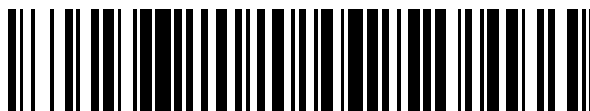


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 818 194**

51 Int. Cl.:

**B01L 3/02** (2006.01)  
**B01J 19/00** (2006.01)  
**B01L 3/00** (2006.01)  
**G01N 33/48** (2006.01)  
**G01N 33/53** (2006.01)  
**G01N 35/00** (2006.01)  
**G01N 35/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.10.2008** **E 17155280 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.07.2020** **EP 3181228**

54 Título: **Dispositivos modulares para puntos de atención y usos de los mismos**

30 Prioridad:

**02.10.2007 US 997460 P**

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

**09.04.2021**

73 Titular/es:

**LABRADOR DIAGNOSTICS LLC (100.0%)**  
**1209 Orange Street**  
**Wilmington, Delaware 19801, US**

72 Inventor/es:

**BURD, TAMMY;**  
**GIBBONS, IAN;**  
**HOLMES, ELIZABETH A.;**  
**FRENZEL, GARY y**  
**NUGENT, ANTHONY JOSEPH**

74 Agente/Representante:

**VIDAL GONZÁLEZ, Maria Ester**

ES 2 818 194 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**

Dispositivos modulares para puntos de atención y usos de los mismos

## 5 Referencia cruzada

Esta solicitud reivindica el beneficio de la Solicitud Provisional de Estados Unidos núm. 60/997,460, presentada el 2 de octubre de 2007, cuya solicitud se incorpora en la presente descripción como referencia en su totalidad.

## 10 Antecedentes de la invención

El descubrimiento de un gran número de biomarcadores de enfermedades y el establecimiento de sistemas médicos miniaturizados han abierto nuevas vías para la predicción, diagnóstico y monitoreo del tratamiento de enfermedades en un entorno de puntos de atención. Los sistemas de punto de atención pueden suministrar rápidamente los resultados de las pruebas al personal médico, a otros profesionales médicos y a los pacientes. El diagnóstico temprano de una enfermedad o la progresión de la enfermedad puede permitir al personal médico comenzar o modificar la terapia de manera oportuna.

La medición de biomarcadores multiplexados puede proporcionar un conocimiento adicional del estado de un paciente. Por ejemplo, al monitorear los efectos de un fármaco, pueden medirse tres o más biomarcadores en paralelo. Típicamente, se han usado placas de microtitulación y otros aparatos similares para realizar ensayos basados en separación multiplexados. Una placa de microtitulación (por ejemplo, una placa de microtitulación de 384 pocillos) puede realizar una gran cantidad de ensayos en paralelo.

En un dispositivo de Puntos de Atención (POC), el número de ensayos que pueden realizarse en paralelo se limita frecuentemente por el tamaño del dispositivo y el volumen de la muestra que se va a analizar. En muchos dispositivos de POC, el número de ensayos realizados es de aproximadamente 2 a 10. Sería conveniente un dispositivo de POC capaz de realizar ensayos multiplexados en una muestra pequeña.

Una deficiencia de muchos dispositivos de ensayo POC multiplexados es el alto costo de fabricación de los componentes del dispositivo. Si el dispositivo es desechable, el alto costo de los componentes puede hacer que la fabricación de un dispositivo de POC no sea práctica. Además, para los dispositivos de POC multiplexados que incorporan todos los reactivos necesarios a bordo del dispositivo, si alguno de esos reactivos presenta inestabilidad, es posible que deba desecharse un lote completo de dispositivos fabricados incluso si todos los demás reactivos aún pueden usarse.

Cuando un cliente se interesa en personalizar un dispositivo de POC para un conjunto particular de analitos, los fabricantes de sistemas de ensayo POC multiplexados se enfrentan frecuentemente a la necesidad de mezclar y emparejar los ensayos y reactivos del dispositivo. Un ensayo POC multiplexado adecuado para cada cliente puede ser muy caro, difícil de calibrar y difícil de mantener el control de calidad.

Los métodos POC han demostrado ser muy valiosos en el monitoreo de la enfermedad y la terapia (por ejemplo, sistemas de glucosa en sangre en la terapia de la diabetes, medición del tiempo de protrombina en la terapia anticoagulante mediante el uso de warfarina). Al medir múltiples marcadores, se cree que las enfermedades complejas (tales como el cáncer) y las terapias tales como la terapia con múltiples fármacos para el cáncer pueden monitorearse y controlarse mejor.

Se observa que: el documento US2007/224084 se refiere al procesamiento de muestras y el control de fluidos en un sistema de fluidos, el documento US6291249 se refiere a un aparato para la separación de fluidos biológicos, el documento WO2007/002579 se refiere a cartuchos de ensayo y métodos para instrumentos POC, el documento WO2006/090154 se refiere a un método de ensayo, el documento US6063341 se refiere a un dispositivo de procesamiento desechable, el documento JP2005010179 se refiere a un recipiente, el documento EP1722235 se refiere a un dispositivo para capturar perlas y el método y aparato para crear matrices de perlas, el documento WO95/08774 se refiere a un sistema analítico automatizado de acceso continuo y aleatorio, y Gibbons I y otros, septiembre de 1989, Clinical Chemistry, vol. 35, núm. 9, páginas 1869-1873, se titula "Patient-side immunoassay system with a single-use cartridge for measuring analytes in blood".

## Resumen de la invención

Por lo tanto, existe aún una necesidad insatisfecha de diseños alternativos de dispositivos de POC. Un diseño conveniente proporciona superficies de captura y elementos de incubación de ensayo modulares. Además, las superficies de captura y los elementos de incubación de ensayo modulares deben integrarse en POC desechables adecuados para los métodos de fabricación justo a tiempo (TIT). Sería conveniente proporcionar un dispositivo de POC personalizable a un costo práctico para el usuario y el fabricante. La presente invención aborda estas necesidades y proporciona también ventajas relacionadas.

- 5 En un aspecto, se describe un cartucho para la detección automatizada de un analito en una muestra de fluido corporal que comprende: una matriz de unidades de ensayo direccionables configuradas para ejecutar una reacción química que produce una señal detectable indicativa de la presencia o ausencia del analito; y una matriz de unidades de reactivos direccionables, en donde una unidad de reactivo direccionable individual de la matriz se direcciona para corresponder a una unidad de ensayo direccionable individual de la matriz de unidades de ensayo, y en donde las unidades de reactivos individuales se configuran para calibrarse en referencia a la correspondiente unidad de ensayo individual antes de ensamblar las matrices en el cartucho. El dispositivo puede comprender, además, una unidad de recolección de muestras configurada para recibir la muestra de fluido corporal.
- 10 En otro aspecto, se describe un cartucho para la detección automatizada de un analito en una muestra de fluido corporal que comprende: una unidad de recolección de muestras configurada para recibir la muestra de fluido corporal; una matriz de unidades de ensayo configurada para recibir una porción de la muestra de la unidad de recolección de muestras y ejecutar una reacción química que produce una señal detectable indicativa de la presencia del analito en la muestra; y una matriz de unidades de reactivo que contienen reactivos para ejecutar la reacción química; en donde una unidad de ensayo individual de la matriz de unidades de ensayo y una unidad de reactivo individual de la matriz de unidades de reactivos se configuran para moverse en comunicación continua de manera que los reactivos para ejecutar la reacción química se ponen en contacto con la muestra de fluido corporal en la unidad de ensayo.
- 15 Una unidad de reactivos individual puede configurarse para recibir una unidad de ensayo móvil. En algunas modalidades, la unidad de ensayo individual comprende una punta de ensayo. En algunas modalidades, la unidad de ensayo individual se configura para ejecutar un inmunoensayo.
- 20 La muestra de fluido corporal puede ser una muestra de sangre. En algunos casos, una unidad de recolección de muestras se configura para recibir un volumen de la muestra de fluido corporal de aproximadamente 50, 20, 10, 5 o 3 microlitros o menos. En un caso, la unidad de recolección de muestras se configura para recibir un volumen de la muestra de fluido corporal equivalente a una sola gota de sangre.
- 25 Un dispositivo como se describe en la presente descripción puede comprender una unidad de pretratamiento configurada para recuperar una porción de la muestra de fluido corporal para ejecutar la reacción química para detectar el analito y la unidad de pretratamiento puede configurarse para recuperar plasma de la muestra de sangre total recibida en la unidad de recolección de muestras.
- 30 En un aspecto, se describe en la presente descripción un sistema para la detección automática de un analito en una muestra de fluido corporal que comprende: un dispositivo como se describe en la presente descripción; y un ensamble de detección para detectar la señal detectable indicativa de la presencia o ausencia del analito. El sistema puede comprender, además, un dispositivo mecánico programable configurado para mover la unidad de ensayo individual desde una primera ubicación hacia una segunda ubicación. En algunos casos, un sistema comprende un dispositivo de transferencia de fluidos. El dispositivo de transferencia de fluidos puede ser una pipeta y puede automatizarse. Un sistema puede comprender, además, un ensamble de comunicación para transmitir un protocolo basado en el analito a detectar. En algunos casos, un sistema en la presente descripción comprende un bloque de calentamiento configurado para recibir una unidad de ensayo individual y puede comprender, además, un bloque magnético, por ejemplo, que puede usarse para la separación de los glóbulos rojos de la muestra.
- 35 En otro aspecto, se describe un sistema para la detección automatizada de una pluralidad de analitos en una muestra de fluido corporal, que comprende: un dispositivo de fluidos que comprende: una unidad de recolección de muestras configurada para contener la muestra de fluido corporal; una matriz de unidades de ensayo, en donde una unidad de ensayo individual de dicha matriz de unidades de ensayo se configura para ejecutar una reacción química que produce una señal indicativa de que se detecta un analito individual de dicha pluralidad de analitos; y una matriz de unidades de reactivos, en donde una unidad de reactivos individual de dicha matriz de unidades de reactivos contiene un reactivo; y un dispositivo de transferencia de fluidos que comprende una pluralidad de cabezales, en donde un cabezal individual de la pluralidad de cabezales se configura para acoplarse a la unidad de ensayo individual, y en donde dicho dispositivo de transferencia de fluidos comprende un procesador programable configurado para dirigir la transferencia de fluidos de la muestra de fluido corporal a partir de la unidad de recolección de muestras y el reactivo a partir la unidad de reactivos individual hacia la unidad de ensayo individual. En algunas modalidades, la configuración del procesador para dirigir la transferencia de fluidos realiza un grado de dilución de la muestra de fluido corporal en la matriz de unidades de ensayo para llevar las señales indicativas de la pluralidad de analitos que se detectan dentro de un intervalo detectable, de manera que dicha pluralidad de analitos es detectable con dicho sistema.
- 40 En algunos casos, una muestra de fluido corporal comprende al menos dos analitos que están presentes en concentraciones que difieren en al menos 2, 5, 10, 15, 50 o 100 órdenes de magnitud. El grado de dilución de la muestra de fluido corporal puede llevar las señales indicativas de los al menos dos analitos dentro del intervalo detectable.
- 45 Un sistema de la presente descripción puede comprender, además, un detector configurado para detectar intensidades de señal en el intervalo detectable. Un detector ilustrativo es un fotomultiplicador y un intervalo detectable del detector puede ser de aproximadamente 20 a aproximadamente 10 millones de recuentos.
- 50
- 55
- 60
- 65

En algunas modalidades, en donde el cabezal individual de un dispositivo de transferencia de fluidos se configura para adherirse a la unidad de ensayo individual. La unidad de ensayo individual puede proporcionar un sitio de reacción de inmunoensayo. En algunos casos, la unidad de ensayo individual es una punta de pipeta. El dispositivo de transferencia de fluidos puede ser una pipeta, tal como una pipeta de desplazamiento de aire. El dispositivo de transferencia de fluidos puede comprender, además, un motor en comunicación con el procesador programable, en donde el motor puede mover dicha pluralidad de cabezales basado en un protocolo a partir de dicho procesador programable.

En otro aspecto, se describe en la presente descripción un sistema para la detección automatizada de una pluralidad de analitos en una porción de plasma de una muestra de sangre total, que comprende: un dispositivo configurado para recibir y procesar automáticamente la muestra de sangre total para producir la porción de plasma, a partir de la cual a bordo del dispositivo se genera una señal detectable indicativa de la presencia o ausencia del analito de interés; y un conjunto de detección para detectar la señal detectable indicativa de la presencia o ausencia del analito.

En un aspecto, se proporciona en la presente descripción un método para detectar un analito en una muestra de fluido corporal que comprende: proporcionar una muestra de sangre a un dispositivo como se describe en la presente descripción; permitir que dicha muestra reaccione dentro de al menos una unidad de ensayo; y detectar dicha señal detectable generada a partir de dicho analito recolectado en dicha muestra de fluido corporal. La muestra de fluido corporal puede ser sangre y el método puede comprender recuperar plasma a partir de la sangre.

En un aspecto como se proporciona en la presente descripción, un método para el ensamble a pedido de un cartucho para la detección automatizada de un analito en una muestra de fluido corporal, en donde el dispositivo comprende una carcasa, dicha carcasa comprende: una matriz de unidades de ensayo direccionables, en donde una unidad de ensayo individual de la matriz se configura para ejecutar una reacción química que produce una señal detectable indicativa de la presencia o ausencia del analito; y una matriz de unidades de reactivos direccionables, en donde una unidad de reactivos individual de la matriz se direcciona para que corresponda con la unidad de ensayo individual, dicho método comprende: (i) colocar de acuerdo con el analito a detectar una matriz de unidades de ensayo direccionables, en donde una unidad de ensayo individual de la matriz se configura para ejecutar una reacción química que detecta un analito de interés solicitado por dicho usuario final, en la carcasa; (ii) colocar de acuerdo con el analito a detectar una matriz de unidades de reactivos, en donde una unidad de reactivos individual de la matriz corresponde a la unidad de ensayo individual, en la carcasa; y (iii) asegurar las matrices de (i) y (ii) dentro de la carcasa del dispositivo. El método puede comprender seleccionar un analito a detectar. En algunas modalidades, el método comprende sellar el cartucho. En una modalidad, el método comprende marcar el cartucho con una etiqueta legible que indica el analito a detectar, por ejemplo, con un código de barras o RFID.

En un aspecto, se proporciona un método para la detección automatizada de una pluralidad de analitos en una muestra de fluido corporal, que comprende: proporcionar la muestra de fluido corporal a un dispositivo de fluidos, en donde el dispositivo de fluidos comprende: una unidad de recolección de muestras configurada para contener la muestra de fluido corporal; una matriz de unidades de ensayo, en donde una unidad de ensayo individual de dicha matriz de unidades de ensayo se configura para ejecutar una reacción química que produce una señal indicativa de que se detecta un analito individual de dicha pluralidad de analitos; y una matriz de unidades de reactivo, en donde una unidad de reactivo individual de dicha matriz de unidades de reactivo contiene un reactivo; acoplar la unidad de ensayo individual mediante el uso de un dispositivo de transferencia de fluidos; transferir la muestra de fluido corporal desde la unidad de recolección de muestras a la unidad de ensayo individual mediante el uso del dispositivo de transferencia de fluidos; y transferir el reactivo desde la unidad de reactivos individual a la unidad de ensayo individual, lo que hace reaccionar de esta manera el reactivo con la muestra de fluido corporal para producir la señal indicativa del analito individual de la pluralidad de analitos que se detectan.

En una modalidad, el dispositivo de transferencia de fluidos comprende una pluralidad de cabezales, en donde un cabezal individual de la pluralidad de cabezales se configura para acoplarse a la unidad de ensayo individual; y en donde dicho dispositivo de transferencia de fluidos comprende un procesador programable configurado para dirigir la transferencia de fluidos de la muestra de fluido corporal a partir de la unidad de recolección de muestras y el reactivo a partir de la unidad de reactivos individual hacia la unidad de ensayo individual. El método puede comprender, además, proporcionar instrucciones al procesador programable, en donde las instrucciones pueden dirigir la etapa de transferir la muestra de fluido corporal a la unidad de ensayo individual.

En una modalidad, la etapa de transferir la muestra de fluido corporal realiza un grado de dilución de la muestra de fluido corporal en la unidad de ensayo individual para llevar la señal indicativa del analito individual de la pluralidad de analitos que se detecta dentro de un intervalo detectable. La muestra de fluido corporal puede comprender al menos dos analitos individuales que están presentes en concentraciones que difieren en al menos 2, 5, 10, 15, 50 o 100 órdenes de magnitud. En algunos casos, el grado de dilución de la muestra de fluido corporal lleva las señales indicativas de los al menos dos analitos individuales dentro del intervalo detectable. En una modalidad, el intervalo detectable es de aproximadamente 1000 a aproximadamente 1 millón de recuentos por segundo mediante el uso de un fotomultiplicador.

En una modalidad, el reactivo en la unidad de reactivos individual es un sustrato enzimático para un inmunoensayo y el método puede comprender, además, repetir la etapa de transferir el reactivo desde la unidad de reactivo individual después de que la reacción para producir la señal indicativa del analito individual de la pluralidad de analitos que se detectan se completa, lo que crea de esta manera una segunda reacción para producir una segunda señal indicativa del analito individual. Puede promediarse una intensidad de la señal y una segunda intensidad de la segunda señal indicativa del analito individual para calcular la intensidad final de la señal indicativa del analito individual.

En un aspecto, se describe en la presente descripción un método para medir un volumen de una muestra líquida, que comprende: hacer reaccionar una cantidad conocida de un analito de control en una muestra líquida con un reactivo para producir una señal detectable indicativa del analito de control; y comparar dicha señal detectable con una señal detectable esperada, en donde la señal esperada es indicativa de un volumen esperado de la muestra líquida, y en donde dicha comparación proporciona una medida de dicho volumen de dicha muestra líquida que se mide. En algunos casos, el analito de control no está normalmente presente en dicha muestra líquida en una cantidad detectable. El método puede comprender verificar el volumen de dicha muestra líquida cuando la medición del volumen de la muestra está dentro de aproximadamente el 50 % del volumen esperado de la muestra líquida. En una modalidad, el método comprende, además: hacer reaccionar una muestra de fluido corporal que contiene un analito objetivo con un reactivo para producir una señal detectable indicativa del analito objetivo; y medir la cantidad del analito objetivo en la muestra de fluido corporal mediante el uso de una intensidad de dicha señal detectable indicativa del analito objetivo y la medición de dicho volumen de dicha muestra líquida. La muestra líquida y la muestra de fluido corporal pueden ser la misma muestra y el analito de control no reacciona con el analito objetivo en la muestra de fluido corporal. En algunos casos, la muestra líquida y la muestra de fluido corporal son muestras líquidas diferentes. El analito de control puede ser, por ejemplo, albúmina marcada con fluoresceína, IgG marcada con fluoresceína, anti-fluoresceína, anti-digoxigenina, albúmina marcada con digoxigenina, IgG marcada con digoxigenina, proteínas biotiniladas, IgG no humana.

En otro aspecto, se proporciona en la presente descripción un método para recuperar plasma a partir de una muestra de sangre que comprende: mezclar una muestra de sangre en presencia de partículas magnetizables en una unidad de recolección de muestras, en donde las partículas magnetizables comprenden una superficie de captura de anticuerpos para unirse a porciones que no son plasma de la muestra de sangre; y aplicar un campo magnético sobre un área de recolección de plasma a la muestra de sangre mixta para efectuar la suspensión de las porciones que no son plasma de la muestra de sangre en la parte superior del área de recolección de plasma. En algunos casos, la unidad de recolección de muestras es un tubo capilar. La muestra de sangre puede ser menos de aproximadamente 20 microlitros y el plasma recuperado puede ser menos de aproximadamente 10 microlitros. En algunos casos, la muestra de sangre no se diluye. En algún caso, la mezcla se produce en presencia de anticuerpos no unidos a una superficie sólida. La mezcla puede comprender mezclar mediante la acción de una jeringa.

En aún otro aspecto, se proporciona en la presente descripción un método de uso de un inmunoensayo automatizado para detectar un analito presente en una porción de plasma de una muestra de sangre total, que comprende: proporcionar una muestra de sangre total a un dispositivo que se configura para recibir y procesar automáticamente a bordo la muestra de sangre total para producir la porción de plasma, a partir de la cual se genera a bordo una señal detectable indicativa de la presencia o ausencia del analito de interés; detectar dicha señal que es indicativa de la presencia o ausencia del analito en dicha muestra de fluido corporal; y transmitir el resultado de (b) a un usuario final. El inmunoensayo puede ser un ELISA. En algunos casos, el resultado se transmite de forma inalámbrica.

En algunas modalidades, un método como se describe en la presente descripción se lleva a cabo en un sistema como se describe en la presente descripción.

#### Incorporación como referencia

Todas las publicaciones y solicitudes de patente mencionadas en esta descripción se incorporan en la presente descripción como referencia en la misma medida que si cada publicación individual o solicitud de patente se indicara específica e individualmente para incorporarse como referencia.

#### Breve descripción de los dibujos

Muchas características novedosas de la invención se exponen con particularidad en las reivindicaciones adjuntas. Se obtendrá una mejor comprensión de las características y ventajas de la invención por referencia a la siguiente descripción detallada que expone modalidades ilustrativas, en las que se usan muchos principios de la invención, y los dibujos adjuntos de los cuales:

La Figura 1 ilustra un dispositivo ilustrativo de la invención que comprende unidades de ensayo, unidades de reactivos y otros componentes modulares del dispositivo.

La Figura 2 ilustra dos vistas en corte lateral del dispositivo ilustrativo de la Figura 1 que comprende cavidades en la carcasa del dispositivo conformadas para alojar una unidad de ensayo, una unidad de reactivos y una punta de muestreo.

La Figura 3A muestra una unidad de ensayo ilustrativa que comprende una pequeña punta o formación tubular.

La Figura 3B muestra un ejemplo de una punta de muestreo como se describe en la presente descripción.

Las Figuras 4A y 4B ilustran dos ejemplos de una unidad de reactivo que comprende una copilla.

La Figura 5 muestra un ejemplo de un sistema que comprende un dispositivo y un dispositivo de transferencia de fluidos.

5 La Figura 6 ilustra un sistema ilustrativo de la invención que comprende un bloque de calentamiento para el control de la temperatura y un detector.

La Figura 7 muestra un sistema ilustrativo en donde un paciente suministra sangre a un dispositivo y después el dispositivo se inserta en un lector.

La Figura 8 ilustra el flujo del proceso de construcción de un sistema para evaluar el estado médico de un paciente.

10 Las Figuras 9A a 9E demuestran un ejemplo de un método de separación de plasma en donde se ha aspirado una muestra de sangre total en una punta de muestreo y se mezcla y se suspende un reactivo magnético con la muestra, después se aplica un campo magnético a la mezcla de la muestra de sangre total y el reactivo magnético. La muestra de plasma sanguíneo separado puede distribuirse después en un pocillo de un dispositivo.

15 La Figura 10 demuestra un método ilustrativo de un ensayo de control como se describe en la presente descripción que comprende una cantidad conocida de analito de control.

La Figura 11 ilustra una película delgada, por ejemplo, contaminación, dentro de la punta cuando se expulsa un líquido y se aspira otro líquido.

La Figura 12 ilustra una curva de calibración que correlaciona una unidad de ensayo y una unidad de reactivo para realizar un ensayo para VEGFR2.

20 La Figura 13 ilustra una curva de calibración que correlaciona los resultados de una unidad de ensayo y una unidad de reactivos para realizar un ensayo para PIGF en un sistema, como se mide con un luminómetro.

La Figura 14 ilustra la concentración de CRP graficada contra la señal de ensayo (recuentos de fotones) y los datos ajustados a una función polinomial de 5 términos para generar una función de calibración.

25 La Figura 15 muestra que se logró un ajuste entre un modelo y los valores de los parámetros  $S_{m\acute{a}x}$ ,  $C_{0,5}$  y  $D$  como se describe en la presente descripción.

La Figura 16 muestra los datos de acuerdo con la dilución usada para lograr la concentración final en una punta de ensayo.

30 La Figura 17 ilustra la respuesta normalizada del ensayo ( $B/B_{m\acute{a}x}$ ) graficada contra la concentración logarítmica normalizada ( $C/C_{0,5}$ ) para diluciones relativas: 1:1 (línea continua), 5:1 (línea discontinua) y 25:1 (línea punteada).

Las Figuras 18 y 19 ilustran un ejemplo similar al de la Figura 17 a diferentes concentraciones normalizadas.

La Figura 20 demuestra la respuesta del ensayo para un analito de control después de las etapas de: eliminación del anticuerpo detector, lavado del ensayo y adición de un sustrato, según se lee en un espectro-luminómetro durante 0,5 s.

35 La Figura 21 demuestra los resultados de un ensayo que se evaluó mediante la medición de los fotones producidos durante aproximadamente 10 s en un sistema en la presente descripción.

#### Descripción detallada de la invención

40 Las modalidades y aspectos de la invención descritos en la presente descripción pertenecen a dispositivos, sistemas y métodos para la detección automatizada de un analito en una muestra de fluido corporal. La invención es capaz de detectar y/o cuantificar analitos que se asocian con procesos biológicos específicos, condiciones fisiológicas, trastornos o etapas de trastornos, o efectos de agentes biológicos o terapéuticos. Las modalidades y ejemplos de la invención descritos en la presente descripción no pretenden limitar el alcance de la invención.

#### 45 Dispositivos

En un aspecto de la invención, un dispositivo para la detección automatizada de un analito en una muestra de fluido corporal comprende una matriz de unidades de ensayo direccionables configuradas para ejecutar una reacción química que produce una señal detectable indicativa de la presencia o ausencia del analito, y una matriz de unidades de reactivo direccionables, cada una de las cuales se dirige para corresponder a una o más unidades de ensayo direccionables en dicho dispositivo, de manera que las unidades de reactivo individuales puedan calibrarse en referencia a la(s) unidad(es) de ensayo correspondiente(s) antes de ensamblar las matrices en el dispositivo.

50 En otro aspecto de la invención, un dispositivo para la detección automatizada de un analito en una muestra de fluido corporal comprende una matriz de unidades de ensayo configuradas para ejecutar una reacción química que produce una señal detectable indicativa de la presencia del analito, y una matriz de unidades de reactivos que contienen reactivos para ejecutar la reacción química, en donde al menos una de las unidades de ensayo y al menos una de las unidades de reactivos pueden moverse una con respecto a la otra dentro del dispositivo de manera que los reactivos para ejecutar la reacción química se ponen automáticamente en contacto con la muestra de fluido corporal en la unidad de ensayo.

60 En una modalidad de un dispositivo de la invención, la matriz de unidades de ensayo o unidades de reactivos puede direccionarse de acuerdo con la reacción química que va a ejecutar la unidad de ensayo configurada. En otra modalidad, al menos una de las unidades de ensayo y al menos una de las unidades de reactivos pueden moverse una con respecto a la otra dentro del dispositivo de manera que los reactivos para ejecutar la reacción química se ponen automáticamente en contacto con la muestra de fluido corporal en la unidad de ensayo.

En una modalidad, el dispositivo de la invención es independiente y comprende todos los reactivos, reactivos en fase líquida y sólida, necesarios para realizar una pluralidad de ensayos en paralelo. Cuando se desea, el dispositivo se configura para realizar al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 500, 1000 o más ensayos. Además, pueden incorporarse uno o más ensayos de control en el dispositivo para realizarlos en paralelo si se desea.

Los ensayos pueden ser inmunoensayos cuantitativos y pueden realizarse en un corto período de tiempo. Puede realizarse otro tipo de ensayo con un dispositivo de la invención que incluye, pero no se limita a, mediciones de secuencias de ácidos nucleicos y mediciones de metabolitos, tales como el colesterol. En algunas modalidades, el ensayo se completa en no más de una hora, preferentemente, menos de 30, 15, 10 o 5 minutos. En otras modalidades, el ensayo se realiza en menos de 5 minutos. La duración de la detección del ensayo puede ajustarse de acuerdo con el tipo de ensayo que se va a llevar a cabo con un dispositivo de la invención. Por ejemplo, si es necesario para una mayor sensibilidad, un ensayo puede incubarse durante más de una hora o hasta más de un día. En algunos ejemplos, los ensayos que requieren una larga duración pueden ser más prácticos en otras aplicaciones de POC, tal como el uso doméstico, que en un entorno de POC clínico.

Cualquier fluido corporal que se sospeche que contiene un analito de interés puede usarse junto con el sistema o dispositivos de la invención. Los fluidos corporales comúnmente empleados incluyen, pero no se limitan a, sangre, suero, saliva, orina, fluido gástrico y digestivo, lágrimas, heces, semen, fluido vaginal, fluidos intersticiales derivados de tejido tumoral y fluido cerebroespinal.

Puede extraerse un fluido corporal de un paciente y proporcionarlo a un dispositivo de diversas formas, lo que incluye, pero no se limita a, punción, inyección o pipeteo. Como se usa en la presente descripción, los términos sujeto y paciente se usan indistintamente en la presente descripción y se refieren a un vertebrado, preferentemente, un mamífero, con mayor preferencia, un ser humano. Los mamíferos incluyen, pero no se limitan a, murinos, simios, humanos, animales de granja, animales deportivos y mascotas. En una modalidad, una lanceta perfora la piel y extrae una muestra mediante el uso de, por ejemplo, gravedad, acción capilar, aspiración o fuerza de vacío. La lanceta puede ser parte del dispositivo, o parte de un sistema, o un componente independiente. Cuando sea necesario, la lanceta puede activarse mediante una variedad de mecanismos de activación mecánicos, eléctricos, electromecánicos o cualquier otro conocido o cualquier combinación de dichos métodos. En otra modalidad en la que no se requiere un mecanismo activo, un paciente puede simplemente proporcionar un fluido corporal al dispositivo, como podría producirse, por ejemplo, con una muestra de saliva. El fluido recolectado puede colocarse en la unidad de recolección de muestras dentro del dispositivo. En aún otra modalidad, el dispositivo comprende al menos una microaguja que perfora la piel. 3

El volumen de fluido corporal que se usará con un dispositivo es generalmente menos de aproximadamente 500 microlitros, típicamente, entre aproximadamente 1 a 100 microlitros. Cuando se desee, puede usarse una muestra de 1 a 50 microlitros, 1 a 40 microlitros, 1 a 30 microlitros, 1 a 10 microlitros o incluso 1 a 3 microlitros para detectar un analito mediante el uso del dispositivo.

En una modalidad, el volumen de fluido corporal usado para detectar un analito mediante el uso de los dispositivos o sistemas de la descripción es una gota de fluido. Por ejemplo, una gota de sangre de un dedo pinchado puede proporcionar la muestra de fluido corporal a analizar con un dispositivo, sistema o método descrito en la presente descripción.

Puede recolectarse una muestra de fluido corporal de un sujeto y administrarse a un dispositivo de la invención como se describe de aquí en adelante.

En una modalidad, las matrices de unidades de ensayo y de reactivos se configuran para ser un conjunto de componentes de mezclar y emparejar. Las unidades de ensayo pueden comprender al menos una superficie de captura capaz de reaccionar con un analito de la muestra de fluido corporal. La unidad de ensayo puede ser una punta tubular con una superficie de captura dentro de la punta. En la presente descripción se describen ejemplos de puntas de la invención. Una unidad de reactivos almacena típicamente los reactivos líquidos o sólidos necesarios para realizar un ensayo que detecta un analito determinado. Cada unidad de ensayo individual y de reactivos puede configurarse para la función de ensayo de forma independiente. Para ensamblar un dispositivo, las unidades pueden ensamblarse de manera justo a tiempo para su uso en cartuchos integrados.

Pueden fabricarse componentes separados, tanto en fase líquida como sólida, y después probarse en cuanto a rendimiento y almacenarse. En una modalidad, el ensamble del dispositivo se lleva a cabo de manera a pedido en un lugar de fabricación. El dispositivo puede ser modular e incluir componentes tales como una carcasa que es genérica para todos los ensayos, unidades de ensayo, tales como puntas, y unidades de reactivos, tales como una variedad de recipientes frangibles u operables por instrumentos que encapsulan los reactivos líquidos. En algunos casos, se prueba a continuación un dispositivo ensamblado para verificar la calibración (la relación de la respuesta del sistema con respecto a niveles conocidos del analito). Los dispositivos de ensayo pueden ensamblarse a partir de una biblioteca de elementos prefabricados y calibrados a pedido. En algunas modalidades, las vías de fluidos dentro de un dispositivo pueden ser simples y evitar cualquier posibilidad de atrapar burbujas y proporcionar una forma eficiente de eliminar el exceso de reactivos marcados en ensayos con exceso de reactivos tales como ELISA.

Una carcasa para un dispositivo de la invención puede fabricarse de poliestireno u otro plástico moldeable o mecanizable y puede tener ubicaciones definidas para colocar unidades de ensayo y unidades de reactivos. En una modalidad, la carcasa tiene medios para secar puntas o unidades de ensayo para eliminar el exceso de líquido. Los medios para secar pueden ser una membrana porosa, tal como acetato de celulosa, o un pedazo de material absorbente, tal como papel de filtro.

En algunas modalidades, al menos uno de los componentes del dispositivo puede construirse con materiales poliméricos. Los ejemplos no limitantes de materiales poliméricos incluyen poliestireno, policarbonato, polipropileno, polidimetilsiloxanos (PDMS), poliuretano, cloruro de polivinilo (PVC), polisulfona, polimetilmetacrilato (PMMA), acrilonitrilo-butadienoestireno (ABS) y vidrio.

El dispositivo o los subcomponentes del dispositivo pueden fabricarse mediante una variedad de métodos lo que incluye, sin limitación, estampado, moldeo por inyección, grabado, fundición, moldeo por soplado, mecanizado, soldadura, soldadura ultrasónica y unión térmica. En una modalidad, un dispositivo se fabrica mediante moldeo por inyección, unión térmica y soldadura ultrasónica. Los subcomponentes del dispositivo pueden fijarse entre sí mediante unión térmica, soldadura ultrasónica, ajuste por fricción (ajuste a presión), adhesivos o, en el caso de ciertos sustratos, por ejemplo, vidrio, o sustratos poliméricos semirrígidos y no rígidos, una adherencia natural entre los dos componentes.

En la Figura 1 se ilustra un dispositivo ilustrativo como se describe en la presente descripción. El dispositivo **100** también se denomina a veces en la presente descripción como un cartucho **100**. El dispositivo **100** comprende una carcasa **130** con ubicaciones para alojar las unidades de ensayo **121** y las unidades de reactivos **103, 122, 124, 125**. En la modalidad ilustrativa de la Figura 1, las unidades de ensayo **121** ocupan una fila central de la carcasa **130** del dispositivo **100**. Las unidades de ensayo **121** pueden incluir opcionalmente al menos una unidad de calibración **126**. En un ejemplo, las unidades de ensayo **121** son similares a las puntas de pipeta y se denominan puntas de ensayo **121** y las unidades de calibración **126** se denominan como puntas de calibración **126** en la presente descripción, sin embargo, las unidades de ensayo **121** pueden tener cualquier forma y tamaño dado que se alojan ampliamente por un dispositivo **100** como se describe en la presente descripción. Las unidades de ensayo **121** y las unidades de calibración **126** son unidades de ensayo **121** ilustrativas y se describen con más detalle en la presente descripción. Las unidades de ensayo **121** en la Figura 1 pueden comprender una superficie de captura y son capaces, por ejemplo, de realizar una reacción química tal como ensayos de ácido nucleicos e inmunoensayos. Las unidades de ensayo **121** pueden ensamblarse en la carcasa de acuerdo con las instrucciones o los ensayos que un usuario desea realizar en una muestra.

Como se muestra en la Figura 1, la carcasa del dispositivo **100** puede comprender una unidad de recolección de muestras **110** configurada para contener una muestra. Puede colocarse una muestra, tal como una muestra de sangre, en la unidad de recolección de muestras **110**. Una punta de muestreo **111** (por ejemplo, una punta de pipeta que se acopla a un dispositivo de transferencia de fluidos como se describe con más detalle en la presente descripción) puede ocupar otra parte de la carcasa **130**. Cuando se va a ejecutar un ensayo, la punta de muestreo **111** puede distribuir la muestra en unidades de reactivos de pretratamiento o unidades de pretratamiento **103, 104, 105, 106, 107** o unidades de ensayo **121**. Las unidades de pretratamiento ilustrativas **103, 104, 105, 106, 107** incluyen, pero no se limitan a: unidades de mezcla **107**, unidades de dilución o diluyentes **103, 104** y, si la muestra es una muestra de sangre, unidades de extracción o recuperación de plasma **105, 106**. Las unidades de pretratamiento **103, 104, 105, 106, 107** pueden ser del mismo tipo de unidad o diferentes tipos de unidades. Otras unidades de pretratamiento **103, 104, 105, 106, 107** que sean necesarias para realizar una reacción química pueden incorporarse en el dispositivo **100** como resultará obvio para un experto en la técnica con conocimiento de esta descripción. Las unidades **103, 104, 105, 106, 107** pueden contener diversas cantidades de reactivos o diluyentes, flexibles para lo que sea necesario para ejecutar el ensayo en el cartucho actual **100**.

Frecuentemente, las unidades de ensayo **121** pueden fabricarse por separado de la carcasa **130** y después se insertan en la carcasa **130** con métodos de selección y colocación. Las unidades de ensayo **121** pueden ajustarse de manera ceñida en la carcasa **130** o pueden ajustarse de manera holgada en la carcasa **130**. En algunas modalidades, la carcasa **130** se fabrica de manera que mantenga las unidades de reactivo **103, 122, 124, 125** y/o las unidades de ensayo **121** de manera ceñida en su lugar, por ejemplo, durante el envío o la manipulación de un cartucho. Las unidades de reactivos **103, 122, 124, 125** que se muestran en la Figura 1 contienen un reactivo conjugado **122** (por ejemplo, para su uso con un inmunoensayo), un reactivo de lavado **125** (por ejemplo, para lavar dicho conjugado de las superficies de captura) y un sustrato **124** (por ejemplo, un sustrato enzimático). Otras modalidades del dispositivo **100** y los componentes en el ejemplo de la Figura 1 se describen en la presente descripción. Las unidades de reactivos **103, 122, 124, 125** pueden fabricarse y llenarse por separado de la carcasa **130** y después colocarse en la carcasa **130**. De esta manera, puede construirse un cartucho **100** de manera modular, lo que aumenta por lo tanto la flexibilidad del cartucho **100** para usarse en una variedad de ensayos. Los reactivos en una unidad de reactivos **103, 122, 124, 125** pueden elegirse de acuerdo con el ensayo a ejecutar. En la presente descripción se describen reactivos y ensayos ilustrativos.

Un dispositivo, tal como el ejemplo que se muestra en la Figura 1, puede comprender, además, otros elementos que puedan ser necesarios para ejecutar una reacción química. Por ejemplo, si las unidades de ensayo **121** son puntas de



ensayo **121** como se describe en la presente descripción, el dispositivo puede comprender de almohadillas de contacto de punta **112** para eliminar el exceso de muestra o reactivo de una punta de ensayo **121** o una punta de muestreo **111** después de la transferencia de fluidos, por ejemplo, mediante un sistema como se describe en la presente descripción. La carcasa **130** puede comprender, además, unidades o áreas **101, 102** dentro del dispositivo **100** para colocar una punta o unidad usada, por ejemplo, para evitar la contaminación cruzada de una punta de muestreo **111** o unidad de ensayo **121**. En la Figura 1, el dispositivo **100** comprende una punta de muestreo **111** para transferir una muestra entre unidades del dispositivo **100**. El dispositivo **100**, como se ilustra en la Figura 1, comprende, además, una punta de pretratamiento **113** para transferir una muestra que se ha pretratado en una unidad del dispositivo **100** a otras unidades de un dispositivo **100** para realizar una reacción química. Por ejemplo, la punta de muestreo **111** puede usarse para extraer una muestra de sangre de la unidad de recolección de muestras **110** y transferir la muestra de sangre a las unidades de pretratamiento **103, 104, 105, 106, 107** como se describe. Los glóbulos rojos pueden extraerse de la muestra de sangre en las unidades de pretratamiento **103, 104, 105, 106, 107** y la punta de pretratamiento **113** puede usarse para recolectar el plasma sanguíneo de las unidades de pretratamiento **103, 104, 105, 106, 107** y transferir el plasma sanguíneo a otra unidad de pretratamiento (por ejemplo, una unidad diluyente) **103, 104, 105, 106, 107** y/o al menos a una unidad de ensayo **121**. En una modalidad, una punta de muestreo **111** es la unidad de recolección de muestras **110**. En otra modalidad, la unidad de recolección de muestras **110** es similar a un pocillo y se configura para contener una muestra como se recibe por un usuario.

Las unidades de ensayo **121** y las unidades de reactivos **103, 122, 124, 125** como se muestran en la Figura 1 pueden ser direccionables para indicar la ubicación de las unidades en el cartucho **100**. Por ejemplo, una columna del cartucho **100** como se muestra en la Figura 1 puede contener una unidad de ensayo **121** para ejecutar un ensayo configurado para detectar la proteína C reactiva, y la columna puede contener las correspondientes unidades de reactivos **103, 122, 124, 125** para ese ensayo en la misma columna, en donde las unidades se direccionan para que se correspondan entre sí. Por ejemplo, las direcciones pueden introducirse y almacenarse en un sistema informático, y el cartucho **100** puede recibir una etiqueta, tal como un código de barras. Cuando se escanea el código de barras del cartucho **100** para su uso, el sistema informático puede enviar las direcciones de las unidades a un sistema, tal como los descritos en la presente descripción, para transferir los fluidos y ejecutar una reacción de acuerdo con las direcciones introducidas en el ordenador. Las direcciones pueden ser parte de un protocolo enviado para operar el sistema. Las direcciones pueden estar en cualquier configuración y pueden modificarse si es necesario para cambiar el protocolo de ejecución de un ensayo, que a su vez puede ofrecer un cambio en el protocolo de ensayo o las etapas a un usuario del cartucho que no ha estado disponible típicamente en dispositivos de POC de la técnica anterior. En algunas modalidades, la carcasa **130** y las unidades se configuran en una matriz de unidades de 6 por 8 como se muestra en la Figura 1. El diseño de las unidades puede ser de cualquier formato, por ejemplo, matrices rectangulares o diseños aleatorios. Un cartucho **100** puede comprender cualquier número de unidades, por ejemplo, entre 1 y aproximadamente 500. En algunas modalidades, un cartucho **100** tiene entre 5-100 unidades. Como un ejemplo, como se muestra en la Figura 1, el cartucho **100** tiene 48 unidades.

En las Figuras 2A y 2B se ilustran dos vistas en corte lateral del dispositivo ilustrativo **200** de la Figura 1. Puede conformarse una cavidad en una carcasa **220** de un dispositivo para acomodar unidades de ensayo (por ejemplo, puntas de ensayo) **201** en una orientación vertical (alojamiento horizontal) con sus protuberancias hacia la parte superior del dispositivo **200**. Como se muestra en la Figura 2, también puede conformarse una cavidad para acomodar una unidad de reactivos **210, 212** o una unidad o punta de recolección de muestras **202**. Pueden existir elementos en la carcasa **220** para capturar las unidades con precisión y mantenerlas de forma segura. Estos elementos también pueden diseñarse para que funcionen con un mecanismo para mover las puntas, tal como recoger y desechar las puntas. En otra modalidad, la unidad de recolección de muestras comprende un elemento que puede doblarse o romperse que sirve para proteger un pequeño tubo de recolección durante el envío y para mantener un dispositivo de émbolo en su lugar dentro de un capilar. También se muestran en la Figura 2A dos modalidades ilustrativas de unidades de reactivos **210, 212** como se describen en la presente descripción. La parte inferior de la carcasa **220** puede configurarse para recolectar los líquidos residuales, por ejemplo, reactivos de lavado después de su uso que se transfieren de vuelta a través de un orificio en la carcasa **220** a la parte inferior. La carcasa **220** puede comprender una almohadilla absorbente para recolectar los fluidos residuales. Las unidades de ensayo **201** y las unidades de muestra **202** pueden colocarse para que ajusten a través de una cavidad de la carcasa **220** del dispositivo **200** y extenderse más allá de una estructura de soporte interior. Las unidades de reactivos **210, 212** ajustan de manera ceñida en la carcasa como se muestra en la Figura 2 y no se extienden más allá de la estructura de soporte interior. La carcasa **220** y las áreas en las que las unidades de ensayo **201** y las unidades de reactivos **210, 212** pueden sujetarse y colocarse pueden adaptarse a una variedad de patrones.

En algunas modalidades, cada punta proporciona un único ensayo y puede emparejarse o corresponderse con un reactivo apropiado, tal como los reactivos necesarios para ejecutar el ensayo designado. Algunas puntas proporcionan unidades de ensayo de control y tienen cantidades conocidas de analito unidas a sus superficies de captura, ya sea en el proceso de fabricación o durante la realización de un ensayo. En el caso de una unidad de ensayo de control, la unidad se configura para ejecutar un ensayo de control para comparación. La unidad de ensayo de control puede comprender, por ejemplo, una superficie de captura y un analito que se encuentran en estado sólido o líquido.

En muchas modalidades, el dispositivo contiene todos los reactivos y líquidos requeridos por el ensayo. Por ejemplo, para un ensayo ELISA luminógeno, los reactivos dentro del dispositivo pueden incluir un diluyente de muestra, un

conjugado detector (por ejemplo, tres anticuerpos marcados con enzima), una solución de lavado y un sustrato enzimático. Pueden proporcionarse reactivos adicionales según sea necesario.

5 En algunas modalidades, los reactivos pueden incorporarse en un dispositivo para proporcionar el pretratamiento de la muestra. Los ejemplos de reactivos de pretratamiento incluyen, sin limitación, reactivos de lisis de glóbulos blancos, reactivos para liberar analitos de factores de unión en la muestra, enzimas y detergentes. Los reactivos de pretratamiento también pueden añadirse a un diluyente contenido dentro del dispositivo.

10 Una unidad de reactivos individual puede configurarse para recibir una unidad de ensayo móvil. En algunas modalidades, la unidad de ensayo individual comprende un elemento cilíndrico hueco de extremo abierto que comprende una superficie de captura y una cubeta de reacción. Una unidad de ensayo cilíndrica puede denominarse en la presente descripción como una punta de ensayo. En algunas modalidades, la unidad de ensayo individual se configura para ejecutar un inmunoensayo. En la Figura 3A se muestra una unidad de ensayo **301** que comprende una pequeña punta o formación tubular. En algunos casos, la punta **301** se configura para proporcionar una superficie **311** de captura cilíndrica interior y una protuberancia **321** capaz de acoplarse con la carcasa del dispositivo. En algunos casos, la protuberancia **321** y la punta **301** se configuran para acoplarse con un mecanismo de movimiento de la punta **301** tal como un sistema como se describe en la presente descripción o, por ejemplo, un dispositivo de transferencia de fluidos. Una punta de ensayo **301** como se muestra en la Figura 3A puede comprender una abertura **331** en la parte inferior de la punta. La abertura **331** puede utilizarse para transferir fluidos o reactivos dentro y fuera de una unidad de ensayo **301**. En una modalidad, una unidad de ensayo **301** como se describe es similar o es una punta de pipeta con la mejora de que la unidad de ensayo **301** comprende una superficie de captura **311** configurada para detectar un analito en una muestra.

25 La punta **301** puede fabricarse mediante un proceso de moldeo por inyección. En una modalidad, la punta **301** se fabrica de un poliestireno transparente para su uso con ensayos de quimioluminiscencia. Como se muestra en la Figura 3A, una punta ilustrativa **301** comprende una protuberancia (mostrada como la mitad superior más grande de la punta **301**), que puede acoplarse con una carcasa y puede acoplarse, por ejemplo, con elementos cónicos de un dispositivo de transferencia de fluidos y/o dispositivos de pipeteo para formar un sello hermético a presión. También mostrada en la Figura 3A, la punta ilustrativa **301** comprende una parte cilíndrica más pequeña. En muchas modalidades, una superficie de captura de ensayo está contenida dentro de la parte cilíndrica más pequeña. La superficie de captura del ensayo puede estar en cualquier lugar dentro de la punta **301** o en el exterior de la punta **301**. La superficie de la punta **301** puede tener muchas geometrías, lo que incluye, pero no se limita a, tubular, cúbica o piramidal. En ensayos basados en quimioluminiscencia y fluorescencia, la punta **301** puede servir como un medio conveniente para presentar el producto de ensayo a los elementos ópticos del ensayo.

35 La Figura 3B muestra una unidad de recolección de muestras ilustrativa **302** que comprende una punta de muestreo **302**. La punta de muestreo **302** como se muestra en la Figura 3B también puede separarse de una unidad de recolección de muestra **302** y usarse para transferir la muestra desde las unidades de recolección de muestras a otras unidades en un dispositivo como se describe en la presente descripción. La punta de muestreo como se muestra en la Figura 3B comprende una protuberancia **322** como se describe en la presente descripción para acoplar la punta **302** con una carcasa de un dispositivo y un dispositivo de transferencia de fluidos. La punta de muestreo **302** también comprende una abertura **332** para permitir la transferencia de fluidos o muestras dentro y fuera de la punta de muestreo. En algunas modalidades, la punta de muestreo **302** tiene la misma forma que una punta de ensayo **301**. En otras modalidades (tal como las que se muestran en las Figuras 3A y 3B), la punta de muestreo **302** tiene una forma diferente que la punta de ensayo **301**.

50 En una modalidad, una función de una punta es permitir que las muestras y los reactivos líquidos se pongan en contacto con la superficie de captura de la unidad de ensayo. El movimiento puede producirse mediante una variedad de medios, lo que incluye, pero no se limita a, acción capilar, aspiración y bombeo controlado. El pequeño tamaño de las puntas permite un control rápido de la temperatura requerida para una reacción química. La transferencia de calor y/o el mantenimiento pueden llevarse a cabo simplemente al colocar la punta en un bloque de temperatura controlada.

55 En algunas modalidades, la punta puede contener aproximadamente de 1 a 40 microlitros de fluido. En una modalidad adicional, la punta puede contener aproximadamente de 5 a 25 microlitros de fluido. En una modalidad, la punta contiene 20 microlitros de fluido. En algunos casos, una punta puede contener 1 microlitro de fluido o menos. En otros casos, una punta puede contener hasta 100 microlitros.

60 Cuando se desea, el extremo de la punta puede secarse sobre un material absorbente (por ejemplo, incorporado en un cartucho desechable) antes de la introducción del siguiente componente de ensayo para evitar la contaminación con una pequeña cantidad de muestra y/o reactivo. Debido a las fuerzas físicas, cualquier líquido aspirado a la punta de la descripción puede mantenerse en cualquier lugar deseado con un riesgo mínimo de que el líquido se escape hacia afuera, incluso cuando se mantiene en una orientación vertical.

65 La unidad de ensayo (por ejemplo, una punta de ensayo) puede recubrirse con reactivos de captura de ensayo antes de su uso, mediante el uso de fluidos similares a los del ensayo (por ejemplo, aspiración capilar o mecánica controlada).

Una superficie de captura (también denominada en la presente descripción como un sitio de reacción) puede formarse por un anticuerpo de unión u otros reactivos de captura unidos covalentemente o por adsorción a la unidad de ensayo. Después, la superficie puede secarse y mantenerse en condiciones secas hasta que se use en un ensayo. En una modalidad, existe un sitio de reacción para cada analito a medir.

En una modalidad, la unidad de ensayo puede moverse en comunicación continua con la unidad de reactivo y/o una unidad de recolección de muestras, de manera que un reactivo o muestra pueda interactuar con un sitio de reacción donde las sondas unidas pueden detectar un analito de interés en la muestra de fluido corporal. A continuación, un sitio de reacción puede proporcionar una señal indicativa de la presencia o concentración del analito de interés, que después puede detectarse mediante un dispositivo de detección descrito en la presente descripción.

En algunas modalidades, la ubicación y configuración de un sitio de reacción es un elemento importante en un dispositivo de ensayo. La mayoría, si no todos, los dispositivos de inmunoensayo desechables se han configurado con su superficie de captura como parte integral del dispositivo.

En una modalidad, una unidad de ensayo de plástico moldeado está disponible comercialmente o puede fabricarse mediante moldeo por inyección con formas y tamaños precisos. Por ejemplo, la dimensión característica puede ser un diámetro de 0,05 - 3 mm o puede ser una longitud de 3 a 30 mm. Las unidades pueden recubrirse con reactivos de captura mediante el uso de un método similar a los usados para recubrir placas de microtitulación, pero con la ventaja de que pueden procesarse masivamente al colocarlos en un recipiente grande, añadir reactivos de recubrimiento y procesarlas mediante el uso de tamices, soportes y similares para recuperar las piezas y lavarlas según sea necesario.

La unidad de ensayo puede ofrecer un soporte rígido sobre el que puede inmovilizarse un reactivo. La unidad de ensayo también se elige para proporcionar características apropiadas con respecto a las interacciones con la luz. Por ejemplo, la unidad de ensayo puede fabricarse de un material, tal como vidrio funcionalizado, Si, Ge, GaAs, GaP, SiO<sub>2</sub>, SiN<sub>4</sub>, silicio modificado o cualquiera de una amplia variedad de geles o polímeros tales como (poli)tetrafluoroetileno, (poli)vinilidendifluoruro, poliestireno, policarbonato, polipropileno, PMMA, ABS o sus combinaciones. En una modalidad, una unidad de ensayo comprende poliestireno. Pueden usarse otros materiales apropiados de acuerdo con la presente invención. Puede resultar ventajoso un sitio de reacción transparente. Además, en el caso de que exista una ventana ópticamente transmisiva que permita que la luz llegue a un detector óptico, la superficie puede ser ventajosamente opaca y/o, preferentemente, dispersora de la luz.

Un reactivo inmovilizado en la superficie de captura puede ser cualquier cosa útil para detectar un analito de interés en una muestra de fluido corporal. Por ejemplo, dichos reactivos incluyen, sin limitación, sondas de ácido nucleico, anticuerpos, receptores de membrana celular, anticuerpos monoclonales y antiseros reactivos con un analito específico. Pueden usarse diversos reactivos disponibles comercialmente, tales como muchos anticuerpos policlonales y monoclonales desarrollados específicamente para analitos específicos.

Un experto en la técnica apreciará que existen muchas formas de inmovilizar diversos reactivos sobre un soporte donde puede tener lugar la reacción. La inmovilización puede ser covalente o no covalente, a través de un resto enlazador, o mediante su unión a un resto inmovilizado. Los restos de unión ilustrativos no limitantes para unir ya sea ácidos nucleicos o moléculas proteínicas tales como anticuerpos a un soporte sólido incluyen estreptavidina o enlaces avidina/biotina, enlaces carbamato, enlaces éster, enlaces amida, tioléster, tiourea (N)-funcionalizada, maleimida funcionalizada, amino, enlaces disulfuro, amida, hidrazona y entre otros. Además, puede unirse un resto sililo a un ácido nucleico directamente a un sustrato tal como vidrio mediante el uso de métodos conocidos en la técnica. La inmovilización en la superficie también puede lograrse mediante un enlace de poli-L lisina, que proporciona un acoplamiento carga-carga a la superficie.

Las unidades de ensayo pueden secarse después de la última etapa de incorporar una superficie de captura. Por ejemplo, el secado puede realizarse mediante exposición pasiva a una atmósfera seca o mediante el uso de un colector al vacío y/o la aplicación de aire limpio y seco a través de un colector.

En muchas modalidades, una unidad de ensayo se diseña para permitir que la unidad se fabrique en procesos de fabricación rápidos y de gran volumen. Por ejemplo, las puntas pueden montarse en matrices a gran escala para el recubrimiento por lotes de la superficie de captura en o sobre la punta. En otro ejemplo, las puntas pueden colocarse en una cinta móvil o en una mesa giratoria para su procesamiento en serie. En aún otro ejemplo, pueden conectarse una gran cantidad de puntas a colectores al vacío y/o presión para su procesamiento simple.

En una modalidad, una unidad de ensayo puede acoplarse operativamente con un dispositivo de transferencia de fluidos. El dispositivo de transferencia de fluidos puede operarse bajo control automático sin interacción humana. En las unidades de ensayo que comprenden puntas, el control de la altura instalada de una punta de líquido desechable se basa en la unión de interferencia cónica de la punta al dispensador de líquido. Un dispositivo de transferencia de fluidos puede acoplarse a la punta. En algunos casos, debe conocerse la longitud de inmersión de una punta en el líquido a transferir para minimizar el contacto del líquido con el exterior de la punta, que puede estar descontrolado. Para acoplar o adherir una punta al dispositivo de transferencia de fluidos, puede moldearse un tope duro en la parte inferior del conector cónico que se acopla a la boquilla del dispensador. Puede fabricarse un sello hermético con una

junta tórica que se encuentra a la mitad de la parte cónica o en la parte inferior plana de la boquilla. Al separar la función de sellado de la punta de la altura controlada de la punta, ambos pueden ajustarse por separado. El dispositivo modular y el dispositivo de transferencia de fluidos pueden permitir la realización de muchos ensayos en paralelo.

5 Las unidades de reactivos de un dispositivo pueden almacenar los reactivos necesarios para realizar una reacción química determinada para detectar un analito de interés determinado. Los reactivos líquidos pueden dispensarse en pequeñas cápsulas que pueden fabricarse a partir de una variedad de materiales lo que incluye, sin limitación, plásticos tales como poliestireno, polietileno o polipropileno. En algunas modalidades, las unidades de reactivos son pocillos cilíndricos. En las Figuras 4A y 4B se muestran dos ejemplos de una unidad de reactivos **401**, **402** que  
10 comprende una copilla. Cuando se desea, las unidades **401**, **402** ajustan de manera ceñida en las cavidades de la carcasa de un dispositivo. Las unidades **401**, **402** pueden sellarse en la superficie abierta para evitar el derrame de los reactivos **411**, **412** a bordo. En algunas modalidades, el sello es un plástico aluminizado y puede sellarse a la copilla mediante unión térmica. Una unidad puede tener cualquier forma que sea necesaria para contener un reactivo. Por ejemplo, en la Figura 4A se muestra una unidad de reactivos **401** de forma cilíndrica, y la unidad de reactivos contiene un reactivo líquido **411**. En la Figura 4B se ilustra una unidad de reactivos **402** de forma diferente que también contiene un reactivo líquido **412**. Ambas unidades de reactivos ilustrativas **401**, **402** comprenden ligeras modificaciones opcionales cerca de la superficie superior que permiten que las unidades **401**, **402** se ajusten de manera ceñida en una carcasa de un dispositivo como se describe en la presente descripción.

20 En muchas modalidades de la invención, las unidades de reactivos son modulares. La unidad de reactivos puede diseñarse para permitir que la unidad se fabrique en procesos de fabricación rápidos y de gran volumen. Por ejemplo, muchas unidades de reactivos pueden llenarse y sellarse en un proceso a gran escala simultáneamente. Las unidades de reactivos pueden llenarse de acuerdo con el tipo de ensayo o ensayos a ejecutarse mediante el dispositivo. Por ejemplo, si un usuario desea ensayos diferentes a los de otro usuario, las unidades de reactivo pueden fabricarse de  
25 acuerdo con las preferencias de cada usuario, sin la necesidad de fabricar un dispositivo completo. En otro ejemplo, las unidades de reactivos pueden colocarse en una cinta móvil o en una mesa giratoria para el procesamiento en serie.

En otra modalidad, las unidades de reactivos se alojan directamente en cavidades en la carcasa de un dispositivo. En esta modalidad, puede fabricarse un sello en áreas de la carcasa que rodean las unidades.

30 Los reactivos de acuerdo con la presente invención incluyen, sin limitación, tampones de lavado, sustratos de enzimas, tampones de dilución, conjugados, conjugados marcados con enzimas, amplificadores de ADN, diluyentes de muestras, soluciones de lavado, reactivos de pretratamiento de muestras lo que incluye aditivos tales como detergentes, polímeros, agentes quelantes, reactivos de unión a albúmina, inhibidores de enzimas, enzimas, anticoagulantes, agentes aglutinantes de glóbulos rojos, anticuerpos u otros materiales necesarios para ejecutar un ensayo en un dispositivo. Un conjugado marcado con enzima puede ser ya sea un anticuerpo policlonal o un anticuerpo monoclonal marcado con una enzima que puede producir una señal detectable tras la reacción con un sustrato apropiado. Los ejemplos no limitantes de dichas enzimas son la fosfatasa alcalina y la peroxidasa de rábano  
35 picante. En algunas modalidades, los reactivos comprenden reactivos de inmunoensayo. En general, los reactivos, especialmente aquellos que son relativamente inestables cuando se mezclan con líquido, se confinan por separado en una región definida (por ejemplo, una unidad de reactivos) dentro del dispositivo.

En algunas modalidades, una unidad de reactivos contiene de aproximadamente 5 microlitros a aproximadamente 1 mililitro de líquido. En algunas modalidades, la unidad puede contener aproximadamente 20-200 microlitros de líquido.  
45 En una modalidad adicional, la unidad de reactivos contiene 100 microlitros de fluido. En una modalidad, una unidad de reactivos contiene aproximadamente 40 microlitros de fluido. El volumen de líquido en una unidad de reactivos puede variar en dependencia del tipo de ensayo que se ejecuta o de la muestra de fluido corporal proporcionada. En una modalidad, los volúmenes de los reactivos no tienen que predeterminarse, pero deben ser más que un mínimo conocido. En algunas modalidades, los reactivos se almacenan inicialmente secos y se disuelven tras el inicio del ensayo que se ejecuta en el dispositivo.

50 En una modalidad, las unidades de reactivos pueden llenarse mediante el uso de un sifón, un embudo, una pipeta, una jeringa, una aguja o una de sus combinaciones. Las unidades de reactivos pueden llenarse con líquido mediante el uso de un canal de llenado y un canal de extracción por vacío. Las unidades de reactivos pueden llenarse individualmente o como parte de un proceso de fabricación masivo.

En una modalidad, una unidad de reactivos individual comprende un reactivo diferente como un medio para aislar los reactivos entre sí. Las unidades de reactivos también pueden usarse para contener una solución de lavado o un sustrato. Además, las unidades de reactivos pueden usarse para contener un sustrato luminógeno. En otra modalidad,  
60 una pluralidad de reactivos se contiene dentro de una unidad de reactivos.

En algunos casos, la configuración del dispositivo permite la capacidad de precalibrar las unidades de ensayo y las unidades de reactivos antes de ensamblar los desechables del dispositivo objeto.

65 Sistemas

En un aspecto, un sistema de la invención comprende un dispositivo que comprende unidades de ensayo y unidades de reactivos que comprenden reactivos (reactivos tanto en fase líquida como sólida). En algunas modalidades, al menos uno del dispositivo completo, una unidad de ensayo, una unidad de reactivos o una de sus combinaciones es desechable. En un sistema de la invención, la detección de un analito con un dispositivo se opera mediante un instrumento. En la mayoría de las modalidades, el instrumento, dispositivo y método ofrecen un sistema de detección automatizado. El sistema de detección automatizado puede automatizarse en base a un protocolo definido o un protocolo proporcionado al sistema por un usuario.

En un aspecto, un sistema para la detección automatizada de un analito en una muestra de fluido corporal comprende un dispositivo o cartucho y un ensamble de detección o detector para detectar la señal detectable indicativa de la presencia o ausencia del analito.

En una modalidad, el usuario aplica una muestra (por ejemplo, una muestra de sangre medida o no medida) al dispositivo e inserta el dispositivo en el instrumento. Todas las etapas posteriores son automáticas, programadas ya sea por el instrumento (cableadas), el usuario, un usuario o sistema remoto, o la modificación de la operación del instrumento de acuerdo con un identificador (por ejemplo, un código de barras o RFID en el dispositivo).

Ejemplos de diferentes funciones que pueden llevarse a cabo mediante el uso de un sistema de la invención incluyen, pero no se limitan a, dilución de una muestra, eliminación de partes de una muestra (por ejemplo, glóbulos rojos (RBC)), hacer reaccionar una muestra en una unidad de ensayo, añadir reactivos líquidos a la muestra y la unidad de ensayo, lavar los reactivos de la muestra y la unidad de ensayo, y contener los líquidos durante y después del uso del dispositivo. Los reactivos pueden estar a bordo del dispositivo en una unidad de reactivos o en una unidad de reactivos para ensamblarlos en el dispositivo.

Un sistema automatizado puede detectar un analito en particular en una muestra biológica (por ejemplo, sangre) mediante un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA). El sistema puede configurarse en formato múltiple y es particularmente adecuado para detectar un analito de interés presente en un pequeño volumen de una muestra de sangre total (por ejemplo, 20 microlitros o menos). El sistema también puede detectar analitos en diferentes diluciones de una sola muestra, lo que permite probar diferentes sensibilidades en el mismo dispositivo, cuando se desee. Todos los reactivos, suministros y desechos pueden contenerse en el dispositivo del sistema.

Durante el uso, se aplica una muestra de un sujeto al dispositivo ensamblado y el dispositivo se inserta en un instrumento. En una modalidad, un instrumento puede comenzar a procesar la muestra mediante alguna combinación de eliminación de glóbulos rojos (muestra de sangre), dilución de la muestra y traslado de la muestra a la unidad de ensayo. En una modalidad con ensayos multiplexados, se usa una pluralidad de unidades de ensayo y una porción de la muestra se mueve a unidades de ensayo individuales en secuencia o en paralelo. A continuación, los ensayos pueden realizarse mediante una secuencia controlada de incubaciones y aplicaciones de reactivos a las superficies de captura.

Un dispositivo de transferencia de fluidos ilustrativo consta de cualquier componente necesario para realizar y/o leer el ensayo. Ejemplos de componentes incluyen, pero no se limitan a, bombas para aspirar y expulsar con precisión volúmenes de fluido conocidos de pocillos o unidades del dispositivo, al menos una etapa de traslación para mejorar la precisión y exactitud del movimiento dentro del sistema, un detector para detectar un analito en una unidad de ensayo y un medio de regulación de la temperatura para proporcionar un entorno de temperatura regulada para la incubación de los ensayos. En una modalidad de la invención, el instrumento controla la temperatura del dispositivo. En una modalidad adicional, la temperatura está en el intervalo de aproximadamente 30-40 grados Celsius. En algunas modalidades, el control de temperatura por el sistema puede comprender enfriamiento activo. En algunos casos, el intervalo de temperatura es de aproximadamente 0-100 grados Celsius. Por ejemplo, para los ensayos de ácidos nucleicos, pueden alcanzarse temperaturas de hasta 100 grados Celsius. En una modalidad, el intervalo de temperatura es de aproximadamente 15-50 grados Celsius. Una unidad de control de la temperatura del sistema puede comprender un dispositivo termoelectrónico, tal como un dispositivo Peltier.

Los cartuchos, dispositivos y sistemas que se describen en la presente descripción pueden ofrecer muchas funciones de las que no se dispone en los sistemas de POC existentes o en los sistemas de análisis integrados. Por ejemplo, muchos cartuchos de POC se basan en un sistema o lazo de fluidos cerrado para manejar pequeños volúmenes de líquido de manera eficiente. Los cartuchos y dispositivos de fluidos descritos en la presente descripción pueden tener un movimiento de fluido abierto entre las unidades del cartucho. Por ejemplo, un reactivo puede almacenarse en una unidad, una muestra en una unidad de recolección de muestras, un diluyente en una unidad de diluyente y la superficie de captura puede estar en una unidad de ensayo, en donde en un estado del cartucho, ninguna de las unidades está en comunicación continua con cualquiera de las otras unidades. Mediante el uso de un dispositivo o sistema de transferencia de fluidos como se describe en la presente descripción, las unidades no tienen que estar en comunicación continua entre sí en un estado. Las unidades pueden moverse una con respecto a la otra para que algunas unidades se pongan en comunicación continua. Por ejemplo, un dispositivo de transferencia de fluidos puede comprender un cabezal que se acopla a una unidad de ensayo y mueve la unidad de ensayo en comunicación continua con una unidad de reactivos.

Los dispositivos y sistemas de la presente descripción pueden proporcionar un medio eficaz para la detección de alto rendimiento y en tiempo real de analitos presentes en un fluido corporal de un sujeto. Los métodos de detección pueden usarse en una amplia variedad de circunstancias, lo que incluye la identificación y cuantificación de analitos que se asocian con procesos biológicos específicos, estados fisiológicos, trastornos o etapas de trastornos. Como tales, los sistemas tienen un amplio espectro de utilidad en, por ejemplo, tamizaje de fármacos, diagnóstico de enfermedades, clasificación filogenética, identificación parental y forense, aparición y recurrencia de enfermedades, respuesta de los individuos al tratamiento frente a bases de población y el monitoreo de la terapia. Los dispositivos y sistemas de la descripción también son particularmente útiles para avanzar en la etapa preclínica y clínica del desarrollo de productos terapéuticos, mejorar el cumplimiento del paciente, monitorear las ADR asociadas con un fármaco recetado, desarrollar medicamentos individualizados, externalizar los análisis de sangre del laboratorio central al hogar o en base a recetas y monitoreo de agentes terapéuticos tras la aprobación regulatoria. Los dispositivos y sistemas pueden proporcionar un sistema flexible para la medicina personalizada. Mediante el uso del mismo sistema, un dispositivo puede cambiarse o intercambiarse junto con un protocolo o instrucciones a un procesador programable de los sistemas para realizar una amplia variedad de ensayos como se describen. Los sistemas y dispositivos en la presente descripción ofrecen muchos elementos de un entorno de laboratorio en un instrumento automatizado de escritorio o de menor tamaño.

En algunas modalidades, puede proporcionarse a un paciente una pluralidad de dispositivos que se usarán para detectar una variedad de analitos. Un sujeto puede, por ejemplo, usar diferentes dispositivos de fluidos en diferentes días de la semana. En algunas modalidades, el programa informático en el dispositivo externo que asocia el identificador con un protocolo puede incluir un proceso para comparar el día actual con el día en que se usará el dispositivo de fluidos basado en un ensayo clínico, por ejemplo. En otra modalidad, al paciente se le proporcionan diferentes unidades de reactivos y unidades de ensayo que pueden ajustarse en una carcasa de un dispositivo de manera intercambiable. En aún otra modalidad, como se describe, el paciente no necesita un nuevo dispositivo para cada día de prueba, sino que el sistema puede programarse o reprogramarse al descargar nuevas instrucciones desde, por ejemplo, un dispositivo externo tal como un servidor. Si, por ejemplo, los dos días de la semana no son idénticos, el dispositivo externo puede enviar una notificación de forma inalámbrica al sujeto mediante el uso de cualquiera de los métodos descritos en la presente descripción o conocidos en la técnica para notificarle sobre el dispositivo adecuado y/o las instrucciones adecuadas para el sistema. Este ejemplo es solo ilustrativo y puede extenderse fácilmente a, por ejemplo, notificar a un sujeto de que un dispositivo de fluidos no se usa en el momento correcto del día.

Por ejemplo, un cartucho como se ilustra en la Figura 1 puede comprender una variedad de unidades de ensayo y unidades de reactivos. Las unidades de ensayo pueden comprender una superficie de captura de acuerdo con el analito a detectar. A continuación, las unidades de ensayo pueden ensamblarse con el resto del dispositivo de manera justo a tiempo. En muchos dispositivos de POC de la técnica anterior, la superficie de captura es parte integral del dispositivo y si la superficie de captura es incorrecta o no se forma correctamente, todo el dispositivo es defectuoso. Mediante un dispositivo como se describe en la presente descripción, la superficie de captura y/o la unidad de ensayo pueden controlarse individualmente en cuanto a su calidad y personalizarse independientemente de las unidades de reactivos y la carcasa del dispositivo.

Las unidades de reactivos pueden llenarse con una variedad de reactivos de una manera justo a tiempo similar. Esto proporciona flexibilidad para que el dispositivo sea personalizable. Además, las unidades de reactivo pueden llenarse con diferentes volúmenes de reactivos sin afectar la estabilidad de un dispositivo o las reacciones químicas que se van a ejecutar dentro del dispositivo. Acoplados con un sistema como el descrito con un dispositivo de transferencia de fluidos, los dispositivos y unidades descritos en la presente descripción ofrecen flexibilidad en los métodos y protocolos de los ensayos que se van a ejecutar. Por ejemplo, un lote de dispositivos similares que contienen los mismos reactivos puede administrarse a un grupo de pacientes para un ensayo clínico. A la mitad del ensayo clínico, un usuario identifica que el ensayo podría optimizarse al cambiar la dilución de la muestra y la cantidad de reactivo proporcionada a la unidad de ensayo. Como se proporciona en la presente descripción, el ensayo puede cambiarse u optimizarse al cambiar únicamente las instrucciones a un procesador programable del dispositivo de transferencia de fluidos. Por ejemplo, el lote de cartuchos en el grupo de pacientes tenía un exceso de diluyente cargado en el cartucho. El nuevo protocolo exige cuatro veces más diluyente que el protocolo anterior. Debido a los métodos y sistemas proporcionados en la presente descripción, el protocolo puede cambiarse en un servidor central y enviarse a todos los sistemas para ejecutar los métodos con los dispositivos sin tener que proporcionar nuevos dispositivos al grupo de pacientes. En otras palabras, un dispositivo y sistema de POC como se describe en la presente descripción puede ofrecer gran parte de la flexibilidad de una práctica de laboratorio estándar en la que frecuentemente se dispone de un exceso de reactivos y, a menudo, un exceso de muestra.

En algunos casos, en donde las unidades del cartucho se separan, los dispositivos y sistemas proporcionan flexibilidad en la construcción de los sistemas descritos en la presente descripción. Por ejemplo, un cartucho puede configurarse para ejecutar 8 ensayos mediante el uso de una matriz de unidades de ensayo y una matriz de unidades de reactivos. Debido a las características del cartucho que se describen en la presente descripción, puede usarse la misma carcasa o una carcasa del mismo diseño para fabricar un cartucho con hasta 8 ensayos diferentes que el cartucho anterior. Esta flexibilidad es difícil de lograr en muchos diseños actuales de dispositivos de POC debido a los sistemas y los

canales de fluido cerrados y, por lo tanto, los dispositivos pueden no ser modulares o tan fáciles de ensamblar como se describe.

5 Actualmente, existe la necesidad de detectar más de un analito cuando los analitos están presentes en un intervalo de concentración muy variable, por ejemplo, un analito está en el intervalo de concentración de pg/ml y otro está en el intervalo de concentración de ug/ml. El sistema como se describe en la presente descripción tiene la capacidad de analizar simultáneamente analitos que están presentes en la misma muestra en un amplio intervalo de concentraciones. Otra ventaja de poder detectar concentraciones de diferentes analitos presentes en un amplio intervalo de concentraciones es la capacidad de relacionar las relaciones de concentración de estos analitos con la seguridad y eficacia de múltiples fármacos administrados a un paciente. Por ejemplo, las interacciones farmacológicas inesperadas pueden ser una causa común de reacciones adversas a los fármacos. Una técnica de medición simultánea en tiempo real para medir diferentes analitos ayudaría a evitar las consecuencias potencialmente desastrosas de las interacciones farmacológicas adversas.

10 15 Ser capaz de monitorear la tasa de cambio de la concentración de un analito y/o la concentración de marcadores de PD o PK durante un período de tiempo en un solo sujeto, o realizar análisis de tendencias sobre la concentración o marcadores de PD o PK, ya sea si son concentraciones de fármacos o sus metabolitos, pueden ayudar a evitar situaciones potencialmente peligrosas. Por ejemplo, si la glucosa fuera el analito de interés, la concentración de glucosa en una muestra en un momento dado, así como también la tasa de cambio de la concentración de glucosa durante un período de tiempo dado, podrían ser muy útiles para predecir y evitar, por ejemplo, eventos hipoglucémicos. Dicho análisis de tendencias tiene implicaciones beneficiosas generalizadas en el régimen de dosificación de fármacos. Cuando se trata de múltiples fármacos y sus metabolitos, frecuentemente es conveniente la capacidad de detectar una tendencia y tomar medidas proactivas.

20 25 En consecuencia, los datos generados con el uso de los dispositivos y sistemas de fluidos objeto pueden utilizarse para realizar un análisis de tendencia sobre la concentración de un analito en un sujeto.

30 Frecuentemente, 8 ensayos en el mismo cartucho pueden requerir diferentes diluciones o pretratamientos. El intervalo de dilución puede ser sustancial entre ensayos. Muchos dispositivos de POC actuales ofrecen un intervalo limitado de dilución y, por lo tanto, un número limitado de ensayos que pueden llevarse a cabo potencialmente en el dispositivo de POC. Sin embargo, un sistema y/o cartucho como se describe en la presente descripción puede ofrecer un amplio intervalo de diluciones debido a la capacidad de diluir en serie una muestra. Por lo tanto, puede realizarse un gran número de ensayos potenciales en un solo cartucho o en una pluralidad de cartuchos sin modificar el detector o el instrumento de lectura para los ensayos.

35 40 En un ejemplo, un sistema como se proporciona en la presente descripción se configura para ejecutar múltiples (por ejemplo, cinco o más) ensayos de detección de analitos objetivo diferentes. Para llevar la concentración de analito esperada dentro del intervalo de detección de un inmunoensayo como se describe en la presente descripción y usado comúnmente en el campo de los POC, una muestra debe diluirse, por ejemplo, 3:1, 8:1, 10:1, 100:1, y 2200:1, para ejecutar cada uno de los cinco ensayos. Debido a que el dispositivo de transferencia de fluidos es capaz de mantener y mover el fluido dentro del dispositivo, pueden realizarse diluciones en serie con un sistema como se describe en la presente descripción para lograr estas cinco diluciones diferentes y detectar los cinco analitos objetivo diferentes. Como se describió anteriormente, el protocolo para realizar los ensayos también puede ajustarse sin modificar el dispositivo o el sistema.

45 50 En un entorno de laboratorio con pipeteo tradicional, se usan típicamente mayores volúmenes de muestra que en un entorno POC. Por ejemplo, un laboratorio puede analizar una muestra de sangre extraída del brazo de un paciente en un volumen en el intervalo de mililitros. En un entorno POC, muchos dispositivos y usuarios exigen que el proceso sea rápido, fácil y/o mínimamente invasivo, por lo tanto, las muestras pequeñas (del orden de un volumen en el intervalo de microlitros), tal como la obtenida con una punción digital) se analizan típicamente mediante un dispositivo de POC. Debido a la diferencia en la muestra, los dispositivos de POC actuales pueden perder flexibilidad al ejecutar un ensayo que se ofrece en un entorno de laboratorio. Por ejemplo, para ejecutar varios ensayos a partir de una muestra, puede requerirse un cierto volumen mínimo para cada ensayo para permitir la detección precisa de un analito, lo que establece, por lo tanto, algunos límites en un dispositivo en una configuración de POC.

55 60 En otro ejemplo, un sistema y/o dispositivo de transferencia de fluidos como se describe en la presente descripción proporciona una gran flexibilidad. Por ejemplo, el dispositivo de transferencia de fluidos puede automatizarse para mover una unidad de ensayo, una punta de ensayo o una pipeta vacía desde una unidad del dispositivo a una unidad separada del dispositivo, que no están en comunicación continua entre sí. En algunos casos, esto puede evitar la contaminación cruzada de las unidades de un dispositivo como se describe. En otros casos, permite la flexibilidad de mover varios fluidos dentro de un dispositivo como se describe en contacto entre sí de acuerdo con un protocolo o instrucciones. Por ejemplo, un cartucho que comprende 8 reactivos diferentes en 8 unidades de reactivos diferentes puede direccionarse y acoplarse mediante un dispositivo de transferencia de fluidos en cualquier orden o combinación según las instrucciones de un protocolo. Por lo tanto, pueden ejecutarse muchas secuencias diferentes para que se ejecute cualquier reacción química en el dispositivo. Sin cambiar el volumen de los reactivos en el cartucho o el tipo de

65

reactivos en el cartucho, el protocolo de ensayo puede ser diferente o modificado sin la necesidad de un segundo cartucho o un segundo sistema.

5 Por ejemplo, un usuario solicita un cartucho con un tipo específico de superficie de captura y reactivos específicos para ejecutar un ensayo para detectar un analito (por ejemplo, proteína C reactiva (CRP)) en una muestra. El protocolo que el usuario planeó originalmente puede requerir 2 etapas de lavado y 3 etapas de dilución. Una vez que el usuario ha recibido el dispositivo y el sistema, el usuario ha decidido que el protocolo debería tener realmente 5 etapas de lavado y solo 1 etapa de dilución. Los dispositivos y sistemas en la presente descripción pueden permitir la flexibilidad para este cambio de protocolo sin tener que reconfigurar el dispositivo o el sistema. En este ejemplo, solo se necesita enviar un nuevo protocolo o un conjunto de instrucciones al procesador programable del sistema o el dispositivo de transferencia de fluidos.

10 En otro ejemplo, un sistema como se proporciona en la presente descripción se configura para ejecutar cinco ensayos de detección de analitos objetivo diferentes, en donde cada ensayo debe incubarse a una temperatura diferente. En muchos dispositivos de POC de la técnica anterior, la incubación de múltiples ensayos a diferentes temperaturas es una tarea difícil porque los múltiples ensayos no son modulares y las superficies de captura no pueden moverse con respecto al dispositivo de calentamiento. En un sistema como se describe en la presente descripción, en donde una unidad de ensayo individual se configura para ejecutar una reacción química, puede colocarse una unidad de ensayo individual en una unidad de calentamiento individual. En algunas modalidades, un sistema comprende una pluralidad de unidades de calentamiento. En algunos casos, un sistema comprende al menos tantas unidades de calentamiento como unidades de ensayo. Por lo tanto, pueden ejecutarse una pluralidad de ensayos como una pluralidad de temperaturas.

15 Los sistemas y dispositivos descritos en la presente descripción pueden proporcionar, además, una variedad de mediciones de control de calidad de las que no se disponía anteriormente con muchos dispositivos de POC de la técnica anterior. Por ejemplo, debido a la modularidad de un dispositivo, las unidades de ensayo y las unidades de reactivos pueden controlarse en cuanto a la calidad por separado una de otras y/o por separado de la carcasa y/o por separado de un sistema o dispositivo de transferencia de fluidos. Se describen métodos y sistemas de control de calidad ilustrativos ofrecidos por los sistemas y dispositivos en la presente descripción.

20 Un sistema como el descrito puede ejecutar una variedad de ensayos, independientemente del analito que se detecta en una muestra de fluido corporal. Un protocolo que depende de la identidad del dispositivo puede transferirse desde un dispositivo externo donde puede almacenarse en un ensamble de lector para permitir que el ensamble de lector lleve a cabo el protocolo específico en el dispositivo. En algunas modalidades, el dispositivo tiene un identificador (ID) que se detecta o lee por un detector de identificador descrito en la presente descripción. El detector de identificador puede comunicarse con un ensamble de comunicación a través de un controlador que transmite el identificador a un dispositivo externo. Cuando se desea, el dispositivo externo envía un protocolo almacenado en el dispositivo externo al ensamble de comunicación basado en el identificador. El protocolo que se ejecutará en el sistema puede comprender instrucciones para el controlador del sistema para realizar el protocolo, lo que incluye, pero no se limita a, un ensayo particular a ejecutar y un método de detección a realizar. Una vez que el sistema realiza el ensayo, se genera una señal indicativa de un analito en la muestra de fluido corporal y se detecta mediante un ensamble de detección del sistema. La señal detectada puede comunicarse a continuación al ensamble de comunicaciones, donde puede transmitirse al dispositivo externo para su procesamiento, lo que incluye, sin limitación, el cálculo de la concentración del analito en la muestra.

25 En algunas modalidades, el identificador puede ser un identificador de código de barras con una serie de líneas blancas y negras, que pueden leerse por un detector de identificadores, tal como un lector de códigos de barras, que son bien conocidos. Otros identificadores podrían ser una serie de valores alfanuméricos, colores, protuberancias o cualquier otro identificador que pueda ubicarse en un dispositivo y detectarse o leerse por un detector de identificador. El detector de identificador también puede ser un LED que emite luz que puede interactuar con un identificador que refleja la luz y se mide por el detector de identificador para determinar la identidad de un dispositivo. En algunas modalidades, el identificador puede comprender un dispositivo de almacenamiento o memoria y puede transmitir información a un detector de identificación. En algunas modalidades, puede usarse una combinación de técnicas. En algunas modalidades, el detector se calibra mediante el uso de una fuente óptica, tal como un LED.

30 En un ejemplo, puede proporcionarse una muestra de fluido corporal a un dispositivo y el dispositivo puede insertarse en un sistema. En algunas modalidades, el dispositivo se inserta parcialmente de forma manual, y después un interruptor mecánico en el ensamble de lector coloca automáticamente de manera adecuada el dispositivo dentro del sistema. Puede usarse cualquier otro mecanismo conocido en la técnica para insertar un disco o cartucho en un sistema. En algunas modalidades, puede ser necesaria la inserción manual.

35 En algunas modalidades, un método para seleccionar automáticamente un protocolo a ejecutar en un sistema comprende proporcionar un dispositivo que comprende un detector de identificador y un identificador; detectar el identificador; transferir dicho identificador a un dispositivo externo; y seleccionar un protocolo a ejecutar en el sistema a partir de una pluralidad de protocolos en dicho dispositivo externo asociado con dicho identificador.



En un aspecto, se describe un sistema para la detección automatizada de una pluralidad de analitos en una muestra de fluido corporal que comprende: un dispositivo de fluidos (tal como los descritos en la presente descripción) que comprende: una unidad de recolección de muestras configurada para contener la muestra de fluido corporal; una matriz de unidades de ensayo, en donde una unidad de ensayo individual de dicha matriz de unidades de ensayo se configura para ejecutar una reacción química que produce una señal indicativa de que se detecta un analito individual de dicha pluralidad de analitos; y una matriz de unidades de reactivos, en donde una unidad de reactivos individual de dicha matriz de unidades de reactivos contiene un reactivo. El sistema comprende, además, un dispositivo de transferencia de fluidos que comprende una pluralidad de cabezales, en donde un cabezal individual de la pluralidad de cabezales se configura para acoplarse a la unidad de ensayo individual, y en donde dicho dispositivo de transferencia de fluidos comprende un procesador programable configurado para dirigir la transferencia de fluidos de la muestra de fluido corporal a partir de la unidad de recolección de muestras y el reactivo a partir de la unidad de reactivos individual a la unidad de ensayo individual. Por ejemplo, una unidad de ensayo individual comprende un reactivo y se configura para ejecutar una reacción química con ese reactivo.

En algunos casos, la configuración del procesador para dirigir la transferencia de fluidos realiza un grado de dilución de la muestra de fluido corporal en la matriz de unidades de ensayo para llevar las señales indicativas de la pluralidad de analitos que se detectan dentro de un intervalo detectable, de manera que dicha pluralidad de los analitos es detectable con dicho sistema. En un ejemplo, la muestra de fluido corporal comprende al menos dos analitos que están presentes en concentraciones que difieren en al menos 2, 5, 10, 15, 50 o 100 órdenes de magnitud. En un ejemplo, la muestra de fluido corporal es una sola gota de sangre. En una modalidad, las concentraciones de al menos dos analitos presentes en una muestra difieren hasta en 10 órdenes de magnitud (por ejemplo, un primer analito está presente a 0,1 pg/ml y un segundo analito está presente a 500 ug/ml. En otro ejemplo, algunos analitos de proteínas se encuentran en concentraciones superiores a 100 mg/ml, lo que puede extender el intervalo de interés a aproximadamente doce órdenes de magnitud.

Un grado de dilución de la muestra de fluido corporal puede llevar las señales indicativas de los al menos dos analitos dentro del intervalo detectable. En muchos casos, un sistema comprende, además, un detector, tal como un fotomultiplicador (PMT). Con un fotomultiplicador, por ejemplo, un intervalo detectable del detector puede ser de aproximadamente 10 a aproximadamente 10 millones de recuentos por segundo. Cada recuento corresponde a un solo fotón. En algunos casos, los PMT no son 100 % eficientes y la tasa de recuento observada puede ser ligeramente menor, pero aún cercana, al número real de fotones que llegan al detector por unidad de tiempo. En algunos casos, los recuentos se miden en aproximadamente diez intervalos de aproximadamente un segundo y los resultados se promedian. En algunas modalidades, los intervalos para los ensayos son 1000 - 1 000 000 recuentos por segundo cuando se usa un PMT como detector. En algunos casos, pueden medirse velocidades de recuento tan bajas como 100 por segundo y velocidades de recuento tan altas como 10 000 000. El intervalo de respuesta lineal de los PMT (por ejemplo, el intervalo donde la tasa de recuento es directamente proporcional al número de fotones por unidad de tiempo) puede ser de aproximadamente 1000-3 000 000 recuentos por segundo. En un ejemplo, un ensayo tiene una señal detectable en el extremo inferior de aproximadamente 200-1000 recuentos por segundo y en el extremo superior de aproximadamente 10 000-2 000 000 recuentos por segundo. En algunos casos, para los biomarcadores de proteínas, la velocidad de recuento es directamente proporcional a la fosfatasa alcalina unida a la superficie de captura y también directamente proporcional a la concentración de analito. Otros detectores ilustrativos incluyen fotodiodos de avalancha, matrices de fotodiodos de avalancha, matrices de CCD, matrices de CCD superenfriadas. Muchos otros detectores tienen una salida que es digital y generalmente proporcional a los fotones que llegan al detector. El intervalo detectable para los detectores ilustrativos puede ser adecuado para el detector que se usa.

Puede configurarse un cabezal individual de un dispositivo de transferencia de fluidos para adherirse a la unidad de ensayo individual. El dispositivo de transferencia de fluidos puede ser una pipeta, tal como una pipeta de desplazamiento de aire. El dispositivo de transferencia de fluidos puede automatizarse. Por ejemplo, un dispositivo de transferencia de fluidos puede comprender, además, un motor en comunicación con un procesador programable, y el motor puede mover la pluralidad de cabezales basado en un protocolo del procesador programable. Como se describe, una unidad de ensayo individual puede ser una punta de pipeta, por ejemplo, una punta de pipeta con una superficie de captura o un sitio de reacción.

Frecuentemente, en un dispositivo de POC, tal como los sistemas y dispositivos descritos en la presente descripción, el factor de dilución debe estimarse y ser razonablemente preciso. Por ejemplo, en entornos donde usuarios no expertos operan el sistema, es necesario que existan formas de garantizar la dilución de una muestra.

Como se describe en la presente descripción, un dispositivo de transferencia de fluidos puede realizar un grado de dilución de una muestra para proporcionar resultados de ensayo precisos. Por ejemplo, un dispositivo de transferencia de fluidos programable puede tener varios cabezales para diluir o diluir en serie las muestras, así como también proporcionar la mezcla de una muestra y un diluyente. Un dispositivo de transferencia de fluidos puede proporcionar, además, el movimiento de fluidos en los dispositivos de POC.

Como se describe, los sistemas y dispositivos en la presente descripción pueden permitir muchas características de la flexibilidad de un entorno de laboratorio en un entorno de POC. Por ejemplo, las muestras pueden recolectarse y manipularse automáticamente en un dispositivo o sistema de tamaño de mesa o más pequeño. Un problema común

en los dispositivos de POC es lograr diferentes intervalos de dilución cuando se realizan una pluralidad de ensayos, en donde los ensayos pueden tener una sensibilidad o especificidad significativamente diferente. Por ejemplo, puede haber dos analitos en una muestra, pero un analito tiene una concentración alta en la muestra y el otro analito tiene una concentración muy baja. Como se proporciona, los sistemas y dispositivos en la presente descripción pueden diluir la muestra a niveles significativamente diferentes para detectar ambos analitos. Por ejemplo, si el analito se encuentra en una concentración alta, una muestra puede diluirse en serie hasta el intervalo de detección apropiado y proporcionarse a una superficie de captura para su detección. En el mismo sistema o dispositivo, es posible que no sea necesario diluir una muestra con un analito en baja concentración. De esta manera, el intervalo de ensayo de los dispositivos y sistemas de POC proporcionados en la presente descripción puede ampliarse a partir de muchos de los dispositivos de POC actuales.

Un dispositivo de transferencia de fluidos puede ser parte de un sistema que es un instrumento de mesa. El dispositivo de transferencia de fluidos puede comprender una pluralidad de cabezales. Se prevé cualquier número de cabezales que sea necesario para detectar una pluralidad de analitos en una muestra para un dispositivo de transferencia de fluidos de la invención. En un ejemplo, un dispositivo de transferencia de fluidos tiene aproximadamente ocho cabezales montados en línea y separados por una distancia. En una modalidad, los cabezales tienen una boquilla cónica que se acopla mediante ajuste a presión con una variedad de puntas, tales como unidades de ensayo o unidades de recolección de muestras como se describe en la presente descripción. Las puntas pueden tener un elemento que permite que el instrumento las retire automáticamente y las coloque en una carcasa de un dispositivo como se describe después de su uso. En una modalidad, las puntas de ensayo son claras y transparentes y pueden ser similares a una cubeta dentro de la cual se ejecuta un ensayo que puede detectarse por un detector óptico tal como un tubo fotomultiplicador.

En un ejemplo, el procesador programable de un sistema puede comprender instrucciones o comandos y puede operar un dispositivo de transferencia de fluidos de acuerdo con las instrucciones para transferir muestras líquidas ya sea al retirar (para introducir líquido) o extender (para expulsar líquido) un pistón en un espacio de aire cerrado. Tanto el volumen de aire movido como la velocidad de movimiento pueden controlarse con precisión, por ejemplo, mediante el procesador programable.

La mezcla de muestras (o reactivos) con diluyentes (u otros reactivos) puede lograrse al aspirar los componentes a mezclar en un tubo común y después aspirar repetidamente una fracción significativa del volumen de líquido combinado hacia arriba y hacia abajo en una punta. La disolución de los reactivos secos en un tubo puede realizarse de manera similar. La incubación de muestras líquidas y reactivos con una superficie de captura sobre la que se une un reactivo de captura (por ejemplo, un anticuerpo) puede lograrse al extraer el líquido apropiado en la punta y mantenerlo allí durante un tiempo predeterminado. La extracción de muestras y reactivos puede lograrse al expulsar el líquido hacia un depósito o una almohadilla absorbente en un dispositivo como se describe. A continuación, puede extraerse otro reactivo en la punta de acuerdo con las instrucciones o el protocolo del procesador programable.

En un ejemplo como se ilustra en la Figura 11, un líquido **1111** previamente en una punta **1101** puede dejar una película delgada **1113** dentro de la punta **1101** cuando se expulsa. Por lo tanto, un sistema puede usar la acción de la porción delantera (por ejemplo, la superior) del siguiente líquido **1112** para limpiar el líquido **1111** previamente presente de la punta **1101**. La porción del líquido subsiguiente contaminado con el líquido previamente presente **1113** puede mantenerse dentro de la parte superior de la punta **1101** donde no continúa en interacción con la superficie de captura **1102**. La superficie de captura **1102** puede estar en un área definida de la punta **1101** de manera que el líquido anterior **1111** no reacciona con la superficie de captura **1102**, por ejemplo, como se muestra en la Figura 11, la superficie de captura **1102** ocupa una porción definida de la parte cilíndrica de la punta **1101** que no se extiende completamente hasta la protuberancia de la punta. En muchos casos, el tiempo de incubación es corto (por ejemplo, 10 minutos) y la separación de la zona contaminada de líquido es relativamente grande ( $> 1$  mm), por lo que la difusión de los componentes activos de la porción contaminada del líquido **1113** no se produce lo suficientemente rápido para reaccionar con la superficie de captura **1102** durante la incubación. Para muchos ensayos de alta sensibilidad, existe el requisito de eliminar un reactivo o lavar la superficie de captura (por ejemplo, un anticuerpo detector que se marca con el generador de señal del ensayo). En un ejemplo, un dispositivo de transferencia de fluidos de un sistema descrito en la presente descripción puede proporcionar lavado al añadir ciclos adicionales de extracción y aspiración de transferencia de fluidos, por ejemplo, mediante el uso de un reactivo de lavado. En un ejemplo, cuatro etapas de lavado demostraron que el anticuerpo detector no unido en contacto con la superficie de captura se reduce en un factor mejor que  $10^6$  veces. También puede eliminarse cualquier anticuerpo detector no unido específicamente a la superficie de captura (muy inconveniente) durante este proceso de lavado.

La extensión del intervalo de un ensayo puede lograrse mediante la dilución de la muestra. En los sistemas de ensayo POC que usan cartuchos desechables que contienen el diluyente, existe frecuentemente un límite práctico para el grado de dilución. Por ejemplo, si una pequeña muestra de sangre que se obtiene por punción digital (por ejemplo, unos 20 microlitros) se va a diluir, y el volumen máximo de diluyente que puede colocarse en un tubo es de 250 microlitros, el límite práctico de dilución de toda la muestra es de aproximadamente 10 veces. En un ejemplo en la presente descripción, un sistema puede aspirar un volumen más pequeño de la muestra (por ejemplo, aproximadamente 2 microlitros) lo que hace que el factor de dilución máximo sea aproximadamente 100 veces. Para muchos ensayos, dichos factores de dilución son aceptables, pero para un ensayo como el de CRP (como se describe

en los ejemplos en la presente descripción) es necesario diluir mucho más la muestra. Los ensayos ELISA basados en separación pueden tener una limitación intrínseca en la capacidad de la superficie de captura para unirse al analito (por ejemplo, aproximadamente unos pocos cientos de ng/ml para un analito proteico típico). Algunos analitos están presentes en la sangre a cientos de microgramos/ml. Incluso cuando se diluye 100 veces, la concentración de analito puede estar fuera del intervalo de calibración. En una modalidad ilustrativa de un sistema, dispositivo y dispositivo de transferencia de fluidos en la presente descripción, pueden lograrse múltiples diluciones al realizar múltiples transferencias de fluidos del diluyente hacia una unidad de ensayo individual o unidad de recolección de muestras. Por ejemplo, si la concentración de un analito es muy alta en una muestra como se describió anteriormente, la muestra puede diluirse varias veces hasta que la concentración del analito esté dentro de un intervalo de detección aceptable. Los sistemas y métodos en la presente descripción pueden proporcionar mediciones o estimaciones precisas de las diluciones para calcular la concentración original del analito.

En una modalidad, un sistema en la presente descripción puede mover una muestra líquida y mover una unidad de ensayo. Un sistema puede comprender un bloque de calentamiento y un detector. Para mover una muestra líquida, un sistema puede proporcionar una acción de tipo aspiración, jeringa o pipeta. En una modalidad ilustrativa, un dispositivo de transferencia de fluidos para mover una muestra líquida es una pipeta y un sistema de cabezales de pipetas. El número de dispositivos de pipeta requeridos por el sistema puede ajustarse de acuerdo con el tipo de analito que se va a detectar y el número de ensayos que se realizan. Las acciones realizadas por el sistema de pipetas pueden ser automatizadas u operadas manualmente por un usuario.

La Figura 5 muestra un ejemplo de un dispositivo de transferencia de fluidos **520** y un sistema **500** como se describe en la presente descripción. El sistema del dispositivo de transferencia de fluidos puede mover ocho volúmenes de líquido diferentes o idénticos simultáneamente mediante el uso de los ocho cabezales diferentes **522**. Por ejemplo, el cartucho (o dispositivo como se describe en la presente descripción) **510** comprende ocho unidades de ensayo **501**. Las unidades de ensayo individuales **501** se configuran de acuerdo con el tipo de ensayo a ejecutar dentro de la unidad **501**. Las unidades de ensayo individuales **501** pueden requerir un determinado volumen de muestra. Puede usarse un cabezal individual **522** para distribuir una cantidad adecuada de muestra a una unidad de ensayo individual **501**. En este ejemplo, cada cabezal **522** corresponde a una unidad de ensayo individual direccionada **501**.

El mecanismo del dispositivo de transferencia de fluidos **520** también puede usarse para distribuir reactivos desde las unidades de reactivo. Los diferentes tipos de reactivos incluyen una solución de conjugado, una solución de lavado y una solución de sustrato. En un sistema automatizado, la base **530** sobre la que se asienta el dispositivo **510** puede moverse para mover el dispositivo **510** con respecto al posicionamiento de las unidades de ensayo **501** y los cabezales **522** y de acuerdo con las etapas necesarias para completar un ensayo como se muestra en la Figura 5. Alternativamente, los cabezales **522** y las puntas **501** o el dispositivo de transferencia de fluidos **520** pueden moverse con respecto a la posición del dispositivo **510**.

En algunas modalidades, se proporciona un reactivo en forma seca y se rehidrata y/o disuelve durante el ensayo. Las formas secas incluyen materiales liofilizados y películas recubiertas sobre superficies.

Un sistema puede comprender un soporte o acoplador para mover las unidades o puntas de ensayo. Un acoplador puede comprender un ensamble de vacío o un ensamble diseñado para ajustar de manera ceñida en una protuberancia de la punta de una unidad de ensayo. Por ejemplo, un medio para mover las puntas puede moverse de manera similar a los cabezales del dispositivo de transferencia de fluidos. El dispositivo también puede moverse sobre una base de acuerdo con la posición de un acoplador o sujetador.

En una modalidad, un instrumento para mover las puntas es el mismo que un instrumento para mover un volumen de muestra, tal como un dispositivo de transferencia de fluidos como se describe en la presente descripción. Por ejemplo, puede colocarse una punta de recolección de muestras en un cabezal de pipeta de acuerdo con la protuberancia de la punta de recolección. La punta de recolección puede usarse a continuación para distribuir el líquido por todo el dispositivo y el sistema. Una vez que se ha distribuido el líquido, puede desecharse la punta de recolección y puede ajustarse el cabezal de la pipeta en una unidad de ensayo de acuerdo con la protuberancia sobre la unidad de ensayo. A continuación, la punta de la unidad de ensayo puede moverse de la unidad de reactivos a otra unidad de reactivo, y los reactivos pueden distribuirse a la unidad de ensayo de acuerdo con la acción de tipo aspiración o pipeta proporcionada por el cabezal de la pipeta. El cabezal de la pipeta también puede realizar la mezcla dentro de una punta de recolección, unidad de ensayo o unidad de reactivos mediante una acción de tipo aspiración o jeringa.

Un sistema puede comprender un bloque de calentamiento para calentar el ensayo o la unidad de ensayo y/o para controlar la temperatura del ensayo. Puede usarse calor en la etapa de incubación de una reacción de ensayo para promover la reacción y acortar la duración necesaria para la etapa de incubación. Un sistema puede comprender un bloque de calentamiento configurado para recibir una unidad de ensayo de la invención. El bloque de calentamiento puede configurarse para recibir una pluralidad de unidades de ensayo desde un dispositivo de la invención. Por ejemplo, si se desea ejecutar 8 ensayos en un dispositivo, el bloque de calentamiento puede configurarse para recibir 8 unidades de ensayo. En algunas modalidades, las unidades de ensayo pueden moverse hacia el contacto térmico con un bloque de calentamiento mediante el uso de los medios para mover las unidades de ensayo. El calentamiento puede realizarse mediante un medio de calentamiento conocido en la técnica.

Un sistema ilustrativo **600** como se describe en la presente descripción se muestra en la Figura 6. El sistema **600** comprende una base de traslación **630** sobre la que se coloca un dispositivo **610** (o cartucho en este ejemplo) ya sea de forma manual o automática o una combinación de ambas. El sistema **600** comprende, además, un bloque de calentamiento **640** que puede alinearse con las unidades de ensayo **611** del dispositivo **610**. Como se muestra en la Figura 6, el dispositivo **610** comprende una serie de 8 unidades de ensayo **611** y múltiples unidades de reactivos correspondientes **612**, y el bloque de calentamiento **640** comprende, además, un área **641** para que al menos 8 unidades se calienten simultáneamente. Cada una de las áreas de calentamiento **641** puede proporcionar temperaturas iguales o diferentes a cada unidad de ensayo individual **611** de acuerdo con el tipo de ensayo que se ejecuta o el tipo de analito que se detecta. El sistema **600** comprende, además, un detector (tal como un tubo fotomultiplicador) **650** para la detección de una señal de una unidad de ensayo **611** representativa de la detección de un analito en una muestra.

En una modalidad, se proporciona un sensor para localizar una unidad de ensayo con respecto a un detector cuando se detecta un ensayo.

En una modalidad, el detector es un ensamble de lector que aloja un ensamble de detección para detectar una señal producida por al menos un ensayo en el dispositivo. El ensamble de detección puede estar por encima del dispositivo o en una orientación diferente con relación al dispositivo basado en, por ejemplo, el tipo de ensayo que se realiza y el mecanismo de detección que se emplea. El ensamble de detección puede ponerse en comunicación con la unidad de ensayo o la unidad de ensayo puede ponerse en comunicación con el ensamble de detección.

En muchos casos, se proporciona un detector óptico y se usa como dispositivo de detección. Los ejemplos no limitantes incluyen un fotodiodo, tubo fotomultiplicador (PMT), detector de recuento de fotones, fotodiodo de avalancha o dispositivo de carga acoplada (CCD). En algunas modalidades, puede usarse un diodo pin. En algunas modalidades, puede acoplarse un diodo pin a un amplificador para crear un dispositivo de detección con una sensibilidad comparable a un PMT. Algunos ensayos pueden generar luminiscencia como se describe en la presente descripción. En algunas modalidades, se detecta quimioluminiscencia. En algunas modalidades, un ensamble de detección podría incluir una pluralidad de cables de fibra óptica conectados como un haz a un detector CCD o a una matriz de PMT. El haz de fibras ópticas podría construirse con fibras discretas o con muchas fibras pequeñas fusionadas entre sí para formar un haz sólido. Dichos haces sólidos están disponibles comercialmente y se conectan fácilmente a los detectores CCD.

Un detector también puede comprender una fuente de luz, tal como una bombilla o un diodo emisor de luz (LED). La fuente de luz puede iluminar un ensayo para detectar los resultados. Por ejemplo, el ensayo puede ser un ensayo de fluorescencia o un ensayo de absorbancia, como se usan comúnmente con ensayos de ácidos nucleicos. El detector puede comprender, además, elementos ópticos para suministrar la fuente de luz al ensayo, tal como una lente o fibra óptica.

En algunas modalidades, el sistema de detección puede comprender detectores o sensores no ópticos para detectar un parámetro particular de un sujeto. Dichos sensores pueden incluir temperatura, conductividad, señales potenciométricas y señales amperométricas, para compuestos que se oxidan o se reducen, por ejemplo,  $O_2$ ,  $H_2O_2$  e  $I_2$ , o compuestos orgánicos oxidables/reducibles.

Un dispositivo y un sistema pueden, después de la fabricación, enviarse al usuario final juntos o individualmente. El dispositivo o sistema de la invención puede empaquetarse con un manual de usuario o instrucciones de uso. En una modalidad, el sistema de la invención es genérico para el tipo de ensayos ejecutados en diferentes dispositivos. Debido a que los componentes del dispositivo pueden ser modulares, puede que un usuario solo necesite un sistema y una variedad de dispositivos o unidades de ensayo o unidades de reactivos para ejecutar una multitud de ensayos en un entorno de punto de atención. En este contexto, un sistema puede usarse repetidamente con múltiples dispositivos, y puede ser necesario tener sensores tanto en el dispositivo como en el sistema para detectar dichos cambios durante el envío, por ejemplo. Durante el envío, los cambios de presión o temperatura pueden afectar el rendimiento de varios componentes del presente sistema y, como tal, un sensor ubicado ya sea en el dispositivo o en el sistema puede transmitir estos cambios, por ejemplo, al dispositivo externo para que los ajustes puedan realizarse durante la calibración o durante el procesamiento de datos en el dispositivo externo. Por ejemplo, si la temperatura de un dispositivo de fluidos se cambia hacia un cierto nivel durante el envío, un sensor ubicado en el dispositivo podría detectar este cambio y transmitir esta información al sistema cuando el usuario inserte el dispositivo en el sistema. Puede existir un dispositivo de detección adicional en el sistema para realizar estas tareas, o dicho dispositivo puede incorporarse a otro componente del sistema. En algunas modalidades, la información puede transmitirse de forma inalámbrica ya sea al sistema o al dispositivo externo, tal como un ordenador personal o un televisor. Igualmente, un sensor en el sistema puede detectar cambios similares. En algunas modalidades, puede ser conveniente tener un sensor también en el embalaje de envío, ya sea en lugar de los componentes del sistema o además de los mismos. Por ejemplo, las condiciones adversas que harían inválido un cartucho de ensayo o un sistema que pueden detectarse pueden incluir la exposición a una temperatura más alta que la máxima tolerable o la ruptura de la integridad del cartucho de manera que la humedad penetre.

En una modalidad, el sistema comprende un ensamble de comunicaciones capaz de transmitir y recibir información de forma inalámbrica desde un dispositivo externo. Dicha comunicación inalámbrica puede ser tecnología Bluetooth o RTM. Pueden usarse diversos métodos de comunicación, tales como una conexión por cable de acceso telefónico con un módem, un enlace directo tal como un T1, ISDN o línea de cable. En algunas modalidades, se establece una conexión inalámbrica mediante el uso de redes inalámbricas ilustrativas tales como redes celulares, satelitales o de localizadores, GPRS o un sistema de transporte de datos local tal como Ethernet o Token Ring sobre una red de área local. En algunas modalidades, la información se cifra antes de transmitirse a través de una red inalámbrica. En algunas modalidades, el ensamble de comunicación puede contener un componente de comunicación inalámbrica por infrarrojos para enviar y recibir información. El sistema puede incluir tarjetas gráficas integradas para facilitar la visualización de la información.

En algunas modalidades, el ensamble de comunicación puede tener una memoria o un dispositivo de almacenamiento, por ejemplo, RAM localizada, en la que puede almacenarse la información recopilada. Es posible que se requiera un dispositivo de almacenamiento si la información no puede transmitirse en un momento dado debido, por ejemplo, a una incapacidad temporal para conectarse de forma inalámbrica a una red. La información puede asociarse con el identificador del dispositivo en el dispositivo de almacenamiento. En algunas modalidades, el ensamble de comunicaciones puede volver a intentar enviar la información almacenada después de un determinado período de tiempo.

En algunas modalidades, un dispositivo externo se comunica con el ensamble de comunicación dentro del conjunto de lector. Un dispositivo externo puede comunicarse de forma inalámbrica o física con un sistema, pero también puede comunicarse con un tercero, lo que incluye, sin limitación, un paciente, personal médico, médicos, personal de laboratorio u otros en la industria de la atención médica.

En la Figura 7 se muestra un método y un sistema ilustrativo. En el ejemplo de la Figura 7, un paciente suministra una muestra de sangre a un dispositivo como se describe en la presente descripción y después el dispositivo se inserta en un lector, en donde el lector puede ser un sistema de escritorio capaz de leer un analito en la muestra de sangre. El lector puede ser un sistema como se describe en la presente descripción. El lector puede ser un sistema de mesa o de escritorio y puede ser capaz de leer una pluralidad de dispositivos diferentes como se describe en la presente descripción. El lector o sistema es capaz de llevar a cabo una reacción química y detectar o leer los resultados de la reacción química. En el ejemplo de la Figura 7, un lector se automatiza de acuerdo con un protocolo enviado desde un dispositivo externo (por ejemplo, un servidor que comprende una interfaz de usuario). Un lector también puede enviar los resultados de la detección de la reacción química al servidor y a la interfaz de usuario. En un sistema ilustrativo, el usuario (por ejemplo, personal médico tal como un médico o investigador) puede ver y analizar los resultados, así como también decidir o desarrollar el protocolo usado para automatizar el sistema. Los resultados también pueden almacenarse localmente (en el lector) o en el sistema del servidor. El servidor también puede alojar registros de pacientes, un diario del paciente y bases de datos de una población de pacientes.

La Figura 8 ilustra el flujo del proceso de construcción de un sistema para evaluar el estado médico de un sujeto. El paciente introduce datos personales y/o mediciones de un dispositivo, lector y/o sistema como se describe en la presente descripción en una base de datos que puede estar presente en un servidor como se describe. El sistema puede configurarse para mostrar los datos personales en la pantalla de una estación del paciente. En algunas modalidades, la pantalla de la estación del paciente es interactiva y el paciente puede modificar los datos ingresados. La misma base de datos o una diferente contiene datos de otros sujetos con un estado médico similar. Los datos de los otros sujetos pueden ser datos históricos de instituciones públicas o privadas. Los datos de otros sujetos también pueden ser datos internos de un estudio clínico.

La Figura 8 ilustra, además, el flujo de datos desde los datos de recolección del lector que incluyen los datos del sujeto hacia un servidor que se conecta a través de una red pública. El servidor puede manipular los datos o puede simplemente proporcionar los datos a una estación de usuario. Los datos del paciente también pueden introducirse en el servidor por separado de los datos relacionados con un estado médico que se almacenan en una base de datos. La Figura 8 muestra, además, una pantalla de estación de usuario y el flujo de información al personal médico o un usuario. Por ejemplo, mediante el uso del flujo de proceso ilustrativo de la Figura 8, un paciente en casa puede introducir una muestra de fluido corporal en un cartucho de la invención como se describe en la presente descripción y colocarlo en un sistema o lector como se describe en la presente descripción. El paciente puede ver los datos del sistema en una pantalla de la estación del paciente y/o modificar o ingresar nuevos datos en el flujo del proceso. Los datos del paciente pueden después viajar a través de una red pública, tal como Internet, por ejemplo, en un formato encriptado, hacia un servidor que comprende una interfaz de red y un procesador, en donde el servidor se ubica en un concentrador central informático o en un centro de ensayos clínicos. El servidor puede usar los datos de los estados médicos para manipular y comprender los datos del usuario y después enviar los resultados a través de una red pública como se describe hacia una estación del usuario. La estación de usuario puede estar en un laboratorio o consultorio médico y tener una pantalla de estación de usuario para mostrar los resultados del ensayo y la manipulación de los datos del paciente al personal médico. En este ejemplo, el personal médico puede recibir los resultados y el análisis de una muestra de un paciente a partir de una prueba que el paciente administró en un lugar alternativo, tal como la casa del paciente. En la presente descripción se describen otras modalidades y ejemplos de sistemas y componentes de sistemas.

5 En algunas modalidades, el dispositivo externo puede ser un sistema informático, servidor u otro dispositivo electrónico capaz de almacenar información o procesar información. En algunas modalidades, el dispositivo externo incluye uno o más sistemas informáticos, servidores u otros dispositivos electrónicos capaces de almacenar información o procesar información. En algunas modalidades, un dispositivo externo puede incluir una base de datos de información del paciente, por ejemplo, pero sin limitarse a, registros médicos o antecedentes del paciente, registros de ensayos clínicos o registros de ensayos preclínicos. Un dispositivo externo puede almacenar protocolos que se ejecutarán en un sistema que pueden transmitirse al ensamble de comunicaciones de un sistema cuando ha recibido un identificador que indica qué dispositivo se ha insertado en el sistema. En algunas modalidades, un protocolo puede depender de un identificador de dispositivo. En algunas modalidades, el dispositivo externo almacena más de un protocolo para cada dispositivo. En otras modalidades, la información del paciente en el dispositivo externo incluye más de un protocolo. En algunos casos, el servidor externo almacena algoritmos matemáticos para procesar un recuento de fotones enviado desde un ensamble de comunicación y en algunas modalidades, para calcular la concentración de analito en una muestra de fluido corporal.

15 En algunas modalidades, el dispositivo externo puede incluir uno o más servidores conocidos en la técnica y disponibles comercialmente. Dichos servidores pueden proporcionar equilibrio de carga, administración de tareas y capacidad de respaldo en caso de falla de uno o más de los servidores u otros componentes del dispositivo externo, para mejorar la disponibilidad del servidor. También puede implementarse un servidor en una red distribuida de unidades de almacenamiento y procesador, como se conoce en la técnica, en donde el procesamiento de datos de acuerdo con la presente invención reside en estaciones de trabajo tales como computadoras, lo que elimina de esta manera la necesidad de un servidor.

20 Un servidor puede incluir una base de datos y procesos del sistema. Una base de datos puede residir dentro del servidor o puede residir en otro sistema de servidor que sea accesible para el servidor. Como la información de una base de datos puede contener información confidencial, puede implementarse un sistema de seguridad que evite que usuarios no autorizados accedan a la base de datos.

25 Una ventaja de algunos de los elementos descritos en la presente descripción es que la información puede transmitirse desde el dispositivo externo de vuelta no solo al ensamble de lector, sino a otras partes u otros dispositivos externos, por ejemplo, sin limitación, un PDA o un teléfono celular. Dicha comunicación puede lograrse a través de una red inalámbrica como se describe en la presente descripción. En algunas modalidades, puede enviarse una concentración de analito calculada u otra información del paciente, por ejemplo, pero sin limitarse a, al personal médico o al paciente.

30 En consecuencia, los datos generados con el uso de los dispositivos y sistemas objeto pueden usarse para realizar un análisis de tendencias sobre la concentración de un analito en un sujeto.

35 Otra ventaja, como se describe en la presente descripción, es que los resultados del ensayo pueden comunicarse de forma sustancialmente inmediata a cualquier tercero que pueda beneficiarse de la obtención de los resultados. Por ejemplo, una vez que se determina la concentración de analito en el dispositivo externo, esta puede transmitirse a un paciente o al personal médico que puede necesitar tomar medidas posteriores. La etapa de la comunicación a un tercero puede realizarse de forma inalámbrica como se describe en la presente descripción, y al transmitir los datos al dispositivo portátil de un tercero, el tercero puede ser notificado de los resultados del ensayo prácticamente en cualquier momento y en cualquier lugar. Por lo tanto, en un escenario sensible al tiempo, puede contactarse a un paciente inmediatamente en cualquier lugar si se requiere una acción médica urgente.

40 Al detectar un dispositivo basado en un identificador asociado con un dispositivo de fluidos después de que se inserta en el sistema, el sistema permite descargar protocolos específicos del dispositivo de fluidos desde un dispositivo externo y ejecutarlos. En algunas modalidades, un dispositivo externo puede almacenar una pluralidad de protocolos asociados con el sistema o asociados con un paciente o grupo de pacientes en particular. Por ejemplo, cuando el identificador se transmite al dispositivo externo, el programa informático del dispositivo externo puede obtener el identificador. Una vez obtenido, el programa informático sobre el dispositivo externo, tal como una base de datos, puede usar el identificador para identificar los protocolos almacenados en la base de datos asociada con el identificador. Si solo se asocia un protocolo con el identificador, por ejemplo, la base de datos puede seleccionar el protocolo y el programa informático en el dispositivo externo puede después transmitir el protocolo al ensamble de comunicaciones del sistema. La capacidad de usar protocolos asociados específicamente con un dispositivo permite que cualquier componente de un dispositivo de la invención se use con un solo sistema y, por lo tanto, prácticamente puede detectarse cualquier analito de interés con un solo sistema.

45 En algunas modalidades, pueden asociarse múltiples protocolos con un único identificador. Por ejemplo, si es beneficioso detectar del mismo paciente un analito una vez a la semana y otro analito dos veces a la semana, los protocolos en el dispositivo externo asociado con el identificador también pueden asociarse con un día diferente de la semana, de manera que cuando se detecta el identificador, el programa informático del dispositivo externo puede seleccionar un protocolo específico asociado con el día de la semana.

65

En algunas modalidades, puede proporcionarse a un paciente una pluralidad de dispositivos para su uso para detectar una variedad de analitos. Un sujeto puede, por ejemplo, usar diferentes dispositivos en diferentes días de la semana. En algunas modalidades, el programa informático del dispositivo externo que asocia el identificador con un protocolo puede incluir un proceso para comparar el día actual con el día en que se usará el dispositivo basado en, por ejemplo, en un ensayo clínico. Si, por ejemplo, los dos días de la semana no son idénticos, el dispositivo externo puede enviar una notificación de forma inalámbrica al sujeto mediante el uso de cualquiera de los métodos descritos en la presente descripción o conocidos en la técnica para notificarle que hay un dispositivo incorrecto en el sistema y también del dispositivo correcto para usar ese día. Este ejemplo es solo ilustrativo y puede extenderse fácilmente a, por ejemplo, notificar a un sujeto que un dispositivo no se usa en el momento correcto del día.

El sistema puede usar, además, un método en red para evaluar el estado médico de un sujeto. Un sistema de comunicación de información puede incluir o no un lector para leer los datos del sujeto. Por ejemplo, si los datos de biomarcadores se adquieren mediante un dispositivo de microfluidos de punto de atención, los valores asignados a diferentes biomarcadores individuales pueden leerse por el propio dispositivo o por un dispositivo separado. Otro ejemplo de un lector sería un sistema de código de barras para escanear los datos del sujeto que se han ingresado en un registro médico electrónico o en un cuadro del médico. Un ejemplo adicional de un lector consistiría en una base de datos electrónica de registros de pacientes a partir de la cual los datos del sujeto podrían obtenerse directamente a través de la red de comunicaciones. De esta forma, la eficacia de determinados fármacos puede demostrarse en tiempo real, lo que justifica por lo tanto el reembolso de la terapia.

El incumplimiento de un tratamiento médico, lo que incluye un ensayo clínico, puede socavar gravemente la eficacia del tratamiento o ensayo. Como tal, en algunas modalidades, el sistema de la presente invención puede usarse para monitorear el cumplimiento del paciente y notificar al paciente u otro personal médico de dicho incumplimiento. Por ejemplo, un paciente que toma un agente farmacéutico como parte del plan de tratamiento médico puede tomar una muestra de fluido corporal que se analiza como se describe en la presente descripción, pero una concentración de metabolitos, por ejemplo, detectada por el sistema puede estar en un nivel elevado en comparación con un perfil conocido, lo que indicará que se han tomado múltiples dosis del agente farmacéutico. El paciente o el personal médico pueden ser notificados de dicho incumplimiento a través de cualquiera de los métodos inalámbricos analizados en la presente descripción, lo que incluye, sin limitación, la notificación a través de un dispositivo portátil como un PDA o un teléfono celular. Dicho perfil conocido puede ubicarse o almacenarse en un dispositivo externo descrito en la presente descripción.

En una modalidad, el sistema puede usarse para identificar subpoblaciones de pacientes que se benefician o se perjudican con una terapia. De esta manera, los fármacos con una toxicidad variable que de cualquier otra manera se verían obligados a salir del mercado pueden salvarse al asignarlos solo a aquellos que se beneficiarán.

#### Métodos

Los dispositivos y métodos de la invención proporcionan un medio eficaz para la detección en tiempo real de los analitos presentes en un fluido corporal de un sujeto. Los métodos de detección pueden usarse en una amplia variedad de circunstancias, lo que incluye la identificación y cuantificación de analitos que se asocian con procesos biológicos específicos, condiciones fisiológicas, trastornos, etapas de trastornos o etapas de terapia. Como tales, los dispositivos y métodos tienen un amplio espectro de utilidad en, por ejemplo, tamizaje de fármacos, diagnóstico de enfermedades, clasificación filogenética, identificación parental y forense, aparición y recurrencia de enfermedades, respuesta individual al tratamiento frente a bases de poblaciones y monitoreo de la terapia. Los dispositivos y métodos también son particularmente útiles para avanzar en la etapa preclínica y clínica del desarrollo de productos terapéuticos, mejorar el cumplimiento del paciente, monitorear las ADR asociadas con un medicamento recetado, medicina individualizada, externalizar el análisis de sangre del laboratorio central a la residencia del paciente. El dispositivo puede emplearse sobre una base de prescripción, utilizarse por compañías farmacéuticas para monitorear agentes terapéuticos después de la aprobación regulatoria o utilizarse para los pagadores que externalizan análisis de sangre de un laboratorio central.

En consecuencia, en una modalidad, la presente invención proporciona un método para detectar un analito en una muestra de fluido corporal que comprende proporcionar una muestra de sangre a un dispositivo o sistema de la invención, permitir que la muestra reaccione dentro de al menos una unidad de ensayo del dispositivo, y detectar la señal detectable generada a partir del analito en la muestra de sangre.

La Figura 1 demuestra una modalidad ilustrativa de un dispositivo de la invención que comprende al menos una unidad de ensayo y al menos una unidad de reactivos. Las unidades de ensayo (por ejemplo, designadas como puntas de muestreo y puntas de calibrador en la Figura 1) pueden contener una superficie de captura y las unidades de reactivos pueden contener elementos tales como conjugados, lavados y sustratos. El dispositivo ejemplificado en la Figura 1 comprende, además, una punta de recolección de muestras de sangre total, una punta de recolección de muestras de plasma, un pocillo de entrada de sangre, un pocillo de perlas o un pocillo de separación de plasma, una almohadilla de activación o secante de punta, un pocillo de dilución, un pocillo de muestra de plasma diluida o pocillo de diluyente de plasma, áreas de eliminación de puntas de recolección.

En una modalidad, un método comprende realizar un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA). En un ejemplo como se describe en este párrafo, se proporciona una muestra a una unidad de recolección de muestras de un dispositivo como se describe en la presente descripción. A continuación, el dispositivo se inserta en un sistema, en donde el sistema detecta el tipo de cartucho o dispositivo que se inserta. Después, el sistema puede comunicarse con un dispositivo externo para recibir un conjunto de instrucciones o protocolo que le permite al sistema realizar el ensayo o ensayos deseados del cartucho. El protocolo puede enviarse al procesador programable de un dispositivo de transferencia de fluidos del sistema. En un ejemplo, el dispositivo de transferencia de fluidos se acopla a una punta de muestreo del cartucho y recoge un cierto volumen de la muestra de la unidad de recolección de muestras y la mueve a una unidad de pretratamiento donde se eliminan los glóbulos rojos. A continuación, el plasma de la muestra puede aspirarse en una punta de plasma o en cualquier punta de ensayo mediante el dispositivo de transferencia de fluidos de acuerdo con el protocolo. La punta que contiene el plasma puede a continuación recoger un diluyente para diluir la muestra según sea necesario para que se ejecuten los ensayos. Pueden llevarse a cabo muchas diluciones diferentes mediante el uso de diluciones seriadas de la muestra. Por ejemplo, cada punta de ensayo o unidad de ensayo puede contener una muestra de una dilución diferente. Una vez que el dispositivo de transferencia de fluidos aspira la muestra a una unidad de ensayo, la unidad de ensayo puede después incubarse con la muestra para permitir que cualquier analito objetivo presente se adhiera a la superficie de captura. Las incubaciones como se describe en este ejemplo pueden ser a temperatura ambiente o la del sistema durante cualquier período de tiempo, por ejemplo, 10 minutos, o pueden realizarse en un dispositivo de calentamiento del sistema como se describe en la presente descripción. La unidad de ensayo puede acoplar una unidad de reactivos direccionada con un reactivo correspondiente al ensayo que se ejecutará en cada unidad de ensayo individual que tenga una superficie de captura para ese ensayo. En este ejemplo, el primer reactivo es una solución detectora de un ELISA, por ejemplo, que comprende un anticuerpo detector tal como un anticuerpo anti-proteína marcado diferente a la superficie de captura. A continuación, la solución detectora se aspira fuera de la unidad de ensayo y después puede aspirarse una solución de lavado en la unidad de ensayo para eliminar cualquier exceso de solución del detector. Pueden usarse varias etapas de lavado. El reactivo final que se va a añadir es un sustrato enzimático que provoca que la solución detectora unida se vuelva quimioluminiscente. A continuación, el sustrato enzimático se expulsa de la unidad de ensayo y un detector del sistema lee los resultados del ensayo. En cada etapa como se describe, las incubaciones pueden producirse según sea necesario como se describe en la presente descripción. En este ejemplo, todo el proceso después de colocar el cartucho en el sistema se automatiza y se lleva a cabo mediante un protocolo o conjunto de instrucciones al sistema programable.

Un método ilustrativo procede con el suministro de una muestra de sangre al pocillo de entrada de sangre. A continuación, la muestra puede recogerse con una punta de recolección e insertarse en el pocillo de separación de plasma. Alternativamente, la sangre puede depositarse directamente en un pocillo que contiene un separador de sangre. Por ejemplo, la separación de plasma puede llevarse a cabo mediante una variedad de métodos como se describe en la presente descripción. En este ejemplo, la separación de plasma se produce mediante el uso de perlas magnetizables y anticuerpos para eliminar los componentes de la sangre que no son plasma. A continuación, el plasma puede transportarse por una punta de recolección de plasma para no contaminar la muestra con la punta de recolección de sangre total. En este ejemplo, la punta de recogida de plasma puede recoger una cantidad predeterminada de diluyente y diluir la muestra de plasma. La muestra de plasma diluida se distribuye a continuación a las unidades de ensayo (puntas de muestreo) para unirse a una superficie de captura. Las unidades de ensayo pueden incubarse para permitir que se lleve a cabo una reacción de captura. Después, la unidad de ensayo puede usarse para recolectar un conjugado para unirse con la reacción en la unidad de ensayo. El conjugado puede comprender una entidad que permite la detección de un analito de interés por un detector, tal como un detector óptico. Una vez que se ha añadido el conjugado a la unidad de ensayo, la reacción puede incubarse. En un método ilustrativo que usa un dispositivo ilustrativo de la Figura 1, la unidad de ensayo (punta de muestreo) accede a una unidad de reactivos que contiene un lavado para el conjugado para eliminar cualquier exceso de conjugado que pueda interferir con cualquier detección de analito. Después de lavar el exceso de conjugado, puede añadirse un sustrato a la unidad de ensayo para su detección. Además, en el ejemplo de la Figura 1 y este método, puede usarse una unidad de ensayo de punta de calibrador para llevar a cabo todos los métodos descritos en este párrafo, excepto la recolección y distribución de la muestra. La detección y las mediciones mediante el uso de la unidad de ensayo de punta de calibrador pueden usarse para calibrar la detección y las mediciones del analito de la muestra. A continuación se describen otros procesos y métodos similares a los usados en este ejemplo.

Cualquier fluido corporal que se sospeche que contiene un analito de interés puede usarse junto con el sistema o dispositivos de la invención. Por ejemplo, el pocillo de entrada o la unidad de recolección de muestras en el ejemplo de la Figura 1 puede recolectar o contener cualquier tipo de fluidos corporales comúnmente empleados lo que incluye, pero no se limita a, sangre, suero, saliva, orina, fluidos gástricos y digestivos, lágrimas, heces, semen, fluido vaginal, fluidos intersticiales derivados de líquidos de tejido tumoral extraídos de muestras de tejido y líquido cefalorraquídeo. En una modalidad, el fluido corporal es sangre y puede obtenerse mediante una punción digital. En una modalidad, la muestra de fluido corporal es una muestra de plasma sanguíneo.

Puede extraerse un fluido corporal de un paciente y distribuirlo al dispositivo en una variedad de formas, lo que incluye, pero no se limita a, punción, inyección o pipeteo. En una modalidad, una lanceta perfora la piel y suministra la muestra al dispositivo mediante el uso de, por ejemplo, gravedad, acción capilar, aspiración o fuerza de vacío. La lanceta puede incorporarse al dispositivo, o ser parte de un ensamble de lector, o un componente independiente. Cuando sea



necesario, la lanceta puede activarse mediante una variedad de mecanismos de activación mecánicos, eléctricos, electromecánicos o cualquier otro conocido o cualquier combinación de dichos métodos. En otra modalidad en la que no se requiere un mecanismo activo, un paciente puede simplemente proporcionar un fluido corporal al dispositivo, como podría producirse, por ejemplo, con una muestra de saliva. El líquido recolectado puede colocarse en un pocillo o unidad de recolección del dispositivo. En algunas modalidades, existe una lanceta activada por el usuario y un capilar recolector de muestras dentro del dispositivo.

El volumen de fluido corporal a usar con un método o dispositivo descrito en la presente descripción es generalmente menor de aproximadamente 500 microlitros, además, puede estar entre aproximadamente 1 y 100 microlitros. Cuando se desee, puede usarse una muestra de 1 a 50 microlitros, 1 a 40 microlitros, 1 a 30 microlitros, 1 a 10 microlitros o incluso 1 a 3 microlitros para detectar un analito mediante el dispositivo de fluidos objeto. En una modalidad, la muestra es de 20 microlitros.

En una modalidad, el volumen de fluido corporal usado para detectar un analito mediante el uso de los dispositivos, sistemas o métodos es una gota de fluido. Por ejemplo, una gota de sangre de un dedo pinchado puede proporcionar la muestra de fluido corporal a analizar con un dispositivo, sistema o método de la invención.

En algunas modalidades, los fluidos corporales se usan directamente para detectar los analitos presentes en el fluido corporal sin procesamiento adicional. Sin embargo, cuando se desee, los fluidos corporales pueden tratarse previamente antes de realizar el análisis con un dispositivo. La elección de los pretratamientos dependerá del tipo de fluido corporal usado y/o de la naturaleza del analito investigado. Por ejemplo, cuando el analito está presente en un nivel bajo en una muestra de fluido corporal, la muestra puede concentrarse mediante cualquier medio convencional para enriquecer el analito. Los métodos para concentrar un analito incluyen, pero no se limitan a, secado, evaporación, centrifugación, sedimentación, precipitación y amplificación. Cuando el analito es un ácido nucleico, puede extraerse mediante el uso de diversas enzimas líticas o soluciones químicas o mediante el uso de resinas de unión de ácido nucleico mediante las instrucciones adjuntas proporcionadas por los fabricantes. Cuando el analito es una molécula presente en o dentro de una célula, la extracción puede realizarse mediante el uso de agentes de lisis lo que incluyen, pero no se limita a, anticoagulantes tales como EDTA o heparina, detergente desnaturizante tal como SDS o detergente no desnaturizante tal como Thesit, desoxilato de sodio, triton X-100 y tween-20.

En una modalidad, el sujeto recolecta una muestra de fluido corporal con una jeringa. La muestra puede ingresar a la jeringa a través de un tubo capilar. En una modalidad que mide un analito en una muestra de sangre, el sujeto realiza una punción digital y toca el extremo exterior del capilar de vidrio con la sangre de modo que la sangre se extrae por acción capilar y llena el capilar con un volumen. En algunos casos, se conoce el volumen de la muestra. En algunas modalidades, el volumen de la muestra está en el intervalo de aproximadamente 5 - 20 microlitros u otros intervalos de volumen como se describe en la presente descripción.

En otra modalidad, se proporciona un método y un sistema para obtener una muestra de plasma sustancialmente libre de glóbulos rojos de una muestra de sangre. Al realizar un ensayo, los analitos frecuentemente están contenidos en el plasma sanguíneo y los glóbulos rojos pueden interferir con una reacción.

Frecuentemente, al medir una muestra de sangre, los analitos de interés se encuentran en el suero o el plasma. Para fines clínicos, la concentración final reportada de múltiples análisis de sangre frecuentemente necesita relacionarse con la concentración de suero sanguíneo o plasma sanguíneo en una muestra diluida. En muchos casos, el suero sanguíneo o el plasma sanguíneo es el medio de prueba de elección en el laboratorio. Pueden ser necesarias dos operaciones antes de ejecutar un ensayo, la dilución y la extracción de glóbulos rojos. Las muestras de sangre varían significativamente en la proporción del volumen de muestra ocupado por los glóbulos rojos (el hematocrito que varía de aproximadamente 20 - 60 %). Además, en un entorno de punto de atención cuando los sistemas de ensayo se operan por personal no experto, el volumen de muestra obtenido puede no ser el previsto. Si no se reconoce un cambio de volumen, puede conducir a un error en las concentraciones de analito reportadas.

En una modalidad relacionada pero separada, la presente invención proporciona un método para recuperar plasma a partir de una muestra de sangre que comprende mezclar una muestra de sangre en presencia de partículas magnetizables en una unidad de recolección de muestras, en donde las partículas magnetizables comprenden una superficie de captura de anticuerpos para la unión a porciones de la muestra de sangre que no son plasma, y aplicar un campo magnético sobre un área de recolección de plasma a la muestra de sangre mezclada para efectuar la suspensión de las porciones de la muestra de sangre que no son plasma en la parte superior del área de recolección de plasma, lo que recupera de esta manera el plasma a partir de una muestra de sangre.

Para procesar muestras de sangre, el dispositivo o sistema de la invención puede incluir un reactivo u objeto magnético que se une a los glóbulos rojos y permite la eliminación magnética de los glóbulos rojos del plasma. El reactivo puede proporcionarse en forma liofilizada pero también puede estar presente como una dispersión líquida. Un reactivo compuesto por partículas magnetizables (por ejemplo, de aproximadamente 1 micrómetro de tamaño) puede recubrirse con un anticuerpo contra un antígeno de glóbulos rojos o alguna molécula adaptadora. En algunas modalidades, el reactivo contiene, además, anticuerpos no unidos a los antígenos de la superficie de los glóbulos rojos, los cuales pueden marcarse o no marcarse con un resto adaptador (tal como biotina, digoxigenina o

fluoresceína). En una modalidad que analiza una muestra de sangre, los glóbulos rojos en una muestra diluida se coaglutinan con las partículas magnetizables con la ayuda de un anticuerpo en fase de solución. Alternativamente, puede usarse una lectina que reconozca un carbohidrato de la superficie del glóbulo rojo como un agente de coaglutinación. A veces, se usan combinaciones de agentes aglutinantes de glóbulos rojos. Alternativamente, un dispositivo de la invención puede comprender un filtro de sangre, tal como una almohadilla de fibra de vidrio, para ayudar en la separación de los glóbulos rojos de una muestra.

Cuando la sangre se mezcla con un reactivo magnético, puede producirse una coaglutinación en la que muchos, si no todos, los glóbulos rojos forman un aglutinado mezclado con las partículas magnetizables. El proceso de disolución y mezclado del reactivo es impulsado por aspiración repetida mediante el uso de una punta o punta de recolección de la invención o una punta tipo pipeta. Una vez que se ha formado la masa magnetizable, la masa puede separarse del plasma sanguíneo mediante el uso de un imán para mantener la masa en su lugar mientras se permite que el plasma salga de la punta. En una modalidad, el plasma sale de la punta por gravedad en una orientación vertical, mientras que el imán mantiene la masa en su lugar. En otra modalidad, el plasma sale de la punta por medio de vacío o presión, mientras que la masa se mantiene dentro de la punta. El plasma puede depositarse en un pocillo, otra punta de recolección o unidad de ensayo de la invención.

Un ejemplo de un método de separación de plasma de la invención se muestra en las Figuras 9A a 9E. En la Figura 9A, se ha aspirado una muestra de sangre total **901** en una punta de muestreo **910** como se describe en la presente descripción, por ejemplo, en la cantidad de aproximadamente 20 microlitros. La muestra de sangre total **901** se deposita a continuación en un pocillo de separación **920** (por ejemplo, un pocillo que contiene perlas o partículas magnéticas) de un dispositivo de ejemplo. La Figura 9B ilustra un método para suspender y mezclar un reactivo magnético en la muestra de sangre total **902** en un pocillo de separación (por ejemplo, partículas de perlas magnéticas y moléculas de unión libres). La Figura 9C muestra una cápsula de aire de 10 microlitros **930** que puede usarse para evitar la pérdida desde la punta **910**. La muestra de sangre total y el reactivo magnético mezclados **902** se incuban durante varios segundos (por ejemplo, de 60 a 180 segundos) para permitir que se produzca una reacción de aglutinación.

La Figura 9D demuestra la aplicación de un campo magnético **940** a la mezcla de células sanguíneas completas y reactivo magnético **902**. El campo magnético **940** puede aplicarse mediante un collar magnético **942** que se incorpora con un sistema o con cualquier medio magnético conocido en la técnica. El campo magnético **940** atrae cualquier partícula que se haya adherido al reactivo magnético. De esta manera, el plasma **903**, que no se adhiere al reactivo magnético, puede separarse de las porciones que no son plasma de una muestra de sangre total.

La Figura 9E muestra un método de distribución de una muestra de plasma sanguíneo **903**, separada mediante el reactivo magnético descrito en la presente descripción, en un pocillo o unidad **950** de un dispositivo como se describe en la presente descripción. La muestra de plasma sanguíneo **903** puede distribuirse, además, a una punta de recolección o unidad de ensayo, así como también a cualquier otro tipo de dispositivo de ensayo como es obvio para un experto en la técnica. En la Figura 9E, se muestra que el campo magnético **940** se mueve con la punta **910** y distribuye la muestra de plasma sanguíneo **903**. En este ejemplo, se han extraído de 5 a 8 microlitros de plasma a partir de una muestra de sangre total de 20 microlitros. Del 1 al 99 % de una muestra de sangre total puede ser plasma separado mediante el uso de un método de la invención. En una modalidad, del 25 al 60 % del volumen de la muestra de sangre total es plasma que puede separarse.

Pueden completarse otras etapas ilustrativas de un método como se describe. Para mover la muestra de plasma sanguíneo a otro pocillo o unidad, una punta de recolección de plasma capilar (que puede operarse mediante un sistema robótico o cualquier otro sistema de la invención) recolecta la muestra de plasma sanguíneo por capilaridad y fuerza de aspiración. Otra etapa puede comprender distribuir la muestra de plasma en un diluyente, y después la muestra puede diluirse con el diluyente. A continuación, la muestra de plasma sanguíneo diluido puede recolectarse con la punta de recolección en un volumen predeterminado. La muestra de plasma sanguíneo diluido puede después mezclarse y distribuirse en un pocillo o unidad de un dispositivo para distribuirla a una o una pluralidad de unidades de ensayo de un dispositivo de la invención. La muestra también puede distribuirse en cualquier otro tipo de dispositivo, tal como una placa de microtitulación, como resultará obvio para los expertos en la técnica.

El proceso de ejemplo demostrado en las Figuras 9A a 9E puede usarse con otros dispositivos y sistemas distintos de los descritos en la presente descripción. Por ejemplo, una punta de transferencia de fluido puede contener la masa aglutinada y el plasma podría depositarse en una placa de microtitulación. Podrían usarse otros dispositivos y sistemas como resultará obvio para los expertos en la técnica para ejecutar el ejemplo de separación de plasma sanguíneo como se describe en la presente descripción.

La muestra de fluido corporal también puede diluirse de varias otras formas, tal como mediante un dispositivo de recolección de muestras capaz de diluirse. La carcasa del dispositivo de recolección de muestras puede comprender un tubo. En el tubo, dos sellos móviles pueden contener un volumen de un diluyente. En una modalidad preferible, el volumen del diluyente está predeterminado, por ejemplo, en aproximadamente el intervalo de 50 microlitros a 1 mililitro, preferentemente, en el intervalo de aproximadamente 100 microlitros a 500 microlitros.

En un aspecto, se proporciona un método para la detección automatizada de una pluralidad de analitos en una muestra de fluido corporal que comprende: proporcionar la muestra de fluido corporal a un dispositivo de fluidos, en donde el dispositivo de fluidos comprende: una unidad de recolección de muestra configurada para contener la muestra de fluido corporal; una matriz de unidades de ensayo, en donde una unidad de ensayo individual de dicha matriz de unidades de ensayo se configura para ejecutar una reacción química que produce una señal indicativa de que se detecta un analito individual de dicha pluralidad de analitos; y una matriz de unidades de reactivos, en donde una unidad de reactivos individual de dicha matriz de unidades de reactivo contiene un reactivo. El método puede comprender, además, acoplar la unidad de ensayo individual mediante el uso de un dispositivo de transferencia de fluidos. Como continuación del método, la muestra de fluido corporal puede transferirse desde la unidad de recolección de muestras a la unidad de ensayo individual mediante el uso del dispositivo de transferencia de fluidos y el reactivo de la unidad de reactivos individual puede transferirse a la unidad de ensayo individual, lo que hace reaccionar de esta manera el reactivo con la muestra de fluido corporal para producir la señal indicativa del analito individual de la pluralidad de analitos que se detectan. En algunas modalidades, el dispositivo de transferencia de fluidos comprende una pluralidad de cabezales, en donde un cabezal individual de la pluralidad de cabezales se configura para acoplarse a la unidad de ensayo individual; y en donde dicho dispositivo de transferencia de fluidos comprende un procesador programable configurado para dirigir la transferencia de fluidos de la muestra de fluido corporal a partir de la unidad de recolección de muestras y el reactivo a partir de la unidad de reactivos individual a la unidad de ensayo individual.

En algunos casos, las instrucciones se proporcionan al procesador programable, por ejemplo, por un usuario, un sujeto o el fabricante. Las instrucciones pueden proporcionarse desde un dispositivo externo, tal como un dispositivo electrónico personal o un servidor. Las instrucciones pueden dirigir la etapa de transferir la muestra de fluido corporal a la unidad de ensayo individual. Por ejemplo, la etapa de transferir la muestra de fluido corporal puede realizar un grado de dilución de la muestra de fluido corporal en la unidad de ensayo individual para llevar la señal indicativa del analito individual de la pluralidad de analitos detectados dentro de un intervalo detectable. En algunos ejemplos, el grado de dilución de la muestra de fluido corporal lleva las señales indicativas de los al menos dos analitos individuales dentro de un intervalo detectable como se describe en la presente descripción.

Pueden usarse técnicas de reconocimiento de patrones para determinar si la detección de un analito o una pluralidad de analitos mediante un método como se describe en la presente descripción está dentro o fuera de un cierto intervalo. Por ejemplo, las señales detectables fuera del intervalo que puede reportarse pueden rechazarse. El intervalo determinado puede establecerse durante la calibración de un dispositivo de fluidos, las unidades de reactivos y de ensayo. Por ejemplo, el intervalo se establece cuando un dispositivo se ensambla de manera justo a tiempo.

En algunos casos, si la señal detectable de un analito detectada con un factor de dilución menor o un grado de dilución que excede la de un factor de dilución mayor, el resultado de la dilución menor puede rechazarse como no válido. En la mayoría de los casos, las concentraciones de un analito en una muestra derivadas de señales de muestras con diferentes grados de dilución disminuyen a medida que aumenta el grado de dilución. Si esto sucede, puede verificarse el resultado de un ensayo. Los sistemas, dispositivos y métodos en la presente descripción proporcionan la flexibilidad de las reglas de control de calidad, tal como las descritas, que muchos dispositivos POC no pueden ofrecer. Los sistemas, dispositivos y métodos proporcionan muchas de las características de control de calidad que cabría esperar en un entorno de laboratorio.

En una modalidad, una muestra se diluye en una relación que es satisfactoria tanto para ensayos de alta sensibilidad como para ensayos de baja sensibilidad. Por ejemplo, una relación de dilución de la muestra con respecto al diluyente puede estar en el intervalo de aproximadamente 1:10 000 - 1:1. El dispositivo puede permitir que una muestra se diluya en ubicaciones o grados separados. El dispositivo también puede permitir que la muestra se someta a diluciones en serie. En otros casos, la dilución en serie dentro del dispositivo o sistema puede diluir la muestra hasta 10 000 000 000:1.

En modalidades, una muestra que contiene un analito para la detección puede moverse desde una primera ubicación hacia una segunda ubicación mediante una acción de tipo aspiración, jeringa o pipeta. La muestra puede introducirse en la punta de reacción por acción capilar o presión atmosférica reducida. En algunas modalidades, la muestra se mueve a muchas ubicaciones, lo que incluye una matriz de unidades de ensayo de un dispositivo de la invención y diferentes pocillos en la carcasa de un dispositivo de la invención. El proceso de mover la muestra puede automatizarse mediante un sistema de la invención, como se describe en la presente descripción.

Las unidades de ensayo y/o las puntas de recolección que contienen la muestra también pueden moverse desde una primera ubicación hacia una segunda ubicación. El proceso de mover una unidad de ensayo o una punta de recolección puede automatizarse y llevarse a cabo mediante un protocolo definido por el usuario.

En una modalidad, las unidades de ensayo se mueven para recolectar reactivo de una unidad de reactivos de la invención. En muchas modalidades, el movimiento de una unidad de ensayo se automatiza. Puede usarse la acción de tipo aspiración, jeringa o pipeta para recolectar el reactivo desde una unidad de reactivos hacia una unidad de ensayo.

Una vez que se ha añadido una muestra a una unidad de ensayo que comprende una superficie de captura, la unidad completa puede incubarse durante un período de tiempo para permitir una reacción entre la muestra y la superficie de

captura de la unidad de ensayo. La cantidad de tiempo necesaria para incubar la reacción depende frecuentemente del tipo de ensayo que se ejecuta. El proceso puede automatizarse mediante un sistema de la invención. En una modalidad, el tiempo de incubación es de entre 30 segundos y 60 minutos. En otra modalidad, el tiempo de incubación es de 10 minutos.

5 Una unidad de ensayo también puede incubarse a una temperatura elevada. En una modalidad, la unidad de ensayo se incuba a una temperatura en un intervalo de aproximadamente 20 a 70 grados Celsius. La unidad de ensayo puede insertarse en un bloque de calentamiento para elevar la temperatura de la unidad de ensayo y/o el contenido de la unidad de ensayo.

10 En una modalidad de un método de la invención, se añade un conjugado a la unidad de ensayo después de que se ha añadido una muestra a la unidad. El conjugado puede contener una molécula para marcar un analito capturado mediante una superficie de captura en la unidad de ensayo. A continuación, se describen ejemplos de conjugados y superficies de captura. El conjugado puede ser un reactivo contenido dentro de una unidad de reactivos. El conjugado puede distribuirse a la unidad de ensayo mediante una acción de tipo aspiración, jeringa o pipeta. Una vez que se ha distribuido un conjugado a una unidad de ensayo, la unidad de ensayo puede incubarse para permitir que el conjugado reaccione con un analito dentro de la unidad de ensayo. El tiempo de incubación puede determinarse por el tipo de ensayo o el analito a detectar. La temperatura de incubación puede ser cualquier temperatura apropiada para la reacción.

20 En un aspecto, se proporciona un método para calibrar un dispositivo para la detección automatizada de un analito en una muestra de fluido corporal. Un dispositivo puede comprender una serie de unidades de ensayo direccionables configuradas para ejecutar una reacción química que produce una señal detectable indicativa de la presencia o ausencia del analito, y una matriz de unidades de reactivo direccionables, cada una de las cuales se dirige para corresponder a una o más unidades de ensayo direccionables en dicho dispositivo, de manera que las unidades de reactivos individuales se calibran en referencia a la unidad o unidades de ensayo correspondientes antes de que se ensamblen las matrices en el dispositivo. El dispositivo se calibra al calibrar las unidades de ensayo y las unidades de reactivos antes de ensamblarlas en el dispositivo. A continuación, el dispositivo puede ensamblarse mediante el uso de los componentes calibrados, lo que hace que el dispositivo y un método y sistema que utiliza el dispositivo sean componentes modulares.

30 La calibración puede preestablecerse al medir el rendimiento de los reactivos de ensayo, tales como conjugados, antes de que las unidades de ensayo y la unidad de reactivos se ensamblen en un dispositivo de la invención. La información y los algoritmos de calibración pueden almacenarse en un servidor conectado de forma inalámbrica al sistema de ensayo. La calibración puede realizarse por adelantado o retrospectivamente mediante ensayos realizados en sistemas replicados en una ubicación separada o mediante el uso de la información obtenida cuando se usa el sistema de ensayo.

40 En un aspecto, puede usarse un material de control en un dispositivo o sistema para medir o verificar el grado de dilución de una muestra de fluido corporal. Por ejemplo, otro problema de los ensayos basados en fase sólida, tal como ELISA, es que un ensayo usa un reactivo en fase sólida que es difícil de controlar su calidad sin destruir su función. Los sistemas y métodos en la presente descripción proporcionan métodos para determinar la dilución lograda en un sistema POC mediante el uso de un dispositivo desechable con mezcla y/o dilución automatizadas.

45 En una modalidad, un método proporciona un análisis retrospectivo, por ejemplo, mediante el uso de un servidor en tiempo real para analizar datos antes de reportar los resultados. Por ejemplo, puede realizarse un ensayo y puede ejecutarse un ensayo de control en paralelo al ensayo. El ensayo de control proporciona una medición de una dilución esperada de la muestra. En algunos ejemplos, el ensayo de control puede verificar la dilución de la muestra y, por lo tanto, la dilución de una muestra para el ensayo o una pluralidad de ensayos ejecutados dentro del sistema puede considerarse precisa.

50 Un método para medir un volumen de una muestra líquida puede comprender: hacer reaccionar una cantidad conocida de un analito de control en una muestra líquida con un reactivo para producir una señal detectable indicativa del analito de control; y comparar una intensidad de dicha señal detectable con una intensidad esperada de dicha señal detectable, en donde la intensidad esperada de dicha señal es indicativa de un volumen esperado de la muestra líquida, y en donde dicha comparación proporciona una medición de dicho volumen de dicha muestra líquida que se mide. En muchos casos, el analito de control no está presente en dicha muestra líquida en una cantidad detectable.

60 En una modalidad, un método puede comprender, además, verificar el volumen de dicha muestra líquida cuando la medición del volumen de la muestra está dentro de aproximadamente el 50 % del volumen esperado de la muestra líquida.

65 Por ejemplo, un método que utiliza un dispositivo o sistema descrito en la presente descripción puede comprender, además: hacer reaccionar una muestra de fluido corporal que contiene un analito objetivo con un reactivo para producir una señal detectable indicativa del analito objetivo; y medir la cantidad del analito objetivo en la muestra de fluido corporal mediante el uso de una intensidad de dicha señal detectable indicativa del analito objetivo y la medición

de dicho volumen de dicha muestra líquida. La muestra líquida y la muestra de fluido corporal pueden ser la misma muestra. En algunas modalidades, el analito de control no reacciona con el analito objetivo en la muestra de fluido corporal, lo que proporciona por lo tanto que no interactúe con la detección del analito objetivo.

5 En algunos casos, la muestra líquida y la muestra de fluido corporal son muestras líquidas diferentes. Por ejemplo, un líquido de control, tal como agua, y una muestra de sangre. O en otro ejemplo, una muestra de saliva y una muestra de sangre.

10 Un analito de control puede ser, sin limitación, albúmina marcada con fluoresceína, IgG marcada con fluoresceína, anti-fluoresceína, anti-digoxigenina, albúmina marcada con digoxigenina, IgG marcada con digoxigenina, proteínas biotiniladas, IgG no humana. Otros analitos de control ilustrativos pueden resultar obvios para un experto en la técnica. En una modalidad, el analito de control no se encuentra en una muestra de fluido corporal humano.

15 En un sistema de POC como se describe en la presente descripción configurado para detectar una pluralidad de analitos dentro de una muestra, el sistema puede tener capacidades para diluir y mezclar líquidos. En muchos casos, un sistema automatizado o un usuario puede usar un ensayo de control para medir la dilución realmente lograda y factorizar esa dilución en la calibración del sistema. Por ejemplo, un analito de control puede no encontrarse nunca en la muestra de interés y puede secarse en una unidad de reactivo. La cantidad de analito de control seco puede conocerse y mezclarse con una muestra en la unidad de reactivos. La concentración de analito puede medirse para  
20 indicar el volumen de muestra y cualquier dilución realizada en la muestra.

Los ejemplos de analitos de control para un inmunoensayo incluyen, pero no se limitan a: proteína marcada con fluoresceína, proteína biotinilada, inmunoglobulina marcada con fluoresceína, marcada con Axlexa™, marcada con rodamina, marcada con rojo Texas. Por ejemplo, el marcaje puede lograrse al tener al menos dos haptenos unidos por  
25 molécula de proteína. En algunas modalidades, se unen 1-20 haptenos por molécula de proteína. En una modalidad adicional, se unen 4-10 haptenos por molécula de proteína. Muchas proteínas tienen un gran número de grupos amino libres a los que pueden unirse los haptenos. En muchos casos, las proteínas modificadas con hapteno son estables y solubles. Además, los haptenos, tales como la fluoresceína y el rojo de Texas, son lo suficientemente grandes y rígidos para que puedan producirse anticuerpos con alta afinidad (por ejemplo, un hapteno es lo suficientemente grande como para llenar el sitio de unión del anticuerpo). En algunas modalidades, los haptenos pueden unirse a proteínas mediante  
30 el uso de reactivos, tales como isotiocianato de fluoresceína y éster NHS de ácido carboxílico de fluoresceína para crear analitos de control en los que la parte reconocida por el sistema de ensayo es el hapteno.

En algunas modalidades, un método utiliza analito de control seco. En algunos ejemplos, un analito de control seco evita la dilución de la muestra y puede hacer que el analito de control sea más estable. El analito de control seco puede formularse para que se disuelva rápidamente y/o completamente al exponerse a una muestra líquida. En algunas modalidades, un analito de control puede ser un analito para el cual los anticuerpos tienen alta afinidad. En algunos casos, un analito de control puede ser un analito que no tiene reacción cruzada con ningún componente endógeno de la muestra. Adicionalmente, por ejemplo, el analito puede ser económico y/o fácil de preparar. En algunas modalidades, el analito de control es estable durante la vida útil del dispositivo o sistema descrito en la presente descripción. Los portadores ilustrativos usados para crear analitos con haptenos unidos covalentemente incluyen proteínas tales como, pero sin limitarse a: albúmina, IgG y caseína. Los portadores poliméricos ilustrativos usados para crear nuevos analitos con haptenos unidos covalentemente incluyen, pero no se limitan a: dextrano, polivinilpirrolidona. Los excipientes ilustrativos usados para formular y estabilizar analitos de control incluyen, pero no se limitan a: sacarosa, sales y tampones (tales como fosfato de sodio y cloruro de tris).  
45

Un analito de control y un método como se describe en la presente descripción pueden usarse de diversas formas, lo que incluye los ejemplos descritos en la presente descripción. Por ejemplo, un método puede medir el volumen de una muestra. En algunas modalidades, un método mide la dilución o un factor de dilución o un grado de dilución de una muestra. En algunos casos, un método proporciona una concentración del analito de control en una muestra. En un sistema o dispositivo descrito en la presente descripción para detectar una pluralidad de analitos, las mediciones de un método en la presente descripción mediante el uso de un analito de control pueden usarse para verificar o describir mediciones de analitos objetivo. Por ejemplo, puede usarse un dispositivo de transferencia de fluidos con múltiples cabezales para distribuir líquido en una pluralidad de unidades de ensayo, lo que incluye una unidad de control. En algunos casos, puede suponerse que la cantidad de líquido distribuida en la pluralidad de unidades es la misma o similar entre las unidades individuales. En algunas modalidades, puede usarse un método descrito en la presente descripción con un analito de control para verificar que se ha recolectado o utilizado el volumen correcto de muestra dentro de un dispositivo o sistema. En otra modalidad, un método verifica que se ha proporcionado a la muestra el volumen correcto de diluyente. Además, también puede verificarse el factor de dilución o el grado de dilución. En aún otra modalidad, un método con un analito de control verifica que se ha distribuido el volumen correcto de muestra diluida a la pluralidad de unidades.  
50  
55  
60

La Figura 10 demuestra un método ilustrativo de un ensayo de control como se describe en la presente descripción que comprende una cantidad conocida de analito de control. Una unidad **1010** antes de ensamblarse en un cartucho puede llenarse con una solución **1001** que comprende una masa conocida de analito de control **1002**. El líquido de la solución puede eliminarse y la unidad **1010** se seca para dejar el analito de control **1002** en la unidad **1010**. A  
65

continuación, la unidad **1010** puede insertarse en un dispositivo y transportarse para su uso. Cuando se usa la unidad **1010** y recibe una muestra o diluyente **1003**, la muestra **1003** puede suministrarse en un volumen esperado y mezclarse con el analito de control seco **1002** dentro de la unidad **1010** para crear una solución de control **1004** con una concentración esperada. Opcionalmente, la solución de control **1004** puede diluirse. En una modalidad, el analito de control **1002** puede detectarse de la misma manera que un analito objetivo en el dispositivo. Se mide la concentración de analito de control en la solución de control **1004**. La medición de la concentración puede usarse para calcular el volumen de la muestra **1003** añadida para crear la solución de control **1004**. De esta manera, un usuario puede comparar el volumen medido de la muestra **1003** con el volumen esperado de la muestra **1003**.

En un ejemplo, los glóbulos rojos pueden eliminarse de una muestra de sangre. Sin embargo, si quedan algunos glóbulos rojos o no se eliminan los glóbulos rojos de una muestra de sangre, puede usarse un método con un analito de control para corregir los efectos de los glóbulos rojos en la muestra de sangre. Debido a que el hematocrito puede variar significativamente (por ejemplo, del 20 - 60 % del volumen total de una muestra), la cantidad de un analito en un volumen establecido o esperado (v) de sangre puede ser una función del hematocrito (H expresado aquí como una fracción decimal). Por ejemplo, la cantidad de analito con una concentración C en plasma es  $C \cdot v \cdot (1-H)$ . Por tanto, la cantidad para una muestra con hematocrito 0,3 es 1,4 veces mayor que para una muestra con hematocrito 0,5. En una modalidad ilustrativa, puede dispensarse sangre sin diluir en un dispositivo como se describe y pueden eliminarse los glóbulos rojos. A continuación, puede medirse una concentración de analito de control en la fracción de plasma para estimar el volumen de plasma en la muestra y determinar el hematocrito.

En algunas modalidades, puede ser necesario lavar el conjugado no unido de un sitio de reacción para evitar que los conjugados no unidos produzcan una detección no precisa. La etapa limitante de muchos inmunoensayos es una etapa de lavado. El compromiso de arrastre mínimo y una alta sensibilidad depende de la eliminación por lavado del conjugado no unido. La etapa de lavado puede limitarse muy severamente en un formato de placa de microtitulación debido a la dificultad de eliminar el líquido de lavado de un pocillo (por ejemplo, mediante medios automáticos). Un dispositivo y sistema de unidad de ensayo de la invención puede tener una serie de ventajas en la forma en que se manejan los líquidos. Una ventaja puede ser una mejora en la relación señal/ruido de un ensayo.

La eliminación del conjugado puede resultar difícil si los conjugados se adhieren a los bordes de las unidades de ensayo de un dispositivo si, por ejemplo, no existe un exceso de solución de lavado.

Puede producirse un lavado del conjugado ya sea al empujar la solución de lavado desde arriba o al extraer la solución de lavado desde arriba y expulsar el líquido de manera similar a la carga de la muestra. El lavado puede repetirse tantas veces como sea necesario.

Cuando se usa un tampón de lavado en un ensayo, el dispositivo puede almacenar el tampón de lavado en unidades de reactivos y la unidad de ensayo puede ponerse en comunicación continua con el lavado. En una modalidad, el reactivo de lavado puede eliminar el reactivo no unido de las unidades de ensayo en aproximadamente un 99, 99,9 o 99,999 % mediante lavado. En general, se prefiere una alta eficacia de lavado que dé como resultado un alto grado de reducción de señales de fondo no deseadas. La eficiencia del lavado se define típicamente por la relación entre la señal de un ensayo dado y la cantidad total de señal generada por un ensayo sin etapa de lavado y puede determinarse fácilmente mediante experimentación de rutina. En general, puede preferirse aumentar el volumen de la solución de lavado y el tiempo de incubación, pero sin sacrificar las señales de un ensayo dado. En algunas modalidades, el lavado se realiza con aproximadamente 50 ul a aproximadamente 5000 ul de tampón de lavado, preferentemente, entre aproximadamente 50 ul a aproximadamente 500 ul de tampón de lavado, durante aproximadamente 10 a aproximadamente 300 segundos.

Adicionalmente, puede resultar ventajoso usar varios ciclos de pequeños volúmenes de solución de lavado que se separan por períodos de tiempo en los que no se usa solución de lavado. Esta secuencia permite el lavado por difusión, donde los anticuerpos marcados se difunden con el tiempo en la solución de lavado en volumen desde las partes protegidas de la unidad de ensayo, tal como los bordes o las superficies donde esta se une libremente y después pueden eliminarse cuando la solución de lavado se retira del sitio de reacción.

En muchas modalidades, la última etapa es distribuir un sustrato enzimático para detectar el conjugado mediante medios ópticos o eléctricos. A continuación, se describen ejemplos de sustratos.

Por ejemplo, el reactivo en la unidad de reactivos individual de un dispositivo en la presente descripción puede ser un sustrato enzimático para un inmunoensayo. En otra modalidad, la etapa de transferir el reactivo de sustrato desde la unidad de reactivos individual puede repetirse después de una reacción en el sitio de captura. Por ejemplo, el sustrato enzimático se transfiere a un sitio de reacción y se incubaba. Después de medir la señal de ensayo producida, el sustrato usado puede retirarse y reemplazarse con sustrato nuevo y volverse a medir la señal de ensayo. Puede detectarse una señal indicativa del analito individual mediante el uso de un sistema como se describe en la presente descripción tanto a partir de la primera como de la segunda aplicación de sustrato. El segundo sustrato es generalmente el mismo que el sustrato original. En una modalidad, el segundo sustrato se transfiere a un sitio de reacción desde una segunda unidad de reactivos de un dispositivo en la presente descripción. En otra modalidad, el segundo sustrato se transfiere a un sitio de reacción desde la misma unidad de reactivos que el sustrato original. La transferencia de un segundo sustrato

crea de esta manera una segunda reacción para producir una segunda señal indicativa del analito individual. La intensidad de la señal original y una segunda intensidad de la segunda señal pueden compararse para calcular la intensidad final de la señal indicativa del analito individual y si el ensayo se realizó correctamente.

5 En una modalidad, las intensidades de las múltiples señales pueden usarse para el control de calidad de un ensayo. Por ejemplo, si las señales difieren en un 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 100 % o más, los resultados del ensayo pueden ignorarse.

10 En una modalidad, un método como se describe en la presente descripción comprende volver a cargar la muestra y/o el detector-conjugado (anticuerpo marcado con enzima) y/o el sustrato enzimático y la muestra para rectificar o confirmar una señal de ensayo o para usarla como control interno. Por ejemplo, puede proporcionarse la reutilización de una punta o unidad de ensayo como se describe para verificar la función y/o para añadir más muestras o materiales de control para obtener una segunda señal.

15 En algunos casos, un método para volver a cargar un sustrato en una unidad enzimática se habilita por la capacidad de un sistema como se describe en la presente descripción para transferir automáticamente muestras líquidas y reactivos a las unidades de ensayo. Algunos ensayos no requieren que el sistema entregue un resultado inmediatamente o en un horario, por lo tanto, un método de control como el descrito ofrece una oportunidad para posiblemente mejorar la confiabilidad de los resultados. Una respuesta observada después de repeticiones de adición de un sustrato enzimático puede usarse para verificar la respuesta inicial o para calcular la recuperación de pico.

20 Los experimentos han demostrado que, al añadir un segundo sustrato enzimático a una unidad de ensayo, puede mantenerse la reproducibilidad de los resultados. En algunas modalidades, un método de control proporciona análisis replicados mediante el uso de una unidad de ensayo que proporcionó una respuesta significativamente menor que la esperada.

25 Con cualquiera de los métodos de control descritos en la presente descripción, existen numerosos posibles errores que pueden explicarse o postularse a partir de la ejecución de un método de control. Los errores de ensayo ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, fabricación inadecuada de una unidad o dispositivo de ensayo, aspiración incorrecta de una muestra y/o uno o más reactivos, una unidad de ensayo que no se coloca correctamente con respecto al fotomultiplicador durante la detección y la ausencia de una unidad de ensayo en el dispositivo o sistema.

30 En algunas modalidades, la presente invención proporciona un método para obtener datos farmacológicos útiles para evaluar la eficacia y/o toxicidad de un agente farmacéutico a partir de un animal de prueba mediante el uso de los dispositivos o sistemas de fluidos objeto.

35 Cuando se usan animales de laboratorio en las pruebas preclínicas de un agente farmacéutico, frecuentemente es necesario sacrificar al sujeto de la prueba para extraer suficiente sangre para realizar un ensayo y detectar un analito de interés. Esto tiene implicaciones tanto económicas como éticas y, como tal, puede resultar ventajoso poder extraer una cantidad de sangre de un animal de prueba de manera que no sea necesario sacrificar al animal. Además, esto también puede permitir que el mismo animal de prueba se pruebe en varios puntos temporales diferentes, lo que permite por lo tanto una evaluación más eficaz de los efectos de un agente en animales individuales. En promedio, el volumen de sangre total en un ratón, por ejemplo, es de 6 a 8 ml de sangre por 100 gramos de peso corporal. Un beneficio de la presente invención es que solo se requiere un volumen muy pequeño de sangre para realizar ensayos preclínicos en ratones u otros animales de laboratorio pequeños. En algunas modalidades, se extraen entre aproximadamente 1 microlitro y aproximadamente 50 microlitros. En una modalidad, se extraen entre aproximadamente 1 microlitro y 10 microlitros. En modalidades preferidas, se extraen aproximadamente 5 microlitros de sangre.

40 Una ventaja adicional de mantener vivo al animal de prueba es evidente en un estudio de curso de tiempo preclínico. Cuando, por ejemplo, se usan varios ratones para monitorear los niveles de un analito en el fluido corporal de un sujeto de prueba en el tiempo, se introduce en el ensayo la variable adicional de utilizar varios sujetos. Sin embargo, cuando puede usarse un solo animal de prueba como su propio control a lo largo del tiempo, puede realizarse un ensayo preclínico más preciso y beneficioso.

45 En algunas modalidades, se proporciona un método para monitorear automáticamente el cumplimiento del paciente con un tratamiento médico mediante el uso de los dispositivos o sistemas objeto. El método comprende las etapas de permitir que una muestra de fluido corporal reaccione con reactivos de ensayo en un dispositivo para producir una señal detectable indicativa de la presencia de un analito en dicha muestra; detectar dicha señal con dicho dispositivo; comparar dicha señal con un perfil conocido asociado con dicho tratamiento médico para determinar si dicho paciente cumple o no con dicho tratamiento médico; y notificar a un paciente de dicho cumplimiento o incumplimiento.

50 En otra modalidad, el sistema y los métodos de la invención proporcionan un medio para descubrir nuevos biomarcadores y/o validar mediante la asociación de tendencias en dichos marcadores con los resultados de la enfermedad y la terapia.

65

En otra modalidad, el sistema y los métodos de la invención pueden identificar tendencias en los niveles de biomarcadores y la información diaria del diario del paciente en el tiempo que puede usarse para ajustar una dosis de fármaco a un nivel óptimo para pacientes particulares (por ejemplo, variación de dosis adaptativa).

5 En algunas modalidades, el incumplimiento puede incluir tomar una dosis inadecuada de un agente farmacéutico lo que incluye, sin limitación, dosis múltiples o ninguna dosis, o puede incluir una mezcla inapropiada de agentes farmacéuticos. En modalidades preferidas, se notifica al paciente sustancialmente de manera inmediata después de comparar la señal con un perfil conocido.

10 Un paciente o sujeto de un ensayo clínico puede olvidarse de tomar una muestra de fluido corporal para su análisis como se describe en la presente descripción. En algunas modalidades, un método para alertar a un paciente para que analice una muestra de fluido corporal mediante el uso de un dispositivo como se describe en la presente descripción comprende proporcionar un protocolo para que se ejecute en dicho dispositivo, dicho protocolo ubicado en un dispositivo externo, asociado con dicho paciente, y que comprende un tiempo y fecha para analizar dicha muestra de fluido corporal; y notificar al paciente que analice dicho fluido corporal en dicha fecha y hora si dicha muestra no se ha analizado. En algunas modalidades, puede notificarse a un paciente de forma inalámbrica como se describe en la presente descripción. El cumplimiento de los regímenes terapéuticos puede mejorarse mediante el uso de indicaciones en una pantalla y la obtención de respuestas de los pacientes (por ejemplo, mediante una pantalla táctil).

20 A un paciente se le puede proporcionar un dispositivo cuando adquiere una receta de fármacos mediante cualquier método común, por ejemplo, en una farmacia. Igualmente, a un sujeto de ensayo clínico se le pueden proporcionar dichos dispositivos al iniciar un ensayo clínico. La información de contacto del paciente o sujeto, lo que incluye, sin limitación, el teléfono celular, la dirección de correo electrónico, la dirección de mensajería de texto u otros medios de comunicación inalámbrica, pueden ingresarse en ese momento en el dispositivo externo y asociarse con el paciente o sujeto como se describe en la presente descripción, por ejemplo, en una base de datos. El programa informático en el dispositivo externo puede incluir una secuencia de comandos u otro programa que pueda detectar cuando una señal generada desde un dispositivo de detección aún no se ha enviado al dispositivo externo, por ejemplo, en un momento dado, y el dispositivo externo puede enviar entonces una alerta que notifica al paciente que tome una muestra de fluido corporal.

30 En una modalidad, el sistema se proporciona directamente a un consumidor y se usa en la gestión atlética y/o del estilo de vida. Pueden ingresarse datos relevantes de estilo de vida y ejercicio y pueden medirse las mediciones de parámetros indicativos de daño muscular, metabolismo anaeróbico (por ejemplo, ácido láctico). En algunas modalidades, el sistema puede ser lo suficientemente pequeño como para ser portátil.

35 En otra modalidad, el sistema es particularmente adecuado para la medición de marcadores en la sangre de pequeños animales, tales como ratas y ratones, que se usan comúnmente en el trabajo preclínico. Dichos animales solo tienen un pequeño volumen de sangre, por lo que los sistemas de ensayo que requieren volúmenes muy pequeños de muestra son particularmente útiles, especialmente en estudios longitudinales en los que se necesitan varias muestras de un solo animal en rápida sucesión. Estas consideraciones pueden ser especialmente importantes cuando es necesario medir varios analitos en paralelo.

40 En una modalidad, el sistema incluye una forma conveniente de empaquetar los diversos elementos necesarios para múltiples ensayos complejos en una forma segura para su envío. Por ejemplo, los elementos de ensayo se encajan en una carcasa.

#### Ensayos

50 Pueden realizarse una variedad de ensayos en un dispositivo de fluidos de acuerdo con la presente invención para detectar un analito de interés en una muestra. Se dispone en la técnica de una amplia diversidad de marcadores que pueden emplearse para realizar los ensayos objeto. En algunas modalidades, los marcadores pueden detectarse por medios espectroscópicos, fotoquímicos, bioquímicos, electroquímicos, inmunoquímicos u otros medios químicos. Por ejemplo, los marcadores de ácidos nucleicos útiles incluyen los radioisótopos <sup>32</sup>P, <sup>35</sup>S, colorantes fluorescentes, reactivos densos en electrones, enzimas. Se conoce una amplia variedad de marcadores adecuados para marcar componentes biológicos y se reportan ampliamente tanto en la literatura científica como en la de patentes, y son generalmente aplicables a la presente invención para el marcaje de componentes biológicos. Los marcadores adecuados incluyen radionucleótidos, enzimas, sustratos, cofactores, inhibidores, restos fluorescentes, restos quimioluminiscentes, marcadores bioluminiscentes o marcadores colorimétricos. Los reactivos que definen la especificidad del ensayo incluyen opcionalmente, por ejemplo, anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, proteínas, sondas de ácido nucleico u otros polímeros tales como matrices de afinidad, carbohidratos o lípidos. La detección puede proceder mediante cualquiera de una variedad de métodos conocidos, lo que incluye el rastreo espectrofotométrico u óptico de marcadores radiactivos, fluorescentes o luminiscentes, u otros métodos que rastrean una molécula basado en el tamaño, la carga o la afinidad. Un resto detectable puede ser de cualquier material que tenga una propiedad física o química detectable. Dichos marcadores detectables se han desarrollado mucho en el campo de la electroforesis en gel, cromatografía en columna, sustratos sólidos, técnicas espectroscópicas y similares, y en general, los marcadores útiles en dichos métodos pueden aplicarse a la presente invención. De esta forma, un



marcador incluye, sin limitación, cualquier composición detectable por medios espectroscópicos, fotoquímicos, bioquímicos, inmunoquímicos, basados en sondas de ácido nucleico, eléctricos, térmicos ópticos u otros medios químicos.

5 En algunas modalidades, el marcador se acopla directa o indirectamente a una molécula que va a detectarse, tal como un producto, sustrato o enzima, de acuerdo con métodos bien conocidos en la técnica. Como se indicó anteriormente, se usa una amplia variedad de marcadores, y la elección del marcador depende de la sensibilidad requerida, la facilidad de conjugación del compuesto, los requisitos de estabilidad, la instrumentación disponible y las disposiciones de eliminación. Los marcadores no radiactivos frecuentemente se adhieren por medios indirectos. Generalmente, un receptor específico del analito se vincula a un resto generador de señales. A veces, el receptor del analito se vincula a una molécula adaptadora (tal como biotina o avidina) y el conjunto de reactivos de ensayo incluye un resto de unión (tal como un reactivo biotilado o avidina) que se une al adaptador y al analito. El analito se une a un receptor específico en el sitio de reacción. Un reactivo marcado puede formar un complejo sándwich en el que el analito está en el centro. El reactivo también puede competir con el analito por los receptores en el sitio de reacción o unirse a receptores vacíos en el sitio de reacción no ocupado por el analito. El marcador es inherentemente detectable o se une a un sistema de señales, tal como una enzima detectable, un compuesto fluorescente, un compuesto quimioluminiscente o una entidad de quimioluminiscencia tal como una enzima con un sustrato de luminiscencia. Pueden usarse varios ligandos y antiligandos. Cuando un ligando tiene un antiligando natural, por ejemplo, biotina, tiroxina, digoxigenina y cortisol, pueden usarse junto con antiligandos marcados. Alternativamente, puede usarse cualquier compuesto hapténico o antigénico en combinación con un anticuerpo.

En algunas modalidades, el marcador también puede conjugarse directamente con compuestos generadores de señales, por ejemplo, mediante conjugación con una enzima o fluoróforo. Las enzimas de interés como marcadores serán principalmente hidrolasas, particularmente fosfatasas, esterasas y glucosidasas, u oxidorreductasas, particularmente peroxidasas. Los compuestos fluorescentes incluyen fluoresceína y sus derivados, rodamina y sus derivados, grupos dansilo y umbeliferona. Los compuestos quimioluminiscentes incluyen dioxetanos, ésteres de acridinio, luciferina y 2,3-dihidroftalazinedionas, tales como luminol.

Los expertos en la técnica conocen bien los métodos de detección de marcadores. De esta forma, por ejemplo, cuando el marcador es radiactivo, los medios de detección incluyen recuento de centelleo o películas fotográficas como en la autorradiografía. Cuando el marcador es fluorescente, puede detectarse al excitar el fluorocromo con luz de una longitud de onda adecuada y detectar la fluorescencia resultante mediante, por ejemplo, microscopía, inspección visual, mediante película fotográfica, mediante el uso de detectores electrónicos tales como cámaras digitales, dispositivos de carga acoplada (CCD) o fotomultiplicadores y fototubos, u otro dispositivo de detección. De manera similar, los marcadores enzimáticos se detectan al proporcionar sustratos apropiados para la enzima y detectar el producto de reacción resultante. Finalmente, los marcadores colorimétricos simples frecuentemente se detectan simplemente al observar el color asociado con el marcador. Por ejemplo, el oro conjugado frecuentemente aparece rosado, mientras que varias perlas conjugadas aparecen del color de la perla.

En algunas modalidades, la señal detectable puede proporcionarse por fuentes de luminiscencia. Luminiscencia es el término usado comúnmente para referirse a la emisión de luz desde una sustancia por cualquier motivo que no sea un aumento de su temperatura. En general, los átomos o moléculas emiten fotones de energía electromagnética (por ejemplo, luz) cuando pasan de un estado excitado a un estado de menor energía (generalmente el estado fundamental). Si la causa de la excitación es un fotón, el proceso de luminiscencia se denomina fotoluminiscencia. Si la causa de la excitación es un electrón, el proceso de luminiscencia puede denominarse electroluminiscencia. Más específicamente, la electroluminiscencia se produce como resultado de la inyección directa y la eliminación de electrones para formar un par electrón-hueco, y la posterior recombinación del par electrón-hueco para emitir un fotón. La luminiscencia que se produce como resultado de una reacción química se denomina generalmente quimioluminiscencia. La luminiscencia producida por un organismo vivo se denomina generalmente bioluminiscencia. Si la fotoluminiscencia es el resultado de una transición de espín permitida (*por ejemplo*, una transición *singlete-singlete*, transición *triplete-triplete*), el proceso de fotoluminiscencia se denomina generalmente fluorescencia. Típicamente, las emisiones de fluorescencia no persisten después de que se elimina la causa de la excitación como resultado de estados excitados de corta duración que pueden relajarse rápidamente a través de dichas transiciones de espín permitidas. Si la fotoluminiscencia es el resultado de una transición de espín prohibida (*por ejemplo*, una transición *triplete-singlete*), el proceso de fotoluminiscencia se denomina generalmente fosforescencia. Por lo general, las emisiones de fosforescencia persisten mucho después de que se elimina la causa de la excitación como resultado de estados excitados de larga duración que pueden relajarse solo a través de dichas transiciones de espín prohibido. Un marcador luminiscente puede tener cualquiera de las propiedades descritas anteriormente.

Las fuentes quimioluminiscentes adecuadas incluyen un compuesto que se excita electrónicamente mediante una reacción química y entonces puede emitir luz que sirve como la señal detectable o dona energía a un aceptor fluorescente. Se ha descubierto que un número diverso de familias de compuestos proporcionan quimioluminiscencia en una variedad de condiciones. Una familia de compuestos es la 2,3-dihidro-1,4-ftalazinediona. Un compuesto usado frecuentemente es el luminol, que es un compuesto 5-amino, que es un compuesto 5-amino. Otros miembros de la familia incluyen el análogo 5-amino-6,7,8-trimetoxi y dimetilamino[ca]benceno. Estos compuestos pueden hacerse luminiscentes con peróxido de hidrógeno alcalino o hipoclorito de calcio y una base. Otra familia de compuestos son los 2,4,5-trifenilimidazoles, con

lofina como nombre común del producto original. Los análogos quimioluminiscentes incluyen sustituyentes paradimetilamino y parametoxi. La quimioluminiscencia también puede obtenerse con oxalatos, generalmente ésteres oxalil activos, por ejemplo, p-nitrofenilo y un peróxido tal como el peróxido de hidrógeno, en condiciones básicas. Otros compuestos quimioluminiscentes útiles que también se conocen incluyen ésteres de N-alkilo de acridinio y dioxetanos. Alternativamente, pueden usarse luciferinas junto con luciferasa o lucigeninas para proporcionar bioluminiscencia.

El término analitos, como se usa en la presente descripción incluye, sin limitación, fármacos, profármacos, agentes farmacéuticos, metabolitos de fármacos, biomarcadores tales como proteínas expresadas y marcadores celulares, anticuerpos, proteínas séricas, colesterol y otros metabolitos, polisacáridos, ácidos nucleicos, analitos biológicos, biomarcadores, genes, proteínas u hormonas, o cualquiera de sus combinaciones. Los analitos pueden ser combinaciones de polipéptidos, glicoproteínas, polisacáridos, lípidos y ácidos nucleicos.

Son de particular interés los biomarcadores asociados con una enfermedad en particular o con una etapa específica de la enfermedad. Dichos analitos incluyen, pero no se limitan a, aquellos asociados con enfermedades autoinmunes, obesidad, hipertensión, diabetes, enfermedades neuronales y/o musculares degenerativas, enfermedades cardíacas, trastornos endocrinos, trastornos metabólicos, inflamación, enfermedades cardiovasculares, sepsis, angiogénesis, cánceres, enfermedad de Alzheimer, complicaciones atléticas y cualquiera de sus combinaciones.

También son de interés los biomarcadores que están presentes en abundancia variable en uno o más de los tejidos corporales, lo que incluye corazón, hígado, próstata, pulmón, riñón, médula ósea, sangre, piel, vejiga, cerebro, músculos, nervios y tejidos seleccionados que se ven afectados por diversas enfermedades, tales como diferentes tipos de cáncer (maligno o no metastásico), enfermedades autoinmunes, enfermedades inflamatorias o degenerativas.

También son de interés los analitos indicativos de un microorganismo, virus o Chlamydiaceae. Los microorganismos ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, bacterias, virus, hongos y protozoos. Los analitos que pueden detectarse mediante el método objeto también incluyen patógenos de origen sanguíneo seleccionados de un grupo no limitante que consiste en *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina (MSRA), *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hominis*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus warneri*, *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus simulans*, *Streptococcus pneumoniae* y *Candida albicans*.

Los analitos que pueden detectarse mediante el método objeto también abarcan una variedad de enfermedades de transmisión sexual seleccionadas entre las siguientes: gonorrea (*Neisseria gonorrhoeae*), sífilis (*Treponema pallidum*), clamidia (*Chlamydia trachomatis*), uretritis no gonocócica (*Ureaplasma urealyticum*), infección por levaduras (*Candida albicans*), chancroide (*Haemophilus ducreyi*), tricomoniasis (*Trichomonas vaginalis*), herpes genital (HSV tipo I y II), VIH I, VIH II y hepatitis A, B, C, G, así como también hepatitis provocada por TTV.

Los analitos adicionales que pueden detectarse mediante los métodos objeto abarcan una diversidad de patógenos respiratorios, lo que incluye, pero no se limita a, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* resistente a la metilicina (MSRA), *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Serratia marcescens*, *Haemophilus parahaemolyticus*, *Enterococcus cloacae*, *Candida albicans*, *Moraxiella catarrhalis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Enterococcus faecium*, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas fluorescens*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Pneumocystis carinii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumoniae* y *Mycobacterium tuberculosis*.

A continuación, se enumeran marcadores ilustrativos adicionales de acuerdo con la presente invención: teofilina, CRP, CKMB, PSA, mioglobina, CA125, progesterona, TxB2, 6-ceto-PGF-1-alfa y teofilina, estradiol, hormona luteinizante, triglicéridos, triptasa, colesterol de lipoproteínas de baja densidad, colesterol de lipoproteínas de alta densidad, colesterol, IGFR.

Los marcadores hepáticos ilustrativos incluyen, sin limitación, LDH, (LD5), (ALT), arginasa 1 (tipo hígado), alfa-fetoproteína (AFP), fosfatasa alcalina, alanina aminotransferasa, lactato deshidrogenasa y bilirrubina.

Los marcadores renales ilustrativos incluyen, sin limitación, receptor de TNF $\alpha$ , cistatina C, prostaglandina D urinaria de tipo lipocalina, sintetasa (LPGDS), receptor del factor de crecimiento de hepatocitos, policistina 2, policistina 1, fibrocistina, uromodulina, alanina, aminopeptidasa, N-acetil-B-D-glucosaminidasa, albúmina y proteína de unión al retinol (RBP).

Los marcadores cardíacos ilustrativos incluyen, sin limitación, troponina I (TnI), troponina T (TnT), CK, CKMB, mioglobina, proteína de unión a ácidos grasos (FABP), CRP, dímero D, proteína S-100, BNP, NT-proBNP, PAPP-A, mieloperoxidasa (MPO), isoenzima BB de glucógeno fosforilasa (GPBB), inhibidor de fibrinólisis activable por trombina (TAFI), fibrinógeno, albúmina modificada por isquemia (IMA), cardiotrofina-1 y MLC-I (cadena ligera de miosina I).

- Los marcadores de páncreas ilustrativos incluyen, sin limitación, amilasa, proteína asociada a la pancreatitis (PAP-1) y proteínas regenerativas (REG).
- 5 Los marcadores de tejido muscular ilustrativos incluyen, sin limitación, miostatina.
- Los marcadores sanguíneos ilustrativos incluyen, sin limitación, eritropoyetina (EPO).
- Los marcadores óseos ilustrativos incluyen, sin limitación, N-telopéptidos reticulados de colágeno de tipo I óseo (NTx)
- 10 Telopéptido de reticulación carboxiterminal de colágeno óseo, lisil-piridinolina (desoxipiridinolina), piridinolina, fosfatasa ácida resistente al tartrato, propéptido C de procolágeno tipo I, propéptido N de procolágeno tipo I, osteocalcina (glaproteína ósea), fosfatasa alcalina, catepsina K, COMP (Proteína de matriz oligomérica de cartílago), osteoprotegerina osteocrina (OPG), RANKL, sRANK, TRAP 5 (TRACP 5), factor específico de osteoblastos 1 (OSF-1, pleiotrofina), moléculas de adhesión celular solubles, sTfR, sCD4, sCD8, sCD44 y factor específico de osteoblastos 2
- 15 (OSF-2, Periostina).
- En algunas modalidades, los marcadores de acuerdo con la presente invención son específicos de una enfermedad. Los marcadores de cáncer ilustrativos incluyen, sin limitación, PSA (antígeno prostático específico total), creatinina, fosfatasa de ácido prostático, complejos de PSA, gen 1 específico de próstata, CA 12-5, antígeno carcinoembrionario (CEA), alfafetoproteína (AFP), hCG (gonadotropina coriónica humana), inhibina, CAA ovárico C1824, CA 27.29, CA 15-3, CAA de mama C1924, Her-2, pancreático, CA 19-9, antígeno carcinoembrionario, CAA pancreático, enolasa específica de neurona, angiostatina DcR3 (receptor 3 de señuelo soluble), endostatina, Ep-CAM (MK-1), cadena ligera kappa de inmunoglobulina libre, cadena ligera lambda de inmunoglobulina libre, herstatina, cromogranina A, adrenomedulina, integrina, receptor del factor de crecimiento epidérmico, receptor del factor de crecimiento epidérmico-tirosina cinasa, péptido N-terminal 20 de proadrenomedulina, factor de crecimiento del endotelio vascular, receptor del factor de crecimiento del endotelio vascular, receptor del factor de células madre, c-kit/KDR, KDR y Midkina.
- 20 Las enfermedades infecciosas ilustrativas incluyen, sin limitación: viremia, bacteremia, sepsis y marcadores: PMN elastasa, PMN elastasa/complejo  $\alpha$ 1-PI, proteína tensioactiva D (SP-D), antígeno HBVc, antígeno HBVs, anti-HBVc, anti-VIH, antígeno de células T supresoras, relación antígenos/células T, antígeno de células T auxiliares, anti-HCV, pirógenos, antígeno p24, muramildipéptido.
- 25 Los marcadores de diabetes ilustrativos incluyen, sin limitación, péptido C, hemoglobina Alc, albúmina glicada, productos finales de glicosilación avanzada (AGE), 1,5-anhidroglucitol, polipéptido inhibidor gástrico, glucosa, hemoglobina, ANGPTL3 y 4.
- Los marcadores de inflamación ilustrativos incluyen, sin limitación, factor reumatoide (RF), anticuerpo antinuclear (ANA), proteína C reactiva (CRP), proteína de células de Clara (uteroglobina).
- 30 Los marcadores de alergia ilustrativos incluyen, sin limitación, IgE total e IgE específica.
- Los marcadores de autismo ilustrativos incluyen, sin limitación, ceruloplasmina, metalotioneína, zinc, cobre, B6, B12, glutatión, fosfatasa alcalina y activación de fosfatasa apoalcalina.
- 35 Los marcadores de trastornos de la coagulación ilustrativos incluyen, sin limitación, b-tromboglobulina, factor plaquetario 4, factor de von Willebrand.
- En algunas modalidades, un marcador puede ser específico de la terapia. Los inhibidores de COX incluyen, sin limitación, TxB2 (Cox-1), 6-ceto-PGF-1-alfa (Cox 2), 11-deshidro-TxB-la (Cox-1).
- 40 Otros marcadores de la presente incluyen, sin limitación, leptina, receptor de leptina y procalcitonina, proteína S100 del cerebro, sustancia P, 8-Iso-PGF-2a.
- 45 Los marcadores geriátricos ilustrativos incluyen, sin limitación, enolasa específica de neurona, GFAP y S100B.
- Los marcadores ilustrativos del estado nutricional incluyen, sin limitación, prealbúmina, albúmina, proteína de unión al retinol (RBP), transferrina, proteína estimulante de la acilación (ASP), adiponectina, proteína relacionada agouti (AgRP), proteína 4 similar a angiopoyetina (ANGPTL4, FIAF), péptido C, AFABP (proteína de unión a ácidos grasos de adipocitos, FABP4) proteína estimulante de la acilación (ASP), EFABP (proteína de unión a ácidos grasos epidérmicos, FABP5), glicentina, glucagón, péptido 1 similar al glucagón, péptido 2 similar al glucagón, grelina, insulina, leptina, receptor de leptina, PYY, RELM, Resistina, y sTfR (receptor de transferrina soluble).
- 50 Los marcadores ilustrativos del metabolismo de los lípidos incluyen, sin limitación, Apo-lipoproteínas (varias), Apo-A1, Apo-B, Apo-C-II, Apo-D, Apo-E.
- 55

- 5 Los marcadores del estado de la coagulación ilustrativos incluyen, sin limitación, Factor I: Fibrinógeno, Factor II: Protrombina, Factor III: Factor tisular, Factor IV: Calcio, Factor V: Proacelerina, Factor VI, Factor VII: Proconvertina, Factor VIII: Factor antihemolítico, Factor IX: Factor de Christmas, Factor X: factor Stuart-Prower, Factor XI: antecedente de la tromboplastina plasmática, Factor XII: factor de Hageman, Factor XIII: factor estabilizador de fibrina, precalicreína, cininógeno de alto peso molecular, proteína C, proteína S, dímero D, activador del plasminógeno tisular, plasminógeno, a2-antiplasmina, inhibidor del activador del plasminógeno 1 (PAI1).
- Los anticuerpos monoclonales ilustrativos incluyen los de EGFR, ErbB2 e IGF1R.
- 10 Los inhibidores de tirosina quinasa ilustrativos incluyen, sin limitación, Abl, Kit, PDGFR, Src, ErbB2, ErbB 4, EGFR, EphB, VEGFR1-4, PDGFRb, Flt3, FGFR, PKC, Met, Tie2, RAF y TrkA.
- Los inhibidores de serina/treonina cinasa ilustrativos incluyen, sin limitación, AKT, Aurora A/B/B, CDK, CDK (pan), CDK1-2, VEGFR2, PDGFRb, CDK4/6, MEK1-2, mTOR y PKC-beta.
- 15 Los objetivos de GPCR incluyen, sin limitación, receptores de histamina, receptores de serotonina, receptores de angiotensina, receptores adrenérgicos, receptores de acetilcolina muscarínicos, receptores de GnRH, receptores de dopamina, receptores de prostaglandina y receptores de ADP.
- 20 En una modalidad separada, se proporciona un método para monitorear más de un parámetro farmacológico útil para evaluar la eficacia y/o toxicidad de un agente terapéutico. Por ejemplo, un agente terapéutico puede incluir cualesquiera sustancias que tengan utilidad y/o potencial terapéutico. Dichas sustancias incluyen, pero no se limitan a, compuestos biológicos o químicos tales como moléculas orgánicas o inorgánicas simples o complejas, péptidos, proteínas (por ejemplo, anticuerpos) o polinucleótidos (por ejemplo, antisentido). Puede sintetizarse una amplia gama de compuestos, por ejemplo, polímeros, tales como polipéptidos y polinucleótidos, y compuestos orgánicos sintéticos basados en diversas estructuras centrales, y estos también pueden incluirse como agentes terapéuticos. Además, diversas fuentes naturales pueden proporcionar compuestos para el tamizaje, tales como extractos de plantas o animales, y similares. Debe entenderse, aunque no siempre se indica explícitamente, que el agente se usa solo o en combinación con otro agente, que tiene la misma o diferente actividad biológica que los agentes identificados mediante el tamizaje de la invención. Los agentes y métodos también se destinan a combinarse con otras terapias. Por ejemplo, los fármacos de moléculas pequeñas se miden frecuentemente mediante espectrometría de masas, que puede ser imprecisa. Los ensayos ELISA (basados en anticuerpos) pueden ser mucho más precisos y exactos.
- 25 30
- 35 Los parámetros fisiológicos de acuerdo con la presente invención incluyen, sin limitación, parámetros tales como temperatura, frecuencia/pulso cardíaco, presión sanguínea y frecuencia respiratoria. Los parámetros farmacodinámicos incluyen concentraciones de biomarcadores tales como proteínas, ácidos nucleicos, células y marcadores celulares. Los biomarcadores podrían ser indicativos de enfermedad o podrían ser el resultado de la acción de un fármaco. Los parámetros farmacocinéticos (PK) de acuerdo con la presente invención incluyen, sin limitación, la concentración del fármaco y de metabolitos del fármaco. La identificación y cuantificación de los parámetros farmacocinéticos en tiempo real a partir de un volumen de muestra es extremadamente conveniente para la seguridad y eficacia adecuadas de los medicamentos. Si las concentraciones de fármaco y de metabolito están fuera de un intervalo deseado y/o se generan metabolitos inesperados debido a una reacción inesperada al fármaco, puede ser necesaria una acción inmediata para garantizar la seguridad del paciente. De manera similar, si alguno de los parámetros farmacodinámicos (PD) cae fuera del intervalo deseado durante un régimen de tratamiento, es posible que también deba tomarse una acción inmediata.
- 40 45
- 50 Ser capaz de monitorear la tasa de cambio de la concentración de un analito o de parámetros de PD o PK durante un período de tiempo en un solo sujeto, o realizar análisis de tendencias sobre la concentración, los parámetros de PD o PK, ya sea concentraciones de fármacos o sus metabolitos, puede ayudar a prevenir situaciones potencialmente peligrosas. Por ejemplo, si la glucosa fuera el analito de interés, la concentración de glucosa en una muestra en un momento dado, así como también la tasa de cambio de la concentración de glucosa durante un período de tiempo dado, podrían ser muy útiles para predecir y evitar, por ejemplo, eventos hipoglucémicos. Dicho análisis de tendencias tiene implicaciones beneficiosas generalizadas en el régimen de dosificación de fármacos. Cuando se trata de múltiples fármacos y sus metabolitos, frecuentemente es conveniente la capacidad de detectar una tendencia y tomar medidas proactivas.
- 55
- 60 En algunas modalidades, la presente invención proporciona un método comercial para ayudar a un médico a proporcionar un tratamiento médico individualizado. Un método comercial puede comprender el rastreo posterior a la prescripción de la terapia con fármacos mediante el rastreo de las tendencias de los biomarcadores en el tiempo. El método comercial puede comprender recolectar al menos un parámetro farmacológico a partir de un individuo que recibe un medicamento, dicha etapa de recolección se efectúa al someter una muestra de fluido corporal a reactivos contenidos en un dispositivo de fluidos, que se proporciona a dicho individuo para producir una señal indicativa detectable de dicho al menos un parámetro farmacológico; y hacer referencias cruzadas con la ayuda de una computadora del historial médico de dicho individuo con el al menos un parámetro farmacológico de dicho individuo, lo que ayuda de esta manera a dicho médico a proporcionar un tratamiento médico individualizado.
- 65

Los dispositivos, sistemas y métodos en la presente descripción permiten la cuantificación automatizada de un parámetro farmacológico de un paciente, así como también la comparación automatizada del parámetro con, por ejemplo, los registros médicos del paciente que pueden incluir un historial del parámetro monitoreado o registros médicos de otro grupo de sujetos. La combinación del monitoreo de analitos en tiempo real con un dispositivo externo que puede almacenar datos, así como también realizar cualquier tipo de procesamiento de datos o algoritmo, por ejemplo, proporciona un dispositivo que puede ayudar con la atención típica del paciente, que puede incluir, por ejemplo, comparar los datos del paciente actual con datos de pacientes anteriores. Por lo tanto, también se proporciona en la presente descripción un método comercial que realiza de manera eficaz al menos parte del monitoreo de un paciente que realiza actualmente el personal médico.

#### Ejemplo 1

En este ejemplo, se usa un dispositivo, método y sistema de la invención para realizar un ensayo para VEGFR2 humano. El ejemplo demuestra un tipo de ensayo que puede realizarse en el punto de atención. La superficie de captura de una unidad de ensayo puede recubrirse sobre la unidad de ensayo de acuerdo con el ensayo, en este ejemplo, un ensayo de VEGFR2. La superficie interior de la unidad de ensayo (fabricada de poliestireno moldeado por inyección similar al ejemplo de la Figura 3A) se expuso a una sucesión de reactivos de recubrimiento por aspiración y eyección neumática. Se extrajeron veinte microlitros de cada reactivo de recubrimiento en unidades de ensayo y se incubaron a temperatura ambiente durante 10 minutos. Los reactivos de recubrimiento usados en este ejemplo son, como se usa en sucesión, Neutravidina (20 ug/ml) en tampón de carbonato-bicarbonato (pH 9), "anticuerpo de captura" biotinilado (un anticuerpo monoclonal dirigido a VEGFR2 a 20 ug/ml) en solución salina tamponada con Tris (pH 8) y un reactivo "fijador" que contiene albúmina de suero bovino al 3 % en solución salina tamponada con Tris. Después de la sucesión de recubrimientos, las unidades de ensayo se secaron mediante exposición al aire seco y se almacenaron desecadas.

A continuación, las muestras para análisis se distribuyen a la unidad de ensayo diluidas en una solución de tampón de tris 50 mM (pH 8) que contiene albúmina de suero bovino y sacarosa isotónica durante 20 minutos. En una unidad de reactivos que comprende un conjugado, se proporciona una solución de anticuerpo monoclonal marcado con fosfatasa alcalina (intestino bovino) dirigido a VEGFR2 (que se une a un epítipo distinto al anticuerpo de la superficie de captura) a 250 ng/ml en un reactivo estabilizador de Biostab a la unidad de ensayo durante 10 minutos. Después de permitir que el conjugado se una al complejo del analito unido a la superficie de captura, la unidad de ensayo se lavó con una solución contenida en una unidad de reactivos (tampón de lavado comercializado por Assay Designs). La unidad de ensayo se lavó 5 veces. A continuación, la unidad de ensayo se movió para recolectar y mezclar con otro reactivo contenido en un reactivo diferente, una solución de un sustrato de luminiscencia disponible comercialmente para fosfatasa alcalina (KPL Phosphaglo), y se incubó durante 10 minutos. La reacción del ensayo en la unidad de ensayo se detectó después mediante un ensamble detector de la invención.

La Figura 12 demuestra la respuesta del ensayo de VEGFR2 mediante el uso del método del ejemplo. La escala del eje x es la concentración de VEGFR2 (pg/ml); la escala y es la luminiscencia relativa (recuentos). La curva se usó para calibrar la unidad de ensayo modular y las unidades de reactivos.

#### Ejemplo 2

Se realizó un ensayo para PIGF humano mediante el uso de las unidades de ensayo y unidades de reactivos de la invención y se leyó en un instrumento comercial. En paralelo, se realizó un ensayo con los mismos reactivos en prototipos de cartuchos desechables (tal como se describe a continuación) en un prototipo de lector. Las concentraciones de analito fueron 0, 4, 80 y 400 pg/ml respectivamente. Las mediciones ilustradas en la Figura 13 se usaron para calibrar una unidad de ensayo y una unidad de reactivos necesarias para realizar un ensayo de PIGF humano.

#### Ejemplo 3

Las perlas magnetizables son partículas magnéticas BioMag de 1,3 um de diámetro de Bangs Laboratories. Las perlas se recubren (por el fabricante) con anti-IgG de conejo. Las perlas se dispersan a 14 mg/ml en sacarosa tamponada con tris (o, alternativamente, solución salina tamponada con tris) que contiene albúmina de suero bovino al 3 % y anti-IgG de glóbulos rojos humanos de conejo, de CedarLane a  $\geq 1,15$  mg/ml. Se dispensaron alícuotas (10 ul) de esta dispersión en tubos cónicos y se liofilizaron (se congelaron en N<sub>2</sub> líquido y se liofilizaron durante aproximadamente 24 h a -70 °C) antes de insertarlas en una ranura de la carcasa del cartucho. El anticuerpo de conejo se une tanto a los glóbulos rojos como a las perlas recubiertas con anti-IgG de conejo y forma un coaglutinado de perlas y glóbulos rojos.

El sedimento de perlas magnetizables liofilizadas se resuspendió al añadir 20 ul de sangre total y después aspirarlas y distribuir las al menos 8 veces (aproximadamente 1,5 min) en un tubo cónico.

La sangre se separó al colocar la punta (en orientación vertical) en un fuerte campo magnético orientado horizontalmente. Típicamente, se recuperaron 8 ul de plasma esencialmente libre de glóbulos rojos sin hemólisis observable a partir de una muestra de sangre de 20 ul (rendimiento del 70 %). La recuperación de analitos (en

comparación con el plasma no expuesto a la separación magnética) fue cercana al 100 % para Proteína-C, VEGF, PIGF, Insulina, GIP y GIP-1.

Ejemplo 4

La dilución en serie de una muestra para el análisis de un analito puede llevarse a cabo en un sistema como se describe en la presente descripción. La proteína C reactiva (CRP) es un marcador de fase aguda. Los niveles normales se encuentran en el intervalo alto de ng/ml a bajo de ug/ml. En cualquier proceso de enfermedad aguda, el hígado humano produce CRP y los niveles en sangre pueden aumentar a cientos de ug/ml. La CRP ha presentado problemas para los sistemas analíticos de POC de la técnica anterior debido al amplio intervalo dinámico del analito a medir (> 10<sup>5</sup> veces).

Se desarrolló un sistema como se describe en la presente descripción que comprende un dispositivo de transferencia de fluidos y un cartucho o dispositivo con matrices de unidades de ensayo y reactivos. Las puntas de ensayo que tenían anti-CRP monoclonal unido a su superficie interna se montaron en un cartucho junto con una solución de anticuerpo detector (anti-CRP monoclonal marcado con fosfatasa alcalina (que tiene una especificidad de epítipo diferente a la de las puntas), una solución de lavado y un sustrato de fosfatasa alcalina de quimioluminiscencia (PhosphaGLOTM) de KPL.

Para analizar la CRP, los cartuchos se cargaron con soluciones prediluidas de CRP usadas sin dilución adicional. Los cartuchos se procesaron por un sistema. Sucesivamente, la solución de CRP (10 ul) y el anticuerpo detector (12 ul) se introdujeron en las puntas, se incubaron durante 10 min a 34 °C y después se desecharon. Las puntas se lavaron mediante cuatro aspiraciones de 20 ul de solución de lavado antes de aspirar 15 ul de sustrato en las puntas. Después de 10 min a 37 °C, el instrumento midió la emisión de luz durante 5 s. La concentración de CRP se graficó contra la señal del ensayo (recuentos de fotones) y los datos se ajustaron a una función polinomial de 5 términos como se muestra más abajo para generar una función de calibración como se muestra en la Figura 14.

Ejemplo 5

A continuación, se ejecutó un experimento mediante el uso de diluciones en serie de una muestra que contenía un analito altamente concentrado para obtener una respuesta de ensayo inequívoca en un sistema y dispositivo como se describe en la presente descripción. Se cargaron soluciones de CRP (20 ul) en cartuchos y se diluyeron en serie con el instrumento (a diluciones de 1:50, 250, 750 y 1500 veces, respectivamente). Las soluciones diluidas se procesaron después como en el Ejemplo 4. Cuando la concentración de CRP diluida excedió el intervalo de calibración del ensayo (300 ng/ml), se observó una respuesta descendente (como se muestra más abajo; datos de dos instrumentos).

La respuesta como se muestra en la Figura 15 puede modelarse mediante el uso de una modificación de la isoterma de unión de Scatchard ( $S/Smáx = C/(C + C0,5)$ ). La modificación asume que la respuesta del ensayo es linealmente proporcional a la concentración del anticuerpo detector, como es el caso en este ejemplo (datos no mostrados). Cualquier arrastre de CRP en la muestra diluida al siguiente reactivo (anticuerpo detector) reaccionará rápidamente con el reactivo lo que lo hace incapaz de unirse al antígeno unido al anticuerpo en fase sólida. La reducción en la concentración eficaz se reduce en proporción al arrastre de CRP y puede explicarse con un factor  $(D - C*f)/D$ .

Por lo tanto,  $S = Smáx*(C/(C + C0,5))*(D - C*f)/D$ , en donde S es la señal de ensayo, Smáx es la señal máxima (correspondiente al arrastre cero), C es la concentración de analito, C0,5 es la concentración de la señal semimáxima (sin arrastre), D es la concentración de anticuerpo detector y f es el arrastre fraccional.

Los valores usados para ajustar los datos se derivaron al optimizar cada uno de los cuatro parámetros más abajo mediante el uso de la técnica de minimización de las diferencias de mínimos cuadrados entre los datos y el ajuste del modelo. Como puede observarse en la Figura 15, se logró un excelente ajuste y los valores de los parámetros Smáx, C0,5 y D (ver tabla 2) están cerca de los valores que pueden estimarse a partir de la señal máxima alcanzada, la C0,5 observada y la concentración de anticuerpo detector conocida. Este modelo estimó el grado del arrastre en 0,034 % (decimal 3,83E-04).

Tabla 1: Parámetros de mejor ajuste al modelo que describe la respuesta del ensayo de CRP bifásica

Parámetro	Valor	Unidades
Smáx	7,24E+05	Recuentos
C0,5	5,02E+01	ng/ml
D	5,72E+00	ng/ml
f	3,83E-04	

A continuación, los datos pueden verse de acuerdo con la dilución usada para lograr la concentración final en cada punta de ensayo, y para cada nivel de dilución, las respuestas se ajustan a la misma respuesta, lo que muestra que las diluciones son exactas y precisas, como se muestra en la Figura 16.

El modelo que se describe en la presente descripción puede usarse para calcular las respuestas para cualquier dilución dada y configurar algoritmos para asegurar que la concentración de analito en cualquier punta esté dentro del intervalo de calibración. Los medios gráficos para representar los datos se muestran en la Figura 17, en donde la respuesta del ensayo normalizada ( $B/B_{\text{máx}}$ ) se representa contra la concentración logarítmica normalizada ( $C/C_{0,5}$ ) para diluciones relativas: 1:1 (línea continua), 5:1 (línea discontinua) y 25:1 (línea de puntos). Las Figuras 18 y 19 ilustran un ejemplo similar al de la Figura 17 a diferentes concentraciones normalizadas. Pueden usarse algoritmos de reconocimiento de patrones simples para identificar datos válidos para muestras de alta concentración. Por ejemplo, para la mayoría de la respuesta a la dosis, la señal disminuye con la dilución. Cuando la señal de cualquier dilución es igual o superior a la de la siguiente dilución superior, se rechaza el resultado de la dilución inferior. En otro ejemplo, las concentraciones derivadas mediante el uso de la función de calibración mostrada en el Ejemplo 4, deberían corresponder dentro de alguna imprecisión del sistema con las diluciones conocidas. Si la concentración calculada para una dilución baja es menor que la correspondiente a las de diluciones mayores, puede rechazarse el resultado de la dilución menor.

Cuando la respuesta a la dosis del ensayo se acerca a un máximo, la pendiente de la concentración ( $AC/AS$ ) frente a la señal aumenta. Para ensayos en los que la variación relativa en la señal ( $AS/S$ ) es esencialmente constante (por ejemplo, algunos casos del sistema como se describe), esto se traduce en una variación mayor en el resultado de la concentración calculada a concentraciones más altas. Como se proporciona en la presente descripción, la dilución o la dilución en serie pueden proporcionar una precisión de concentración que se logra mediante inmunoensayos a niveles de señal significativamente mayores (por ejemplo, > 10 veces) más altos que la señal del blanco (analito cero) pero no cerca de la señal máxima (por ejemplo <  $0,3 \cdot \text{Señal máx.}$ ). La dilución en serie puede permitir que la señal del ensayo esté en este intervalo.

Al hacer varias estimaciones de la concentración de analito a partir de diferentes diluciones, puede obtenerse un valor promedio. Puede lograrse un valor promedio, también, al hacer mediciones repetidas a un solo nivel de dilución. En algunos casos, un enfoque de dilución en serie como lo ofrecen los métodos, sistemas y dispositivos descritos en la presente descripción frecuentemente puede eliminar errores debido a la no linealidad de la dilución debido a (por ejemplo) los efectos de la matriz de la muestra.

#### Ejemplo 6

La fluoresceína es una sustancia química bien conocida y se conocen anticuerpos de alta afinidad que son específicos para la molécula. Al unir varios restos de fluoresceína a una proteína tal como la albúmina, se crea un analito artificial que puede medirse mediante ELISA. El ejemplo en la presente descripción se establece en una placa de microtitulación para mostrar la viabilidad de dicho ensayo y puede traducirse fácilmente a un dispositivo o sistema de la invención como se describe en la presente descripción.

Se unió anticuerpo monoclonal anti-fluoresceína a pocillos de placas de microtitulación de 384 pocillos para crear una superficie de captura. Se realiza un ensayo mediante la adición de una serie de soluciones a los pocillos e incubarlos a temperatura ambiente durante 10 minutos en cada etapa cuando sea necesario. Se añadieron a los pocillos 30  $\mu\text{l}$  de concentraciones conocidas de una preparación comercialmente disponible de albúmina bovina marcada con fluoresceína (muestra) con una relación de aproximadamente cinco fluoresceínas por molécula. Después de la extracción mecánica de la muestra, se añadieron 30  $\mu\text{l}$  de anti-fluoresceína (anticuerpo detector) marcado con fosfatasa alcalina a una concentración de 100 ng/ml. Después de retirar el anticuerpo detector, los pocillos se lavaron tres veces con 40  $\mu\text{l}$  de solución de lavado ("Solución de lavado" núm. cat 80-1351 [Assay Designs, Ann Arbor, Michigan] diluida 1:20 antes de su uso). A continuación, se añadió sustrato PhosphaGLO™ (40  $\mu\text{l}$ ) y se leyó la respuesta del ensayo en un espectroluminómetro M5 durante 0,5 s. La respuesta del ensayo se muestra en la Figura 20.

Se colocó albúmina marcada con fluoresceína (5  $\mu\text{l}$  a diversas concentraciones hasta 80 ng/ml) disuelta en solución salina tamponada con Tris que contenía albúmina bovina a 3 mg/ml (tampón) en tubos de polipropileno y se secó mediante exposición a aire de baja humedad durante toda la noche. El secado completo se verificó al pesar muchos tubos antes y después del secado y verificar la pérdida de peso adecuada y se logró un peso final casi constante. El analito se recuperó mediante la adición de 5  $\mu\text{l}$  de agua, 20  $\mu\text{l}$  de suero humano y 180  $\mu\text{l}$  de tampón y mezclarlos. Los experimentos de control se realizaron al mezclar alícuotas de 5  $\mu\text{l}$  de solución de analito con 20  $\mu\text{l}$  de suero y 180  $\mu\text{l}$  de tampón.

La recuperación del analito se midió mediante el uso del ensayo descrito en la presente descripción. Como se muestra más abajo, la recuperación de la señal del ensayo (y el analito) es esencialmente cuantitativa en todas las concentraciones. Puede ser conveniente tener una buena recuperación (>90 %), que es precisa (<2 % CV en recuperación). En algunos casos, la respuesta a la dosis de ensayo es lineal en el intervalo de interés al tener una concentración baja de analito y un exceso de reactivos. Por ejemplo, puede lograrse una respuesta a la dosis de ensayo lineal si se tiene la capacidad suficiente para la unión del antígeno en la superficie de captura, de manera que incluso en el nivel más alto de analito, solo una proporción moderada (por ejemplo, <30 %) de los sitios están ocupados al final de la reacción de unión. Como se describe en la presente descripción, para analitos en el intervalo de ng/ml y ensayos con tiempos de incubación cortos (< digamos 30 min), esta condición se logra con superficies de

captura recubiertas como se describió anteriormente. En otro ejemplo, concentración suficiente de anticuerpo detector de manera que la concentración no se agote significativamente durante la incubación del anticuerpo detector (por ejemplo, < 30 % del reactivo se une a la superficie en los niveles más altos de antígeno), y esta condición puede satisfacerse mediante el uso de concentraciones de anticuerpo detector en aproximadamente 5 a 100 ng/ml. En aún otro ejemplo, puede lograrse una respuesta a la dosis de ensayo lineal al tener un desarrollo de una señal menor que la respuesta lineal del detector (por ejemplo, un PMT con hasta aproximadamente 4 millones de fotones por segundo). Como se describe en la presente descripción, los sistemas y métodos pueden caer dentro de este intervalo. En aún otro ejemplo, puede lograrse una respuesta a la dosis de ensayo lineal mediante el desarrollo de una señal lo suficientemente alta como para medirse con precisión (por ejemplo, velocidades de recuento de fotones superiores a aproximadamente 1000 por segundo).

Las puntas de ensayo (como se describe en la presente descripción) se recubrieron por aspiración de la siguiente sucesión de reactivos: 20 ul de anti-fluoresceína de conejo 5 ug/ml (Molecular Probes # A6413) en tampón de carbonato pH 9, 20 ul de albúmina bovina al 3 % en solución salina tamponada con tris pH 8 y 20 ul de albúmina bovina marcada con fluoresceína 2,5 ug/ml (Sigma-Aldrich A9771), cada una seguida de incubación durante 10 min y eyección de líquido. A continuación, las puntas se lavaron tres veces mediante aspiración de albúmina bovina en solución salina tamponada con tris pH 8, seguida de incubación en albúmina bovina al 3 % en solución salina tamponada con tris pH 8. Después, las puntas se secaron como se describe en la presente descripción. Estas puntas se usaron para analizar muestras que contenían anti-fluoresceína de cabra mediante la incubación de alícuotas de 20 ul de las siguientes soluciones en secuencia: anti-fluoresceína de cabra (muestra) en solución salina tamponada con tris pH 8 que contenía BSA al 3 %, anti-fluoresceína de cabra de conejo marcada con fosfatasa alcalina a 100 ng/ml en Stabilzyme™ (un solvente disponible comercialmente), lavado cuatro veces con tampón de lavado y sustrato de quimioluminiscencia de fosfatasa alcalina PhosphaGLO™, cada uno con una incubación a temperatura ambiente durante 10 min. El ensayo se evaluó al medir los fotones producidos durante aproximadamente 10 s en el instrumento mediante el uso de un tubo fotomultiplicador en el luminómetro Molecular Devices M5 mediante la colocación en cada punta en un marco modificado personalizado que se ajusta a la base de la placa de microtitulación del instrumento y los resultados se demuestran en la Figura 21. En este ejemplo, la Figura 21 muestra una respuesta lineal similar a la de la Figura 20.

Tabla 2: Configuraciones de ensayos para analitos de control candidatos

Reactivo de superficie de captura 1	Reactivo de superficie de captura 2	Analito	Detector: marcado con APasa
Anti-fluoresceína		Albúmina marcada con fluoresceína	Anti-fluoresceína
Anti-fluoresceína	Albúmina marcada con fluoresceína	Anti-fluoresceína (especie X)	Ig anti-X
Avidina		IgG especie X biotinilada	Ig anti-X
Anti-biotina	Albúmina marcada con biotina		Anti-biotina o estreptavidina
Anti-digoxina	Albúmina marcada con digoxina		Anti-digoxina
Albúmina marcada con fluoresceína		Anti-fluoresceína (especie X)	Ig anti-X
Anti-biotina	Anti-fluoresceína biotinilada	Anti-fluoresceína (especie X)	Ig anti-X

Ejemplo 7

Este ejemplo ilustra la previsibilidad de la respuesta de un inmunoensayo para CRP mediante el uso de puntas de ensayo como se describe en la presente descripción después de la adición inicial de reactivos, eliminación del producto de reacción, lavado de puntas y después reintroducción de algunos o todos los componentes del ensayo. La secuencia del ensayo fue: las puntas se incubaron en instrumentos prototipo a 34 °C durante 10 min en sucesión con (1) muestra (CRP 0,3, 3, 30, 150 y 300 ug/ml), diluidas por el instrumento 500 y después 2000 veces (2) anti-IgG de cabra de conejo marcada con fosfatasa alcalina ["Dab"] (5 ng/ml) después se lavó tres veces y (3) con sustrato de quimioluminiscencia de fosfatasa alcalina PhosphaGLO™ ["Substrato"]. El experimento se realizó en varios instrumentos que también leen la velocidad de producción de protones durante 10 segundos después de la etapa 3. Las concentraciones de CRP finales (en punta) fueron 0,15, 0,6, 1,5, 6, 15, 60, 75, 300 y 600 ng/ml y los niveles de brillo variaron de 2000 a 600 000 recuentos/0,5 s. En algunos experimentos, después de la etapa (3) en el ensayo, el producto de reacción se desechó y se repitieron de diversas maneras las etapas 3 (rombos y línea continua), las etapas 2 + 3 (cuadrados y línea discontinua) o las etapas 1 + 2 + 3 (triángulos y línea de puntos) y los resultados se presentan como señal de ensayo reprocesada frente a la señal de ensayo original como se muestra en la Figura 22.



Las señales de ensayo reprocesadas se relacionaron linealmente (proporcionalmente) con respecto a la señal de ensayo original. La segunda adición de sustrato dio una señal más alta con respecto a la original, mientras que los ensayos reprocesados en los que se introdujeron tanto Dab como el sustrato o aquellos en los que se reintrodujeron la muestra, el Dab y el sustrato dieron señales más bajas que el original. En un ejemplo mediante el uso de este método, todas las etapas de una secuencia de ensayo pueden examinarse para el control de calidad para comprender si fueron como se esperaba de acuerdo con la relación esperada entre la primera y las siguientes repeticiones de las etapas del ensayo.

Por ejemplo, como se describe en la presente descripción, si una etapa de ensayo no se ha producido correctamente, entonces el resultado del ensayo puede o bien rechazarse como incorrecto o las repeticiones posteriores del resultado del ensayo pueden usarse como la respuesta de ensayo apropiada.

Se realizó un inmunoensayo para la proteína C reactiva en un sistema como se describe en la presente descripción. Se incubaron seis puntas de ensayo equivalentes en sucesión con muestra (200 ng/ml de CRP), anti-IgG de cabra de conejo marcada con fosfatasa alcalina, y después se lavaron e incubaron con sustrato de quimioluminiscencia de fosfatasa alcalina PhosphaGLO™. Las incubaciones se realizaron durante 10 min a 34 °C. El experimento se realizó en tres instrumentos que también leyeron la velocidad de producción de protones durante 10 segundos. En promedio, se detectaron aproximadamente 40 000 recuentos (fotones) por 0,5 segundos de tiempo de lectura. En este ejemplo, el nivel de brillo en las puntas uno y dos del instrumento tres dio resultados claramente diferentes, como se muestra en la Tabla 3. A continuación, se usó el instrumento para lavar las puntas e introducir sustrato PhosphaGLO™ nuevo (aspiración 2). Los resultados se presentan como relaciones de la tasa de brillo para cada punta con respecto al promedio de las seis puntas en cada instrumento respectivo. Después de la segunda aspiración, las puntas uno y dos dieron resultados en línea con las otras cuatro en el instrumento tres, lo que indica que cualquiera fuera el problema que hubiera sido responsable de la baja señal en las puntas uno y dos se había solucionado.

Tabla 3: Recuperación de la señal adecuada de las puntas con mal funcionamiento

# de instrumento	Señal, relación al promedio			
	1	2	3	3
# de aspiración	1	1	1	2
# de punta				
1	1,002	0,988	<b>0,460</b>	1,043
2	0,848	1,045	<b>0,917</b>	0,929
3	0,959	0,893	1,141	1,035
4	1,062	1,067	1,103	1,028
5	1,049	0,981	1,171	1,022
6	1,079	1,025	1,207	0,942
CV, %	8,6	6,2	<b>28,3</b>	5,0

## REIVINDICACIONES

1. Un sistema para la detección automatizada de un analito a partir de una muestra de fluido corporal, que comprende:
- 5 un dispositivo de fluidos (100) que comprende:  
 un conjunto de unidades de reactivos (103, 122, 124, 125), en donde una unidad de reactivos individual de dicha matriz de unidades de reactivos se configura para contener un reactivo; y  
 un dispositivo de transferencia de fluidos (500) que comprende:
- 10 un cabezal (522) configurado para acoplarse a una unidad de ensayo individual (121) de una matriz de unidades de ensayo; y  
 un mecanismo (520) configurado para:  
 mover el cabezal (522) y el dispositivo de fluidos (100) uno con respecto al otro, mover la unidad de ensayo individual (121) y la unidad de reactivos individual (103, 122, 124 o 125) una con respecto a la otra, para que la unidad de reactivos individual reciba a la unidad de ensayo individual para transferir el reactivo a la unidad de ensayo individual, para ejecutar un ensayo en la unidad de ensayo individual que produce una señal indicativa del analito.
- 15 2. El sistema de conformidad con la reivindicación 1, en donde el cabezal y el dispositivo de fluidos pueden moverse uno con respecto al otro mediante el mecanismo para dirigir la transferencia de fluidos para efectuar un grado de dilución de la muestra de fluido corporal en la unidad de ensayo individual para llevar la señal indicativa del analito que se detecta dentro de un intervalo detectable, de manera que el analito sea detectable con dicho sistema.
- 20 3. El sistema de conformidad con la reivindicación 2, que comprende, además, un detector configurado para detectar intensidades de señal del intervalo detectable.
- 25 4. El sistema de conformidad con la reivindicación 3, en donde el detector es un fotomultiplicador.
- 30 5. El sistema de conformidad con la reivindicación 4, en donde el intervalo detectable es de 1000 a 1 millón de recuentos por segundo.
- 35 6. El sistema de conformidad con la reivindicación 1, en donde el cabezal se configura para acoplarse a la unidad de ensayo individual.
7. El sistema de conformidad con la reivindicación 1, que comprende dicha unidad de ensayo individual acoplada al cabezal, la unidad de ensayo individual comprende una superficie a la que se unirá el analito.
- 40 8. El sistema de conformidad con la reivindicación 1, en donde dicha unidad de ensayo individual es una punta de pipeta y el cabezal es un cabezal de pipeta acoplable a la unidad de ensayo individual.
- 45 9. El sistema de conformidad con la reivindicación 1, en donde dicho dispositivo de transferencia de fluidos comprende, además, un motor en comunicación con un procesador programable, para el movimiento del cabezal para mover la unidad de ensayo individual.
10. El sistema de conformidad con la reivindicación 1, que comprende una base de traslación sobre la que puede colocarse el dispositivo de fluidos.
- 50 11. El sistema de conformidad con la reivindicación 1, el cabezal y el dispositivo de fluidos pueden moverse uno con respecto al otro, para mover la unidad de ensayo individual y el dispositivo de fluidos uno con respecto al otro para poner la unidad de ensayo individual en comunicación continua con el reactivo en la unidad de reactivos.
- 55 12. El sistema de conformidad con la reivindicación 1, en donde el dispositivo de fluidos comprende una unidad de recolección de muestras configurada para contener la muestra de fluido corporal.
- 60 13. El sistema de conformidad con la reivindicación 12, el cabezal y el dispositivo de fluidos pueden moverse uno con respecto al otro, para mover la unidad de ensayo individual y el dispositivo de fluidos uno con respecto al otro para llevar la unidad de ensayo individual en comunicación continua con la muestra de fluido corporal en la unidad de recolección de muestras.
- 65 14. Una unidad de ensayo (121) configurada para su uso como la unidad de ensayo individual de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, que comprende una superficie configurada para unirse con el analito.

15. La unidad de ensayo de conformidad con la reivindicación 14, en donde la superficie es de un recubrimiento que comprende un reactivo de captura para unirse con el analito.

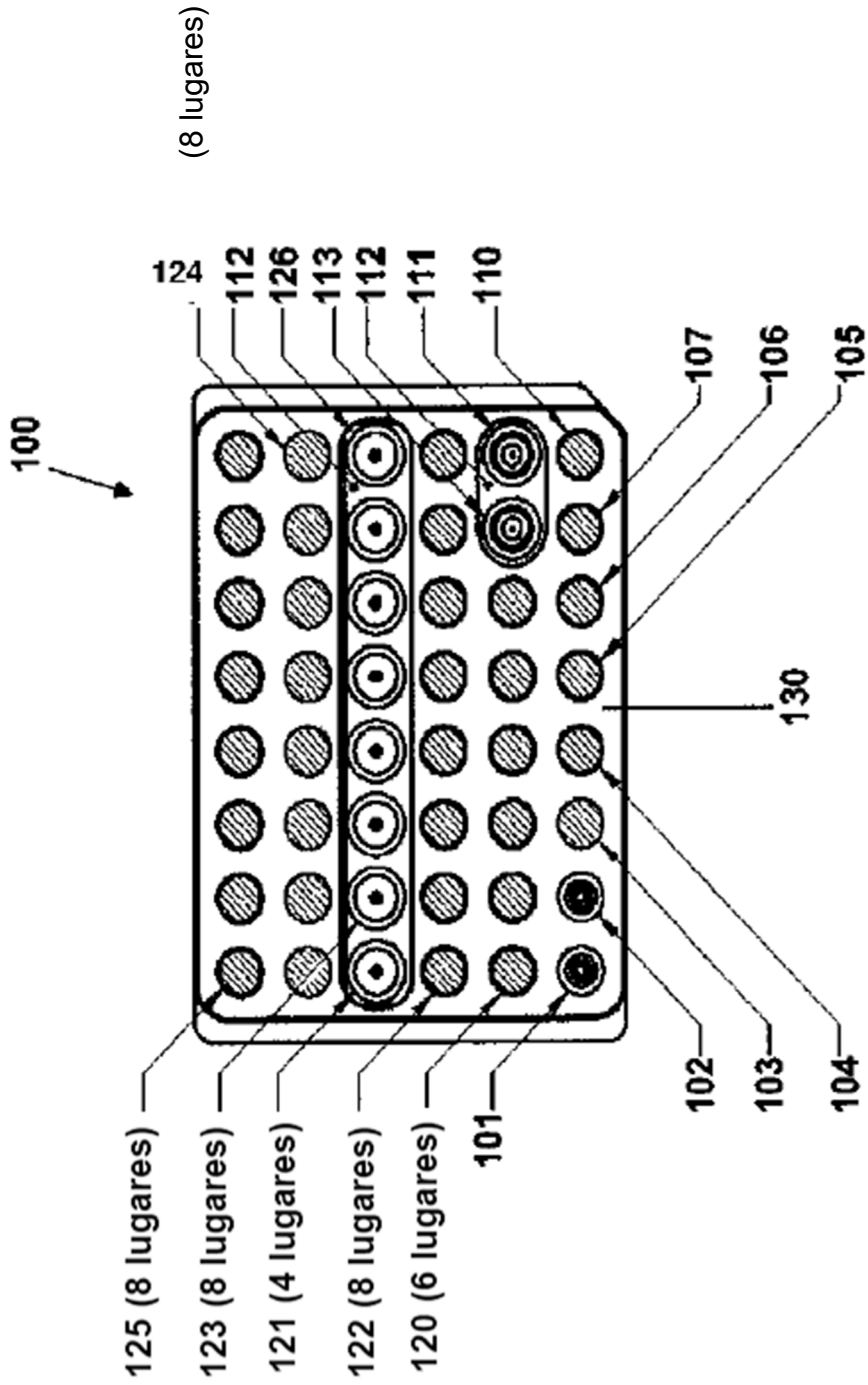


FIGURA 1

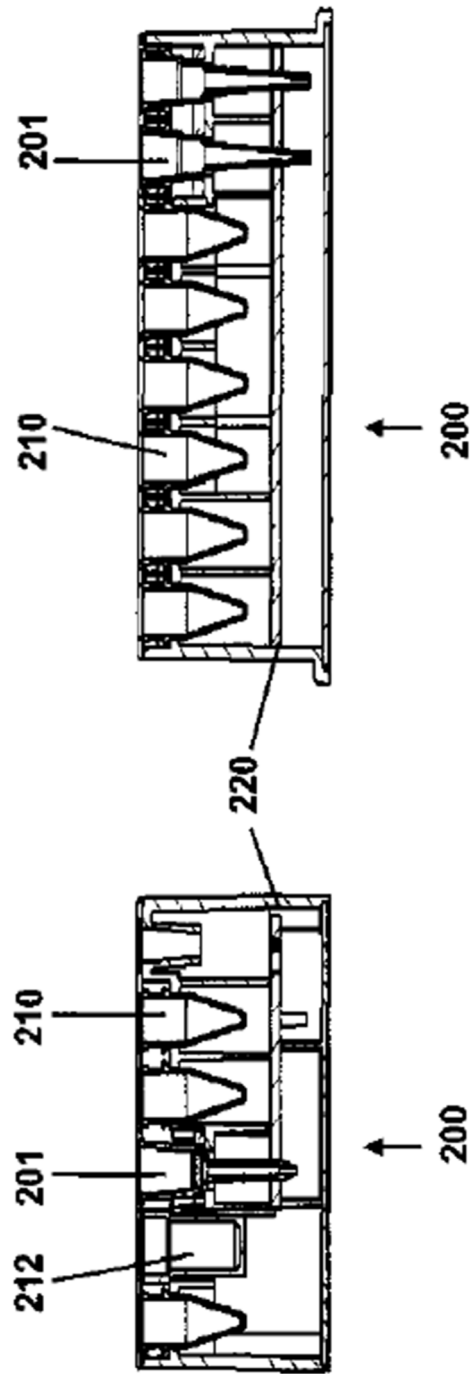


FIGURA 2

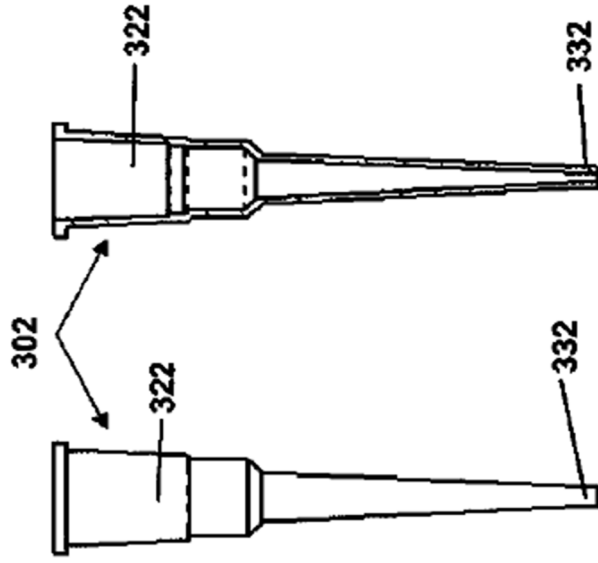


FIGURA 3B

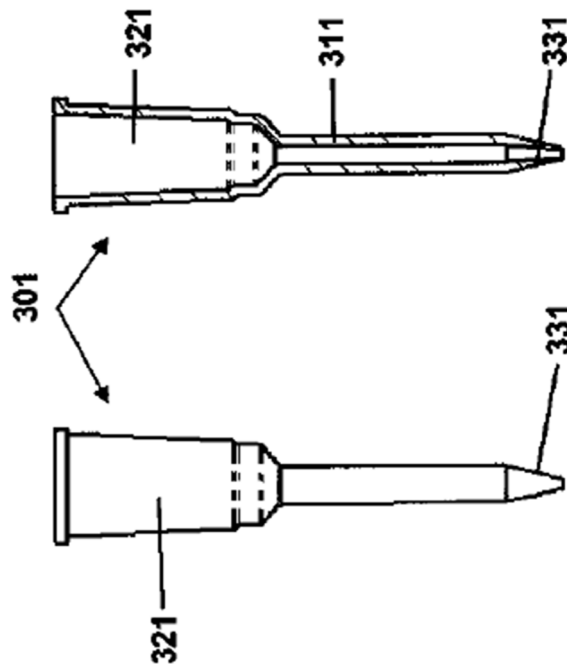


FIGURA 3A

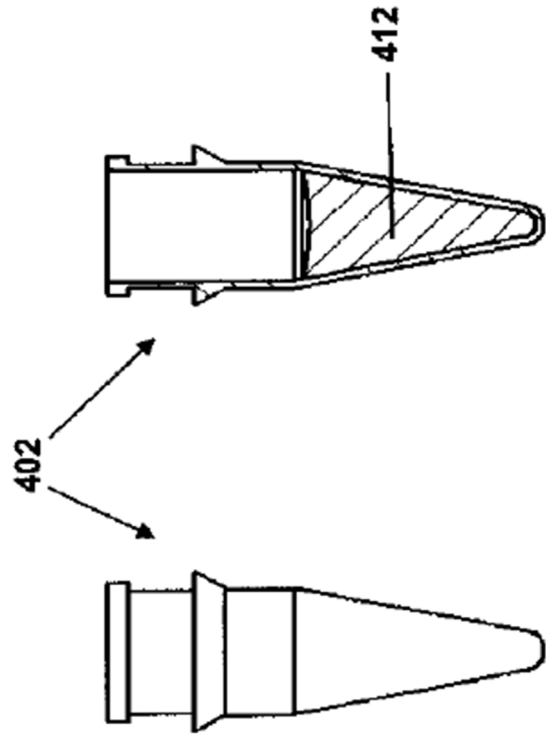


FIGURA 4B

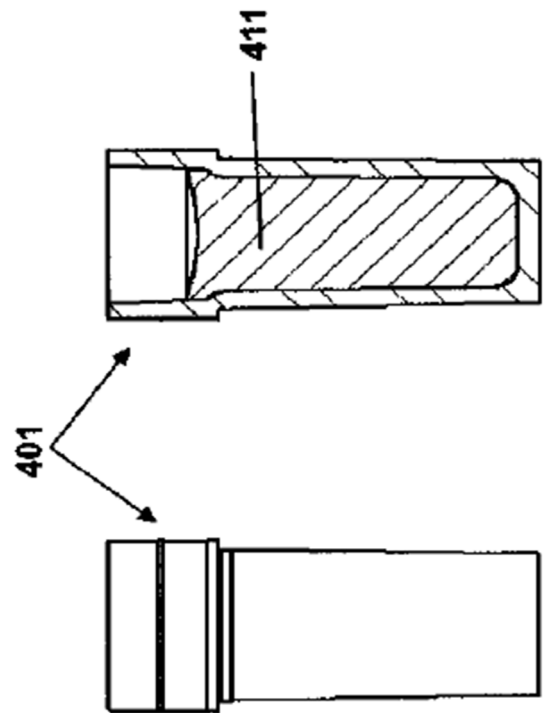


FIGURA 4A

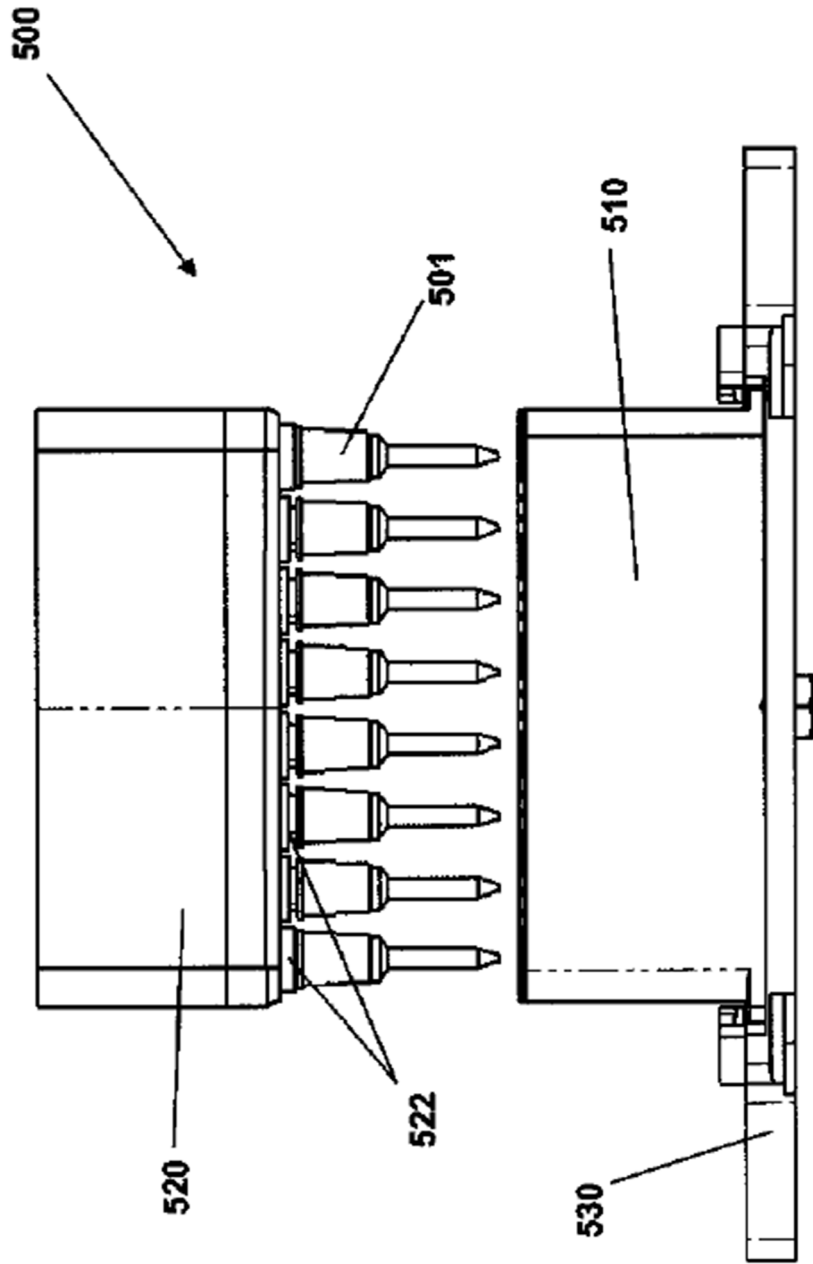


FIGURA 5



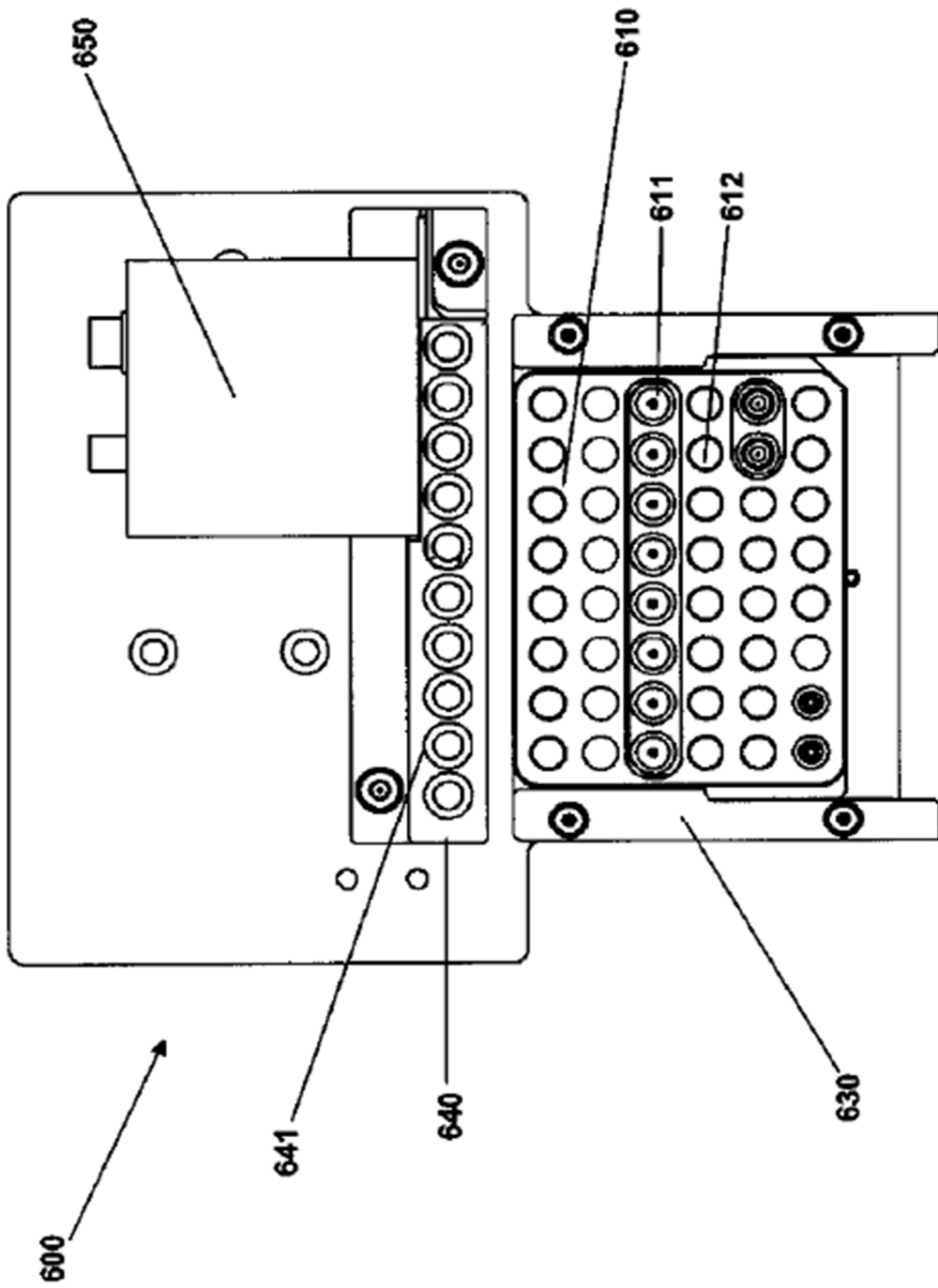


FIGURA 6

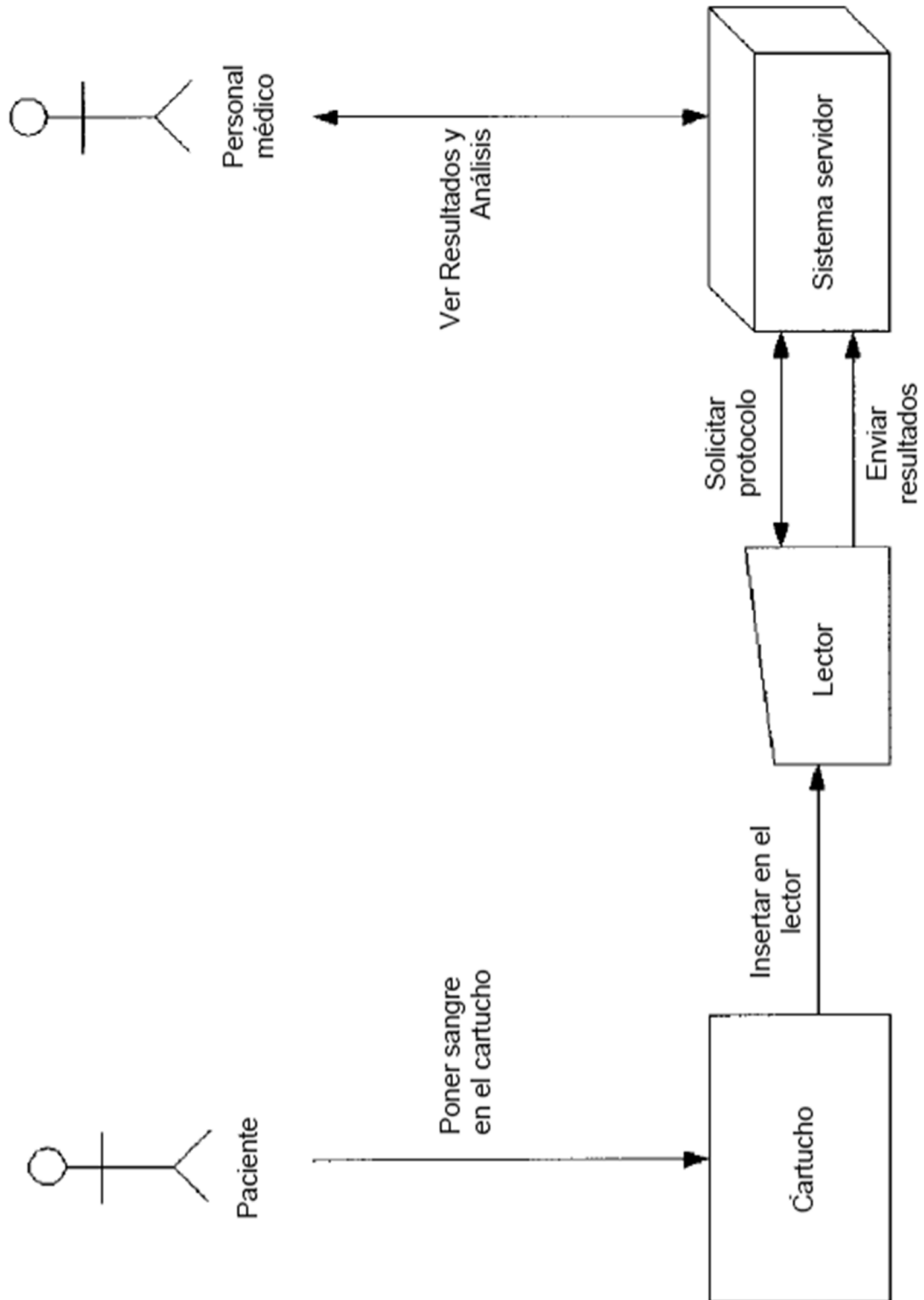


FIGURA 7

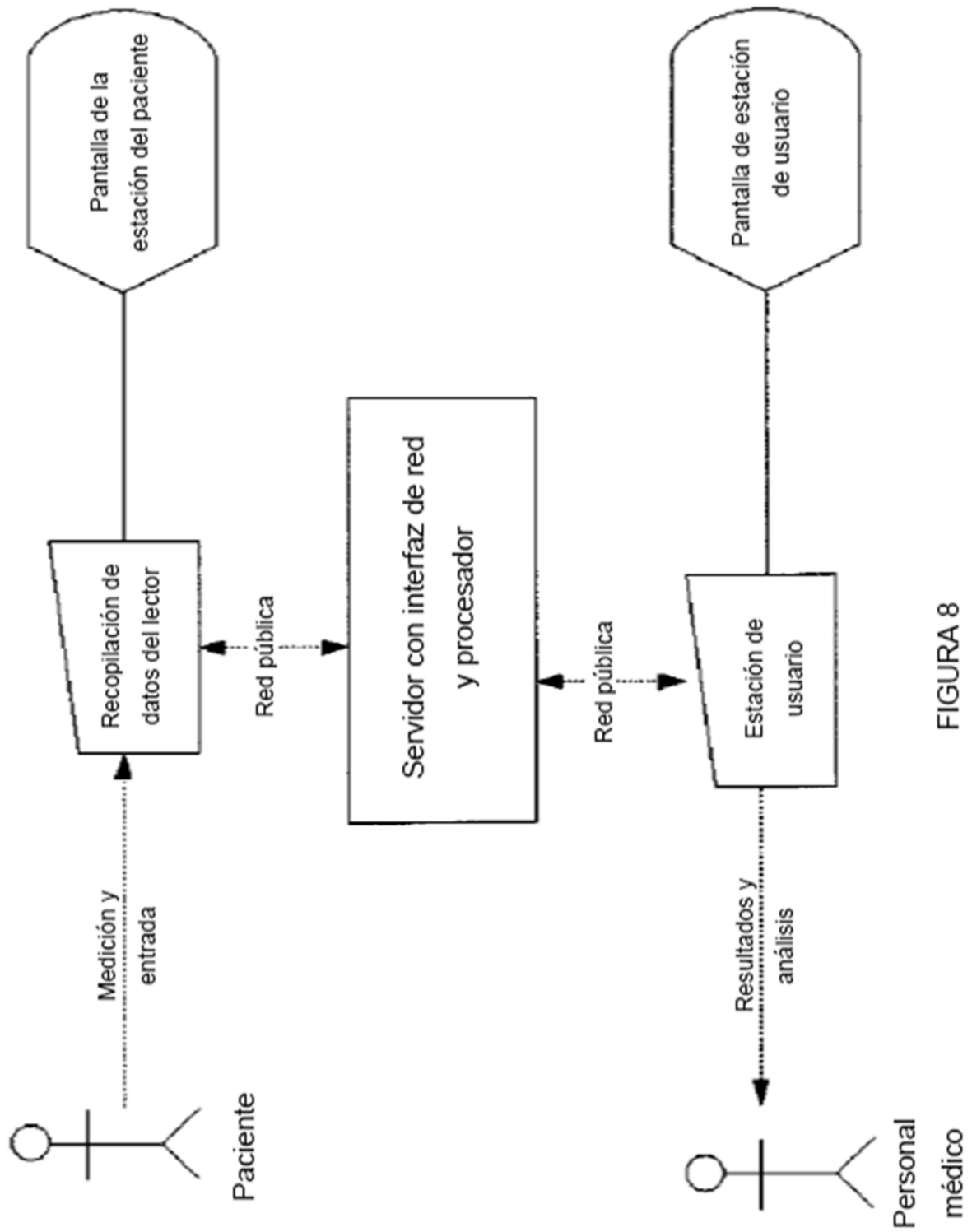


FIGURA 8

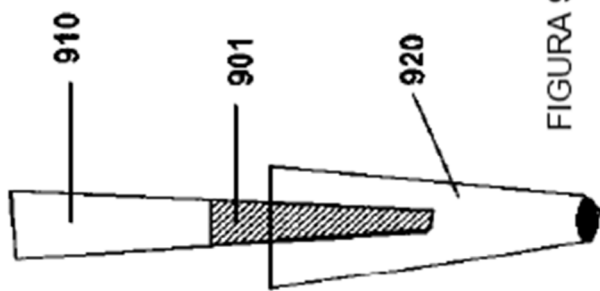


FIGURA 9A

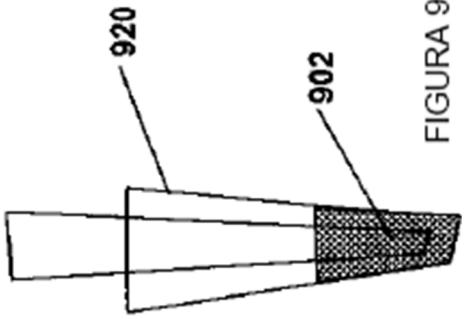


FIGURA 9B

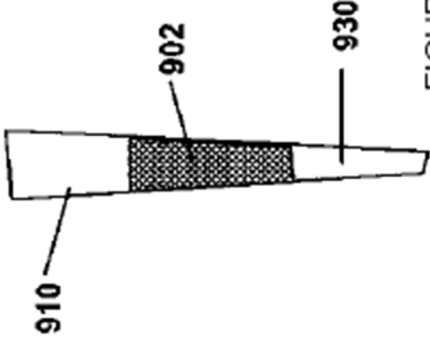


FIGURA 9C

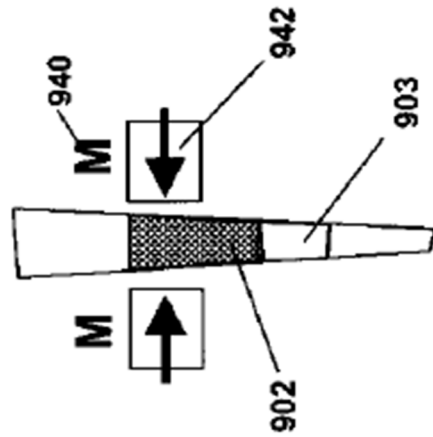


FIGURA 9D

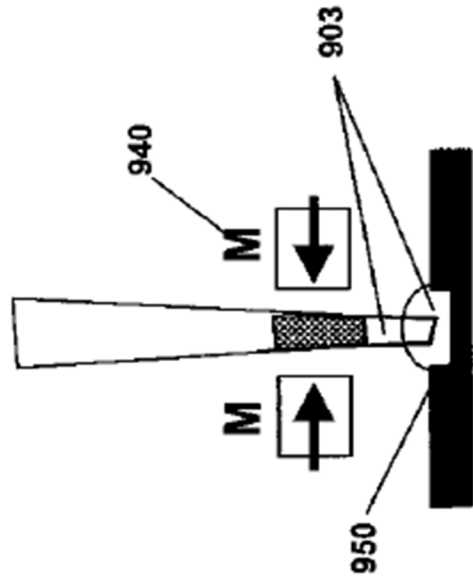


FIGURA 9E

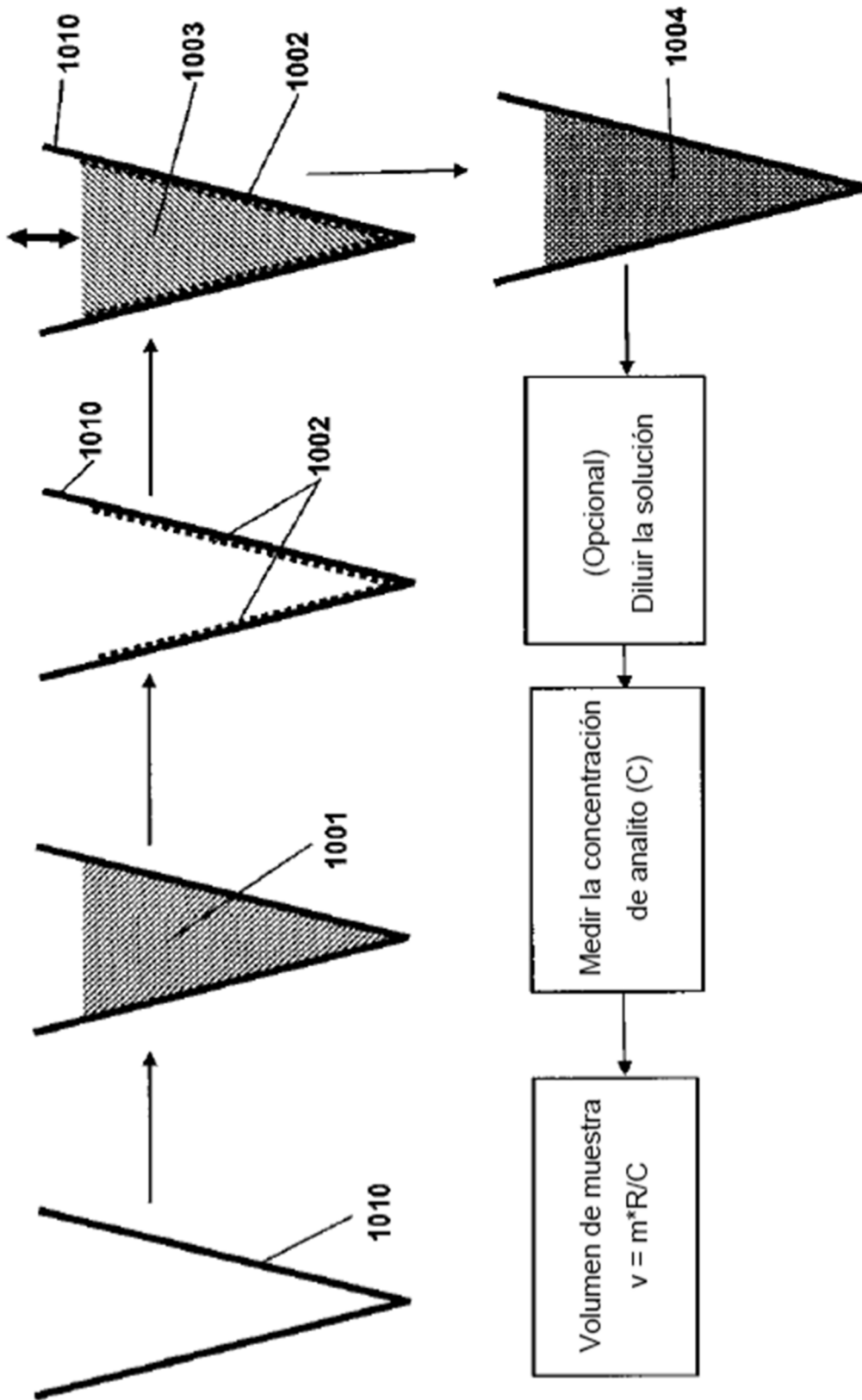


FIGURA 10

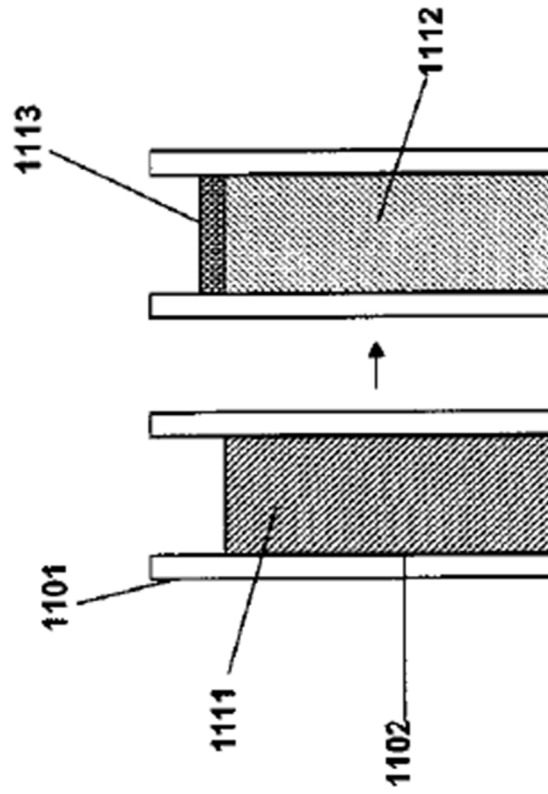


FIGURA 11

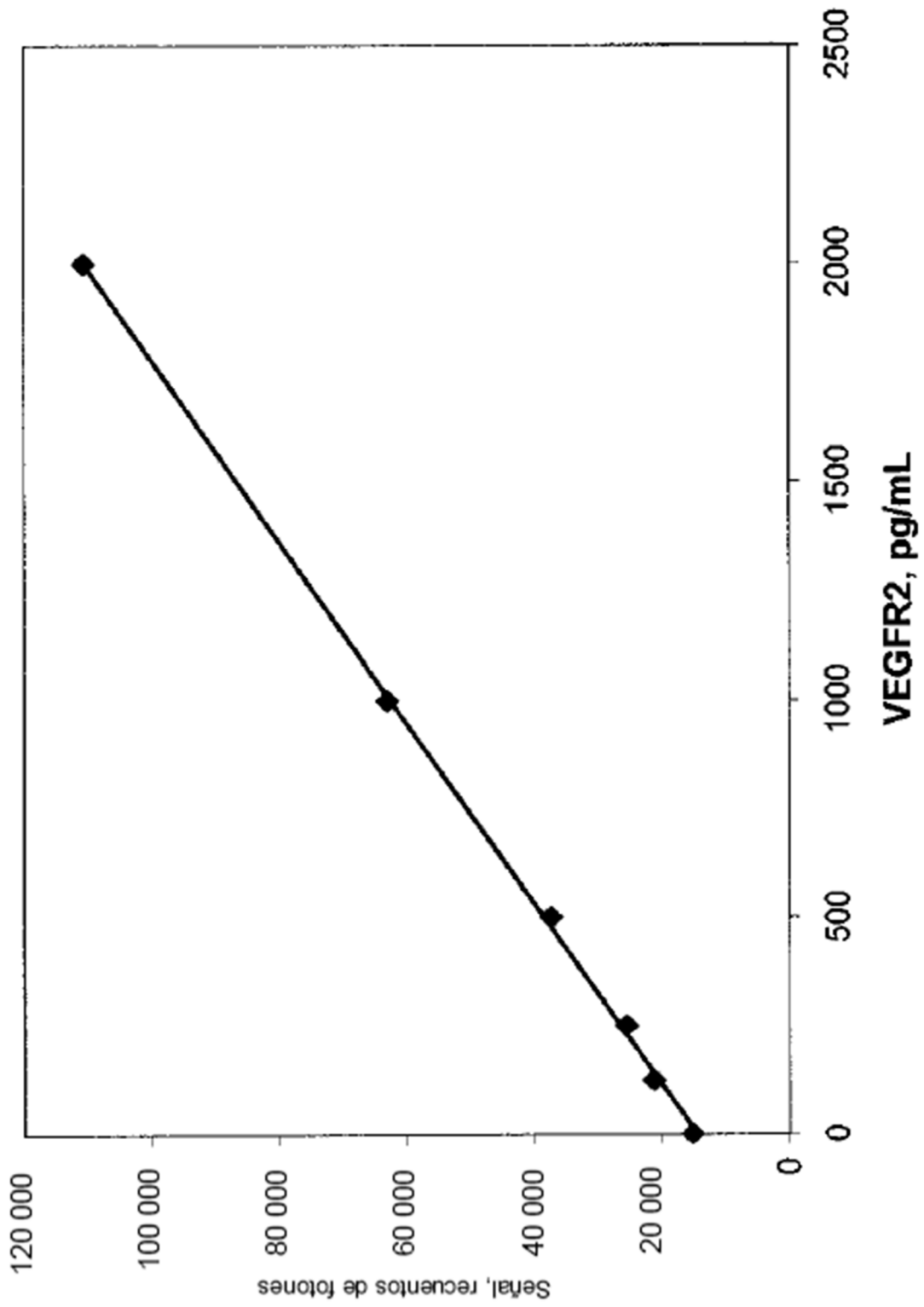


FIGURA 12

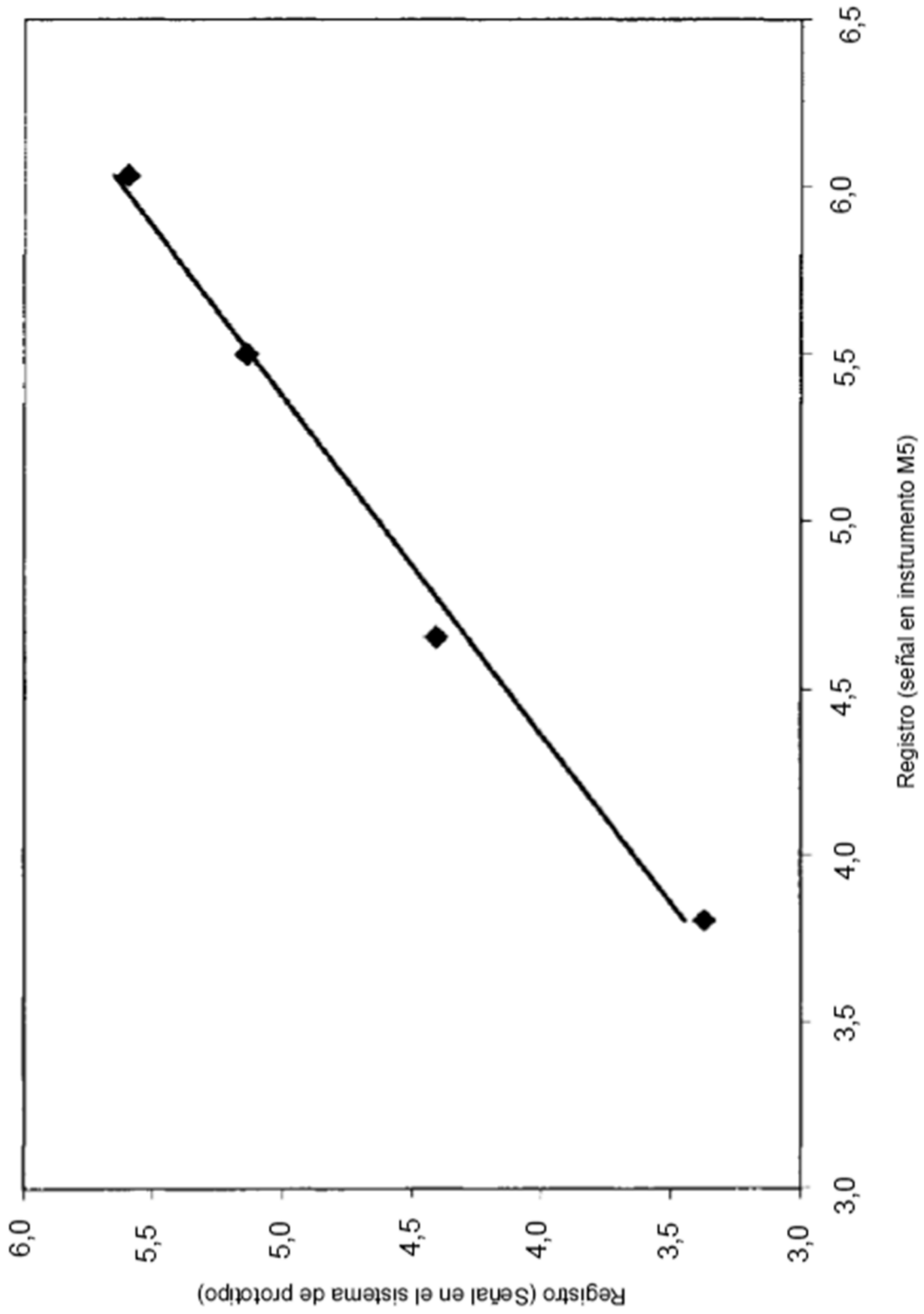


FIGURA 13



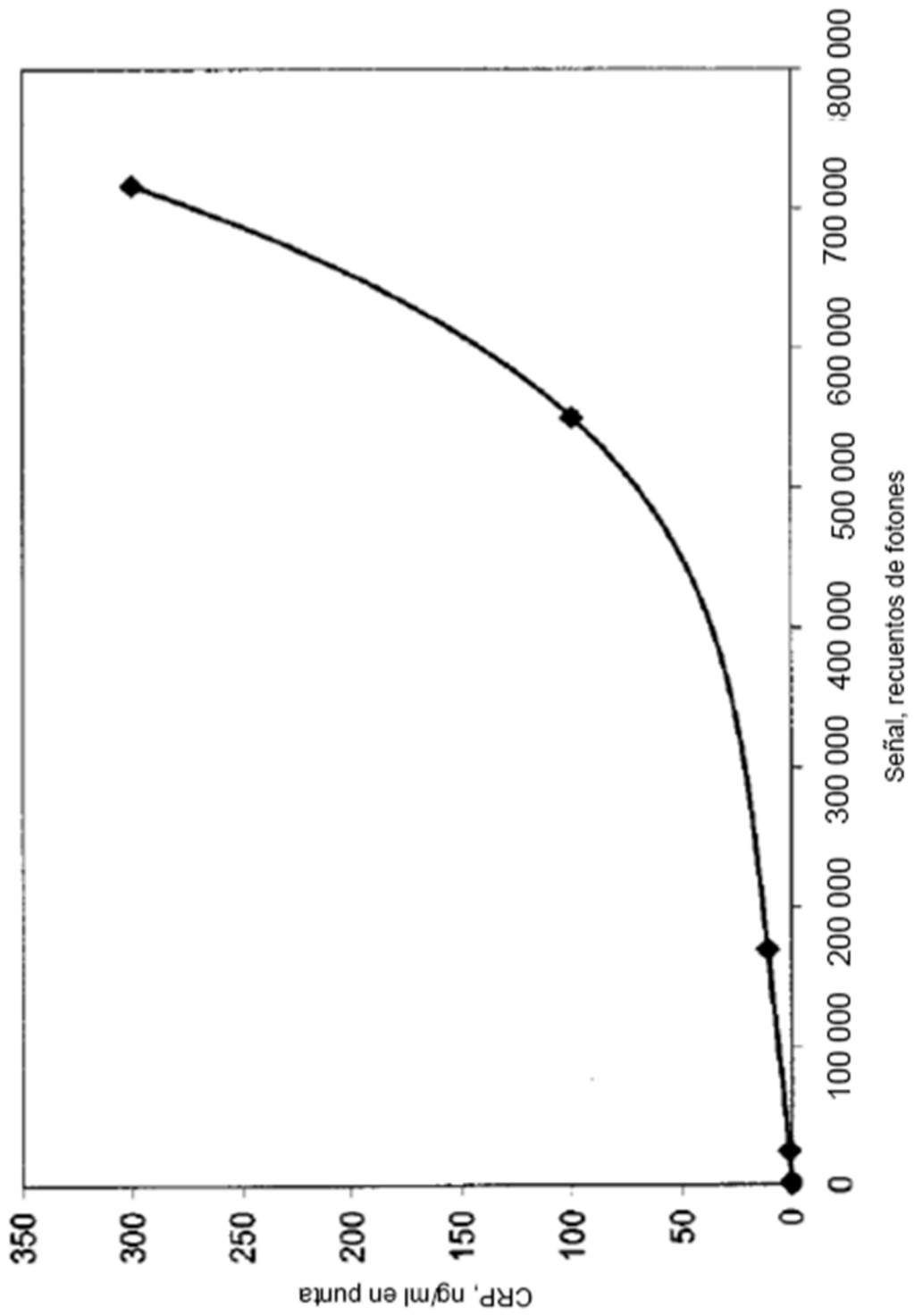


FIGURA 14

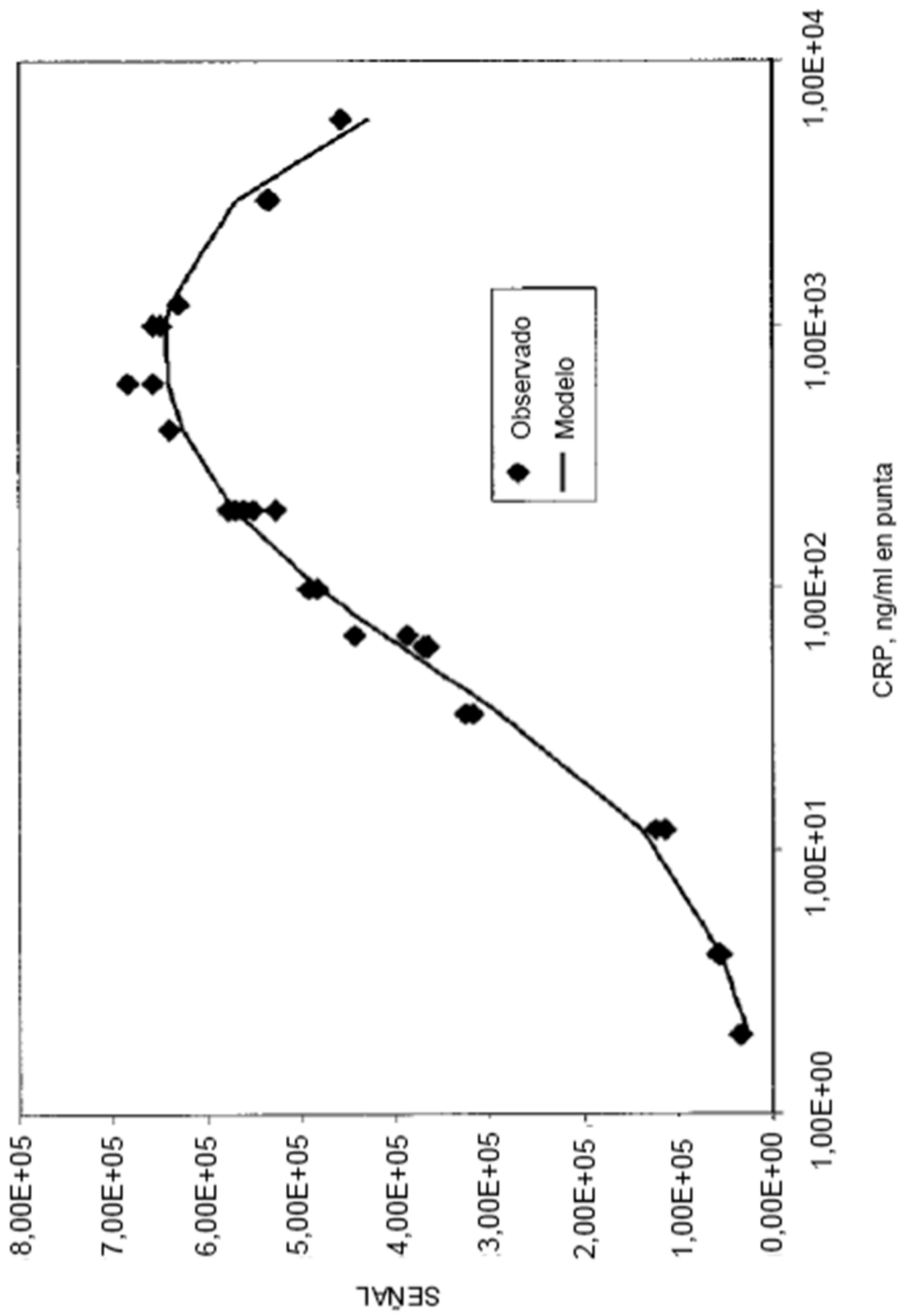


FIGURA 15

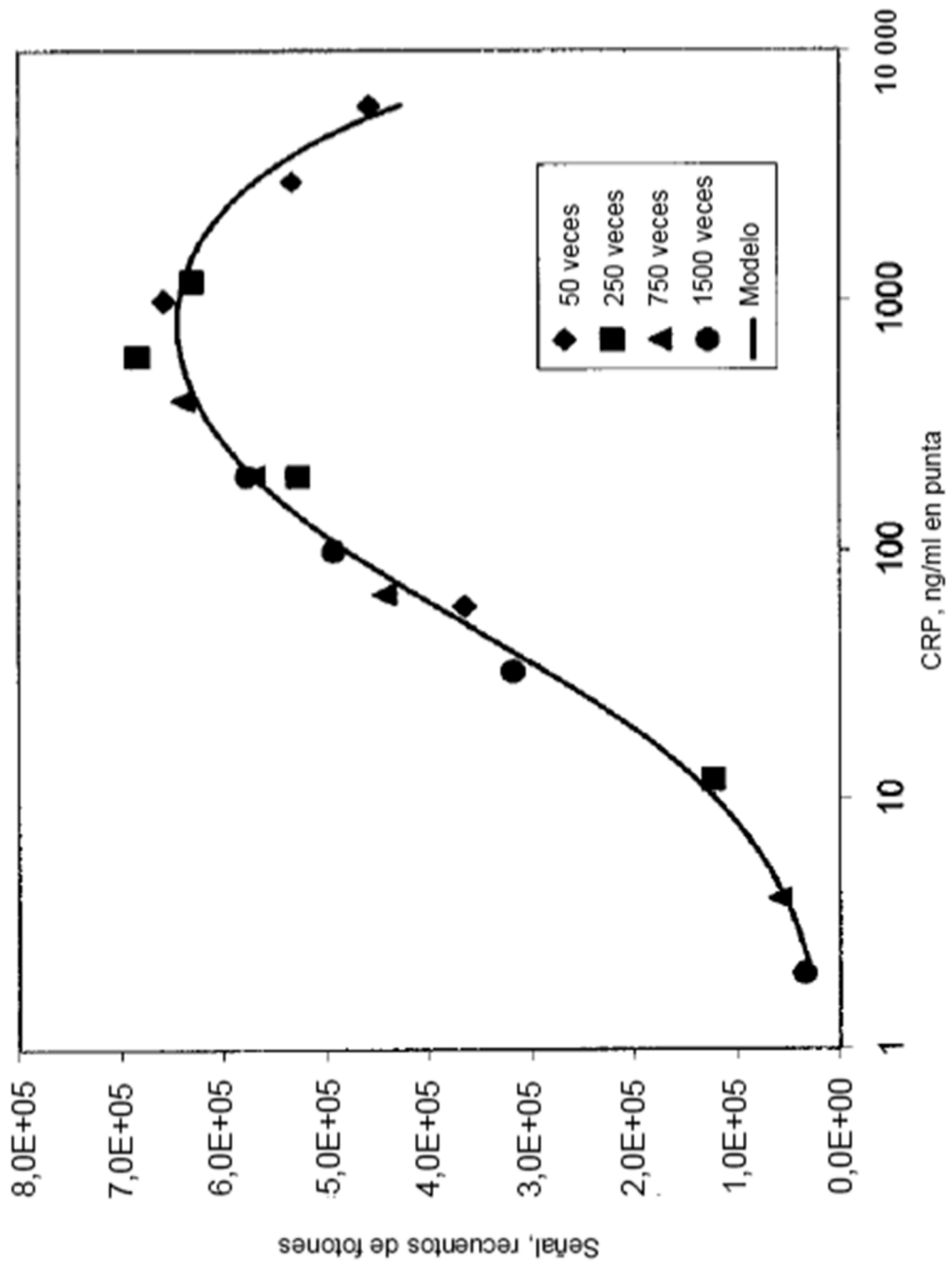
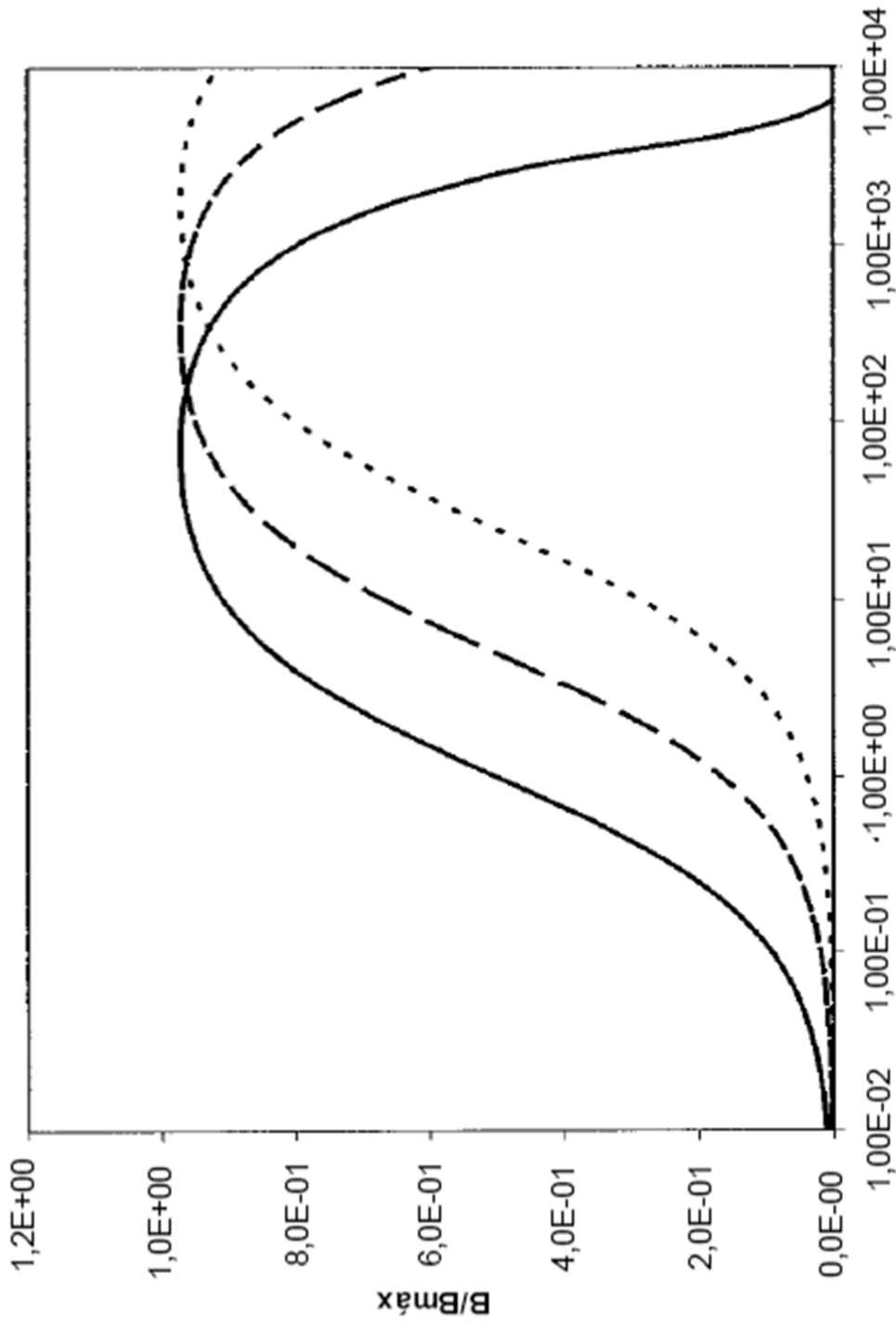


FIGURA 16



C/C<sub>0,5</sub> dilución 1

FIGURA 17

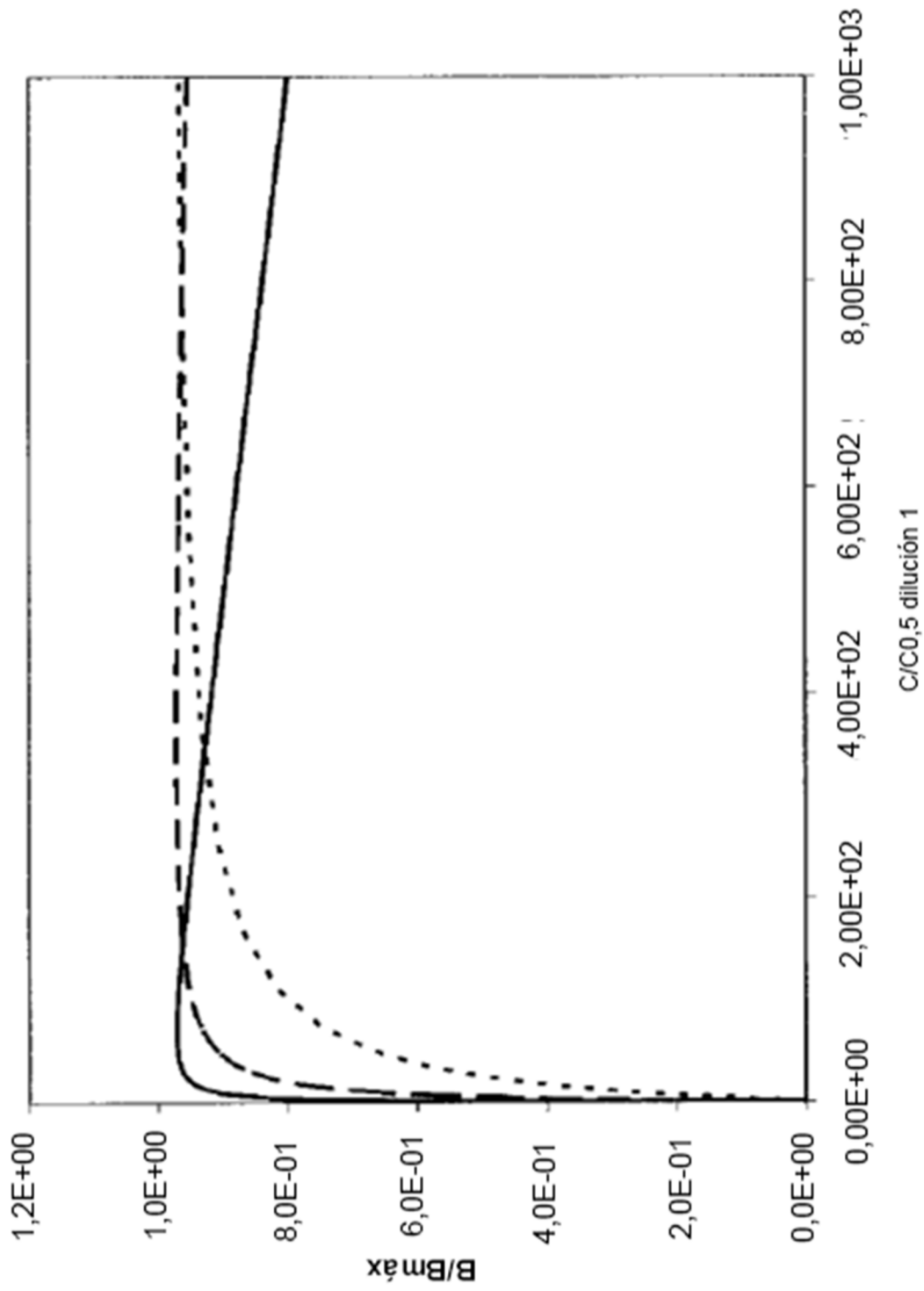


FIGURA 18

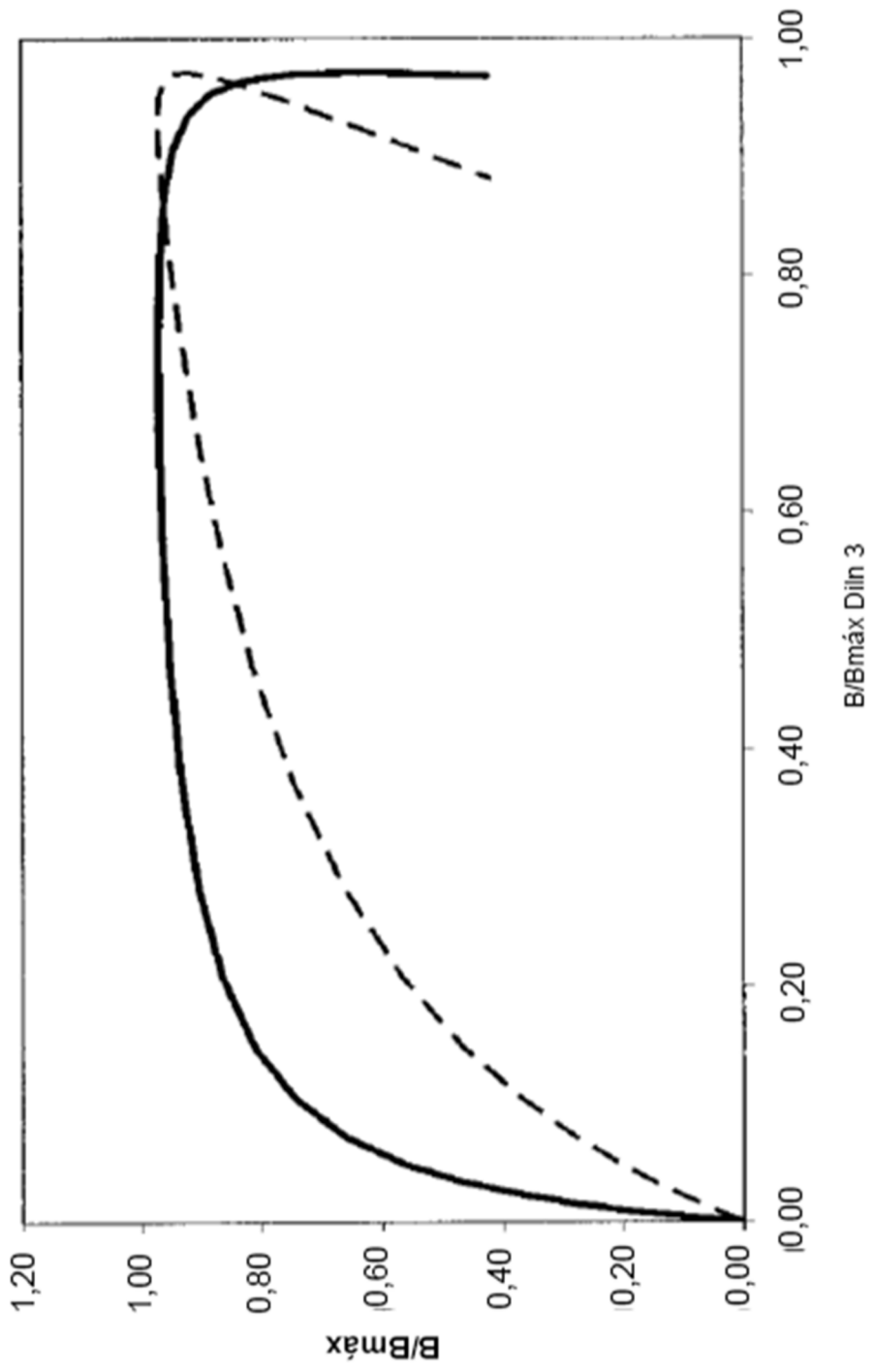


FIGURA 19

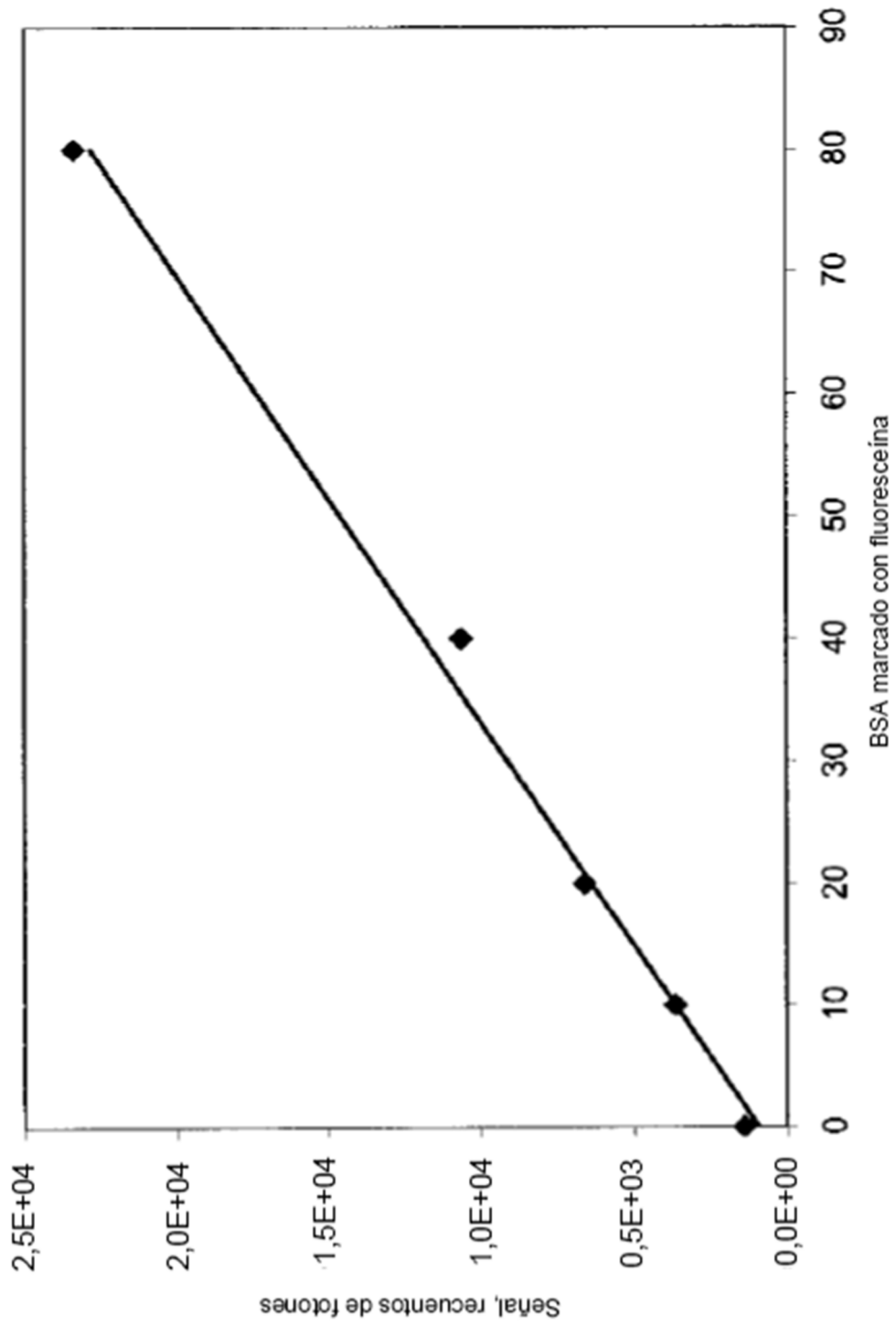
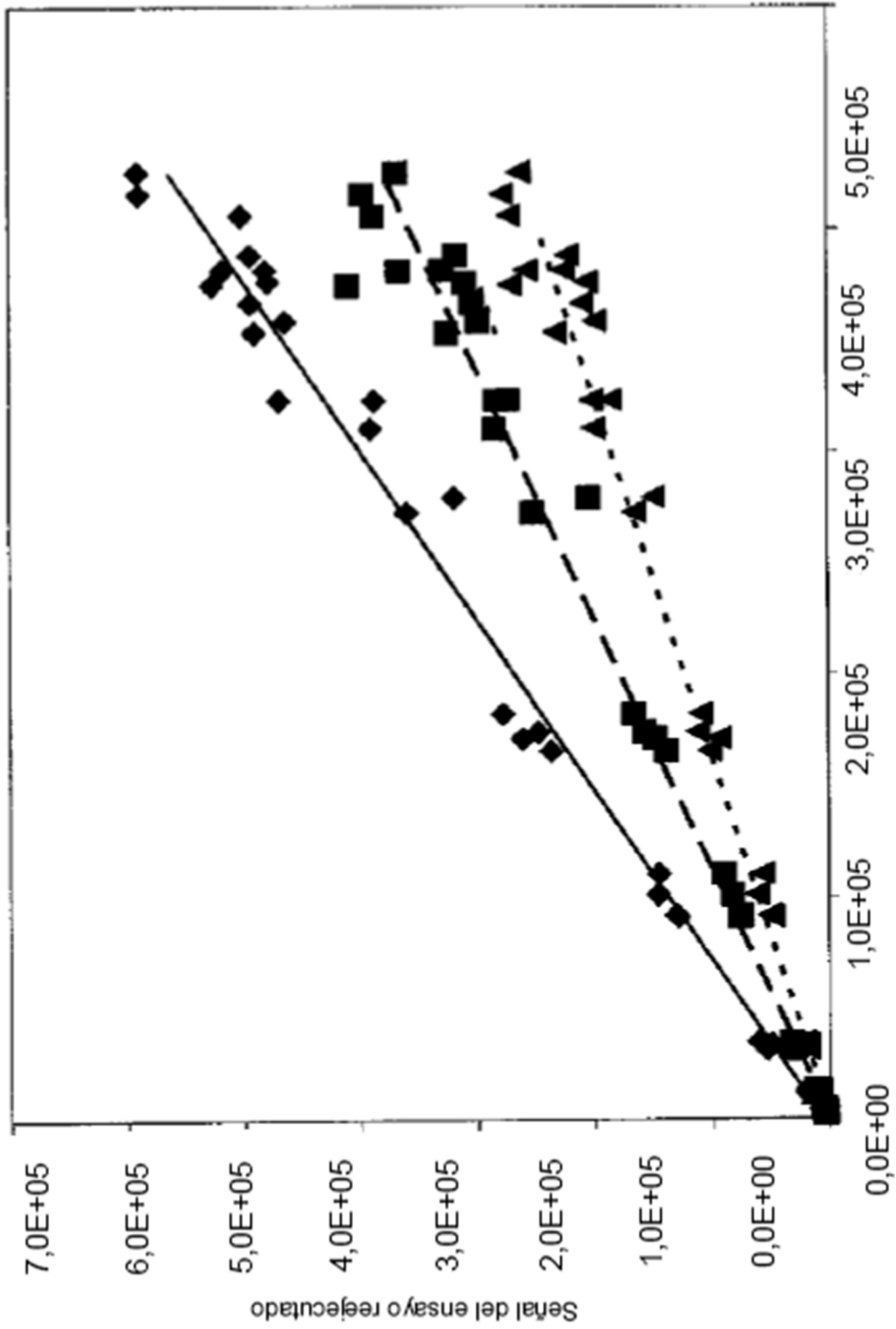


FIGURA 20



Señal de ensayo original

FIGURA 21