entre un detector y una región de análisis.

En la sección de Ejemplos se proporcionan ejemplos y descripciones adicionales de sistemas de detección.

45 En algunas realizaciones, los dispositivos fluídicos descritos en la presente memoria incluyen un sitio de reacción en comunicación fluida con uno o más canales o segmentos de canal. Por ejemplo, el dispositivo fluídico puede comprender un sitio de reacción que comprende una pareja de unión (por ejemplo, un anticuerpo, antígeno, etc.) asociada con una superficie de un segmento de canal. Una entidad en el fluido que fluye en el segmento del canal puede interactuar (por ejemplo, unirse, reaccionar químicamente, etc.) con la pareja de 50 unión, y la interacción puede ser ópticamente detectable.

En un conjunto de realizaciones, se usa un dispositivo fluídico descrito en la presente memoria para realizar un inmunoensayo. El inmunoensayo puede ser, por ejemplo, un inmunoensayo directo, un inmunoensayo en modo sándwich (por ejemplo, de 2 sitios) o un inmunoensayo competitivo, como conocen los expertos en la materia. Algunos 55 dispositivos pueden incluir una combinación de uno o más de dichos inmunoensayos.

En una realización en particular, se usa un dispositivo fluídico para realizar un inmunoensayo (por ejemplo, para IgG o PSA humanos) y, opcionalmente, se usa un refuerzo de plata para la amplificación de la señal. Un dispositivo descrito en la presente memoria puede tener una o más características similares a las descritas en la solicitud de patente de 60 EE.UU. n.º de serie 12/113.503, presentada el 1 de mayo de 2008 y titulada "Conectores fluídicos y sistemas

microfluídicos". En dicho inmunoensayo, después del suministro de una muestra que contiene IgG humana a un área de reacción o región de análisis, puede tener lugar la unión entre la IgG humana y la IgG antihumana. Uno o más reactivos, que pueden almacenarse opcionalmente en el dispositivo antes del uso pueden fluir sobre este complejo de pares de unión. Uno de los reactivos almacenados puede incluir una solución de coloide metálico (por ejemplo, un anticuerpo conjugado con oro) que se une específicamente al antígeno que se ha de detectar (por ejemplo, IgG humana). Este coloide metálico puede proporcionar una superficie catalítica para la deposición de un material opaco, tal como una capa de metal (por ejemplo, plata), en una superficie de la región de análisis. La capa de metal se puede formar usando un sistema de dos componentes: un precursor metálico (por ejemplo, una solución de sales de plata) y un agente reductor (por ejemplo, hidroquinona), que se puede almacenar opcionalmente en diferentes canales antes del uso.

Cuando se aplica un diferencial de presión positiva o negativa al sistema, las soluciones de sal de plata e hidroquinona pueden fusionarse en una intersección de canal, donde se mezclan (por ejemplo, debido a la difusión) en un canal y a continuación fluyen sobre la región de análisis. Por lo tanto, si la unión anticuerpo-antígeno tiene lugar en la región de análisis, el flujo de la solución de precursor metálico a través de la región puede dar como resultado la formación de una capa opaca, tal como una capa de plata, debido a la presencia del coloide catalítico de metal asociado con el complejo anticuerpo-antígeno. La capa opaca puede incluir una sustancia que interfiere con la transmitancia de la luz a una o más longitudes de onda. Cualquier capa opaca que se forme en el canal microfluídico puede detectarse ópticamente, por ejemplo, midiendo una reducción en la transmitancia de luz a través de una parte de la región de análisis (por ejemplo, una región de canal serpenteante) en comparación con una parte de un área que no incluye el anticuerpo o antígeno. Alternativamente, se puede obtener una señal midiendo la variación de la transmitancia de la luz en función del tiempo, a medida que se forma la película en una región de análisis. La capa opaca puede proporcionar un aumento en la sensibilidad del ensayo cuando se compara con técnicas que no forman una capa opaca. Además, se pueden usar diversas químicas de amplificación que producen señales ópticas (por ejemplo, absorbancia, fluorescencia, brillo o quimioluminiscencia instantánea, electroquimioluminiscencia), señales eléctricas (por ejemplo, resistencia o conductividad de estructuras metálicas creadas por un proceso sin electricidad) o señales magnéticas (por ejemplo, perlas magnéticas) para permitir la detección de una señal por un detector.

Debe entenderse que los dispositivos descritos en la presente memoria pueden usarse para cualquier reacción química y/o biológica adecuada, y pueden incluir, por ejemplo, otros ensayos en fase sólida que implican reacción de afinidad entre proteínas u otras biomoléculas (por ejemplo, ADN, ARN, hidratos de carbono) o moléculas no presentes en la naturaleza. En algunas realizaciones, una reacción química y/o biológica implica unión. En los dispositivos descritos en la presente memoria pueden tener lugar diferentes tipos de unión. El término "unión" se refiere a la interacción entre un par correspondiente de moléculas que muestran afinidad mutua o capacidad de unión, normalmente unión o interacción específica o no específica, que incluye interacciones bioquímicas, fisiológicas y/o farmacéuticas. La unión biológica define un tipo de interacción que se produce entre pares de moléculas que incluyen proteínas, ácidos nucleicos, glucoproteínas, hidratos de carbono, hormonas y similares. Los ejemplos específicos incluyen anticuerpo/antígeno, anticuerpo/hapteno, enzima/sustrato, enzima/inhibidor, enzima/cofactor, proteína de unión/sustrato, proteína portadora/sustrato, lectina/hidrato de carbono, receptor/hormona, receptor/efector, cadenas complementarias de ácido nucleico, represor/inductor de proteínas/ácidos nucleicos, receptor de ligando/superficie celular, virus/ligando, etc. La unión también puede producirse entre proteínas u otros componentes y células. Además, los dispositivos descritos en la presente memoria pueden usarse para otros análisis de fluidos (que pueden o no implicar unión y/o reacciones) tales como detección de componentes, concentración, etc.

Los ejemplos no limitativos de analitos que se pueden determinar usando dispositivos fluidicos descritos en la presente memoria incluyen proteínas específicas, virus, hormonas, fármacos, ácidos nucleicos y polisacáridos; específicamente anticuerpos, por ejemplo, inmunoglobulinas IgD, IgG, IgM o IgA para HTLV-I, VIH, hepatitis A, B y no A/no B, rubéola, sarampión, parvovirus humano B19, paperas, paludismo, varicela o leucemia; hormonas humanas y animales, por ejemplo, hormona estimulante de la tiroides (TSH), tiroxina (T4), hormona luteinizante (LH), hormonas foliculoestimulantes (FSH), testosterona, progesterona, gonadotropina coriónica humana, estradiol; otras proteínas o péptidos, por ejemplo, troponina I, proteína C reactiva, mioglobina, proteína natriurética cerebral, antígeno prostático específico (PSA), PSA libre, PSA complejo, pro-PSA, EPCA-2, PCADM-1, ABCA5, hK2, beta-MSP (PSP94), AZGP1, anexina A3, PSCA, PSMA, JM27, PAP; fármacos, por ejemplo, paracetamol o teofilina; ácidos nucleicos marcadores, por ejemplo, PCA3, TMPRS-ERG; polisacáridos tales como antígenos de superficie celular para tipificación de tejido HLA y material de pared celular bacteriana. Los productos químicos que se pueden detectar incluyen explosivos como TNT, agentes nerviosos y compuestos peligrosos para el medio ambiente como bifenilos policlorados (PCB), dioxinas, hidrocarburos y MTBE. Los fluidos de muestra típicos incluyen fluidos fisiológicos tales como sangre completa humana o animal, suero sanguíneo, plasma sanguíneo, semen, lágrimas, orina, sudor, saliva, líquido cefalorraquídeo, secreciones vaginales; fluidos in vitro usados en investigación o fluidos ambientales tales como líquidos acuosos que se sospecha están contaminados por el analito. En algunas realizaciones, uno o más de los reactivos mencionados

anteriormente se almacenan en un canal o cámara de un dispositivo fluidoico antes del primer uso para realizar una prueba o ensayo específico.

- 5 Algunas realizaciones de la invención están en forma de un kit que puede incluir, por ejemplo, un sistema microfluídico, una fuente para promover el flujo de fluido (por ejemplo, un vacío) y/o uno, varios o todos los reactivos necesarios para realizar un análisis a excepción de la muestra que se someterá a ensayo. En algunas realizaciones, el sistema microfluídico del kit puede tener una configuración similar a una o más de las mostradas en las figuras y/o como se describe en la presente memoria. El dispositivo fluidoico del kit puede ser portátil y puede tener dimensiones adecuadas para su uso en entornos de punto de atención.
- 10 El kit puede incluir reactivos y/o fluidos que se pueden proporcionar en cualquier forma adecuada, por ejemplo, como soluciones líquidas o como polvos secos. En algunas realizaciones, un reactivo en el sistema microfluídico se almacena antes del primer uso, como se describe con más detalle en la presente memoria. Cuando los reactivos se proporcionan como un polvo seco, el reactivo se puede reconstituir mediante la adición de un disolvente adecuado,
- 15 que también se puede proporcionar. En realizaciones en las que se proporcionan formas líquidas del reactivo, la forma líquida puede estar concentrada o lista para usar. Los fluidos pueden proporcionarse como volúmenes específicos (o pueden incluir instrucciones para formar soluciones que tienen un volumen específico) para que fluyan en el sistema microfluídico.
- 20 El kit puede diseñarse para realizar un análisis concreto, como la determinación de una enfermedad específica. Por ejemplo, los marcadores (por ejemplo, PSA) para enfermedades específicas (por ejemplo, cáncer de próstata) pueden incluirse (por ejemplo, almacenarse) en un dispositivo o kit en forma líquida o seca antes del primer uso del dispositivo/kit. Para realizar un análisis o prueba en particular usando el kit, el dispositivo fluidoico puede diseñarse de manera que tenga ciertas geometrías, y las composiciones, volúmenes y viscosidades particulares de los fluidos se
- 25 pueden elegir de manera que proporcionen las condiciones óptimas para realizar el análisis en el sistema. Por ejemplo, si una reacción que se va a realizar en una región de análisis requiere el flujo de un reactivo de amplificación sobre la región de análisis durante una magnitud de tiempo específica precalculada para producir una señal óptima, el dispositivo fluidoico puede diseñarse de manera que incluya un segmento de canal que tiene un área particular de sección transversal y longitud para su uso con un fluido de volumen específico y viscosidad con el fin de regular el
- 30 flujo de fluido de una manera predeterminada y precalculada. También se pueden incluir soluciones de lavado y tampones. El dispositivo puede incluir opcionalmente uno o más reactivos almacenados en el mismo antes del primer uso. Además, el kit puede incluir un dispositivo o componente para promover el flujo de fluido, tal como una fuente de vacío dimensionada para su conexión a una toma de salida. El dispositivo o componente puede incluir uno o más valores preestablecidos para crear un descenso de presión conocido (y opcionalmente constante) entre una toma de
- 35 entrada y una toma de salida del dispositivo fluidoico. Por lo tanto, el kit puede permitir que uno o más reactivos fluyan durante una magnitud conocida de tiempo precalculada en una región de análisis, o en otras regiones del sistema, durante el uso. Los expertos en la materia pueden calcular y determinar los parámetros necesarios para regular el flujo de fluido usando conocimientos generales en la técnica en combinación con la descripción proporcionada en la presente memoria.
- 40 Un kit descrito en la presente memoria puede incluir además un conjunto de instrucciones para el uso del kit. Las instrucciones pueden definir un componente de utilidad de instrucción (por ejemplo, instrucciones, guías, advertencias, etiquetas, notas, FAQ ("preguntas frecuentes"), etc., y generalmente implican instrucciones escritas en o asociadas con los componentes y/o con el empaquetado de los componentes para el uso del sistema microfluídico. Las
- 45 instrucciones también pueden incluir la comunicación de instrucciones en cualquier forma (por ejemplo, oral, electrónica, digital, óptica, visual, etc.), proporcionadas de manera que el usuario reconozca claramente que las instrucciones se deben asociar con los componentes del kit.
- En algunas realizaciones, los sistemas microfluídicos descritos en la presente memoria contienen reactivos
- 50 almacenados antes del primer uso del dispositivo y/o antes de la introducción de una muestra en el dispositivo. En algunos casos, uno o los dos reactivos líquidos y secos pueden almacenarse en un solo artículo. De forma adicional o alternativa, los reactivos también se pueden almacenar en recipientes separados de manera que un reactivo no esté en comunicación fluida con el sistema microfluídico antes del primer uso. El uso de reactivos almacenados puede simplificar el uso del sistema microfluídico por un usuario, ya que así se reduce al mínimo el número de pasos que el
- 55 usuario debe realizar para hacer funcionar el dispositivo. Esta sencillez puede permitir que los sistemas microfluídicos descritos en la presente memoria sean usados por usuarios no instruidos especialmente, tales como aquellos que trabajan en entornos de puntos de atención, y en particular, para dispositivos diseñados para realizar inmunoensayos. Se ha demostrado previamente que el almacenamiento de los reactivos en forma de tapones de líquido separados por espacios de aire era estable durante períodos de tiempo prolongados (véase, por ejemplo, la publicación de patente
- 60 internacional n.º WO2005/072858 (solicitud de patente internacional n.º de serie PCT/US2005/003514), presentada el

26 de enero de 2005 y titulada "Sistema y procedimiento de suministro de fluidos"). Los dispositivos fluidicos para almacenar reactivos pueden incluir también una configuración como se describe en la solicitud de patente de EE.UU. n.º de serie 12/640.420 presentada el 17 de diciembre de 2009 y titulada "Almacenamiento mejorado de reactivos en sistemas microfluidicos y artículos y procedimientos relacionados". En otras realizaciones, sin embargo, los dispositivos microfluidicos descritos en la presente memoria no contienen reactivos almacenados antes del primer uso del dispositivo y/o antes de la introducción de una muestra en el dispositivo.

En la presente memoria, "antes del primer uso" del dispositivo significa un tiempo o tiempos antes de que el dispositivo sea usado por primera vez por un usuario previsto después de una venta comercial. El primer uso puede incluir cualquier etapa o etapas que requieran la manipulación del dispositivo por parte de un usuario. Por ejemplo, el primer uso puede implicar una o más etapas, como perforar una toma de entrada sellada para introducir un reactivo en el dispositivo, conectar dos o más canales para provocar la comunicación fluida entre los canales, preparar el dispositivo (por ejemplo, carga de reactivos en el dispositivo) antes del análisis de una muestra, cargar una muestra en el dispositivo, preparar una muestra en una región del dispositivo, llevar a cabo una reacción con una muestra, detectar una muestra, etc. El primer uso, en este contexto, no incluye la fabricación u otras medidas preparatorias o de control de calidad tomadas por el fabricante del dispositivo. Los expertos en la materia conocen bien el significado del primer uso en este contexto, y podrán determinar fácilmente si un dispositivo de la invención ha experimentado o no el primer uso. En un conjunto de realizaciones, los dispositivos de la invención son desechables después del primer uso, y es especialmente evidente cuando dichos dispositivos se usan por primera vez, porque normalmente no es práctico usar los dispositivos en modo alguno después del primer uso.

Los dispositivos descritos en la presente memoria pueden comprender uno o más canales o segmentos de canal. Un "canal" o "parte de canal", en el presente documento, significa una característica sobre o en un artículo o sustrato (por ejemplo, formado en una superficie/lado de un artículo o sustrato) que dirige al menos parcialmente el flujo de un fluido. Un canal, parte de canal o segmento de canal, etc., puede tener cualquier forma de sección transversal (circular, ovalada, triangular, irregular, cuadrada o rectangular, trapezoidal o similar) y puede estar cubierto o descubierto. En las realizaciones en las que está cubierto, al menos una parte del canal puede tener una sección transversal que está sustancialmente confinada, o el canal completo puede estar sustancialmente confinado en toda su longitud con la excepción de su o sus tomas de entrada y de salida. En algunos casos, la toma de entrada y/o salida también puede estar cerrada o sellada, por ejemplo, para evitar que los fluidos y/u otros reactivos sean eliminados del dispositivo (por ejemplo, debido a la evaporación).

Un canal, segmento de canal, parte de canal, etc., también puede tener una relación entre dimensiones (entre longitud y dimensión de sección transversal media) de al menos 2: 1, más normalmente al menos 3:1, 5:1 o 10:1. o más. En algunas realizaciones, uno o más canales, segmentos de canal, partes de canal, canales intermedios, etc., son microfluidicos. "Microfluidico", en la presente memoria, se refiere a un dispositivo, aparato o sistema que incluye al menos un canal de fluido que tiene una dimensión de sección transversal de menos de 1 mm, y una relación entre la longitud y la dimensión de sección transversal superior al menos a 3:1. Un "canal microfluidico" o "segmento de canal microfluidico" como se usa en la presente memoria, es un canal que cumple estos criterios. Aunque en algunas realizaciones, los dispositivos de la invención pueden ser microfluidicos, en ciertas realizaciones la invención no se limita a sistemas microfluidicos y puede estar relacionada con otros tipos de sistemas fluidicos. Además, debe entenderse que todos o la mayoría de los canales descritos en la presente memoria pueden ser microfluidicos en ciertas realizaciones. La "dimensión de sección transversal" (por ejemplo, un diámetro, una altura y/o una anchura) de un canal, segmento de canal, parte de canal o canal intermedio, etc., se mide perpendicularmente a la dirección del flujo de fluido. En un conjunto de realizaciones, la dimensión de sección transversal máxima de uno o más canales o segmentos de canal que contienen realizaciones descritas en la presente memoria es menor que aproximadamente 750 micrómetros, menor que aproximadamente 500 micrómetros, menor que aproximadamente 300 micrómetros, menor que aproximadamente 200 micrómetros, menor que aproximadamente 100 micrómetros, menor que aproximadamente 50 micrómetros, menor que aproximadamente 25 micrómetros, menor que aproximadamente 10 micrómetros o menor que aproximadamente 5 micrómetros. En algunos casos, al menos dos dimensiones de sección transversal (por ejemplo, una altura y una anchura) de un canal, segmento de canal o parte de canal tienen una o más de las dimensiones enumeradas anteriormente (por ejemplo, una anchura menor que 500 micrómetros y una altura menor que 200 micrómetros).

Uno o más canales o segmentos de canal descritos en la presente memoria pueden tener cualquier longitud adecuada. En algunos casos, los canales o segmentos de canal pueden tener al menos aproximadamente 1 mm de longitud, al menos aproximadamente 2 mm de longitud, al menos aproximadamente 5 mm de longitud, al menos aproximadamente 10 mm de longitud, al menos aproximadamente 20 mm de longitud, al menos aproximadamente 50 mm de longitud, o más.

60

Los canales o segmentos de canal también pueden estar separados una distancia adecuada unos de otros. Por ejemplo, en algunos casos, la anchura de una o más partes intermedias entre canales o segmentos de canal puede ser menor que aproximadamente 5 mm, menor que aproximadamente 2 mm, menor que aproximadamente 1 mm, menor que aproximadamente 500 micrómetros, menor que aproximadamente 300 micrómetros, menor que aproximadamente 200 micrómetros, menor que aproximadamente 100 micrómetros, menor que aproximadamente 50 micrómetros, menor que aproximadamente 25 micrómetros, menor que aproximadamente 10 micrómetros, menor que aproximadamente 5 micrómetros, o menos. En ciertas realizaciones, los segmentos de canal pueden estar separados por una distancia de menos de 0,01 veces, menos de 0,1 veces, menos de 0,25 veces, menos de 0,5 veces, menos de 1 vez, menos de 2 veces, menos de 5 veces o menos de 10 veces la anchura media más grande del segmento del canal.

Los canales o segmentos de canal también pueden estar orientados de cualquier manera adecuada. En algunos casos, todos los canales o segmentos de canal están separados una distancia sustancialmente igual entre sí (es decir, las anchuras de las partes intermedias son todas sustancialmente iguales). Los canales o segmentos de canal también pueden estar orientados de manera que dos o más (por ejemplo, todos) sean sustancialmente paralelos entre sí.

En algunos casos, las dimensiones de un canal pueden elegirse de manera que el fluido pueda fluir libremente a través del artículo o sustrato. Las dimensiones del canal también se pueden elegir, por ejemplo, para permitir un cierto caudal volumétrico o lineal de fluido en el canal. Por supuesto, el número de canales y la forma de los canales se pueden modificar mediante cualquier procedimiento conocido por los expertos en la materia. En algunos casos, se puede usar más de un canal o capilar.

En algunas realizaciones descritas en la presente memoria, los sistemas microfluídicos incluyen solo un único canal interconectado con, por ejemplo, menos de 5, 4, 3, 2 o 1 intersecciones de canal cuando están en uso. Un diseño basado en un solo canal con intersecciones mínimas o sin intersecciones puede ser fiable porque solo hay una trayectoria de flujo posible para que cualquier fluido se desplace por el chip microfluídico.

Un sistema microfluídico descrito en la presente memoria puede tener cualquier volumen adecuado para llevar a cabo una reacción química y/o biológica u otro procedimiento. El volumen completo de un sistema microfluídico incluye, por ejemplo, cualquier área de almacenamiento de reactivos, áreas de reacción, regiones de contención de líquidos, áreas de residuos, así como cualquier conector de fluidos, y canales microfluídicos asociados con los mismos. En algunas realizaciones, se usan pequeñas cantidades de reactivos y muestras y el volumen total del sistema microfluídico es, por ejemplo, inferior a 10 mililitros, inferior a 5 mililitros, inferior a 1 mililitro, inferior a 500 microlitros, inferior a 250 microlitros, inferior a 100 microlitros, inferior a 50 microlitros, inferior a 25 microlitros, inferior a 10 microlitros, inferior a 5 microlitros o inferior a 1 microlitro.

Un dispositivo y/o un artículo fluídico descrito en la presente memoria puede ser portátil y, en algunas realizaciones, manual. La longitud y/o la anchura del dispositivo y/o artículo pueden ser, por ejemplo, menores o iguales a 20 cm, 15 cm, 10 cm, 8 cm, 6 cm o 5 cm. El grosor del dispositivo y/o el artículo puede ser, por ejemplo, menor o igual que 5 cm, 3 cm, 2 cm, 1 cm, 8 mm, 5 mm, 3 mm, 2 mm o 1 mm. Ventajosamente, los dispositivos portátiles pueden ser adecuados para su uso en entornos de puntos de atención.

Parte o la totalidad de un dispositivo fluídico tal como un artículo o una cubierta se puede fabricar con cualquier material adecuado. Por ejemplo, los artículos que incluyen canales pueden estar hechos de un material adecuado para formar un microcanal. Los ejemplos no limitativos de materiales incluyen polímeros (por ejemplo, polietileno, poliestireno, polimetilmetacrilato, policarbonato, poli(dimetilsiloxano), PTFE, PET y un copolímero de cicloolefina), vidrio, cuarzo y silicio. El artículo y/o la cubierta pueden ser duros o flexibles. Los expertos en la materia pueden seleccionar fácilmente un material adecuado basándose, por ejemplo, en su rigidez, su inercia (por ejemplo, la ausencia de degradación) de un fluido que se hará pasar a través de él, su robustez a una temperatura a la que se encuentra un dispositivo concreto para su uso, su transparencia/opacidad a la luz (por ejemplo, en las regiones ultravioleta y visible) y/o el procedimiento usado para fabricar características en el material. Por ejemplo, para artículos moldeados por inyección u otros artículos extruidos, el material usado puede incluir un termoplástico (por ejemplo, polipropileno, policarbonato, clorotrifluoroetileno, acrilonitrilo-butadieno-estireno, nailon 6), un elastómero (por ejemplo, poliisopreno, isobuteno-isopreno, nitrilo, neopreno, etileno-propileno, hypalón, silicona), un material termoendurecible (por ejemplo, epóxido, poliésteres insaturados, compuestos fenólicos) o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, el material y las dimensiones (por ejemplo, el grosor) de un artículo y/o cubierta se eligen de manera que sea sustancialmente impermeable al vapor de agua. Por ejemplo, un dispositivo fluídico diseñado para almacenar uno o más fluidos en el mismo antes del primer uso puede incluir una cubierta que comprende un material conocido por proporcionar una alta barrera al vapor, tal como lámina metálica, ciertos polímeros, ciertas cerámicas y combinaciones de los mismos. En otros casos, el material se elige basándose al menos en parte en la forma y/o configuración del dispositivo. Por

ejemplo, ciertos materiales pueden usarse para formar dispositivos planos mientras que otros materiales son más adecuados para formar dispositivos que tienen forma curva o irregular.

En algunos casos, un dispositivo fluidoico está formado por una combinación de dos o más materiales, tales como los  
 5 enumerados anteriormente. Por ejemplo, los canales del dispositivo se pueden formar en un primer material (por ejemplo, poli(dimetilsiloxano)), y se puede usar una cubierta que se forma en un segundo material (por ejemplo, poliestireno) para sellar los canales. En otra realización, se forma un primer conjunto de canales en un primer artículo que comprende un primer material y se forma un segundo conjunto de canales en un segundo artículo que comprende un segundo material. En otra realización más, los canales del dispositivo se pueden formar en poliestireno u otros  
 10 polímeros (por ejemplo, mediante moldeo por inyección) y se puede usar una cinta biocompatible para sellar los canales. La cinta biocompatible puede incluir un material conocido por mejorar las propiedades de barrera de vapor (por ejemplo, lámina metálica, polímeros u otros materiales que se sabe que tienen altas barreras de vapor). Se pueden usar diversos procedimientos para sellar un canal o partes de un canal microfluídico, o para unir múltiples capas de un dispositivo, que incluyen, pero no se limitan a, el uso de adhesivos (tales como adhesivos acrílicos o con base de  
 15 silicona), uso de cintas adhesivas, encolado, unión, laminación de materiales o por procedimientos mecánicos (por ejemplo, pinzado).

El sellado de un canal y/o cualquier toma de entrada y salida puede proteger y retener cualquier gas, líquido y/o reactivo en seco que pueda almacenarse dentro de un canal. De forma adicional o alternativa a una o más cubiertas  
 20 descritas en la presente memoria, en ciertas realizaciones, puede colocarse un fluido que tiene baja volatilidad, tal como un aceite o glicol en el extremo de un tubo para ayudar a prevenir la evaporación y/o el movimiento de otros fluidos contenidos en él.

Los dispositivos que comprenden elementos ópticos y canales (por ejemplo, microcanales) descritos en la presente  
 25 memoria se pueden fabricar usando diversas técnicas. Por ejemplo, los dispositivos descritos en la presente memoria pueden formarse usando moldeo por inyección, estampado en caliente u otras técnicas de ingeniería de plásticos. Los dispositivos también se pueden fabricar usando técnicas de mecanizado tradicionales. En algunos casos, los dispositivos pueden fabricarse produciendo un molde y transfiriendo las características del molde a un polímero endurecible (por ejemplo, PDMS). Los moldes se pueden fabricar, por ejemplo, mediante características de grabado  
 30 en una oblea de silicio (por ejemplo, a través de un grabado de KOH anisótropo) y transfiriendo las características sobre un material endurecible (por ejemplo, SU-8) que puede servir como molde. En algunos casos, los dispositivos microfluídicos descritos en la presente memoria incluyen un artículo que es una pieza única e integrada de material sin capas unidas.

En un conjunto de realizaciones, se usan técnicas puramente fotolitográficas para fabricar los canales y elementos  
 35 ópticos en un polímero. Las FIG. 4A-4B ilustran un procedimiento de fabricación que puede usarse para producir elementos ópticos triangulares en una resina fotosensible. En la FIG. 4A, una capa de resina fotosensible 410 se superpone al sustrato 412. Una fotomáscara 414, que comprende la característica 416 transparente a los rayos UV, está expuesta a la luz ultravioleta 418. La luz ultravioleta se dirige en un ángulo 420 con respecto a la normal de la  
 40 fotomáscara. El desarrollo de la resina fotosensible produce la formación de una característica triangular 430, como se muestra en la FIG. 4B. Esta técnica puede producir características que tienen superficies lisas. Además, la técnica se puede usar para fabricar características con un intervalo relativamente amplio de ángulos de inclinación (por ejemplo, de aproximadamente 0° a aproximadamente 20°). Dichos procedimientos son conocidos por los expertos en la materia.

Los procedimientos de fabricación usados para producir dispositivos mediante moldeo por inyección (u otras técnicas  
 45 de ingeniería de plásticos, tales como estampado en caliente), a menudo requieren moldes que tengan ángulos de inclinación distintos de cero en algunas o todas las características para su reproducción en plástico. Como se expuso anteriormente, un ángulo de inclinación es la magnitud de conicidad en piezas moldeadas o fundidas por colada  
 50 perpendicular a la línea de separación (un canal cuadrado con paredes perpendiculares al suelo que tiene un ángulo de inclinación de cero grados). A menudo es necesario un ángulo de inclinación distinto de cero para permitir el desmoldeo de la réplica de la herramienta de moldeo.

La fabricación de elementos con ángulos de inclinación distintos de cero es difícil. Por ejemplo, para estructuras  
 55 microfluídicas (por ejemplo, canales) que tienen varias profundidades, el molde correspondiente debe tener características con múltiples alturas además de ángulos de inclinación distintos de cero. Estos tipos de moldes pueden ser difíciles de fabricar en la microescala, ya que moldear microcanales de plástico con restricciones en el ángulo de inclinación, la profundidad y la anchura no es sencillo.

De hecho, son pocas las técnicas que pueden producir las formas apropiadas para un molde que tenga ángulos de

- inclinación distintos de cero. Para ampliar la extensión de las tecnologías capaces de producir las formas apropiadas, se puede elegir una vía indirecta para la fabricación del molde. Por ejemplo, los canales mismos pueden crearse con diversos materiales, mediante diversas técnicas para producir una pieza maestra. A continuación, se obtiene la forma negativa de la pieza maestra (por ejemplo, mediante electrodeposición), para producir un molde para moldeo por inyección. Las técnicas capaces de producir una pieza maestra con ángulos de inclinación distintos de cero y varias profundidades incluyen: (1) fresado con uno o más fragmentos trapezoidales, (2) técnicas fotolitográficas en combinación con polímeros fotosensibles gruesos, por ejemplo, vidrio fotosensible o resina fotosensible SU8, en combinación con una exposición del lado posterior o una exposición del lado superior con luz con un ángulo no normal. Se describe un ejemplo del uso de la exposición del lado superior no normal con vidrio fotosensible para producir características con ángulos de corriente distintos de cero en la patente de EE.UU. n° 4.444.616. La preparación de múltiples profundidades se puede lograr mediante múltiples exposiciones fotolitográficas en múltiples capas de material fotosensible. (3) El grabado con KOH sobre sustratos de silicio también puede producir ángulos de inclinación distintos de cero, de acuerdo con los planos cristalinos del silicio. (4) Como alternativa a los ángulos de inclinación rectos, los canales que tienen paredes laterales redondeadas también pueden producir piezas maestras adecuadas para moldes. Dichas paredes laterales redondeadas se pueden lograr mediante grabado químico isotrópico sobre una superficie plana (por ejemplo, grabado con HF en obleas de Pyrex), o mediante reflujo de las estructuras de resinas fotosensibles por tratamiento por calor. (5) El grabado iónico reactivo profundo (DRIE) también puede producir ángulos de inclinación distintos de cero grados de acuerdo con determinados ciertos parámetros.
- 20 Los ejemplos siguientes pretenden ilustrar determinadas realizaciones de la presente invención, pero no deben interpretarse como limitativos y no ilustran el alcance completo de la invención.

#### Ejemplo 1

#### 25 Fabricación de canales microfluídicos

Se describe un procedimiento para fabricar un sistema de canal microfluídico.

- Los sistemas de canales, como los que se muestran en las FIG. 1A y 1B, fueron diseñados con un programa de diseño asistido por ordenador (CAD). Los dispositivos microfluídicos se formaron con poli(dimetilsiloxano) Sylgard 184 (PDMS, Dow Corning, Ellsworth, Germantown, WI) por elaboración de prototipos rápida usando piezas maestras fabricadas con la resina fotosensible SU8 (MicroChem, Newton, MA). Las piezas maestras se produjeron en una oblea de silicio y se usaron para reproducir el patrón negativo en PDMS. Las piezas maestras contenían dos niveles de SU8, un nivel con un grosor (altura) de ~ 70 µm que define los canales en el área del inmunoanálisis, y un segundo grosor (altura) de ~360 µm que define las áreas de almacenamiento y desecho de reactivos. Se diseñó otra pieza maestra con un canal que tenía un grosor (altura) de 33 µm. Las piezas maestras se sometieron a silanización con (tridecafluoro-1,1,2,2-tetrahidrooctil)triclorsilano (ABC-R, Alemania). Se mezcló el PDMS de acuerdo con las instrucciones del fabricante y se vertió en las piezas maestras. Después de la polimerización (4 horas, 65 °C), se desprendió la réplica de PDMS de las piezas maestras y se perforaron los orificios de acceso del PDMS usando tubos de acero inoxidable con bordes afilados (1,5 mm de diámetro). Para completar la red fluidica, se usó un sustrato plano tal como un portaobjetos de vidrio, una oblea de silicio, una superficie de poliestireno, una placa plana de PDMS o una cinta adhesiva como una cubierta y se colocó frente a la superficie de PDMS. La cubierta se mantuvo en su lugar por acción de las fuerzas de Van der Waals o se fijó al dispositivo microfluídico usando un adhesivo.
- 45 En otras realizaciones, los canales microfluídicos se prepararon con poliestireno u otros termoplásticos mediante moldeo por inyección. Este procedimiento es conocido por los expertos en la materia. El volumen de una cavidad de moldeo por inyección puede definirse por una superficie inferior y una superficie superior separadas por un armazón hueco que determina el grosor del artículo moldeado. Para un artículo que incluye características de canal u otros elementos a microescala en dos lados opuestos del artículo, las superficies inferior y superior de la cavidad de moldeo pueden incluir características elevadas que crean las características de canal a cada lado del artículo. Para un artículo que incluye características de canal en un solo lado del artículo, solo la superficie superior o inferior de la cavidad de moldeo incluye dichas características. Los orificios pasantes que atraviesan todo el grosor del artículo pueden ser producidos por pasadores que atraviesan la cavidad, incrustados en una o más superficies de la cavidad y que entran en contacto con el otro lado. Por ejemplo, los pasadores pueden extenderse desde solo la superficie superior, solo la superficie inferior, o desde las superficies superior e inferior.

#### Ejemplo 2

#### 60 Rendimiento de un sistema que comprende elementos ópticos triangulares

Este ejemplo describe los perfiles de transmisión de los sistemas que emplean un canal serpenteante, uno con elementos ópticos triangulares (surcos) y otro sin ellos. Se fabricó un artículo de poliestireno con sistemas idénticos de canales fluídicos en un lado. Algunos de estos canales incluyen elementos ópticos triangulares entre los canales del otro lado (canales blindados). Otros canales no incluyen elementos ópticos triangulares entre ellos (canales normales/estándar sin blindaje). Los canales tenían 160 micrómetros de anchura. Las partes intermedias entre los canales tenían 60 micrómetros de anchura. El grosor del artículo se diseñó usando el modelo descrito anteriormente. Los elementos ópticos triangulares también se diseñaron como se describe en el modelo anterior con un ángulo de 35,3°, una anchura de 160 micrómetros y un paso de 220 micrómetros. Las mediciones ópticas se realizaron usando una única fuente de luz LED colimada y un único detector de fotodiodos.

Las mediciones se realizaron con un líquido de ajuste de índice aproximado en los canales (agua) y con un colorante absorbente concentrado (azul de metileno, 20 mg/ml en agua). Usando agua en el canal "normal" (canal sin elementos ópticos) como valor basal, se realizaron las siguientes mediciones de transmisión:

	Transmisión	DO
Agua en el canal normal	100 %	0,00
Colorante en el canal normal	27 %	0,56
Canal de agua con blindaje	26 %	0,58
Colorante en canal con blindaje	1 %	1,98

Suponiendo un colorante perfectamente absorbente, la transmisión a través de canales normales debería ser del 27 %, ya que las paredes del canal constituyen  $60 / (60 + 160) = 27\%$  del área de la zona de medición. Los resultados experimentales confirmaron esta predicción. Debe observarse que el intervalo de DO proporcionado por un canal sin blindaje de estas dimensiones sería 0 a 0,56. En canales blindados con colorante, solo se transmitió el 1 % de la luz incidente. El elemento óptico triangular se diseñó para bloquear la luz que se transmitiría a través de las partes intermedias o para dirigir la luz hacia los canales. El colorante en los canales absorbió la mayoría, si no la totalidad, de la luz que incidía en los canales.

Con agua en los canales blindados, se transmitió el 26 % de la luz incidente en la zona de medición. Con una anchura de 60 micrómetros y un paso de 220 micrómetros, los elementos ópticos triangulares bloquearon el 73 % de la superficie superior del área de medición. El 27 % restante del área se colocó directamente encima de los canales. Dado que estos canales se llenaron con líquido de ajuste de índice, se supuso que transmitiría toda la luz que incidía sobre ellos. Una transmisión total del 26 % indicó que, en este experimento en particular, se reflejó significativamente más luz incidente en los elementos ópticos del sistema que la que se dirigió a los canales.

Para comprender el intervalo de medición de los canales blindados, se hizo una comparación entre la intensidad de la luz transmitida a través de los canales blindados con colorante y la intensidad de la luz transmitida a través de los canales blindados con agua. Usando los canales blindados con agua como referencia, la transmisión con colorante fue del 4 %. Esto indicó que el intervalo de DO proporcionado por el sistema blindado con canales de estas dimensiones sería de 0 a 1,40. Esto representa una mejora significativa con respecto a la configuración normal. La FIG. 5 presenta una comparación de las DO medidas en los canales serpenteantes blindados y las DO medidas en canales serpenteantes no blindados. En este ejemplo, se usó colorante de erioglaucina. Como se puede ver, el blindaje proporcionó un mayor intervalo dinámico de DO correspondiente a un rendimiento superior.

Se puede obtener una comparación más detallada de la luz transmitida usando el sistema de sensores de imagen lineal descrito anteriormente. La FIG. 6A incluye un diagrama esquemático que describe la transmisión de luz a través de una zona de medición del canal de serpenteo microfluídico sin elementos ópticos. En este conjunto de experimentos, los canales se llenaron con colorante oscuro (10 mg/ml de colorante de erioglaucina). Se usó una fuente de luz colimada para proyectar luz incidente sobre la zona de medición del canal serpenteante. Se usó una lente de focalización y un sensor de imagen lineal para detectar luz a través de la zona de medición. La luz incidente sobre los canales fue absorbida por el colorante, mientras que la luz incidente entre los canales pasaba a través del artículo. La FIG. 6B es una representación gráfica de la luz transmitida en función de la posición a través de la zona de medición. Los picos en la FIG. 6B indican la presencia de una gran cantidad de luz parásita entre los canales.

La FIG. 6C incluye un diagrama esquemático que describe la transmisión de luz a través de una zona de medición del canal serpenteante microfluídico con elementos ópticos. Como en el conjunto anterior de experimentos, los canales se llenaron con colorante, que absorbió la luz incidente sobre los canales. La FIG. 6D, como la FIG. 6B, incluye un

diagrama de luz transmitida en función de la posición a través de la zona de medición. Sin embargo, en este caso, los picos correspondientes a las posiciones entre los canales se han reducido drásticamente, lo que significa que la luz parásita entre los canales se ha reducido debido a la presencia de los elementos ópticos. Debido al blindaje proporcionado por los elementos ópticos, cuando se emplean, un solo fotosensor puede proporcionar un rendimiento óptico casi equivalente en comparación con un sensor de imagen lineal más complejo. Esto muestra que pueden usarse sistemas ópticos simplificados en combinación con dispositivos fluidicos descritos en la presente memoria.

Ejemplo 3

10 Reducción de la anchura de las partes intermedias

En este ejemplo, se fabricaron y probaron varias muestras con diversas anchuras de partes intermedias. La FIG. 7A incluye una micrografía y una ilustración esquemática de un dispositivo que comprende elementos ópticos de 120 micrómetros de anchura separados 100 micrómetros entre sí. En la FIG. 7B, los elementos ópticos están separados solo 30 micrómetros entre sí. Los canales se llenaron con colorante (Erioglaucina) en diversas concentraciones, y se tomaron mediciones de las transmisiones a través de la región del canal serpenteante. La FIG. 7C incluye una representación gráfica de la DO neta en función de la concentración de colorante para varios dispositivos que incluyen separaciones entre elementos diversas. Como puede verse a partir de la gráfica, la DO aumenta al aumentar la concentración de colorante y al disminuir la separación entre elementos. La Tabla 1 resume la densidad óptica máxima proyectada teórica (transmisión mínima) y el rendimiento óptico real de estos sistemas.

Tabla 1. Densidades ópticas máximas predichas y medidas para varios dispositivos.			
Anchura del canal	Anchura de las partes intermedias	DO máx. prevista	DO máx. medida
120 μm	50 μm	0,53	0,49
120 μm	60 μm	0,48	0,43
120 μm	70 μm	0,43	0,38
120 μm	80 μm	0,40	0,35
120 μm	90 μm	0,37	0,32
120 μm	100 μm	0,34	0,30

Ejemplo 4

25 Uso de sensores de imagen lineales

Este ejemplo describe el uso de un sensor de imagen lineal junto con los sistemas y procedimientos descritos en la presente memoria.

Se colocó un sensor de imagen lineal debajo de un canal serpenteante como se muestra en la FIG. 8B de manera que los elementos de detección se colocaron debajo de la superficie, incluido el canal. Se montó una lente de focalización entre el sensor y el canal serpenteante, de manera que se proyectó una imagen enfocada del canal sobre la superficie del sensor. La luz colimada se usó para iluminar el canal serpenteante. En una configuración experimental alternativa, el sensor de imagen lineal se colocó inmediatamente debajo del canal serpenteante (es decir, dentro de menos de 0,5 mm), mitigando la necesidad de colocar una lente entre el canal serpenteante y la superficie del detector óptico.

Las mediciones del sistema se realizaron con diversos fluidos en el canal que incluyen líquido de ajuste de índice, colorante diluido en agua y colorante concentrado. Las FIG. 9A-9D incluyen representaciones gráficas de luz transmitida en función de la posición a lo largo del sensor de imagen lineal para diversas concentraciones de colorante. En la FIG. 9A, se usó una baja concentración de colorante (0,05 mg/ml de erioglaucina) en el canal. Las FIG. 9B-9D muestran concentraciones de colorante de 0,4 mg/ml, 1,6 mg/ml y 50 mg/ml, respectivamente. Se transmitió menos luz a través de los canales (es decir, aumentó la absorbancia) a medida que aumentaba la concentración de colorante. Se escribió un programa de software para identificar los píxeles que correspondían a las posiciones dentro del canal. Al seleccionar solo estos píxeles, la transmisión se calculó del modo siguiente:

45

$$T = \frac{\text{Intensidad de luz detectada con canal líquido objetivo}}{\text{Intensidad de luz detectada con líquido ajustado al índice en el canal}} \quad [12]$$

Se calculó un valor de transmisión total promediando las mediciones de todos los píxeles del canal identificados.

- Se obtuvieron imágenes de diversas concentraciones de colorantes en los canales (que corresponden a diversos niveles de absorción en los canales). Las transmisiones se calcularon usando el procedimiento explicado anteriormente y se convirtieron en DO. La FIG. 10 incluye representaciones gráficas de DO en función de la concentración de colorante cuando se usa un único fotodetector (que mide la luz que se desplaza a través de los canales y entre los canales) y cuando se usa un sensor de imagen lineal (píxeles discriminantes). El sensor de imagen lineal suministró un intervalo dinámico mayor de DO correspondiente a un rendimiento superior.
- 5
- Aunque en la presente memoria se han descrito e ilustrado varias realizaciones de la presente invención, los expertos en la materia imaginarán fácilmente otros medios y/o estructuras diversos para realizar las funciones y/u obtener los resultados y/o una o más de las ventajas descritas en la presente memoria, y cada una de dichas variaciones y/o modificaciones se considera dentro del alcance de las reivindicaciones. Por lo tanto, debe entenderse que las realizaciones anteriores se presentan a modo de ejemplo solamente y que, dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.
- 10
- 15 Tal como se definen y usan en la presente memoria, todas las definiciones deben entenderse como prioritarias con respecto a las definiciones del diccionario, las definiciones en documentos incorporados como referencia y/o los significados corrientes de los términos definidos.
- 20 Salvo que se indique claramente lo contrario, debe entenderse que los artículos indefinidos "un" y "una", tal como se usan en el presente documento en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones, significan "al menos uno".
- También debe entenderse que, a menos que se indique claramente lo contrario, en cualquiera de los procedimientos establecidos en la presente memoria que incluyen más de una etapa o acción, el orden de las etapas o acciones del procedimiento no está necesariamente limitado al orden en el que se indican las etapas o acciones del procedimiento.
- 25
- En las reivindicaciones, así como en la memoria descriptiva anterior, debe entenderse que todas las frases de transición como "que comprende", "que incluye", "que soporta", "que tiene", "que contiene", "que implica", "que sostiene", "compuesto por" y similares son abiertas, es decir, significan que incluyen, pero sin carácter limitativo. Solo las frases de transición "que consiste en" y "que consiste esencialmente en" serán frases de transición cerradas o semicerradas, respectivamente.
- 30

**REIVINDICACIONES**

1. Un sistema de ensayo múltiplex que comprende:
  - 5 un artículo (10) que soporta ensayos en fase sólida, comprendiendo dicho artículo un sustrato plano rígido (12) y comprendiendo dos o más regiones de contención de líquido (26, 28, 30) diferentes, comprendiendo cada región de contención de líquido al menos una región de análisis que puede ser interrogada ópticamente, teniendo cada región de análisis uno o más parejas de unión asociadas con una superficie del sustrato, donde dichas parejas de unión se unen a uno o más analitos presentes en una
    - 10 muestra en la región de contención de líquido (26, 28, 30), donde para al menos una región de contención de líquido (26, 28, 30), el uno o más analitos se seleccionan de entre el grupo que consiste en antígeno prostático específico (PSA), PSA libre, PSA complejo, pro-PSA y proteína de calicreína humana (hk2); y
    - 15 un dispositivo óptico (36, 38) configurado para suministrar luz colimada con el fin de iluminar una región de análisis de las dos o más regiones de contención de líquido (26, 28, 30) y detectar luz a partir de la región de análisis iluminada.
  2. El sistema de ensayo múltiplex según la reivindicación 1, donde la pareja de unión a proteínas es un anticuerpo.
    - 20
  3. El sistema de ensayo múltiplex según la reivindicación 1, con la muestra de fluido obtenida de una muestra de sangre entera, suero sanguíneo o plasma sanguíneo.
  4. El sistema de ensayo múltiplex según la reivindicación 1, donde el dispositivo óptico (36, 38) comprende
    - 25 una fuente luminosa (36) y un detector (38).
  5. El sistema de ensayo múltiplex según la reivindicación 1, donde el dispositivo óptico (36, 38) comprende
    - 30 una fuente luminosa y un detector de fotodiodo o un sensor de imagen lineal que detecta luz de una o más regiones de análisis o una cámara o un sistema de imagen.
  6. El sistema de ensayo múltiplex según la reivindicación 4, donde el sustrato plano rígido (12) está
    - 35 colocado entre la fuente luminosa (36) y el detector (38) de manera que un primer lado (20) del sustrato está situado frente al detector (38) y un segundo lado (22) del sustrato se sitúa frente a la fuente luminosa (36) y está expuesto a la luz.
  7. El sistema de ensayo múltiplex según la reivindicación 4, donde el detector (38) está configurado para
    - 40 detectar fotoluminiscencia, fluorescencia, quimioluminiscencia, bioluminiscencia y/o electroquimioluminiscencia.
  8. El sistema de ensayo múltiplex según la reivindicación 1, donde cada región de contención de líquido (26, 28, 30) diferente es una cámara que tiene una profundidad medida en perpendicular a una superficie del sustrato plano rígido (12) y una dimensión en sección transversal paralela a la superficie del sustrato plano rígido.
    - 45
  9. El sistema de ensayo múltiplex según la reivindicación 8, donde la cámara comprende una estructura separada conectada al sustrato plano rígido.
  10. El sistema de ensayo múltiplex según la reivindicación 8, donde la cámara está cubierta o descubierta.
    - 50
  11. El sistema de ensayo múltiplex según la reivindicación 9, donde la estructura separada está conectada al sustrato plano rígido (12) a través de un adhesivo, preferentemente un adhesivo basado en acrílico o silicona, y/o fuerzas de van der Waals.
  - 55 12. El sistema de ensayo múltiplex según la reivindicación 1, donde el sustrato plano rígido (12) es un polietileno, poliestireno, polimetilmetacrilato, policarbonato, poli(dimetilsiloxano), politetrafluoroetileno, tereftalato de polietileno o copolímero de cicloolefina o un sustrato de vidrio, cuarzo o silicio.
  13. El sistema de ensayo múltiplex según la reivindicación 1, donde el sustrato plano rígido (12) es una
    - 60 única pieza integrada de material sin capas unidas.

14. El sistema de ensayo múltiplex según la reivindicación 1, donde el sistema de ensayo múltiplex tiene un volumen total de menos de 5 mililitros, preferentemente menos de 1 mililitro.
- 5 15. El sistema de ensayo múltiplex según la reivindicación 1, donde para al menos una región de contención de líquido (26, 28, 30), el uno o más analitos es uno o más ácidos nucleicos.

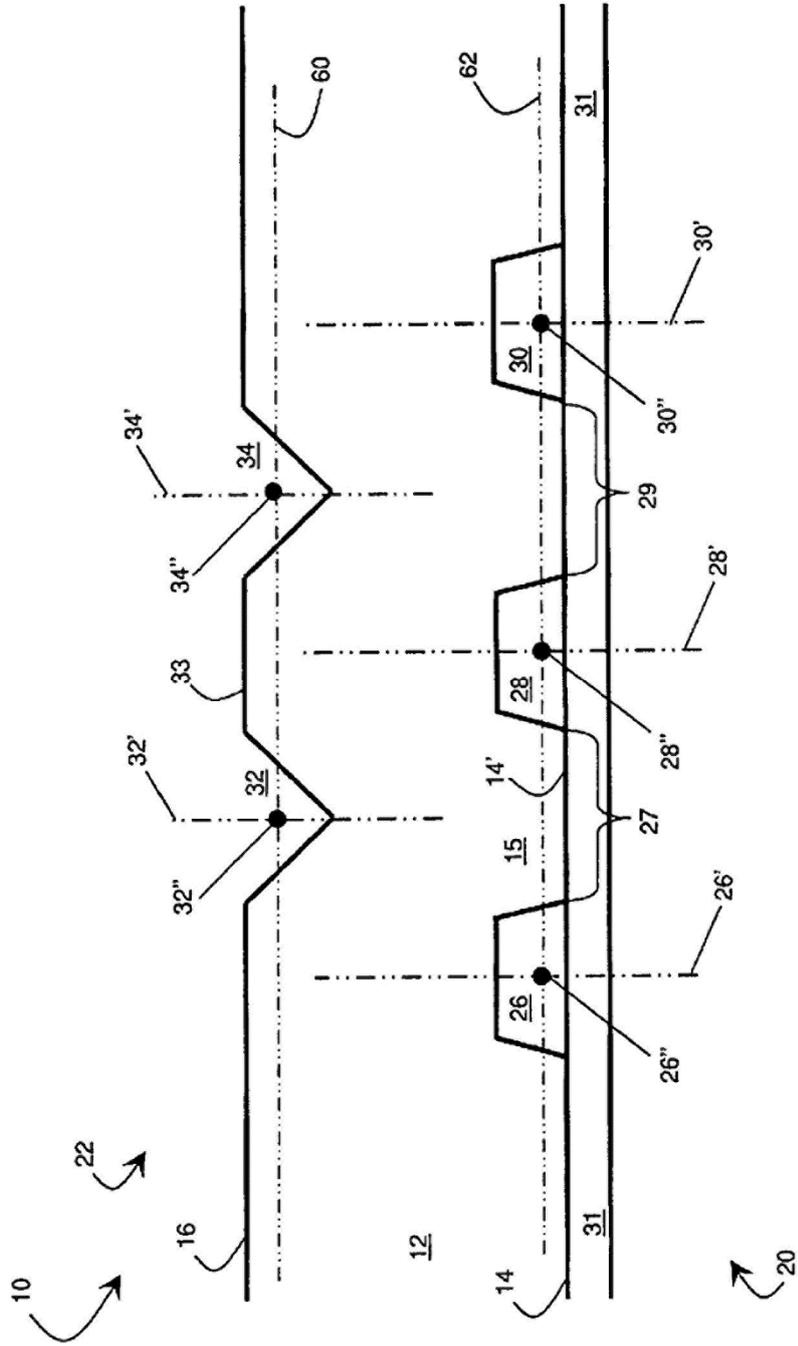


FIG. 1A

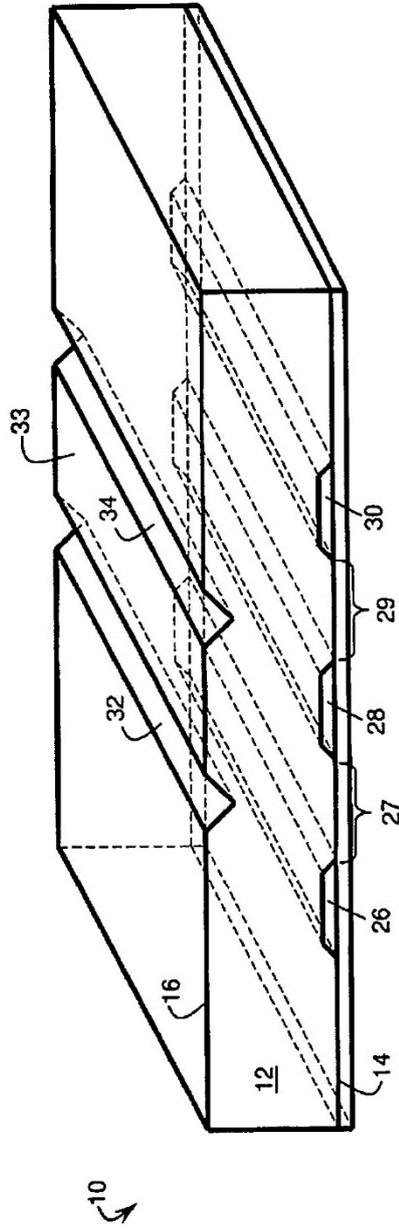


FIG. 1B



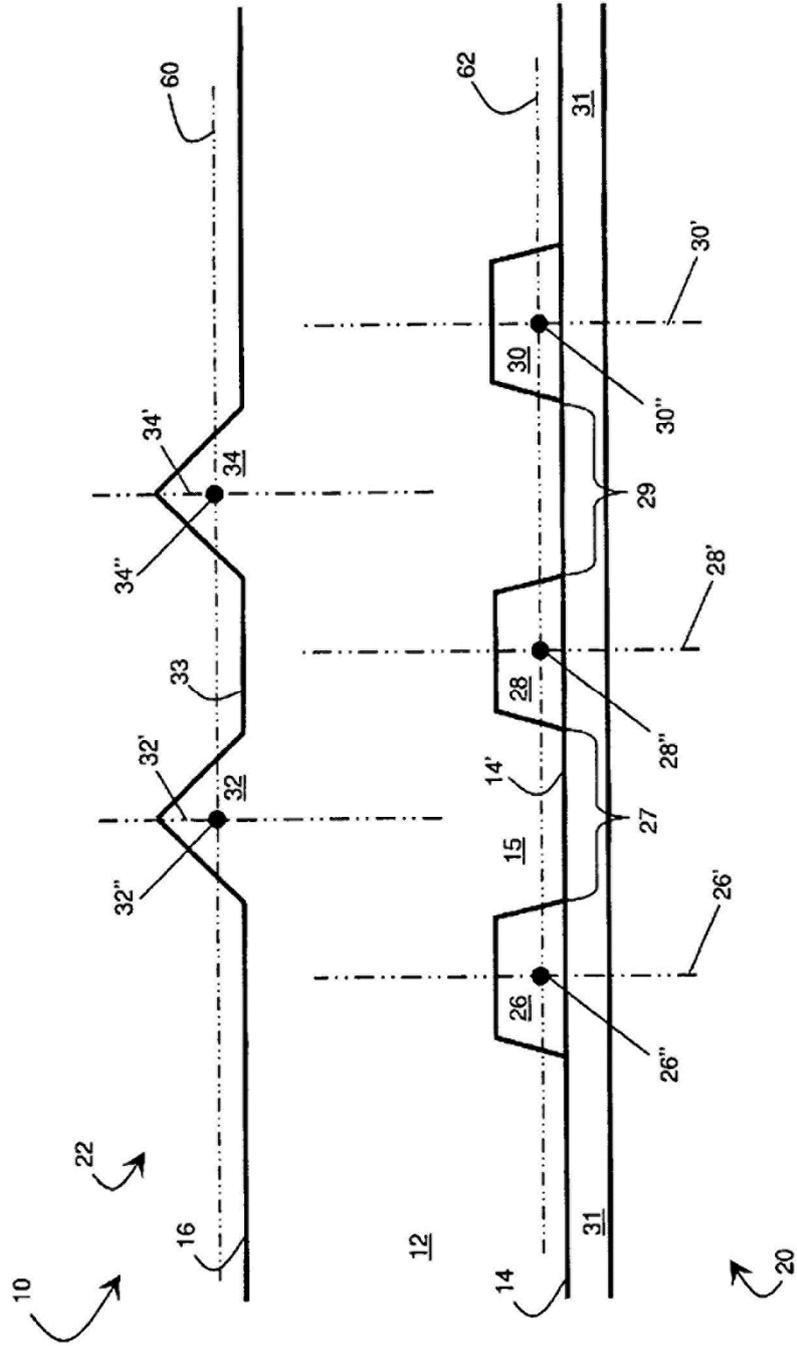


FIG. 1D

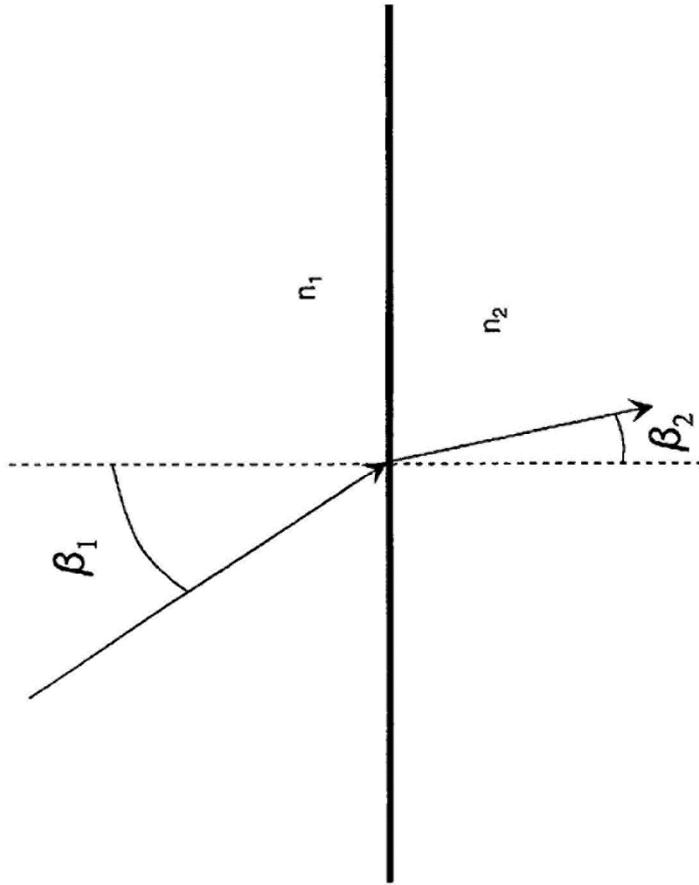


FIG. 1E

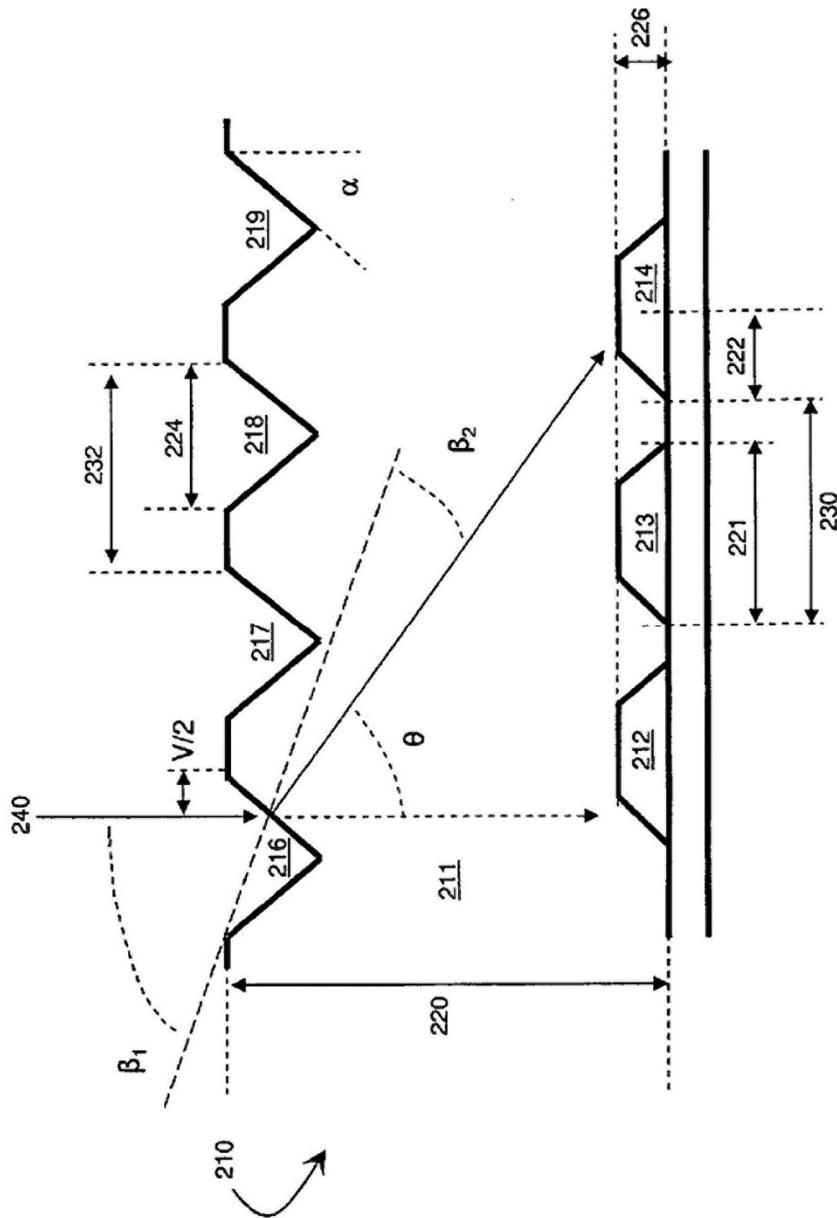


FIG. 2A

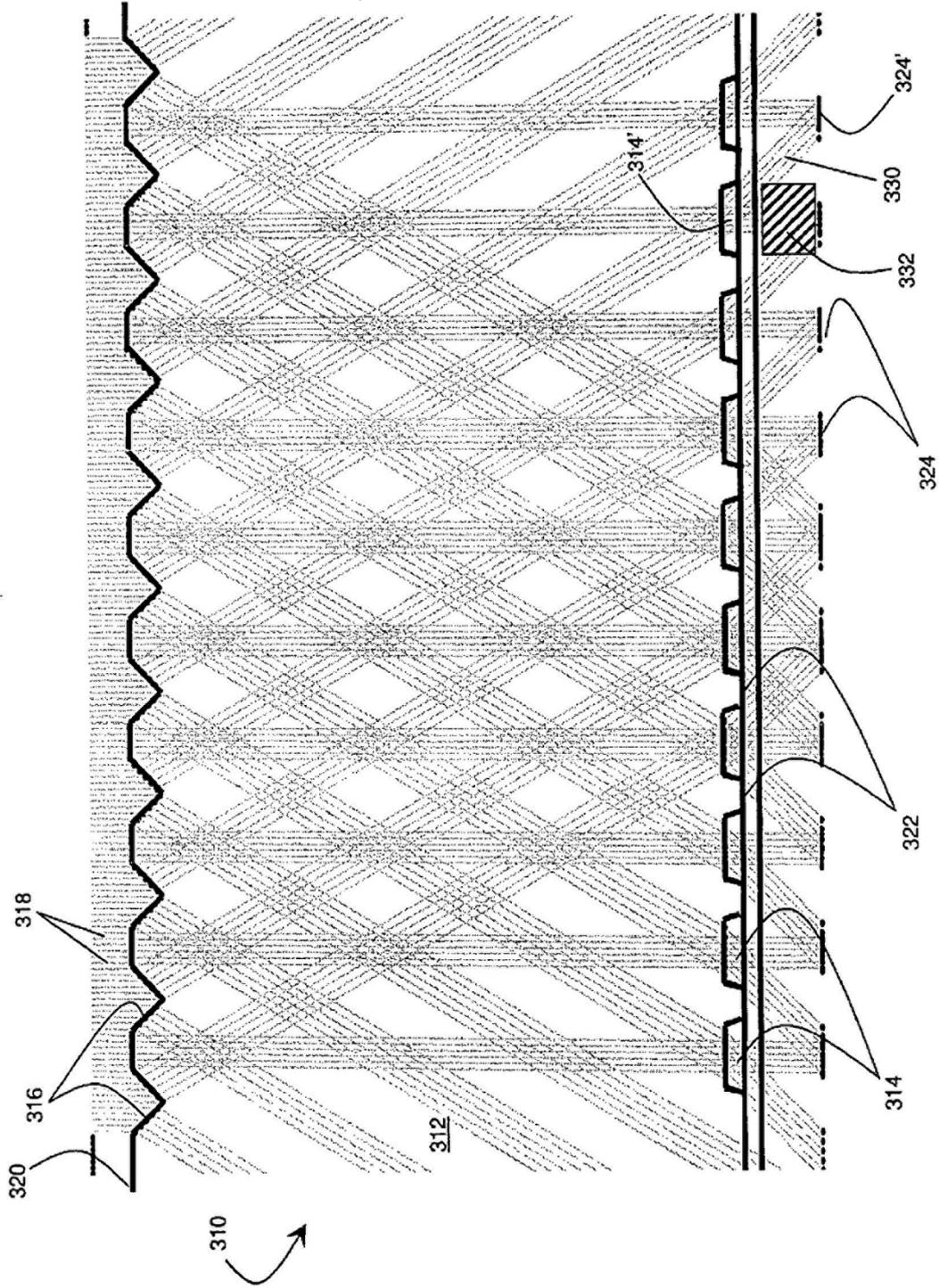


FIG. 2B

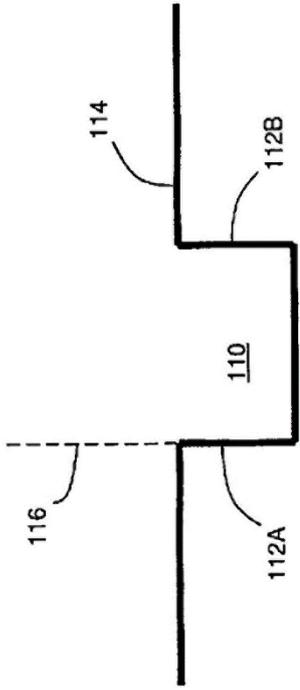


FIG. 3A

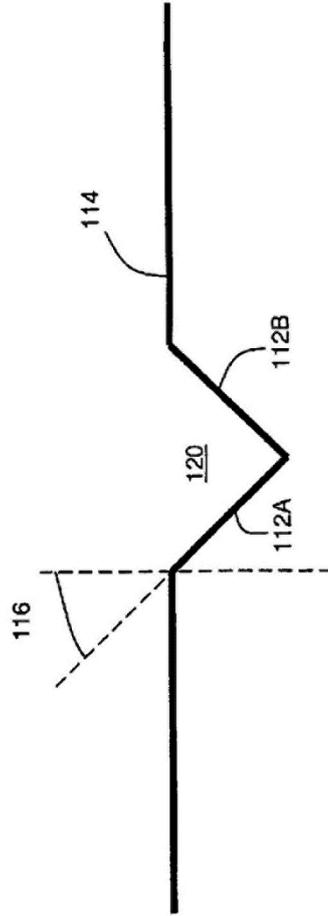


FIG. 3B

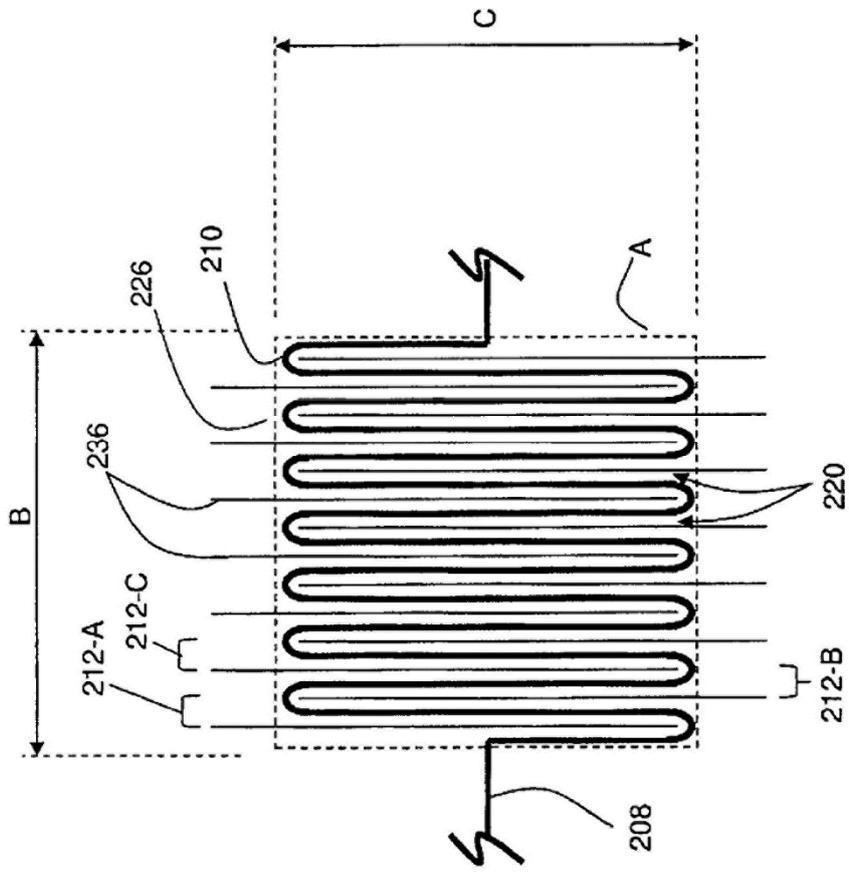


FIG. 3C

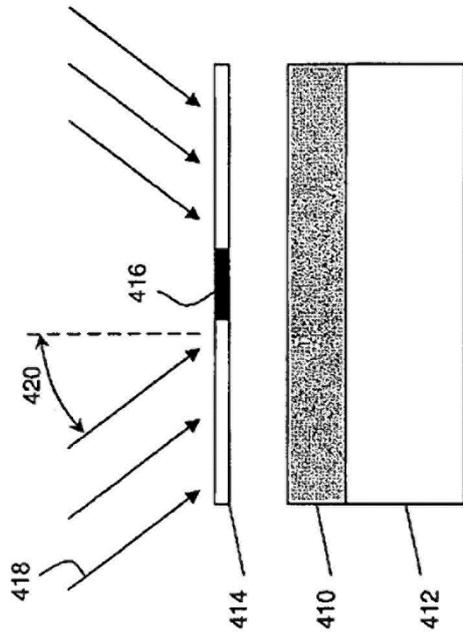


FIG. 4A

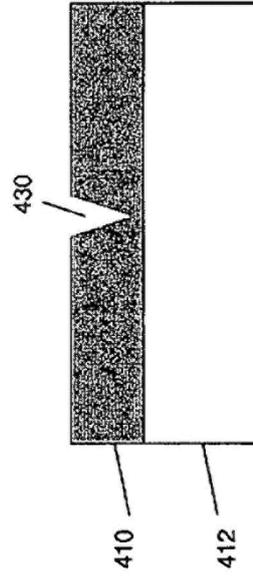


FIG. 4B

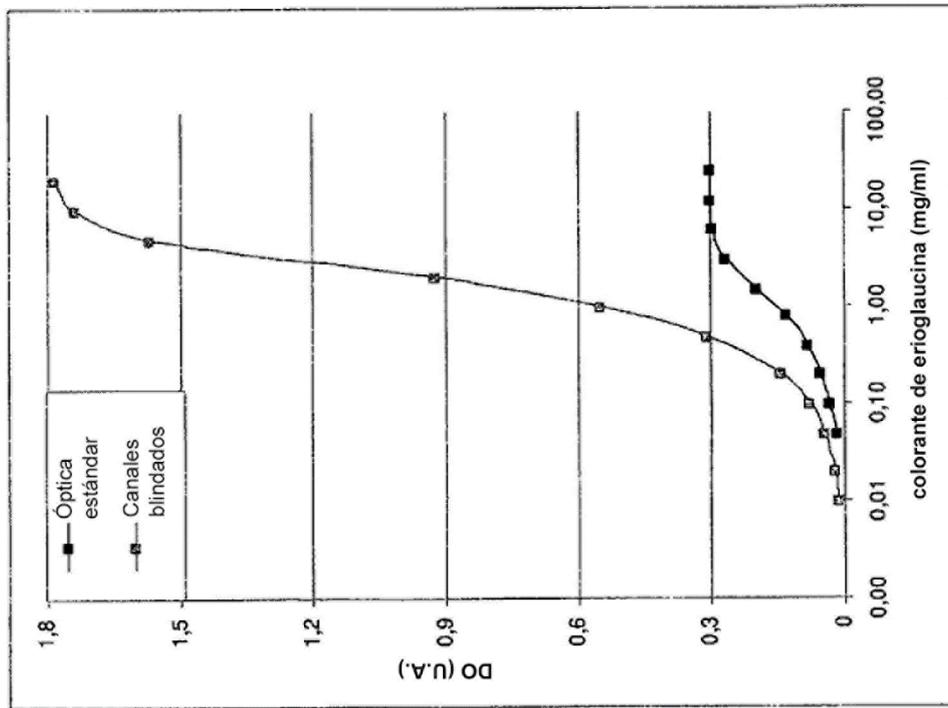


FIG. 5

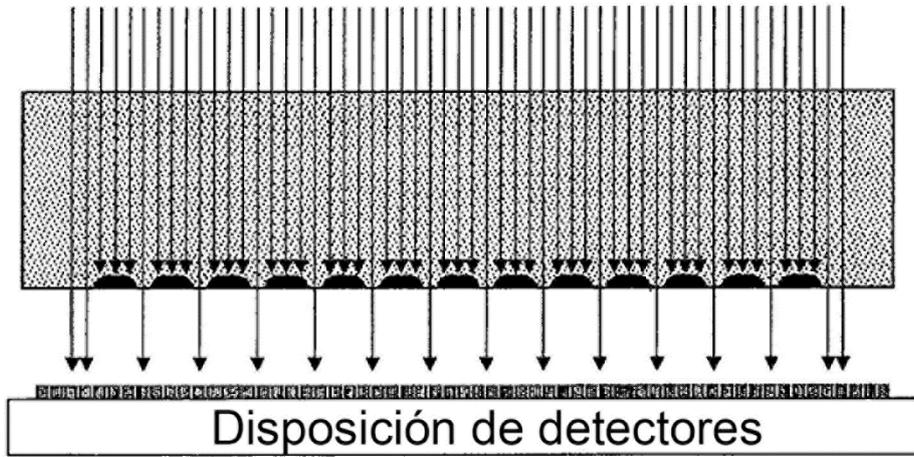


FIG. 6A

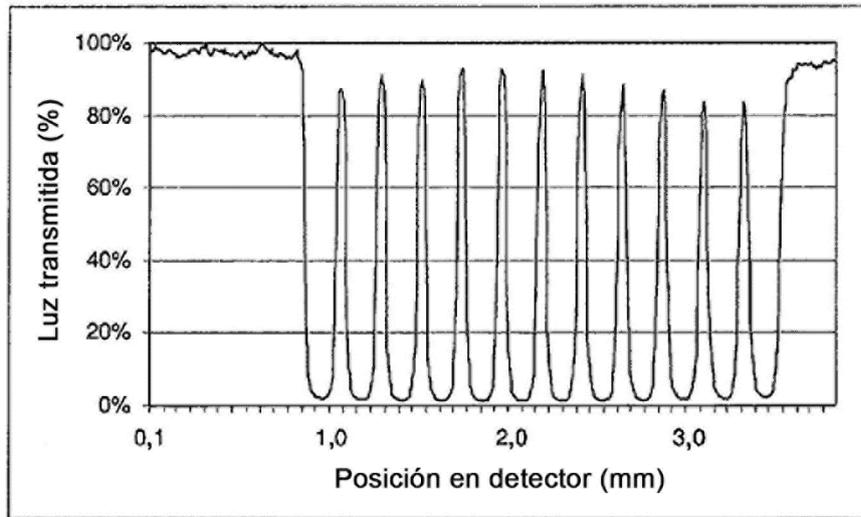


FIG. 6B

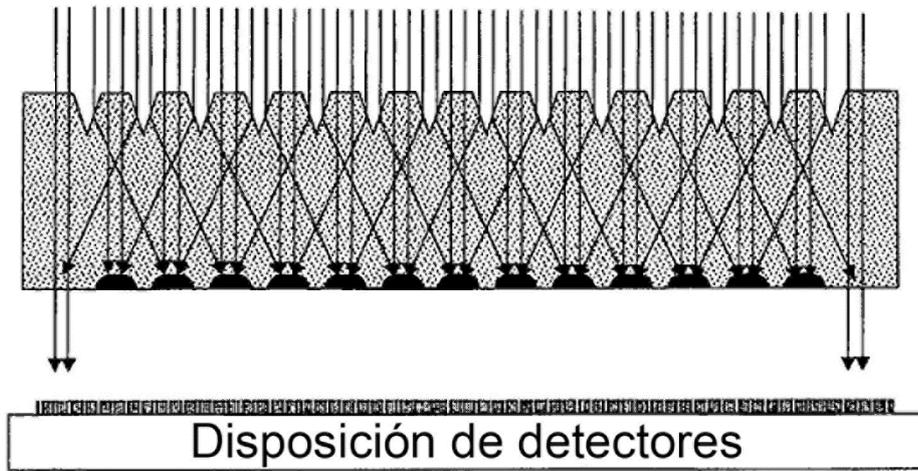


FIG. 6C

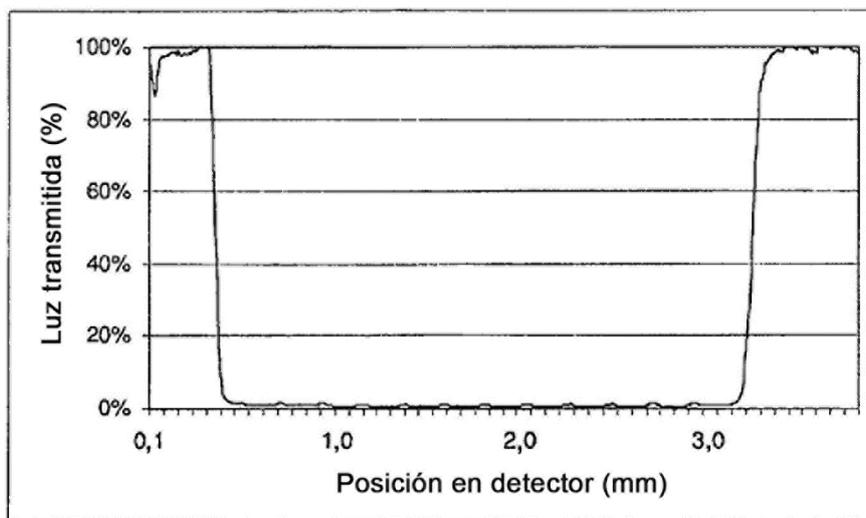


FIG. 6D

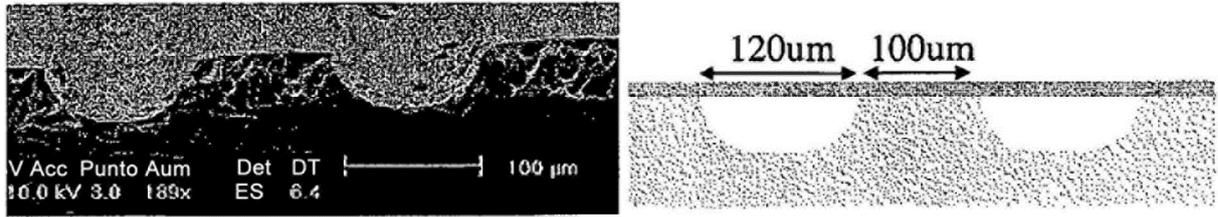


FIG. 7A

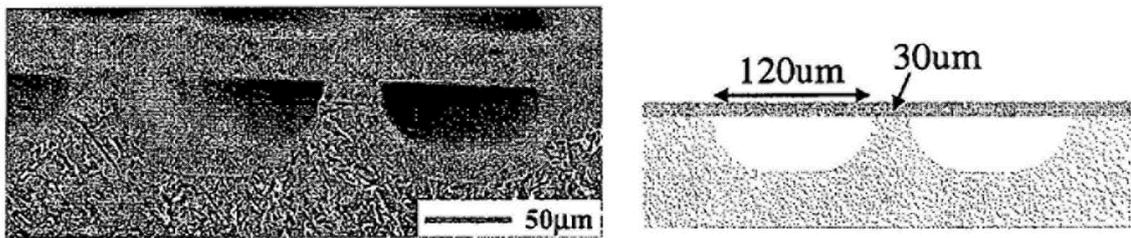


FIG. 7B

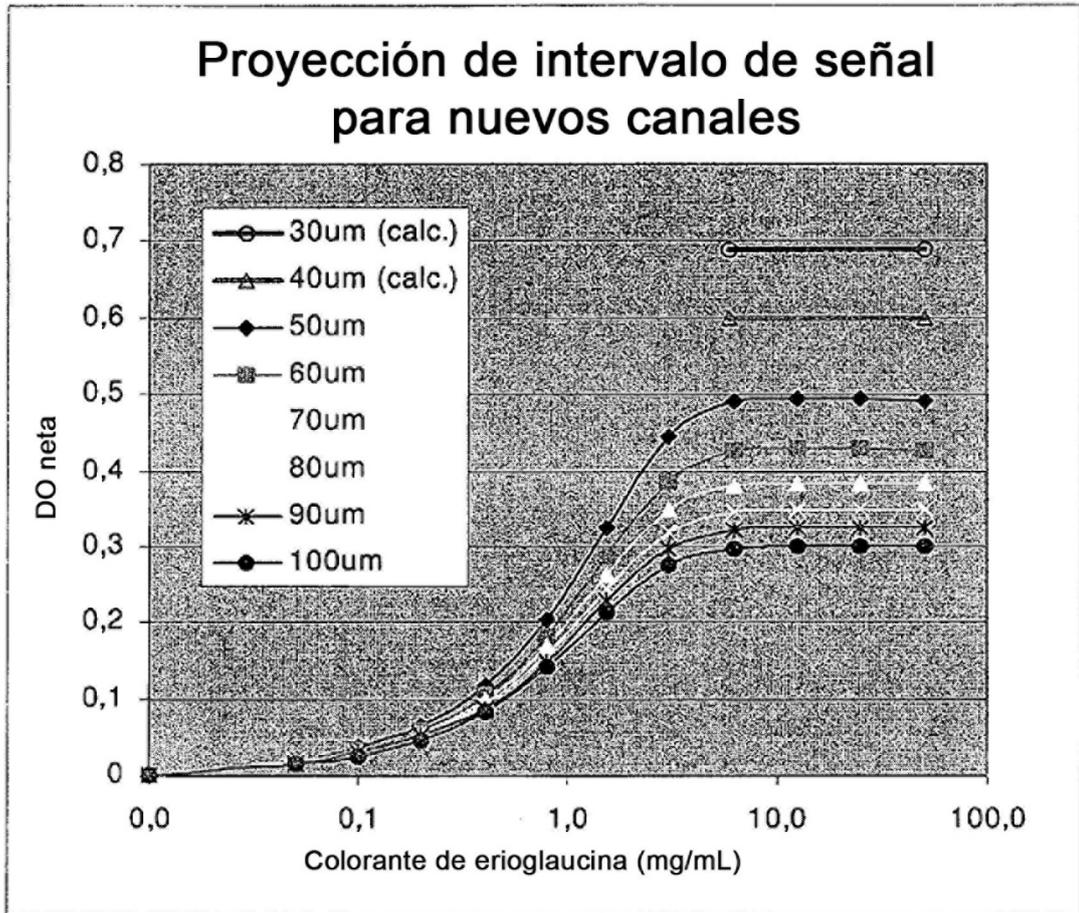


FIG. 7C

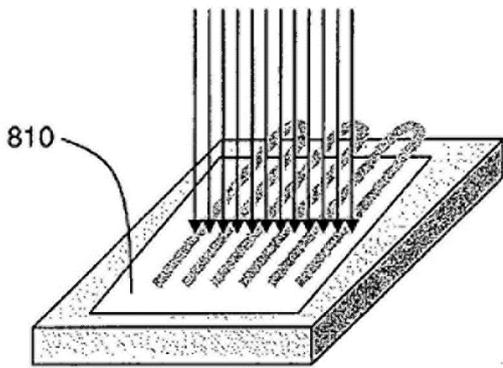


FIG. 8A

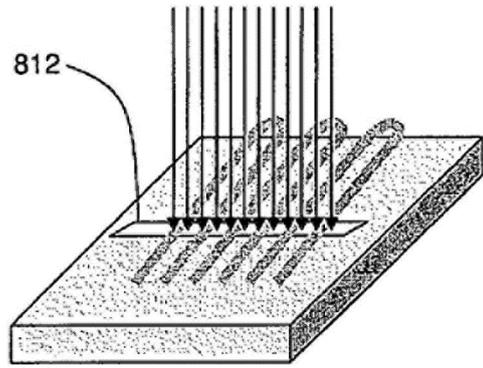


FIG. 8B

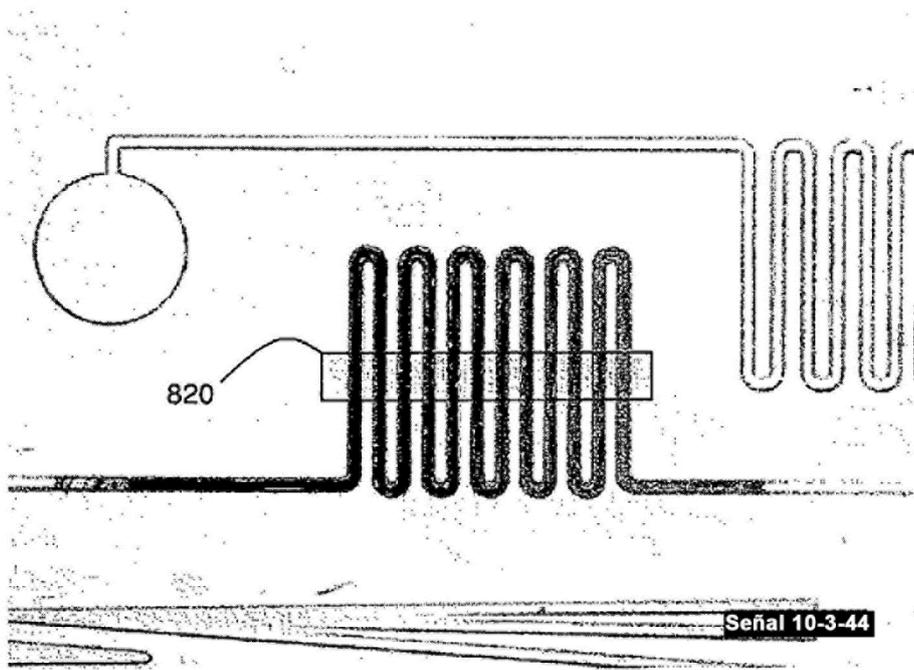


FIG. 8C

Serial 10-3-44

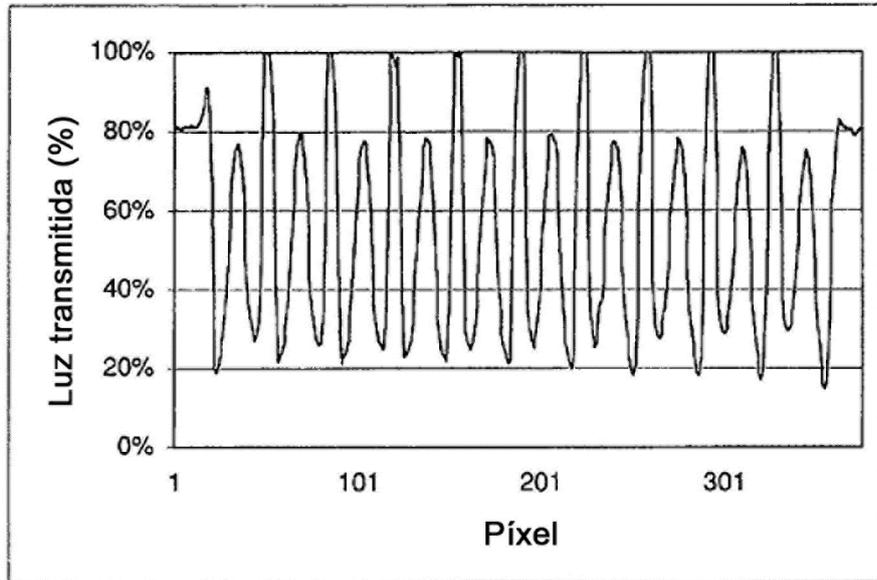


FIG. 9A

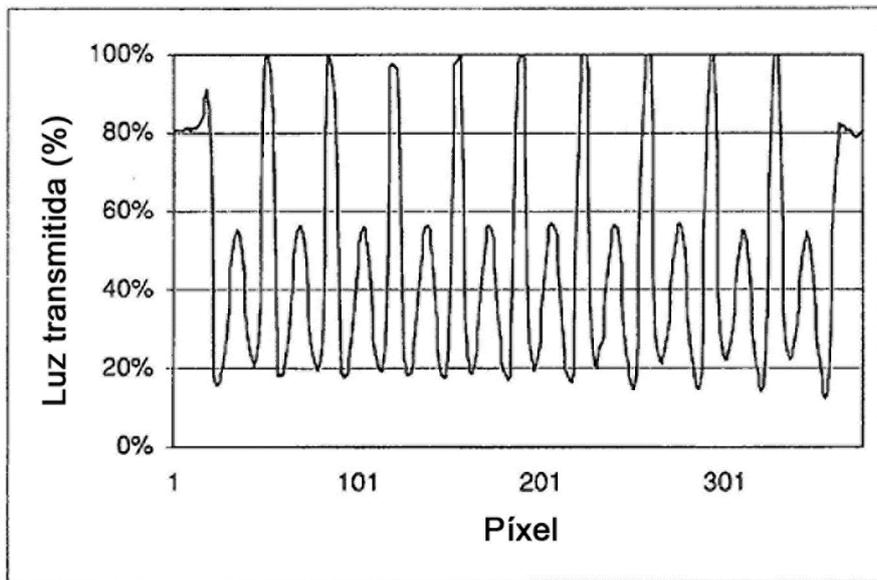


FIG. 9B

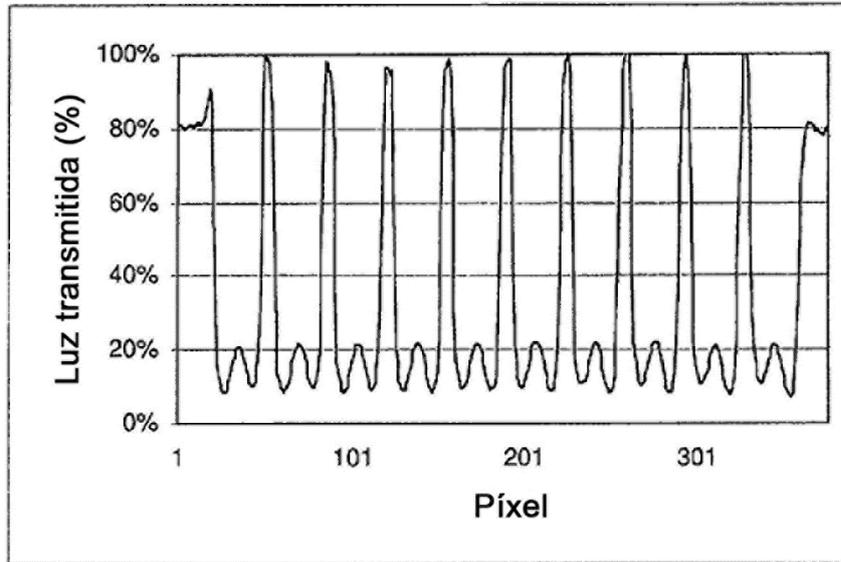


FIG. 9C

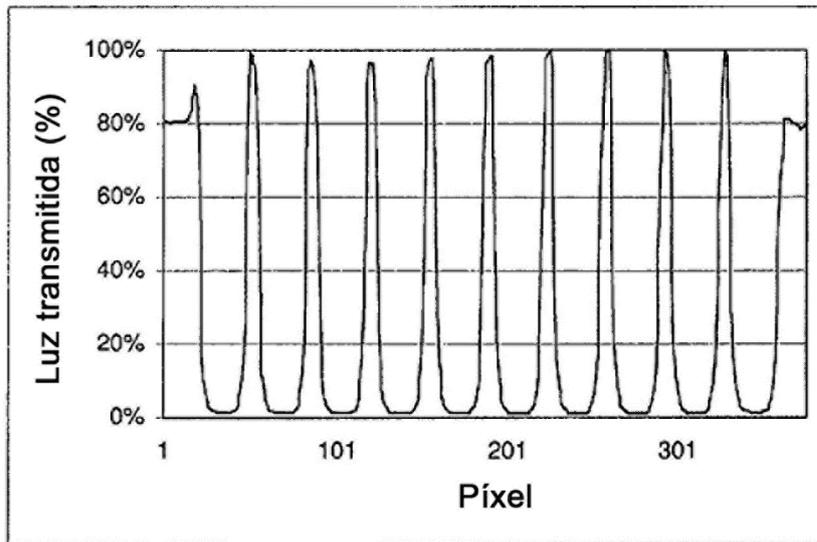


FIG. 9D

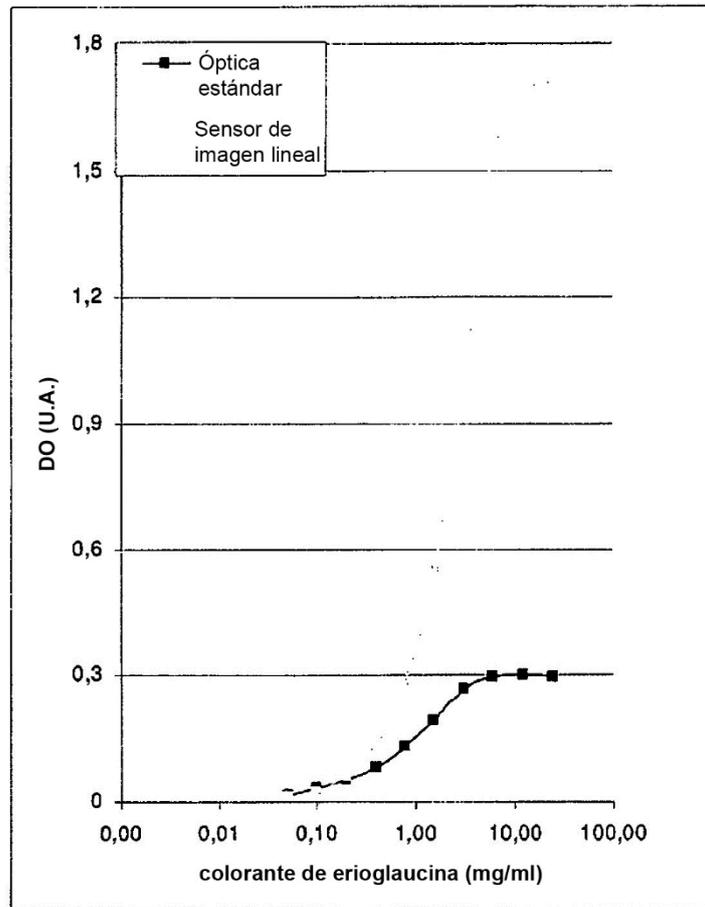


FIG. 10