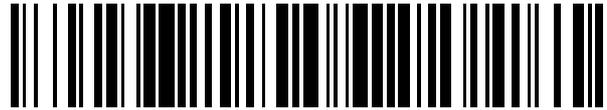


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 447 875**

51 Int. Cl.:

**G01N 33/48** (2006.01)

**G01N 33/53** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.10.2008 E 08836072 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.11.2013 EP 2205968**

54 Título: **Dispositivos modulares para punto de cuidados 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:

**13.03.2014**

73 Titular/es:

**THERANOS, INC. (100.0%)  
1601 S California Avenue  
Palo Alto, CA 94304 , US**

72 Inventor/es:

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

74 Agente/Representante:

**LAZCANO GAINZA, Jesús**

**ES 2 447 875 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 punto de cuidados y usos de los mismos

## 5 Antecedentes de la invención

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

15 La medición multiplexada con biomarcadores puede proporcionar conocimiento adicional del estado de un paciente. Por ejemplo, cuando se monitorea los efectos de un medicamento, tres o más biomarcadores se pueden medir en paralelo. Por lo general, las placas de microtitulación y otros aparatos similares se han usado para realizar ensayos multiplexados basados en separación. Una placa de microtitulación (por ejemplo, una placa de microtitulación de 384 pocillos) puede realizar un gran número de ensayos en paralelo.

20 En un dispositivo de punto de cuidados (POC), el número de ensayos que se pueden realizar en paralelo frecuentemente se limita por el tamaño del dispositivo y el volumen de la muestra a analizar. En muchos dispositivos de POC, el número de ensayos realizados es aproximadamente 2 a 10. Un dispositivo de POC capaz de realizar ensayos multiplexados en una muestra pequeña sería deseable.

25 Una deficiencia de muchos dispositivos de ensayos de POC multiplexados es el alto coste de fabricación de los componentes del dispositivo. Si el dispositivo es desechable, el alto costo de los componentes puede hacer poco práctica la fabricación de un dispositivo de POC. Además, para los dispositivos de POC multiplexados que incorporan todos los reactivos necesarios a bordo del dispositivo, si cualquiera de esos reactivos exhibe inestabilidad, un lote completo de fabricación de los dispositivos se puede tener que descartar, incluso si todos los demás reactivos fuesen aún usables.

30 Cuando un cliente está interesado en una personalización de un dispositivo de POC para un conjunto específico de analitos, los fabricantes de los sistemas de ensayo de POC multiplexados frecuentemente se enfrentan con la necesidad de mezclar e igualar los ensayos y los reactivos del dispositivo. Un ensayo de POC multiplexado adecuado para cada cliente puede ser muy caro, difícil de calibrar, y difícil de mantener el control de calidad.

35 Los métodos de POC han demostrado ser muy valiosos para monitorear una enfermedad y una terapia (por ejemplo, los sistemas de glucosa sanguínea en la terapia de la diabetes, la medición del tiempo de la protrombina en la terapia anticoagulante usando warfarina). Al medir múltiples marcadores, se cree que las enfermedades complejas (tal como el cáncer) y las terapias tales como la terapia multimedicamento para el cáncer se pueden monitorear y controlar mejor.

40 El documento WO 2007/002579 describe dispositivos y métodos para instrumentos de punto de cuidados. Gibbons I y otros, Clin. Chem., 35/9, 1869-1873, septiembre de 1989 discute un sistema de inmunoensayos del lado del paciente con un cartucho de un solo uso para medir analitos en la sangre. El documento US 2007/224084 describe dispositivos médicos portátiles que permiten la detección en tiempo real de analitos a partir de un fluido biológico y los cuales son útiles para proporcionar pruebas de punto de cuidados para una variedad de aplicaciones médicas.

## 45 Resumen de la invención

50 Por lo tanto, sigue existiendo una necesidad insatisfecha de diseños alternativos de dispositivos de POC. Un diseño deseable proporciona superficies de captura y elementos de incubación de ensayos modulares. Además, se necesita integrar las superficies de captura y los elementos de incubación de ensayos modulares en productos desechables de POC adecuados para los métodos de fabricación justo a tiempo (JIT). Sería deseable proporcionar un dispositivo de POC adaptable a un coste práctico para el usuario y el fabricante. La presente invención aborda estas necesidades y también proporciona ventajas relacionadas.

55 En un aspecto, se describe un cartucho para la detección automatizada de un analito en una muestra de fluido corporal que comprende: una disposición de unidades de ensayo direccionables configurada para ejecutar una reacción química que produce una señal detectable indicativa de la presencia o ausencia del analito; y una disposición de unidades de reactivos direccionables, en donde una unidad de reactivos direccionable individual de la disposición se direcciona para corresponder a una unidad de ensayo direccionable individual de la disposición de unidades de ensayo, y en donde la unidad de reactivos individual se configura para calibrarse en referencia a la unidad de ensayo individual correspondiente antes de ensamblar las disposiciones en el cartucho y en donde la unidad de ensayo individual de la disposición de unidades de ensayo direccionables y la unidad de reactivos individual de la disposición de unidades de reactivos direccionables se configuran para ser móviles en comunicación continua de tal manera que los reactivos para ejecutar la reacción química se ponen en contacto con la porción de la muestra en la unidad de ensayo. El dispositivo

puede comprender además una unidad de recolección de muestras configurada para recibir la muestra de fluido corporal.

5 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 disposición de unidades de ensayo configurada para recibir una porción de la muestra a partir 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 disposición de unidades de reactivos que contienen los reactivos para ejecutar la reacción química; en donde una unidad de ensayo individual de la disposición de unidades de ensayo y una unidad de reactivos individual de la disposición de unidades de reactivos se configuran para ser móviles en comunicación continua de tal 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 se puede configurar 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 cartucho como se describe en la presente 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 se puede configurar para recuperar el plasma a partir de la muestra de sangre total recibida en la unidad de recolección de muestras.

30 En un aspecto, se describe en la presente un sistema para la detección automatizada de un analito en una muestra de fluido corporal que comprende: un cartucho como se describe en la presente; 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 a partir de un primer lugar hacia un segundo lugar. En algunos casos, un sistema comprende un dispositivo de transferencia de fluidos. El dispositivo de transferencia de fluidos puede ser una pipeta y se puede automatizar. Un sistema puede comprender además un ensamble de comunicación para transmitir un protocolo basado en el analito a detectar. En algunos casos, en la presente un sistema comprende un bloque de calentamiento configurado para recibir una unidad de ensayo individual y puede comprender además un bloque magnético, por ejemplo, que se puede usar para la separación de los glóbulos rojos de la muestra.

40 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 disposición de unidades de ensayo, en donde una unidad de ensayo individual de dicha disposición de unidades de ensayo se configura para ejecutar una reacción química que produce una señal indicativa de un analito individual de dicha pluralidad de analitos que se detectan; y una disposición de unidades de reactivos, en donde una unidad de reactivos individual de dicha disposición 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 acoplar 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. 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 disposición de unidades de ensayo para llevar a un intervalo detectable las señales indicativas de la pluralidad de analitos que se detectan, de tal manera que dicha pluralidad de analitos son detectables con dicho sistema.

55 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.

60 En la presente un sistema puede comprender además un detector configurado para detectar intensidades de las señales dentro del intervalo detectable. Un detector ilustrativo es un fotomultiplicador y un intervalo detectable del detector puede ser de aproximadamente 20 a aproximadamente 10 millones de conteos.

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.

5 En otro aspecto, se describe un sistema en la presente 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 se genera una señal detectable indicativa de la presencia o ausencia del analito de interés a bordo del dispositivo; y un ensamble de detección para detectar la señal detectable indicativa de la presencia o ausencia del analito.

10 En un aspecto, en la presente se proporciona un método para detectar un analito en una muestra de fluido corporal que comprende: proporcionar una muestra de fluido corporal a un cartucho como se describe en la presente; 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 el plasma a partir de la sangre.

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

20 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 disposición de unidades de ensayo, en donde una unidad de ensayo individual de dicha disposición de unidades de ensayo se configura para ejecutar una reacción química que produce una señal indicativa de un analito individual de dicha pluralidad de analitos que se detectan; y una disposición de unidades de reactivos, en donde una unidad de reactivos individual de dicha disposición de unidades de reactivos contiene un reactivo; acoplar la unidad de ensayo individual usando un dispositivo de transferencia de fluidos; transferir la muestra de fluido corporal desde la unidad de recolección de muestras hacia la unidad de ensayo individual usando el dispositivo de transferencia de fluidos; y transferir el reactivo desde la unidad de reactivos individual hacia la unidad de ensayo individual, haciendo reaccionar de ese modo el reactivo con la muestra de fluido corporal para producir la señal indicativa del analito individual de la pluralidad de analitos que se detectan.

25 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 fluido 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 hacia la unidad de ensayo individual.

30 En una modalidad, la etapa de transferir la muestra de fluido corporal efectúa un grado de dilución de la muestra de fluido corporal en la unidad de ensayo individual para llevar dentro de un intervalo detectable la señal indicativa del analito individual de la pluralidad de analitos que se detectan. 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 conteos por segundo usando un fotomultiplicador.

35 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 a partir de la unidad de reactivos individual después de completar la reacción para producir la señal indicativa del analito individual de la pluralidad de analitos que se detectan, creando de ese modo una segunda reacción para producir una segunda señal indicativa del analito individual. Una intensidad de la señal y una segunda intensidad de la segunda señal indicativa del analito individual se pueden promediar para calcular la intensidad final de la señal indicativa del analito individual.

En un aspecto, se describe en la presente 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 medición de dicho volumen de dicha muestra líquida que se mide. En algunos casos, el analito de control no está presente normalmente 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 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 diana con un reactivo para producir una señal detectable indicativa del analito diana; y medir la cantidad de analito diana en la muestra de fluido corporal usando una intensidad de dicha señal detectable indicativa del analito diana 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 diana 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, antilfluoresceína, antidigoxigenina, albúmina marcada con digoxigenina, IgG marcada con digoxigenina, proteínas biotiniladas, IgG no humana.

En otro aspecto, se proporciona en la presente un método para recuperar el plasma 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 pertenecen al plasma de la muestra de sangre; y aplicar un campo magnético por encima de un área de recolección de plasma a la muestra de sangre mezclada para efectuar la suspensión de las porciones que no pertenecen al 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 de 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 por la acción de una jeringa.

Se describe además un método para usar el inmunoensayo automatizado para detectar un analito presente en la 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) hacia un usuario final. El inmunoensayo puede ser un ELISA. En algunos casos, el resultado se transmite de manera inalámbrica.

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

Breve descripción de los dibujos

Las características novedosas de la invención se exponen con particularidad en las reivindicaciones adjuntas. Un mejor entendimiento de las características y ventajas de la presente invención se obtendrá como referencia a la siguiente descripción detallada que expone las modalidades ilustrativas, en la que se utilizan varios principios de la invención, y los dibujos acompañantes 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 laterales del dispositivo ilustrativo de la Figura 1 que comprenden las 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 la descrita en la presente.

Las Figuras 4A y 4B ilustran dos ejemplos de una unidad de reactivos que comprende un pocillo.

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

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 entrega sangre a un dispositivo y después el dispositivo se inserta en un lector.

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

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

La Figura 10 muestra un método ilustrativo de un ensayo de control como el descrito en la presente que comprende una cantidad conocida de analito de control.

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

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

La Figura 13 ilustra una curva de calibración que correlaciona los resultados para una unidad de ensayo y una unidad de reactivos para realizar un ensayo para P1GF en un sistema, como se mide con un luminómetro.

La Figura 14 ilustra la concentración de CRP graficada frente a la señal del ensayo (conteos de fotones) y los datos ajustados a una función polinómica de 5 términos para generar una función de calibración.

La Figura 15 muestra un ajuste logrado entre un modelo y los valores de los parámetros  $S_{max}$ ,  $C_{0.5}$  y  $D$  como se describe en la presente.

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

La Figura 17 ilustra la respuesta normalizada del ensayo ( $B/B_{max}$ ) graficada frente a la concentración normalizada logarítmicamente ( $C/C_{0.5}$ ) para las 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 a la Figura 17 para diferentes concentraciones normalizadas.

La Figura 20 muestra la respuesta del ensayo para un analito de control después de las etapas de: eliminar el anticuerpo detector, lavar el ensayo, y añadir un sustrato, como se lee en un espectroluminómetro durante 0.5 s.

La Figura 21 muestra los resultados de un ensayo que se evaluó contando los fotones producidos durante aproximadamente 10 s en un sistema en la presente.

#### Descripción detallada de la invención

Las modalidades y aspectos de la invención descrita en la presente 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 los analitos que se asocian con los procesos biológicos específicos, estados fisiológicos, trastornos o etapas de trastornos, o los efectos de agentes biológicos o terapéuticos.

#### Dispositivos

En un aspecto de la invención, un dispositivo para la detección automatizada de un analito en una muestra de fluido corporal comprende una disposición de unidades de ensayo direccionables configurada para ejecutar una reacción química que produce una señal detectable indicativa de la presencia o ausencia del analito, y una disposición de unidades de reactivos direccionables, cada una de las cuales se direcciona para corresponder a una o más unidades de ensayo direccionables en dicho dispositivo, de tal manera que las unidades de reactivos individuales se pueden calibrar en referencia a la(s) unidad(es) de ensayo correspondiente(s) antes de ensamblar las disposiciones en el dispositivo.

En otro aspecto de la invención, un dispositivo para la detección automatizada de un analito en una muestra de fluido corporal comprende una disposición de unidades de ensayo configurada para ejecutar una reacción química que produce una señal detectable indicativa de la presencia del analito, y una disposición 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 son móviles una con relación a la otra dentro del dispositivo de tal manera que los reactivos para ejecutar la reacción química automáticamente se ponen en contacto con la muestra de fluido corporal en la unidad de ensayo.

5 En una modalidad de un dispositivo de la invención, la disposición de unidades de ensayo o unidades de reactivos puede direccionarse de acuerdo con la reacción química a ejecutarse por 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 son móviles una respecto a la otra dentro del dispositivo de tal manera que los reactivos para ejecutar la reacción química automáticamente se ponen en contacto con la muestra de fluido corporal en la unidad de ensayo.

10 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. Donde se desee, 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. Uno o más ensayos de control se pueden incorporar además en el dispositivo para realizarse en paralelo si se desea.

15 Los ensayos pueden ser inmunoensayos cuantitativos y se pueden llevar a cabo en un corto período de tiempo. Otro tipo de ensayos se puede realizar con un dispositivo de la invención incluyendo, pero sin limitarse a, mediciones de secuencias de ácidos nucleicos y mediciones de metabolitos, tales como 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 se puede ajustar en consecuencia para el tipo de ensayo que se ha de llevar a cabo con un dispositivo de la invención. Por ejemplo, si se necesita una sensibilidad más alta, un ensayo se puede incubar 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, tales como de uso doméstico, que en un entorno de POC clínico.

20 Cualesquiera fluidos corporales sospechosos de contener un analito de interés se pueden usar junto con el sistema o dispositivos de la invención. Los fluidos corporales comúnmente empleados incluyen pero sin limitarse a sangre, suero, saliva, orina, fluido gástrico y digestivo, lágrimas, heces, semen, fluido vaginal, fluidos intersticiales derivados a partir de un tejido tumoral, y líquido cefalorraquídeo.

30 Un fluido corporal se puede extraer de un paciente y proporcionarse a un dispositivo en una variedad de maneras, incluyendo pero sin limitarse a, punción, inyección, o pipeteado. Como se utiliza en la presente, los términos sujeto y paciente se usan de manera intercambiable en la presente, y se refieren a un vertebrado, preferentemente un mamífero, con mayor preferencia un ser humano. Los mamíferos incluyen, pero sin limitarse a murinos, simios, seres humanos, animales de granja, animales deportivos, y mascotas. En una modalidad, una lanceta perfora la piel y extrae una muestra usando, por ejemplo, la gravedad, la acción capilar, la aspiración, o la fuerza del vacío. La lanceta puede ser parte del dispositivo, o parte de un sistema, o un componente independiente. Donde sea necesario, la lanceta se puede activar por una variedad de mecanismos mecánicos, eléctricos, electromecánicos, o cualquier otro mecanismo de activación conocido o cualquier combinación de tales métodos. En otra modalidad donde no se requiere ningún mecanismo activo, un paciente puede simplemente proporcionar un fluido corporal al dispositivo, como por ejemplo, podría ocurrir con una muestra de saliva. El fluido recolectado se puede colocar 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

40 El volumen de fluido corporal que se usa con un dispositivo es generalmente menos de aproximadamente 500 microlitros, por lo general entre aproximadamente 1 a 100 microlitros. Donde se desee, una muestra de 1 a 50 microlitros, 1 a 40 microlitros, 1 a 30 microlitros, 1 a 10 microlitros o incluso de 1 a 3 microlitros se puede usar para detectar un analito usando el dispositivo.

45 En una modalidad, el volumen de fluido corporal usado para detectar un analito utilizando los dispositivos o sistemas objeto es una gota del 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.

50 Una muestra de fluido corporal se puede recolectar de un sujeto y entregarse a un dispositivo de la invención como se describe de aquí en adelante.

55 En una modalidad, las disposiciones de unidades de ensayo y de reactivos se configuran para ser un conjunto de componentes de mezclar e igualar. Las unidades de ensayo pueden comprender al menos una superficie de captura capaz de reaccionar con un analito a partir de la muestra de fluido corporal. La unidad de ensayo puede ser una punta tubular con una superficie de captura dentro de la punta. Ejemplos de puntas de la invención se describen en la presente. Una unidad de reactivos por lo general almacena los reactivos líquidos o sólidos necesarios para realizar un ensayo que detecta un analito dado. Cada unidad individual de ensayo y de reactivos se puede configurar para la función de ensayo de manera independiente. Para ensamblar un dispositivo, las unidades se pueden ensamblar a la manera de justo a tiempo para su uso en cartuchos integrados.

60 Los componentes distintos, tanto en fase líquida como sólida, se pueden hacer y después probarse en cuanto a rendimiento y almacenarse. En una modalidad, el ensamble del dispositivo se lleva a cabo de manera a demanda en un lugar de fabricación. El dispositivo puede ser modular e incluir componentes tales como una carcasa que es genérica para todos los ensayos, las unidades de ensayo, tales como puntas, y las unidades de reactivos, tales como una variedad de contenedores frangibles u operables con instrumentos que encapsulan los reactivos líquidos. En algunos

5 casos, un dispositivo ensamblado se prueba después para verificar su calibración (la relación de la respuesta del sistema a niveles conocidos del analito). Los dispositivos de ensayo se pueden ensamblar a partir de un repositorio de elementos prefabricados y calibrados a demanda. En algunas modalidades, las vías de fluidos dentro de un dispositivo pueden ser simples y evitar cualquier posibilidad de atrapar burbujas y proporcionar una manera eficiente de lavar los reactivos marcados en exceso en los ensayos de exceso de reactivos, tales como las pruebas ELISA.

10 Una carcasa para un dispositivo de la invención se puede hacer de poliestireno o de otro plástico moldeable o mecanizable y puede tener definidos lugares para colocar las unidades de ensayo y las 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 de acetato de celulosa, o un pedazo de material absorbente tal como papel de filtro.

15 En algunas modalidades, al menos uno de los componentes del dispositivo se puede construir de materiales poliméricos. Ejemplos no limitantes de materiales poliméricos incluyen poliestireno, policarbonato, polipropileno, polidimetilsiloxanos (PDMS), poliuretano, cloruro de polivinilo (PVC), polisulfona, polimetilmetacrilato (PMMA), acrilonitrilo butadieno estireno (ABS), y vidrio.

20 El dispositivo o los subcomponentes del dispositivo se pueden fabricar por la variedad de métodos que incluyen, sin limitarse a, 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 se pueden fijar entre sí por 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.

25 Un dispositivo ilustrativo como se describe en la presente se ilustra en la Figura 1. El dispositivo **100** se denomina además a veces en la presente como un cartucho **100**. El dispositivo **100** comprende una carcasa **130** con lugares 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 puntas de pipeta y se denominan como puntas de ensayo **121** y las unidades de calibración **126** se denominan como puntas de calibración **126** en la presente, sin embargo, las unidades de ensayo **121** pueden ser de cualquier forma y tamaño dado que se alojan ampliamente por un dispositivo **100** como se describe en la presente. Las unidades de ensayo **121** y las unidades de calibración **126** son unidades de ensayo ilustrativas **121** y se describen con más detalle en la presente. Las unidades de ensayo **121** en la Figura 1 pueden comprender una superficie de captura y son capaces, por ejemplo, de ejecutar una reacción química tales como los ensayos de ácidos nucleicos y los inmunoensayos. Las unidades de ensayo **121** se pueden ensamblar en la carcasa de acuerdo con las instrucciones o los ensayos que un usuario desea realizar en una muestra.

40 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. Una muestra, tal como una muestra de sangre, se puede colocar 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 en más detalle en la presente) puede ocupar otra porción de la carcasa **130**. Cuando un ensayo se va a ejecutar la punta de muestreo **111** puede distribuir la muestra hacia las unidades de reactivos de pretratamiento o unidades de pretratamiento **103, 104, 105, 106, 107**, o las unidades de ensayo **121**. Las unidades de pretratamiento ilustrativas **103, 104, 105, 106, 107** incluyen pero sin limitarse a: unidades de mezcla **107**, unidades diluyentes o de dilución **103, 104**, y, si la muestra es una muestra de sangre, de unidades de extracción o de 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** en tanto sean necesarias para ejecutar una reacción química se pueden incorporar en el dispositivo **100** como sería evidente para un experto en la técnica con el conocimiento de esta descripción. Las unidades **103, 104, 105, 106, 107** pueden contener varias cantidades de reactivos o diluyentes, flexibles para lo que sea necesario para ejecutar el ensayo en el cartucho actual **100**.

55 Frecuentemente, las unidades de ensayo **121** se pueden fabricar por separado de la carcasa **130** y después insertarse en la carcasa **130** con métodos de selección y colocación. Las unidades de ensayo **121** se pueden ajustar de manera ceñida en la carcasa **130** o se pueden ajustar de manera holgada en la carcasa **130**. En algunas modalidades, la carcasa **130** se fabrica de tal manera que contiene las unidades de reactivos **103, 122, 124, 125** y/o las unidades de ensayo **121** de manera ceñida en su lugar, por ejemplo durante el transporte o la manipulación de un cartucho. Las unidades de reactivos **103, 122, 124, 125** se muestran en la Figura 1 que 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. Las unidades de reactivos **103, 122, 124, 125** se pueden fabricar y llenar por separado de la carcasa **130** y después se colocan en la carcasa **130**. De esta manera, un cartucho **100** se puede construir de una manera modular, aumentando por ello la flexibilidad del cartucho **100** para usarse para una variedad de ensayos. Los reactivos en una unidad de reactivos **103, 122, 124, 125** se pueden elegir de acuerdo con el ensayo a ejecutar. Reactivos y ensayos ilustrativos se describen en la presente.

Un dispositivo, tal como el ejemplo mostrado en la Figura 1, puede comprender además otras características según puedan ser necesarias para ejecutar una reacción química. Por ejemplo, si las unidades de ensayo **121** son puntas de ensayo **121** como se describe en la presente, el dispositivo puede comprender almohadillas de activación 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 fluido, por ejemplo, por un sistema como se describe en la presente. La carcasa **130** puede comprender además las unidades o áreas **101, 102** dentro del dispositivo **100** para colocar una punta o unidad usada, por ejemplo, con el objetivo de 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 las 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** hacia otras unidades de un dispositivo **100** para realizar una reacción química. Por ejemplo, la punta de muestreo **111** se puede usar para extraer una muestra de sangre de la unidad de recolección de muestras **110** y transferir la muestra de sangre hacia las unidades de pretratamiento **103, 104, 105, 106, 107** como se describe. Los glóbulos rojos se pueden eliminar de la muestra de sangre en las unidades de pretratamiento **103, 104, 105, 106, 107** y la punta de pretratamiento **113** se puede usar después para recolectar el plasma sanguíneo de las unidades de pretratamiento **103, 104, 105, 106, 107** y transferir el plasma sanguíneo hacia otra unidad de pretratamiento (por ejemplo, una unidad diluyente) **103, 104, 105, 106, 107** y/o hacia al menos 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 el lugar 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 corresponderse entre sí. Por ejemplo, las direcciones se pueden introducir y almacenar en un sistema informático, y al cartucho **100** se le puede asignar 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 hacia un sistema, tales como los descritos en la presente, para transferir los fluidos y ejecutar una reacción de acuerdo con las direcciones introducidas en la computadora. Las direcciones pueden ser parte de un protocolo enviado para operar el sistema. Las direcciones pueden estar en cualquier configuración y se pueden alterar si se necesita cambiar el protocolo de ejecución de un ensayo, el cual a su vez puede ofrecer un cambio en el protocolo del ensayo o en las etapas a un usuario del cartucho que no ha estado disponible por lo general en los dispositivos de POC de la técnica anterior. En algunas modalidades, la carcasa **130** y las unidades se configuran en una disposición de 6 por 8 unidades como se muestra en la Figura 1. El diseño de las unidades puede ser de cualquier formato, por ejemplo, disposiciones 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.

Dos vistas en corte laterales del dispositivo ilustrativo **200** de la Figura 1 se ilustran en las Figuras 2A y 2B. Una cavidad se puede conformar en una carcasa **220** de un dispositivo para alojar las unidades de ensayo (por ejemplo, puntas de ensayo) **201** en una orientación vertical (carcasa horizontal) con sus protuberancias hacia la parte superior del dispositivo **200**. Como se muestra en la Figura 2, una cavidad se puede conformar además para alojar una unidad de reactivos **210, 212** o una unidad o punta de recolección de muestras **202**. Puede haber características en la carcasa **220** para capturar las unidades con precisión y mantenerlas de manera segura. Tales características se pueden diseñar además para funcionar con un mecanismo para mover las puntas, tal como recoger y desechar la punta. En otra modalidad, la unidad de recolección de muestras comprende un elemento flexible o rompible que sirve para proteger un pequeño tubo de recolección durante el transporte y para sostener un dispositivo de émbolo en su lugar dentro de un capilar. Se muestran además en la Figura 2A dos modalidades ilustrativas de unidades de reactivos **210, 212** como se describe en la presente. La parte inferior de la carcasa **220** se puede configurar para recolectar los líquidos de desecho, por ejemplo, los reactivos de lavado después de su uso que se transfieren de regreso a través de un agujero en la carcasa **220** hacia la parte inferior. La carcasa **220** puede comprender una almohadilla absorbente para recolectar los líquidos de desecho. Las unidades de ensayo **201** y las unidades de muestra **202** se pueden posicionar para caber 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** se 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 cuales las unidades de ensayo **201** y las unidades de reactivos **210, 212** se pueden contener y posicionarse se pueden adaptar a una variedad de patrones.

En algunas modalidades, cada punta proporciona un único ensayo y se puede combinar con o corresponderse a un reactivo apropiado, tal como los reactivos necesarios para realizar el ensayo designado. Algunas puntas proporcionan las unidades de ensayo de control y tienen cantidades conocidas de analito unido a sus superficies de captura ya sea en el proceso de fabricación o durante la realización de un ensayo. En 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 el analito que están en un estado sólido o líquido.

- 5 En muchas modalidades, el dispositivo contiene todos los reactivos y líquidos requeridos por el ensayo. Por ejemplo, para un ensayo de ELISA luminógeno los reactivos dentro del dispositivo pueden incluir un diluyente de muestras, un conjugado del detector (por ejemplo, tres anticuerpos marcados con enzimas), una solución de lavado, y un sustrato enzimático. Los reactivos adicionales se pueden proporcionar según sea necesario.
- 10 En algunas modalidades, los reactivos se pueden incorporar en un dispositivo para proporcionar el pretratamiento de la muestra. Ejemplos de reactivos de pretratamiento incluyen, sin limitarse a, reactivos de lisis de glóbulos blancos, reactivos para liberar analitos de factores de unión en la muestra, enzimas, y detergentes. Los reactivos de pretratamiento se pueden añadir además a un diluyente contenido dentro del dispositivo.
- 15 Una unidad de reactivos individual se puede configurar 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 se puede denominar como una punta de ensayo en la presente. En algunas modalidades, la unidad de ensayo individual se configura para ejecutar un inmunoensayo. Una unidad de ensayo **301** que comprende una pequeña punta o formación tubular se muestra en la Figura 3A. En algunos casos, la punta **301** se configura para proporcionar una superficie de captura cilíndrica interior **311** 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 para mover la punta **301** tal como un sistema como se describe en la presente 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** se puede utilizar 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.
- 20 La punta **301** se puede fabricar por un proceso de moldeado por inyección. En una modalidad, la punta **301** se hace de un poliestireno claro 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**), la cual se puede acoplar con una carcasa y se puede acoplar, por ejemplo, con elementos cónicos de un dispositivo de transferencia de fluidos y/o dispositivos de pipeteado a fin de formar un sello hermético a presión. Mostrada además en la Figura 3A, la punta ilustrativa **301** comprende una parte cilíndrica más pequeña. En muchas modalidades, una superficie de captura de ensayo se contiene dentro de la parte cilíndrica más pequeña. La superficie de captura de 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 ser de muchas formas incluyendo, pero sin limitarse a, tubular, cúbica, o piramidal. En los ensayos basados en quimioluminiscencia y en fluorescencia, la punta **301** puede servir como un medio conveniente para presentar el producto del ensayo a la óptica del ensayo.
- 25 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 puede además separarse de una unidad de recolección de muestras **302** y usarse para transferir la muestra a partir de las unidades de recolección de muestras hacia otras unidades en un dispositivo como se describe en la presente. La punta de muestreo como se muestra en la Figura 3B incluye una protuberancia **322** como se describe en la presente para acoplar la punta **302** con una carcasa de un dispositivo y un dispositivo de transferencia de fluidos. La punta de muestreo **302** comprende además una abertura **332** para permitir la transferencia de los fluidos o las muestras dentro y fuera de la punta de muestreo. En algunas modalidades, la punta de muestreo **302** es de la misma forma que una punta de ensayo **301**. En otras modalidades (tales como las mostradas en las Figuras 3A y 3B), la punta de muestreo **302** tiene una forma diferente a la punta de ensayo **301**.
- 30 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 se puede producir por una variedad de medios que incluyen, pero sin limitarse a, la acción capilar, la aspiración y el bombeo controlado. El pequeño tamaño de las puntas permite el control rápido de la temperatura requerida para una reacción química. La transferencia y/o el mantenimiento del calor se pueden llevar a cabo simplemente colocando la punta en un bloque de temperatura controlada.
- 35 En algunas modalidades, la punta es capaz de contener aproximadamente 1 a 40 microlitros de fluido. En una modalidad adicional, la punta es capaz de contener aproximadamente 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.
- 40 Donde se desee, el extremo de la punta se puede secar en un material absorbente (por ejemplo incorporado en un cartucho desechable) antes de la introducción del siguiente componente del ensayo para evitar la contaminación con una pequeña cantidad de la muestra y/o el reactivo. Debido a las fuerzas físicas, cualquier líquido absorbido en una punta objeto se puede mantener en cualquier lugar deseado con el mínimo riesgo de que el líquido se escape hacia afuera, incluso cuando se mantiene en una orientación vertical.
- 45
- 50
- 55
- 60

La unidad de ensayo (por ejemplo, una punta de ensayo) se puede recubrir con los reactivos de captura del ensayo antes de su uso, usando una hidráulica similar como en el ensayo (por ejemplo, aspiración capilar o mecánica controlada).

5 Una superficie de captura (denominada además en la presente como un sitio de reacción) se puede conformar por un anticuerpo aglutinante u otros reactivos de captura unidos covalentemente o por adsorción a la unidad de ensayo. La superficie después se puede secar y mantenerse en estado seco hasta su uso en un ensayo. En una modalidad, hay un sitio de reacción para cada analito a medir.

10 En una modalidad, la unidad de ensayo se puede mover en comunicación continua con la unidad de reactivos y/o una unidad de recolección de muestras, de tal manera que un reactivo o muestra pueden interactuar con un sitio de reacción donde las sondas unidas pueden detectar un analito de interés en la muestra de fluido corporal. Un sitio de reacción puede proporcionar después una señal indicativa de la presencia o concentración del analito de interés, la cual después se puede detectar por un dispositivo de detección descrito en la presente.

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

20 En una modalidad, una unidad de ensayo de plástico moldeado o está disponible comercialmente o se puede fabricar mediante moldeo por inyección con las 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 se pueden recubrir con reactivos de captura usando un método similar a los usados para recubrir placas de microtitulación pero con la ventaja de que se pueden procesar masivamente colocándolos en un recipiente grande, añadiendo los reactivos de recubrimiento y procesándolos usando tamices, contenedores, y lo similar para recuperar las piezas y lavarlas según sea necesario.

La unidad de ensayo puede ofrecer un soporte rígido en el cual se puede inmovilizar un reactivo. La unidad de ensayo se elige además para proporcionar las características apropiadas con respecto a las interacciones con la luz. Por ejemplo, la unidad de ensayo se puede hacer de un material, tal como vidrio funcionalizado, Si, Ge, GaAs, GaP, SiO<sub>2</sub>, SiN<sub>4</sub>, silicio modificado, o uno cualquiera de una amplia variedad de geles o polímeros tales como (poli)tetrafluoroetileno, (poli)difluoruro de vinilideno, poliestireno, policarbonato, polipropileno, PMMA, ABS, o combinaciones de éstos. En una modalidad, una unidad de ensayo comprende poliestireno. Otros materiales apropiados se pueden usar de acuerdo con la presente invención. Un sitio de reacción transparente puede ser ventajoso. Además, en el caso donde hay una ventana ópticamente transmisiva que permite que la luz alcance un detector óptico, la superficie puede ser favorablemente opaca y/o preferentemente dispersora de la luz.

30 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, tales reactivos incluyen, sin limitarse a, sondas de ácidos nucleicos, anticuerpos, receptores de membrana celular, anticuerpos monoclonales y antisueros que reaccionan con un analito específico. Varios reactivos disponibles comercialmente tales como muchos anticuerpos policlonales y monoclonales desarrollados específicamente para analitos específicos se pueden usar.

35 Un experto en la técnica apreciará que hay muchas maneras de inmovilizar varios reactivos en un soporte donde puede tener lugar la reacción. La inmovilización puede ser covalente o no covalente, por medio de una porción de enlace, o uniéndolos a una porción inmovilizada. Porciones aglutinantes ilustrativas no limitantes para fijar ya sea ácidos nucleicos o moléculas proteicas tales como los anticuerpos a un soporte sólido incluyen los enlaces de estreptavidina o avidina/biotina, los enlaces de carbamato, los enlaces de éster, la amida, el tioléster, la tiourea (N)-funcionalizada, la maleimida funcionalizada, los enlaces amino, disulfuro, amida, de hidrazona, y entre otros. Además, una porción de sililo puede unir a un ácido nucleico directamente a un sustrato tal como vidrio usando métodos conocidos en la técnica. La inmovilización de la superficie se puede lograr además por medio de un enlace de poli-L lisina, el cual proporciona un acoplamiento de carga a carga a la superficie.

40 Las unidades de ensayo se pueden secar después de la última etapa de incorporar una superficie de captura. Por ejemplo, el secado se puede realizar por exposición pasiva a una atmósfera seca o por medio del uso de un colector al vacío y/o una aplicación de aire seco limpio a través de un distribuidor.

45 En muchas modalidades, una unidad de ensayo se diseña para permitir que la unidad se fabrique en procesos de fabricación de altos volúmenes, rápidos. Por ejemplo, las puntas se pueden montar en disposiciones de gran escala para el recubrimiento en lotes de la superficie de captura en o sobre la punta. En otro ejemplo, las puntas se pueden colocar en una banda móvil o una mesa giratoria para su procesamiento en serie. En aún otro ejemplo, una disposición grande de puntas se puede conectar a colectores al vacío y/o distribuidores de presión para su procesamiento simple.

50 En una modalidad, una unidad de ensayo se puede acoplar operativamente con un dispositivo de transferencia de fluidos. El dispositivo de transferencia de fluidos se puede operar bajo control automático sin interacción humana. En las unidades de ensayo que comprenden puntas, el control de la altura instalada de una punta desechable para líquidos depende de la unión de interferencia cónica de la punta al dispensador de líquidos. Un dispositivo de transferencia de

fluidos se puede acoplar a la punta. En algunos casos, la longitud de inmersión de una punta en el líquido a transferir se debe conocer para minimizar el contacto del líquido con el exterior de la punta el cual puede no controlarse. Con el objetivo de acoplar o adherir una punta al dispositivo de transferencia de fluidos se puede moldear un tope duro en la parte inferior del conector cónico que se acopla a la boquilla del dispensador. Un sello hermético al aire se puede hacer por un anillo O que se encuentra a medio camino de la parte cónica o en la parte inferior plana de la boquilla. Al separar la función de sello de la punta de la altura controlada de la punta ambas se pueden ajustar por separado. El dispositivo modular y el dispositivo de transferencia de fluidos pueden permitir que se realicen muchos ensayos en paralelo.

Las unidades de reactivos de un dispositivo pueden almacenar reactivos que se requieren para realizar una reacción química dada para detectar un determinado analito de interés. Los reactivos líquidos se pueden dispensar en pequeñas cápsulas que se pueden fabricar a partir de una variedad de materiales incluyendo, sin limitarse a, plástico, tal como poliestireno, polietileno, o polipropileno. En algunas modalidades, las unidades de reactivos son pocillos cilíndricos. Dos ejemplos de una unidad de reactivos **401**, **402** que comprende un pocillo se muestran en las Figuras 4A y 4B. Donde se desee, las unidades **401**, **402** ajustan de manera ceñida en las cavidades de una carcasa de un dispositivo. Las unidades **401**, **402** se pueden sellar 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 se puede sellar al pocillo por unión térmica. Una unidad puede ser de cualquier forma según sea necesario para contener un reactivo. Por ejemplo, una unidad de reactivos en forma cilíndrica **401** se muestra en la Figura 4A, y la unidad de reactivos contiene un reactivo líquido **411**. Una unidad de reactivos de forma diferente **402** se ilustra en la Figura 4B que contiene además 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** ajusten de manera ceñida en una carcasa de un dispositivo como se describe en la presente.

En muchas modalidades de la invención las unidades de reactivos son modulares. La unidad de reactivos se puede diseñar para permitir que la unidad se fabrique en procesos de fabricación de altos volúmenes, rápidos. Por ejemplo, muchas unidades de reactivos se pueden llenar y sellar simultáneamente en un proceso a gran escala. Las unidades de reactivos se pueden llenar de acuerdo con el tipo de ensayo o ensayos que se ejecutarán por el dispositivo. Por ejemplo, si un usuario desea diferentes ensayos a los de otro usuario, las unidades de reactivos se pueden fabricar como corresponde a la preferencia de cada usuario, sin necesidad de fabricar un dispositivo completo. En otro ejemplo, las puntas de reactivo se pueden colocar en una banda móvil o una mesa giratoria para su procesamiento en serie.

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

Los reactivos de acuerdo con la presente invención incluyen sin limitarse a tampones de lavado, sustratos enzimáticos, tampones de dilución, conjugados, conjugados marcados con enzimas, amplificadores de ADN, diluyentes de muestras, soluciones de lavado, reactivos de pretratamiento de muestras que incluyen 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 enzimas puede ser o un anticuerpo policlonal o un anticuerpo monoclonal marcado con una enzima que puede producir una señal detectable al reaccionar con un sustrato apropiado. Ejemplos no limitantes de tales enzimas son la fosfatasa alcalina y la peroxidasa de rábano picante. En algunas modalidades, los reactivos comprenden reactivos de inmunoensayos. Generalmente, los reactivos, especialmente aquellos que son relativamente inestables cuando se mezclan con un 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 aproximadamente cerca de 5 microlitros a aproximadamente 1 mililitro de líquido. En algunas modalidades, la unidad puede contener aproximadamente 20-200 microlitros de líquido. 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 dependiendo del tipo de ensayo que se ejecute o de la muestra de fluido corporal que se proporcione. En una modalidad, los volúmenes de los reactivos no tienen que ser predeterminados, pero deben ser más que un mínimo conocido. En algunas modalidades, los reactivos se almacenan inicialmente secos y se disuelven al inicio del ensayo que se ejecute en el dispositivo.

En una modalidad, las unidades de reactivos se pueden llenar usando un sifón, un embudo, una pipeta, una jeringa, una aguja, o una combinación de éstos. Las unidades de reactivos se pueden llenar con líquido usando un canal de llenado y un canal de extracción por vacío. Las unidades de reactivos se pueden llenar 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 se pueden usar además para contener una solución de lavado o un sustrato. Además, las unidades de reactivos se pueden usar para contener un sustrato luminógeno. En otra modalidad, una pluralidad de reactivos se contiene dentro de una unidad de reactivos.

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

#### Sistemas

5

En un aspecto, un sistema de la invención comprende un dispositivo que comprende unidades de ensayo y unidades de reactivos que comprenden los reactivos (tanto los reactivos en fase líquida como sólida). En algunas modalidades, al menos uno del dispositivo completo, una unidad de ensayo, una unidad de reactivos, o una combinación de éstos es desechable. En un sistema de la invención, la detección de un analito con un dispositivo se maneja por un instrumento. El instrumento, el dispositivo, y el método ofrecen un sistema de detección automatizada. El sistema de detección automatizada se puede automatizar basado en un protocolo definido o un protocolo proporcionado al sistema por un usuario.

10

15

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.

20

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 remotos, o la modificación de la operación del instrumento de acuerdo con un identificador (por ejemplo, un código de barras o una RFID en el dispositivo).

25

Ejemplos de diferentes funciones de las que se pueden llevar a cabo usando un sistema de la invención incluyen, pero sin limitarse a, diluir una muestra, eliminar 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 a la unidad de ensayo, lavar los reactivos de la muestra y la unidad de ensayo, y contener 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 a ensamblar en el dispositivo.

30

Un sistema automatizado puede detectar un analito específico en una muestra biológica (por ejemplo, sangre) mediante un ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA). El sistema es capaz de multiplexar 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 puede detectar además analitos en diferentes diluciones de una muestra única, permitiendo ensayar diferentes sensibilidades en el mismo dispositivo, cuando se desee. Todos los reactivos, suministros, y desechos se pueden contener en el dispositivo del sistema.

35

40

En uso, una muestra de un sujeto se aplica al dispositivo ensamblado y el dispositivo se inserta en un instrumento. En una modalidad, un instrumento puede comenzar a procesar la muestra por alguna combinación de eliminación de glóbulos rojos (muestra de sangre), dilución de la muestra, y el movimiento de la muestra hacia 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 las unidades de ensayo individuales en serie o en paralelo. Los ensayos se pueden realizar después por una serie controlada de incubaciones y aplicaciones de reactivos a las superficies de captura.

45

Un dispositivo de transferencia de fluidos ilustrativo comprende cualquier componente requerido para realizar y/o leer el ensayo. Ejemplo de componentes incluyen, pero sin limitarse a, bombas para aspirar y expulsar con precisión volúmenes de fluido conocidos de los pocillos o las unidades del dispositivo, al menos una base de traslación para mejorar la precisión y la exactitud del movimiento dentro del sistema, un detector para detectar un analito en una unidad de ensayo, y medios de regulación de la temperatura para proporcionar un ambiente 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 se encuentra en el intervalo de aproximadamente 30-40 grados Celsius. En algunas modalidades, el control de la temperatura por el sistema puede comprender el enfriamiento activo. En algunos casos, el intervalo de temperatura es de aproximadamente 0-100 grados Celsius. Por ejemplo, para los ensayos de ácidos nucleicos, se pueden lograr 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 termoeléctrico, tal como un dispositivo Peltier.

50

55

60

Los cartuchos, dispositivos, y sistemas como se describen en la presente pueden ofrecer muchas características que no están disponibles 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 manipular pequeños volúmenes de líquido de una manera eficiente. Los cartuchos y dispositivos de fluidos descritos en la presente pueden tener movimiento de fluidos abierto entre las unidades del cartucho. Por ejemplo, un reactivo se puede almacenar en una unidad, una muestra en una unidad de recolección de muestras, un diluyente en una unidad diluyente, y la superficie de captura puede estar en una unidad de ensayo, en donde en un estado del cartucho, ninguna de las unidades están en comunicación continua con ninguna de las otras unidades. Usando un dispositivo o sistema de transferencia de fluidos como se describe en la presente, las unidades no tienen que estar en comunicación continua entre sí en un estado. Las unidades pueden ser móviles una con relación a la otra con el objetivo de poner algunas unidades en comunicación

65

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.

5 Los dispositivos y sistemas en la presente pueden proporcionar un medio eficaz para la detección de alto rendimiento y en tiempo real de los analitos presentes en un fluido corporal de un sujeto. Los métodos de detección se pueden usar en una amplia variedad de circunstancias que incluyen la identificación y cuantificación de los analitos que se asocian con procesos biológicos, estados fisiológicos, trastornos o etapas de trastornos específicos. Como tal, los sistemas tienen un amplio espectro de utilidad en, por ejemplo, el cribado de medicamentos, el diagnóstico de enfermedades, la clasificación filogenética, la identificación parental y forense, el inicio y la recurrencia de enfermedades, la respuesta de individuos al tratamiento en función de bases de población, y el monitoreo de la terapia. Los dispositivos y sistemas objeto son particularmente útiles además para avanzar en la etapa preclínica y clínica del desarrollo de la terapéutica, mejorar el cumplimiento del paciente, monitorear las ADR (reacción adversa a medicamentos) asociadas con un medicamento prescrito, desarrollar la medicina individualizada, externalizar los análisis de sangre del laboratorio central hacia el hogar o sobre una base de graduación, y monitorear los agentes terapéuticos después de su aprobación regulatoria. Los dispositivos y sistemas pueden proporcionar un sistema flexible para la medicina personalizada. Usando el mismo sistema, un dispositivo se puede cambiar o intercambiar junto con un protocolo o instrucciones para un procesador programable de los sistemas para realizar una amplia variedad de ensayos como se describe. Los sistemas y dispositivos en la presente ofrecen muchas características de un entorno de laboratorio en un instrumento automatizado de mesa o de menor tamaño.

20 En algunas modalidades un paciente puede proporcionarse con una pluralidad de dispositivos a usarse 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 software en el dispositivo externo asociando el identificador con un protocolo puede incluir un proceso para comparar el día actual con el día que el dispositivo de fluidos se ha de usar basado en un ensayo clínico por ejemplo. En otra modalidad, el paciente se proporciona con diferentes unidades de reactivos y unidades de ensayo que se pueden encajar 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 la prueba, sino más bien, el sistema se puede programar o reprogramar descargando nuevas instrucciones a partir de, 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 de manera inalámbrica la notificación al sujeto usando cualquiera de los métodos descritos en la presente o conocidos en la técnica para notificarle sobre el dispositivo apropiado y/o las instrucciones apropiadas para el sistema. Este ejemplo es sólo ilustrativo y se puede ampliar fácilmente para, por ejemplo, notificar un sujeto de que un dispositivo de fluidos no se usa en el momento correcto del día.

35 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 un analito a detectar. Las unidades de ensayo se pueden ensamblar después con el resto del dispositivo de una 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 conforma correctamente, el dispositivo completo funciona mal. Usando un dispositivo como se describe en la presente, la superficie de captura y/o la unidad de ensayo se pueden controlar individualmente en cuanto a su calidad y personalizarse independientemente de las unidades de reactivos y la carcasa del dispositivo.

45 Las unidades de reactivos se pueden llenar con una variedad de reactivos en una manera similar a justo a tiempo. Esto proporciona que la flexibilidad del dispositivo sea adaptable. Además, las unidades de reactivos se pueden llenar con diferentes volúmenes de reactivos sin afectar la estabilidad de un dispositivo o las reacciones químicas que se ejecuten dentro del dispositivo. Acoplados con un sistema como se describe con un dispositivo de transferencia de fluidos, los dispositivos y las unidades descritas en la presente ofrecen flexibilidad en los métodos y protocolos de los ensayos que se ejecuten. Por ejemplo, un lote de dispositivos similares que contienen los mismos reactivos se puede entregar a un grupo de pacientes para un ensayo clínico. A la mitad del ensayo clínico, un usuario identifica que el ensayo se podría optimizar cambiando la dilución de la muestra y la cantidad de reactivo proporcionada a la unidad de ensayo. Como se proporciona en la presente, el ensayo se puede cambiar u optimizar cambiando solamente las instrucciones para 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 tanto diluyente como el protocolo anterior. Debido a los métodos y sistemas proporcionados en la presente, el protocolo se puede cambiar 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 pueden ofrecer gran parte de la flexibilidad de una práctica estándar de laboratorio donde frecuentemente están disponibles reactivos en exceso y frecuentemente muestra en exceso.

60 En algunos casos, en donde las unidades de cartucho están separadas, los dispositivos y sistemas proporcionan flexibilidad en la construcción de los sistemas descritos en la presente. Por ejemplo, un cartucho se puede configurar para ejecutar 8 ensayos usando una disposición de unidades de ensayo y una disposición de unidades de reactivos. Debido a las características del cartucho como se describe en la presente, la misma carcasa, o una carcasa del mismo diseño se pueden usar para fabricar un cartucho con hasta 8 ensayos diferentes que el cartucho anterior. Esta

flexibilidad es difícil de lograr en muchos diseños de dispositivos de POC actuales debido a los sistemas y canales de fluido cerrados, y por ello los dispositivos no pueden ser modulares o de tan fácil ensamble como se describe.

5 Actualmente, existe una necesidad para detectar más de un analito donde los analitos están presentes en intervalos de concentración que varían mucho, 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 tiene la capacidad de realizar simultáneamente los ensayos de los 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 concentración es la capacidad para relacionar los índices de concentración de estos analitos a la seguridad y eficacia de múltiples medicamentos administrados a un paciente. Por ejemplo, las interacciones inesperadas entre medicamentos pueden ser una causa común de reacciones adversas a los medicamentos. Una técnica de medición en tiempo real, concurrente para medir diferentes analitos ayudaría a evitar las consecuencias potencialmente desastrosas de las interacciones adversas entre medicamentos.

15 Poder monitorear la velocidad de cambio de la concentración de un analito y/o la concentración de marcadores PD o PK durante un período de tiempo en un solo sujeto, o realizar los análisis de tendencias de la concentración, o los marcadores de PD, o PK, ya sean las concentraciones de los medicamentos 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 velocidad de cambio de la concentración de glucosa durante un período determinado de tiempo podría ser de gran utilidad para predecir y evitar, por ejemplo, episodios de hipoglucemia. Tal análisis de tendencia tiene implicaciones beneficiosas masivas en el régimen de dosificación de medicamentos. Cuando se trata de múltiples medicamentos y sus metabolitos, frecuentemente es deseable la capacidad para detectar una tendencia y tomar medidas proactivas.

25 En consecuencia, los datos generados con el uso de los dispositivos y sistemas de fluidos objeto se pueden utilizar para realizar un análisis de tendencia de 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 los ensayos. Muchos dispositivos de POC actuales ofrecen un intervalo limitado de dilución y por lo tanto un número limitado de ensayos que potencialmente se pueden llevar a cabo en el dispositivo de POC. Sin embargo, un sistema y/o cartucho como se describe en la presente pueden ofrecer un amplio intervalo de diluciones debido a la capacidad de diluir en serie una muestra. Por lo tanto, un gran número de ensayos potenciales se pueden realizar en un solo cartucho o una pluralidad de cartuchos sin modificar el instrumento detector o de lectura para los ensayos.

35 En un ejemplo, un sistema como se proporciona en la presente se configura para ejecutar múltiples (por ejemplo, cinco o más) ensayos de detección de diferentes analitos diana. Con el objetivo de llevar la concentración del analito esperada dentro del intervalo de detección de un inmunoensayo como se describe en la presente y se usa comúnmente en el campo de POC, una muestra se debe diluir 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, se pueden realizar diluciones en serie con un sistema como se describe en la presente para lograr estas cinco diluciones diferentes y detectar los cinco analitos diana diferentes. Como se describió anteriormente, el protocolo para realizar los ensayos es capaz además de ajustarse sin modificar el dispositivo o el sistema.

45 En un entorno de laboratorio con pipeteo tradicional, por lo general se usan mayores volúmenes de muestra que en un entorno de 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 de POC, muchos dispositivos y los usuarios exigen que el proceso sea rápido, fácil y/o mínimamente invasivo, por ello, se analizan por lo general pequeñas muestras (en el orden de un volumen en el intervalo de microlitros) tal como una obtenida por una punción digital) por 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 logra en un entorno de laboratorio. Por ejemplo, para ejecutar múltiples ensayos a partir de una muestra, puede ser necesario un cierto volumen mínimo para cada ensayo para permitir la detección exacta de un analito, poniendo por ello algunos límites en un dispositivo en un entorno de POC.

55 En otro ejemplo, un sistema y/o dispositivo de transferencia de fluidos como se describe en la presente proporcionan mucha flexibilidad. Por ejemplo, el dispositivo de transferencia de fluidos se puede automatizar para mover una unidad de ensayo, una punta de ensayo, o una pipeta vacía desde una unidad del dispositivo hacia una unidad separada del dispositivo, que no se encuentran 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 poner varios fluidos dentro de un dispositivo tal como se describe en contacto unos con otros de acuerdo con un protocolo o instrucciones. Por ejemplo, un cartucho que comprende 8 reactivos diferentes en 8 unidades diferentes de reactivo se pueden abordar y acoplar por un dispositivo de transferencia de fluidos en cualquier combinación de orden como se instruya por un protocolo. Por ello, se pueden ejecutar muchas secuencias diferentes para ejecutar cualquier reacción química en el dispositivo. Sin cambiar el volumen de los reactivos en el cartucho o el tipo de reactivos en el cartucho, el protocolo de ensayo puede ser diferente o modificarse sin necesidad de un segundo cartucho o un segundo sistema.

- 5 Por ejemplo, un usuario ordena un cartucho con un tipo específico de superficie de captura y reactivos específicos para ejecutar un ensayo para detectar un analito (por ejemplo, la proteína C reactiva (CRP)) en una muestra. El protocolo que el usuario planeó inicialmente puede requerir 2 etapas de lavado y 3 etapas de dilución. Después de que el usuario ha recibido el dispositivo y el sistema, el usuario ha decidido que el protocolo en realidad debería tener 5 etapas de lavado y sólo 1 etapa de dilución. Los dispositivos y sistemas en la presente pueden permitir la flexibilidad para este cambio en el protocolo sin tener que volver a configurar el dispositivo o el sistema. En este ejemplo, sólo se necesita que se envíe un nuevo protocolo o conjunto de instrucciones hacia el procesador programable del sistema o el dispositivo de transferencia de fluidos.
- 10 En otro ejemplo, un sistema como se proporciona en la presente se configura para ejecutar cinco ensayos de detección de analitos diana diferentes, en donde se necesita incubar cada ensayo 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 debido a que los múltiples ensayos no son modulares y las superficies de captura no se pueden mover con relación al dispositivo de calentamiento. En un sistema como se describe en la presente, en donde una unidad de ensayo individual se configura para ejecutar una reacción química, una unidad de ensayo individual se puede colocar 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 ello, una pluralidad de ensayos se puede ejecutar como una pluralidad de temperaturas.
- 15
- 20 Los sistemas y dispositivos como se describen en la presente pueden proporcionar además una variedad de medidas de control de calidad no disponibles 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 se pueden controlar en cuanto a la calidad por separado unas de otras y/o por separado de la carcasa y/o por separado de un sistema o dispositivo de transferencia de fluidos. Se describen los métodos y sistemas ilustrativos de control de la calidad ofrecidos por los sistemas y dispositivos en la presente.
- 25
- 30 Un sistema como el descrito puede ejecutar una variedad de ensayos, independientemente del analito que se detecta a partir de una muestra de fluido corporal. Un protocolo dependiente de la identidad del dispositivo se puede transferir desde un dispositivo externo donde se puede almacenar hacia un ensamble lector para permitir que el ensamble 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. El detector de identificador se puede comunicar con un ensamble de comunicación por medio de un controlador el cual transmite el identificador hacia un dispositivo externo. Donde se desee, el dispositivo externo envía un protocolo almacenado en el dispositivo externo hacia el ensamble de comunicación basado en el identificador. El protocolo que se ejecutará en el sistema puede comprender instrucciones para que el controlador del sistema ejecute el protocolo, incluyendo pero sin limitarse a ejecutar un ensayo específico y realizar un método de detección. Una vez que el ensayo se realiza por el sistema, se genera y se detecta una señal indicativa de un analito en la muestra de fluido corporal mediante un ensamble de detección del sistema. La señal detectada se puede comunicar después al ensamble de comunicaciones, donde se puede transmitir hacia el dispositivo externo para su procesamiento, que incluye sin limitarse a, el cálculo de la concentración del analito en la muestra.
- 35
- 40
- 45 En algunas modalidades, el identificador puede ser un identificador de códigos de barras con una serie de líneas blancas y negras, que se pueden leer por un detector de identificador tal como un lector de códigos de barras, los cuales se conocen bien. Otros identificadores podrían ser una serie de valores alfanuméricos, colores, protuberancias, o cualquier otro identificador que pueda localizarse en un dispositivo y detectarse o leerse por un detector de identificador. El detector de identificador puede ser además 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 de memoria y puede transmitir información hacia un detector de identificación. En algunas modalidades, se puede usar una combinación de técnicas.
- 50
- 55 En un ejemplo, una muestra de fluido corporal se puede proporcionar a un dispositivo, y el dispositivo se puede insertar en un sistema. En algunas modalidades, el dispositivo se inserta parcialmente a mano, y después un conmutador mecánico en el ensamble lector posiciona automáticamente de manera apropiada el dispositivo dentro del sistema. Se puede usar 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.
- 60
- 65 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 hacia 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, un sistema para la detección automatizada de una pluralidad de analitos en una muestra de fluido corporal se describe que comprende: un dispositivo de fluidos (tales como los descritos en la presente) que comprende: una unidad de recolección de muestras configurada para contener la muestra de fluido corporal; una disposición de unidades de ensayo, en donde una unidad de ensayo individual de dicha disposición de unidades de ensayo se

5 configura para ejecutar una reacción química que produce una señal indicativa de un analito individual de dicha pluralidad de analitos que se detecta; y una disposición de unidades de reactivos, en donde una unidad de reactivos individual de dicha disposición 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 fluido 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. Por ejemplo, una unidad de ensayo individual comprende un reactivo y se configura para ejecutar una reacción química con ese reactivo.

10 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 disposición de unidades de ensayo para llevar a un intervalo detectable las señales indicativas de la pluralidad de analitos que se detectan, de tal manera que dicha pluralidad de analitos son detectables 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 única 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 de más de 100 mg/ml, lo cual puede extender el intervalo de interés a aproximadamente doce órdenes de magnitud.

20 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 conteos por segundo. Cada conteo corresponde a un solo fotón. En algunos casos, los PMT no son 100% eficaces y la velocidad de conteo observada puede ser ligeramente inferior, pero aún así cercana, al número real de fotones que llegan al detector por unidad de tiempo. En algunos casos, los conteos 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 conteos por segundo cuando se usa un PMT como un detector. En algunos casos, son medibles las velocidades de conteo tan bajas como 100 por segundo y las velocidades de conteo tan altas como 10,000,000. El intervalo de respuesta lineal de los PMT (por ejemplo, el intervalo donde la velocidad de conteo es directamente proporcional al número de fotones por unidad de tiempo) puede ser aproximadamente 1000-3,000,000 de conteos por segundo. En un ejemplo, un ensayo tiene una señal detectable en el extremo inferior de aproximadamente 200-1000 conteos por segundo y en el extremo superior de aproximadamente 10,000-2,000,000 conteos por segundo. En algunos casos para los biomarcadores de proteínas, la velocidad de conteo es directamente proporcional a la fosfatasa alcalina unida a la superficie de captura y directamente proporcional además a la concentración del analito. Otros detectores ilustrativos incluyen fotodiodos de avalancha, disposiciones de fotodiodos de avalancha, disposiciones de CCD, disposiciones de CCD superenfriados. 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 use.

30 Un cabezal individual de un dispositivo de transferencia de fluidos se puede configurar 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 se puede automatizar. 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 desde el 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 sitio de reacción.

45 Muchas veces, en un dispositivo de POC, tales como los sistemas y dispositivos descritos en la presente, el factor de dilución debe ser estimado y razonablemente preciso. Por ejemplo, en entornos donde usuarios no expertos operan el sistema es necesario que haya maneras de garantizar una dilución de una muestra.

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

60 Como se describe, los sistemas y dispositivos en la presente pueden habilitar muchas características de la flexibilidad del entorno de laboratorio en un ambiente de POC. Por ejemplo, las muestras se pueden recolectar y manipular 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 realizan una pluralidad de ensayos, en donde los ensayos pueden tener sensibilidad o especificidad significativamente diferentes. Por ejemplo, puede haber dos analitos en una muestra, pero un analito tiene una alta concentración en la muestra y el otro analito tiene una concentración muy baja. Como se proporcionan, los sistemas y dispositivos en la presente pueden diluir la muestra hasta niveles

significativamente diferentes con el objetivo de detectar ambos analitos. Por ejemplo, si el analito está en una alta concentración, una muestra se puede diluir en serie hasta el intervalo de detección apropiado y proporcionarse a una superficie de captura para su detección. En el mismo sistema o dispositivo, una muestra con un analito en una concentración baja puede necesitar no diluirse. De esta manera, el intervalo de ensayo de los dispositivos y sistemas de POC proporcionados en la presente se puede expandir a partir de muchos de los actuales dispositivos de POC.

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 concibe cualquier número de cabezales como 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 una línea y separados por una distancia. En una modalidad, los cabezales tienen una boquilla cónica que se acopla por ajuste a presión con una variedad de puntas, tal como la unidad de ensayo o las unidades de recolección de muestras como se describe en la presente. Las puntas pueden tener una característica que permita retirarlas automáticamente por el instrumento y desecharlas 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 se puede detectar 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 por extracción (para absorber el líquido) o por extensión (para expulsar el líquido) de un pistón en un espacio de aire cerrado. Tanto el volumen de aire movido y la velocidad de movimiento se pueden controlar con precisión, por ejemplo, por el procesador programable.

La mezcla de muestras (o reactivos) con los diluyentes (u otros reactivos) se puede lograr absorbiendo los componentes a mezclar en un tubo común y después absorbiendo 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 se puede hacer de manera similar. La incubación de muestras y reactivos líquidos con una superficie de captura a la cual se encuentra unido un reactivo de captura (por ejemplo un anticuerpo) se puede lograr absorbiendo el líquido apropiado en la punta y manteniéndolo allí durante un tiempo predeterminado. La eliminación de muestras y reactivos se puede lograr expulsando el líquido en un receptáculo o una almohadilla absorbente en un dispositivo como el descrito. Otro reactivo se puede absorber después 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 capa delgada **1113** dentro de la punta **1101** cuando se expulsa. Por ello, un sistema puede usar la acción de la porción delantera (por ejemplo la superior) del siguiente líquido **1112** para fregar el anteriormente presente líquido **1111** de la punta **1101**. La porción del líquido siguiente contaminada con el líquido anteriormente presente **1113** se puede mantener dentro de la parte superior de la punta **1101** donde no continúa interactuando con la superficie de captura **1102**. La superficie de captura **1102** puede encontrarse en un área definida de la punta **1101** de tal manera que el líquido anterior **1111** no reaccione 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** sin extenderse 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) de manera que la difusión o los componentes activos de la porción contaminada del líquido **1113** no se produce con rapidez suficiente para reaccionar con la superficie de captura **1102** durante la incubación. Para muchos ensayos de alta sensibilidad, existe un requisito para eliminar un reactivo o lavar la superficie de captura (por ejemplo, un anticuerpo detector que se marca con el generador de la señal del ensayo). En un ejemplo, un dispositivo de transferencia de fluidos de un sistema descrito en la presente puede proporcionar el lavado añadiendo más ciclos de extracción y absorción de transferencia del fluido, por ejemplo, usando 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 por un factor mejor que  $10^6$  veces. Cualquier anticuerpo detector unido de manera no específica a la superficie de captura (altamente indeseable) se puede eliminar además durante este proceso de lavado.

La extensión del intervalo de un ensayo se puede lograr mediante dilución de la muestra. En los sistemas de ensayo de POC que usan cartuchos desechables que contienen el diluyente frecuentemente hay un límite práctico al grado de la dilución. Por ejemplo, si una pequeña muestra de sangre obtenida por punción digital (por ejemplo, aproximadamente 20 microlitros) se ha de diluir y el volumen máximo de diluyente que se puede colocar en un tubo es 250 microlitros, el límite práctico de dilución de la muestra completa es aproximadamente 10 veces. En un ejemplo en la presente, un sistema puede aspirar un volumen más pequeño de la muestra (por ejemplo aproximadamente 2 microlitros) haciendo que el factor de dilución máxima sea de aproximadamente 100 veces. Para muchos ensayos, tales factores de dilución son aceptables pero para un ensayo como ese de la CRP (como se describe en los ejemplos en la presente) es necesario diluir la muestra mucho más. Los ensayos ELISA basados en separación pueden tener una limitación intrínseca en la capacidad de la superficie de captura para ligarse al analito (por ejemplo de aproximadamente unos pocos cientos de ng/ml para un analito de proteína típico). Algunos analitos están presentes en la sangre a cientos de microgramos/ml. Incluso cuando se diluye en 100 veces, la concentración del analito puede estar fuera del intervalo de calibración. En una modalidad ilustrativa de un sistema, un dispositivo, y el dispositivo de transferencia de fluidos en la presente, se pueden lograr múltiples diluciones realizando múltiples transferencias de fluido del diluyente en una unidad

de ensayo individual o la 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 se puede diluir múltiples veces hasta que la concentración del analito se encuentre dentro de un intervalo de detección aceptable. Los sistemas y métodos en la presente pueden proporcionar mediciones o estimaciones precisas de las diluciones con el objetivo de calcular la concentración original del analito.

En una modalidad, un sistema en la presente puede mover una muestra líquida y mover una unidad de ensayo. Un sistema puede comprender un bloque de calentamiento y un detector. Con el objetivo de mover una muestra líquida, un sistema puede proporcionar una acción del tipo de aspiración, de jeringa, o de pipeta. En una modalidad ilustrativa, un dispositivo de transferencia de fluidos para mover una muestra líquida es una pipeta y el sistema de cabezales de la pipeta. El número de dispositivos de pipeta requeridos por el sistema se puede ajustar de acuerdo con el tipo de analito a detectar y el número de ensayos que se ejecutan. Las acciones realizadas por el sistema de pipeta se pueden automatizar o manejarse manualmente por un usuario.

La Figura 5 muestra un ejemplo de un dispositivo de transferencia de fluidos **520** y el sistema **500** como se describe en la presente. El sistema de dispositivo de transferencia de fluidos puede mover ocho volúmenes diferentes o idénticos de líquido simultáneamente usando los ocho cabezales diferentes **522**. Por ejemplo, el cartucho (o el dispositivo como se describe en la presente) **510** comprende ocho unidades de ensayo **501**. Las unidades de ensayo individuales **501** se configuran de acuerdo con el tipo de ensayo que se ejecutará dentro de la unidad **501**. Las unidades de ensayo individuales **501** pueden requerir un cierto volumen de muestra. Un cabezal individual **522** se puede usar para distribuir una cantidad apropiada de la muestra hacia 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** se puede usar además para distribuir los reactivos a partir de las unidades de reactivos. 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** en la cual el dispositivo **510** se asienta se puede mover para mover el dispositivo **510** en relación 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** se pueden mover en relación a la posición del dispositivo **510**.

En algunas modalidades, un reactivo se proporciona en forma seca y se rehidrata y/o se disuelve durante el ensayo. Las formas secas incluyen los materiales liofilizados y las capas que recubren las superficies.

Un sistema puede comprender un sujetador o acoplador para mover las unidades o puntas de ensayo. Un acoplador puede comprender un ensamble de vacío o un ensamble diseñado para encajar de manera ceñida en una protuberancia de una punta de la unidad de ensayo. Por ejemplo, un medio para mover las puntas se puede mover de una manera similar a los cabezales del dispositivo de transferencia de fluidos. El dispositivo se puede mover además en 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 la muestra, tal como un dispositivo de transferencia de fluidos como se describe en la presente. Por ejemplo, una punta de recolección de muestras se puede encajar en el cabezal de la pipeta de acuerdo con la protuberancia en la punta de recolección. La punta de recolección se puede usar después para distribuir el líquido por todo el dispositivo y el sistema. Después de que el líquido se ha distribuido, la punta de recolección se puede desechar, y el cabezal en la pipeta se puede encajar en una unidad de ensayo de acuerdo con la protuberancia en la unidad de ensayo. La punta de la unidad de ensayo se puede mover después de unidad de reactivos a unidad de reactivos, y los reactivos se pueden distribuir hacia la unidad de ensayo de acuerdo con la acción de tipo de aspiración o de pipeta proporcionada por el cabezal de la pipeta. El cabezal de la pipeta puede realizar además la mezcla dentro de una punta de recolección, una unidad de ensayo, o una unidad de reactivos por la acción de tipo de aspiración o de 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. El calor se puede usar en la etapa de incubación de una reacción del 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 se puede configurar 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 se puede configurar para recibir 8 unidades de ensayo. En algunas modalidades, las unidades de ensayo se pueden poner en contacto térmico con un bloque de calentamiento usando los medios para mover las unidades de ensayo. El calentamiento se puede realizar por un medio de calentamiento conocido en la técnica.

Un sistema ilustrativo **600** como se describe en la presente se muestra en la Figura 6. El sistema **600** comprende una base de traslación **630** en la cual un dispositivo **610** (o cartucho en este ejemplo) se coloca ya sea manual o automáticamente o una combinación de ambos. El sistema **600** comprende además un bloque de calentamiento **640** que se puede alinear 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

- 5 **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 la misma o diferentes temperaturas para 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 procedente 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 relación a un detector cuando se detecta un ensayo.
- 10 En una modalidad, el detector es un ensamble 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 se puede poner en comunicación con la unidad de ensayo o la unidad de ensayo se puede poner en comunicación con el ensamble de detección.
- 15 En muchos casos, se proporciona un detector óptico y se usa como el dispositivo de detección. Los ejemplos no limitantes incluyen un fotodiodo, un tubo fotomultiplicador (PMT), un detector de conteo de fotones, un fotodiodo de avalancha, o un dispositivo de carga acoplada (CCD). En algunas modalidades se puede usar un diodo PIN. En algunas modalidades un diodo PIN se puede acoplar a un amplificador para crear un dispositivo de detección con una
- 20 sensibilidad comparable a un PMT. Algunos ensayos pueden generar luminiscencia como se describe en la presente. 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 de CCD o a una disposición de PMT. El haz de fibra óptica se podría construir de fibras discretas o de muchas fibras pequeñas fusionadas entre sí para formar un haz sólido. Tales haces sólidos están disponibles comercialmente y se conectan fácilmente a detectores de
- 25 CCD.
- Un detector puede comprender además una fuente de luz, como una bombilla o un diodo emisor de luz (LED). La fuente de luz puede iluminar un ensayo con el objetivo de detectar los resultados. Por ejemplo, el ensayo puede ser un ensayo de fluorescencia o un ensayo de absorbancia, como se usa comúnmente con los ensayos de ácidos nucleicos. El
- 30 detector puede comprender además la óptica para llevar la fuente de luz hacia el ensayo, tal como una lente o una transmisión por fibra óptica.
- En algunas modalidades, el sistema de detección puede comprender detectores o sensores no ópticos para detectar un parámetro específico de un sujeto. Tales sensores pueden incluir temperatura, conductividad, señales potenciométricas, y señales amperométricas, para los compuestos que se oxidan o reducen, por ejemplo, O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e I<sub>2</sub>, o compuestos orgánicos oxidables/reducibles.
- 35 Un dispositivo y sistema se pueden, después de su fabricación, enviar al usuario final, en conjunto o individualmente. El dispositivo o sistema de la invención se pueden empaquetar con un manual de usuario o instrucciones para su uso. En una modalidad, el sistema de la invención es genérico para el tipo de ensayos que se ejecutan en diferentes dispositivos. Debido a que los componentes del dispositivo pueden ser modulares, un usuario puede necesitar sólo un sistema y una variedad de dispositivos o unidades de ensayo o unidades de reactivos para ejecutar una multitud de ensayos en un ambiente de punto de cuidados. En este contexto, un sistema se puede usar repetidamente con múltiples dispositivos, y puede ser necesario tener sensores tanto en el dispositivo como en el sistema para detectar tales
- 40 cambios durante el envío, por ejemplo. Durante el envío, los cambios de la presión o la temperatura pueden afectar el rendimiento de un número de componentes del presente sistema, y como tal un sensor localizado ya sea en el dispositivo o el sistema puede transmitir estos cambios hacia, por ejemplo, el dispositivo externo de manera que se pueden hacer ajustes durante la calibración o durante el procesamiento de los datos en el dispositivo externo. Por ejemplo, si la temperatura de un dispositivo de fluidos se cambia hasta un cierto nivel durante el envío, un sensor localizado en el dispositivo podría detectar este cambio y transmitir esta información al sistema cuando se inserta el dispositivo en el sistema por el usuario. Puede haber un dispositivo de detección adicional en el sistema para realizar estas tareas, o tal dispositivo se puede incorporar en otro componente del sistema. En algunas modalidades la información se puede transmitir de forma inalámbrica ya sea hacia el sistema o al dispositivo externo, tal como una computadora personal o un televisor. Similarmente, un sensor en el sistema puede detectar cambios similares. En
- 45 algunas modalidades, puede ser deseable tener un sensor en el empaque de envío también, ya sea en lugar de en los componentes del sistema o además de ellos. Por ejemplo, las condiciones adversas que harían inválido un cartucho o sistema de ensayo que se pueden detectar pueden incluir la exposición a una temperatura más alta que la máxima tolerable o la violación de la integridad del cartucho de tal manera que penetre humedad.
- 50 En una modalidad, el sistema comprende un ensamble de comunicación capaz de transmitir y recibir información de manera inalámbrica desde un dispositivo externo. Tal comunicación inalámbrica puede ser con tecnología Bluetooth o RTM. Varios métodos de comunicación se pueden utilizar, tales como una conexión de acceso telefónico por cable con un módem, un enlace directo tal como una línea T1, ISDN, o de cable. En algunas modalidades, una conexión inalámbrica se establece usando redes inalámbricas ilustrativas tales como de celulares, de satélite o redes de localizadores, GPRS, o un sistema de transporte de datos local tal como Ethernet o Token Ring sobre una red de área
- 55 local. En algunas modalidades, la información se codifica antes de transmitirse sobre una red inalámbrica. En algunas
- 60 En una modalidad, el sistema comprende un ensamble de comunicación capaz de transmitir y recibir información de manera inalámbrica desde un dispositivo externo. Tal comunicación inalámbrica puede ser con tecnología Bluetooth o RTM. Varios métodos de comunicación se pueden utilizar, tales como una conexión de acceso telefónico por cable con un módem, un enlace directo tal como una línea T1, ISDN, o de cable. En algunas modalidades, una conexión inalámbrica se establece usando redes inalámbricas ilustrativas tales como de celulares, de satélite o redes de localizadores, GPRS, o un sistema de transporte de datos local tal como Ethernet o Token Ring sobre una red de área
- 65 local. En algunas modalidades, la información se codifica antes de transmitirse sobre 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.

5 En algunas modalidades el ensamble de comunicación puede tener un dispositivo de memoria o almacenamiento, por ejemplo RAM localizada, en el cual se puede almacenar la información recolectada. Un dispositivo de almacenamiento puede ser necesario si la información no se puede transmitir en un momento dado debido a, por ejemplo, una incapacidad temporal para conectarse de forma inalámbrica a una red. La información se puede asociar con el identificador de dispositivo en el dispositivo de almacenamiento. En algunas modalidades el ensamble de comunicación puede volver a intentar enviar la información almacenada después de una cierta cantidad de tiempo.

10 En algunas modalidades un dispositivo externo se comunica con el ensamble de comunicación dentro del ensamble lector. Un dispositivo externo se puede comunicar de forma inalámbrica o físicamente con un sistema, pero se puede comunicar además con una tercera parte, incluyendo sin limitarse a un paciente, el personal médico, los médicos, el personal de laboratorio, u otros en la industria del cuidado de la salud.

15 Un método y sistema ilustrativo se muestra en la Figura 7. En el ejemplo de la Figura 7, un paciente entrega una muestra de sangre a un dispositivo como se describe en la presente y después el dispositivo se inserta en un lector, en donde el lector puede ser el sistema de mesa capaz de leer un analito en la muestra de sangre. El lector puede ser un sistema como se describe en la presente. 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. El lector o el sistema es capaz de llevar a cabo una reacción química y detectar o leer los resultados de la reacción química. En el ejemplo en 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 puede enviar además los resultados de la detección de la reacción química hacia el servidor y la interfaz de usuario. En un sistema ilustrativo, el usuario (por ejemplo, el 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 se pueden almacenar además localmente (en el lector) o en el sistema servidor. El servidor puede alojar además los registros de los pacientes, un diario de los pacientes, y las bases de datos de la población de pacientes.

20 La Figura 8 ilustra el flujo del proceso para construir un sistema para valorar el estado de salud de un sujeto. Los pacientes introducen los datos personales y/o las mediciones a partir de un dispositivo, lector, y/o el sistema como se describe en la presente en una base de datos como pueden estar presentes en un servidor como se describe. El sistema se puede configurar para visualizar los datos personales en una pantalla de la estación del paciente. En algunas modalidades, la pantalla de la estación del paciente es interactiva y el paciente puede modificar los datos introducidos. La misma o una base de datos diferente contiene los datos de otros sujetos con un estado médico similar. Los datos de los otros sujetos pueden ser datos históricos a partir de instituciones públicas o privadas. Los datos de los otros sujetos pueden ser además datos internos a partir de un estudio clínico.

25 La Figura 8 ilustra además el flujo de datos a partir de los datos de recolección del lector que incluyen los datos del sujeto hacia un servidor que se conecta sobre una red pública. El servidor puede manipular los datos o simplemente puede proporcionar los datos a una estación de usuario. Los datos del paciente se pueden introducir además al servidor por separado de los datos pertenecientes a 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 hacia el personal médico o un usuario. Por ejemplo, usando el flujo del proceso ilustrativo de la Figura 8, un paciente en su hogar puede introducir una muestra de fluido corporal en un cartucho de la invención como se describe en la presente y colocarlo en un sistema o un lector como se describe en la presente. El paciente puede ver los datos del sistema en una pantalla de la estación de paciente y/o modificar o introducir nuevos datos en el flujo del proceso. Los datos del paciente pueden viajar después sobre una red pública, tal como internet, por ejemplo, en un formato cifrado, hacia un servidor que comprende una interfaz de red y un procesador, en donde el servidor se localiza en un concentrador central informático o en un centro de ensayos clínicos. El servidor puede usar los datos del estado médico para manipular y comprender los datos del usuario y enviar después los resultados sobre una red pública como se describe hacia una estación de usuario. La estación de usuario puede encontrarse en un consultorio o laboratorio médico y tener una pantalla de estación de usuario para visualizar los resultados del ensayo y la manipulación de los datos de los pacientes 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 administra en un lugar alternativo, como el hogar del paciente. Otras modalidades y ejemplos de los sistemas y componentes de los sistemas se describen en la presente.

30 En algunas modalidades el dispositivo externo puede ser un sistema informático, un 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 la historia clínica del paciente, registros de los ensayos clínicos, o registros de los ensayos preclínicos. Un dispositivo externo puede almacenar los protocolos a ejecutar en un sistema los cuales se pueden transmitir hacia el ensamble de comunicación de un sistema cuando ha recibido un identificador que indica qué dispositivo se ha insertado en el sistema. En algunas modalidades un protocolo

- 5 puede ser dependiente 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 conteo de fotones enviado desde un ensamble de comunicación y en algunas modalidades calcular la concentración del analito en una muestra de fluido corporal.
- 10 En algunas modalidades, el dispositivo externo puede incluir uno o más servidores como se conocen en la técnica y disponibles comercialmente. Tales servidores pueden proporcionar balance de carga, gestión de tareas, y capacidad de copia de seguridad en caso de fallo de uno o más de los servidores u otros componentes del dispositivo externo, para mejorar la disponibilidad del servidor. Un servidor se puede implementar además en una red distribuida de unidades de almacenamiento y de procesadores, 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, eliminando de ese modo la necesidad de un servidor.
- 15 Un servidor puede incluir procesos de una base de datos y del sistema. Una base de datos puede residir dentro del servidor, o puede residir en otro sistema servidor que sea accesible para el servidor. Como la información en una base de datos puede contener información sensible, se puede implementar un sistema de seguridad que evita que los usuarios no autorizados puedan acceder a la base de datos.
- 20 Una ventaja de algunas de las características que se describen en la presente es que la información se puede transmitir desde el dispositivo externo de regreso no sólo hacia el ensamble lector, sino hacia otras partes u otros dispositivos externos, por ejemplo sin limitarse a, un PDA o un teléfono celular. Tal comunicación se puede ejecutar por medio de una red inalámbrica como se describe en la presente. En algunas modalidades una concentración de analito calculada u otra información del paciente se pueden enviar hacia, por ejemplo pero sin limitarse, al personal médico o al paciente.
- 25 En consecuencia, los datos generados con el uso de los dispositivos y sistemas objeto se pueden utilizar para realizar un análisis de tendencia de la concentración de un analito en un sujeto.
- 30 Otra ventaja como se describe en la presente es que los resultados del ensayo se pueden comunicar prácticamente de inmediato a cualquiera tercera parte que se puede beneficiar de obtener los resultados. Por ejemplo, una vez que se determina la concentración del analito en el dispositivo externo, esta se puede transmitir hacia un paciente o personal médico quienes pueden necesitar realizar acciones adicionales. La etapa de la comunicación a una tercera parte se puede realizar de forma inalámbrica como se describe en la presente, y al transmitir los datos hacia un dispositivo de mano de una tercera parte, la tercera parte se puede notificar de los resultados del ensayo virtualmente en cualquier momento y en cualquier lugar. Por lo tanto, en un escenario sensible al tiempo, un paciente se puede contactar inmediatamente en cualquier lugar si puede ser necesaria la acción médica urgente.
- 35 Al detectar un dispositivo basado en un identificador asociado con un dispositivo de fluidos después de insertarlo en el sistema, el sistema permite que los protocolos específicos de dispositivos de fluidos se descarguen desde un dispositivo externo y se ejecuten. 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 específicos. Por ejemplo, cuando el identificador se transmite hacia el dispositivo externo, el software en el dispositivo externo puede obtener el identificador. Una vez obtenido, el software en el dispositivo externo, tal como una base de datos, puede usar el identificador para identificar los protocolos almacenados en la base de datos asociados con el identificador. Si un sólo protocolo se asocia con el identificador, por ejemplo, la base de datos puede seleccionar el protocolo y el software en el dispositivo externo puede transmitir después el protocolo hacia el ensamble de comunicación 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 único sistema, y por lo tanto virtualmente cualquier analito de interés se puede detectar con un único sistema.
- 40
- 45
- 50 En algunas modalidades múltiples protocolos se pueden asociar 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 asociados con el identificador pueden además estar asociados cada uno con un día diferente de la semana, de manera que cuando se detecta el identificador, el software en el dispositivo externo puede seleccionar un protocolo específico que se asocia con el día de la semana.
- 55
- 60 En algunas modalidades un paciente puede proporcionarse con una pluralidad de dispositivos a usar para detectar una variedad de analitos. Un sujeto puede, por ejemplo, usar diferentes dispositivos en diferentes días de la semana. En algunas modalidades el software en el dispositivo externo asociando el identificador con un protocolo puede incluir un proceso para comparar el día actual con el día que el dispositivo de fluidos se ha de usar basado en un ensayo clínico por ejemplo. Si por ejemplo, los dos días de la semana no son idénticos, el dispositivo externo puede enviar de forma inalámbrica la notificación al sujeto usando cualquiera de los métodos descritos en la presente o conocidos en la técnica para notificarle que un dispositivo incorrecto se encuentra en el sistema y además el dispositivo correcto a usar ese día. Este ejemplo es sólo ilustrativo y se puede ampliar fácilmente para, por ejemplo, notificar un sujeto de que un dispositivo no se usa en el momento correcto del día.
- 65

5 El sistema puede además usar un método de red para evaluar el estado médico de un sujeto. Un sistema para comunicar información puede incluir o no un lector para leer los datos del sujeto. Por ejemplo, si los datos de los biomarcadores se adquieren por un dispositivo de microfluidos en el punto de cuidados, los valores asignados a los diferentes biomarcadores individuales se pueden leer por el propio dispositivo o un dispositivo independiente. Otro ejemplo de un lector sería un sistema de códigos de barras para escanear los datos del sujeto que se han introducido en un registro médico electrónico o un cuadro del médico. Un ejemplo adicional de un lector consistiría en una base de datos electrónica de los registros del paciente a partir de la cual se podrían obtener directamente los datos del sujeto por medio de la red de comunicaciones. De esta manera, la eficacia de los medicamentos específicos se puede demostrar en tiempo real, justificando por lo tanto el reembolso de la terapia.

10 El incumplimiento con un tratamiento médico, incluyendo un ensayo clínico, puede socavar seriamente la eficacia del tratamiento o el ensayo. Como tal, en algunas modalidades el sistema de la presente invención se puede usar para monitorear el cumplimiento del paciente y notificar al paciente o a otro personal médico de tal 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 ensaya como se describe en la presente, pero una concentración de metabolitos, por ejemplo, detectada por el sistema puede encontrarse en un nivel elevado comparado con un perfil conocido que indicará que se han tomado múltiples dosis del agente farmacéutico. El paciente o el personal médico se pueden notificar de tal incumplimiento por medio de cualquiera de los métodos inalámbricos discutidos en la presente, incluyendo sin limitarse a la notificación por medio de un dispositivo de mano tal como un PDA o teléfono celular. Tal perfil conocido se puede localizar o almacenar en un dispositivo externo descrito en la presente.

20 En una modalidad, el sistema se puede usar para identificar las subpoblaciones de pacientes que se benefician o se perjudican por una terapia. De esta manera, los medicamentos con toxicidad variable que de cualquier otra forma se verían obligados a salir del mercado se pueden salvar asignándolos sólo para aquellos que se beneficiarán.

## 25 Métodos

30 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 se pueden usar en una amplia variedad de circunstancias que incluyen la identificación y cuantificación de los analitos que se asocian con procesos biológicos, estados fisiológicos, trastornos, etapas de terapia o etapas de trastornos específicos. Como tal, los dispositivos y métodos tienen un amplio espectro de utilidad en, por ejemplo, el cribado de medicamentos, el diagnóstico de enfermedades, la clasificación filogenética, la identificación parental y forense, el inicio y la recurrencia de enfermedades, la respuesta de individuos al tratamiento en función de bases de población, y el monitoreo de la terapia. Los dispositivos y métodos son particularmente útiles además para avanzar en la etapa preclínica y clínica del desarrollo de la terapéutica, mejorar el cumplimiento del paciente, monitorear las ADR asociadas con un medicamento prescrito, la medicina individualizada, externalizar las pruebas de sangre del laboratorio central hacia la residencia del paciente. El dispositivo se puede emplear sobre una base de prescripción, utilizarse por las compañías farmacéuticas para monitorear los agentes terapéuticos después de la aprobación regulatoria o utilizarse para los pagadores que externalizan los análisis de sangre de un laboratorio central.

40 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.

50 La Figura 1 muestra 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 ilustrado 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 pocillo de separación de plasma, una almohadilla de activación o secante de punta, un pocillo de dilución, un pocillo de muestra de plasma diluido o pocillo diluyente de plasma, áreas de eliminación de puntas de recolección.

55 En una modalidad, un método comprende realizar un ensayo de inmunoabsorción 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 tal como se describe en la presente. El dispositivo se inserta después en un sistema, en donde el sistema detecta el tipo de cartucho o dispositivo que se inserta. El sistema se puede comunicar después con un dispositivo externo para recibir un conjunto de instrucciones o protocolo que permiten que el sistema realice el ensayo o ensayos deseados del cartucho. El protocolo se puede enviar hacia el 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 volumen determinado de la muestra a partir de la unidad de recolección de muestras y la mueve hacia una unidad de pretratamiento donde se eliminan los glóbulos rojos. El plasma de la muestra se puede aspirar después en una punta de plasma o cualquier punta de ensayo por el dispositivo de transferencia de fluidos de acuerdo con el protocolo. La punta que contiene el plasma puede recoger después un diluyente para diluir la muestra como sea

necesario para los ensayos que se han de ejecutar. Muchas diluciones diferentes se pueden realizar usando diluciones en serie de la muestra. Por ejemplo, cada unidad de ensayo o punta de ensayo puede contener una muestra de una dilución diferente. Después de que la muestra se aspira en una unidad de ensayo por el dispositivo de transferencia de fluidos, la unidad de ensayo se puede incubar después con la muestra para permitir que cualquier analito diana presente se una a la superficie de captura. Las incubaciones como se describe en este ejemplo pueden estar a la temperatura del sistema o del ambiente durante cualquier período de tiempo, por ejemplo 10 minutos, o puede introducirse en un dispositivo de calentamiento del sistema como se describe en la presente. La unidad de ensayo se puede acoplar a una unidad de reactivos direccionada con un reactivo que corresponde al ensayo a ejecutarse en cada unidad de ensayo individual que tiene 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 marcado con antiproteína diferente de la superficie de captura. La solución detectora se aspira después fuera de la unidad de ensayo y después una solución de lavado se puede aspirar en la unidad de ensayo para eliminar cualquier exceso de solución detectora. Se pueden usar múltiples etapas de lavado. El reactivo final a añadirse es un sustrato enzimático el cual provoca que la solución detectora ligada produzca quimioluminiscencia. El sustrato enzimático se expulsa después de la unidad de ensayo y los resultados del ensayo se leen por un detector del sistema. En cada etapa como se describe, se pueden producir incubaciones según sea necesario como se describe en la presente. En este ejemplo, todo el proceso después de poner el cartucho en el sistema se automatiza y se lleva a cabo por un protocolo o conjunto de instrucciones para el sistema programable.

Un método ilustrativo procede con la entrega de una muestra de sangre en el pocillo de entrada de sangre. La muestra se puede recoger después por una punta de recolección e insertarse en el pocillo de separación de plasma. Alternativamente, la sangre se puede depositar directamente en un pocillo que contiene un separador de sangre. Por ejemplo, la separación de plasma se puede llevar a cabo por una variedad de métodos como se describe en la presente. En este ejemplo, la separación de plasma procede usando perlas magnetizables y anticuerpos para eliminar los componentes de la sangre que no son plasma. El plasma se puede transportar después 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 recolección de plasma puede recoger una cantidad predeterminada de diluyente y diluir la muestra de plasma. La muestra de plasma diluido se distribuye después hacia las unidades de ensayo (puntas de muestreo) para unirse a una superficie de captura. Las unidades de ensayo se pueden incubar para permitir que se lleve a cabo una reacción de captura. La unidad de ensayo se puede usar después 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 el conjugado se ha añadido a la unidad de ensayo, se puede incubar la reacción. En un método ilustrativo que usa un dispositivo ilustrativo de la Figura 1, una unidad de reactivos que contiene un lavado para el conjugado se accede después por la unidad de ensayo (la punta de muestreo) para eliminar cualquier exceso de conjugado que pueda interferir con la detección de cualquier analito. Después de lavar el exceso de conjugado, se puede añadir un sustrato a la unidad de ensayo para la detección. Además, en el ejemplo de la Figura 1 y este método, una unidad de ensayo de punta calibradora se puede usar para llevar a cabo todos los métodos descritos en este párrafo excepto la recolección y distribución de la muestra. La detección y las mediciones que usan la unidad de ensayo de punta calibradora se pueden usar para calibrar la detección y las mediciones del analito a partir de la muestra. Otros procesos y métodos similares a los usados en este ejemplo se describen de aquí en adelante.

Cualesquiera fluidos corporales sospechosos de contener un analito de interés se pueden usar 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 pueden recolectar o contener cualquier tipo de fluidos corporales empleados comúnmente que incluyen, pero sin limitarse a sangre, suero, saliva, orina, fluido gástrico y digestivo, lágrimas, heces, semen, fluido vaginal, fluidos intersticiales derivados de líquidos de tejidos tumorales extraídos de muestras de tejido, y líquido cefalorraquídeo. En una modalidad, el fluido corporal es sangre y se puede obtener por una punción digital. En una modalidad, la muestra de fluido corporal es una muestra de plasma sanguíneo.

Un fluido corporal se puede extraer de un paciente y distribuirse hacia el dispositivo en una variedad de maneras que incluyen, pero sin limitarse a, punción, inyección, o pipeteado. En una modalidad, una lanceta perfora la piel y entrega la muestra en el dispositivo usando, por ejemplo, la gravedad, la acción capilar, la aspiración, o la fuerza del vacío. La lanceta puede encontrarse en el dispositivo, o ser parte de un ensamble lector, o un componente independiente. Donde sea necesario, la lanceta se puede activar por una variedad de mecanismos mecánicos, eléctricos, electromecánicos, o cualquier otro mecanismo de activación conocido o cualquier combinación de tales métodos. En otra modalidad donde no se requiere ningún mecanismo activo, un paciente puede simplemente proporcionar un fluido corporal al dispositivo, como podría ocurrir, por ejemplo, con una muestra de saliva. El fluido recolectado se puede colocar en un pocillo o unidad de recolección del dispositivo. En algunas modalidades, hay una lanceta activada por el usuario y un capilar que recolecta la muestra dentro del dispositivo.

El volumen de fluido corporal a usar con un método o dispositivo descrito en la presente es generalmente menos que aproximadamente 500 microlitros, puede ser además entre aproximadamente 1 a 100 microlitros. Donde se desee, una muestra de 1 a 50 microlitros, 1 a 40 microlitros, 1 a 30 microlitros, 1 a 10 microlitros o incluso de 1 a 3 microlitros se puede usar para detectar un analito usando 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 utilizando los dispositivos, sistemas, o métodos es de 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.

- 5 En algunas modalidades, los fluidos corporales se usan directamente para detectar los analitos presentes en el fluido corporal sin procesamiento adicional. Donde se desee, sin embargo, los fluidos corporales se pueden pretratar 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 bajo investigación. Por ejemplo, donde el analito esté presente a bajo nivel en una muestra de fluido corporal, la muestra se puede concentrar mediante cualquier medio convencional para enriquecer el analito.
- 10 Los métodos para concentrar un analito incluyen pero sin limitarse a secado, evaporación, centrifugación, sedimentación, precipitación, y amplificación. Donde el analito es un ácido nucleico, se puede extraer usando varias enzimas líticas o soluciones químicas o usando resinas aglutinantes de ácido nucleico siguiendo las instrucciones adjuntas proporcionadas por los fabricantes. Donde el analito es una molécula presente en o dentro de una célula, la extracción se puede realizar usando agentes de lisis que incluyen pero sin limitarse a los anticoagulantes tales como EDTA o heparina, detergente desnaturizante tal como SDS o detergente no desnaturizante tal como Thesit, desoxilato de sodio, Tritón X-100, y Tween 20.
- 15

- En una modalidad, el sujeto recolecta una muestra de fluido corporal con una jeringa. La muestra puede entrar en 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 con el extremo exterior del capilar de vidrio la sangre de manera 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.
- 20

- 25 En otra modalidad, se proporciona un método y sistema para obtener una muestra de plasma prácticamente libre de glóbulos rojos a partir de una muestra de sangre. Cuando se realiza un ensayo, frecuentemente los analitos se encuentran contenidos en el plasma sanguíneo, y los glóbulos rojos pueden interferir con una reacción.

- Frecuentemente, cuando se mide una muestra de sangre, los analitos de interés se encuentran en el suero o plasma. Para propósitos clínicos, la concentración final reportada de múltiples análisis de sangre necesita frecuentemente relacionarse a la concentración de suero sanguíneo o plasma sanguíneo en una muestra diluida. En muchos casos, el suero sanguíneo o 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 eliminación de los glóbulos rojos. Las muestras de sangre varían significativamente en la proporción del volumen de muestra ocupado por los glóbulos rojos (el hematocrito que varía desde aproximadamente 20 - 60%). Además, en un ambiente de punto de cuidados cuando los sistemas de ensayo se operan por personal no experto, el volumen de muestra obtenido puede no ser el que se pretende. Si no se reconoce un cambio en el volumen, esto puede conducir a un error en las concentraciones de analitos reportadas.
- 30
- 35

- En una modalidad relacionada pero separada, la presente invención proporciona un método para recuperar el plasma de una muestra de sangre se proporciona 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 pertenecen al plasma de la muestra de sangre, y aplicar un campo magnético por encima de un área de recolección de plasma a la muestra de sangre mezclada para efectuar la suspensión de las porciones que no pertenecen al plasma de la muestra de sangre en la parte superior del área de recolección de plasma, recuperando de ese modo el plasma de la muestra de sangre.
- 40
- 45

- Con el objetivo de procesar las muestras de sangre, el dispositivo o sistema de la invención puede incluir un reactivo u objeto magnético que aglutina los glóbulos rojos y permite la eliminación magnética de los glóbulos rojos del plasma. El reactivo se puede proporcionar en forma liofilizada pero puede estar presente además como una dispersión líquida. Un reactivo compuesto por partículas magnetizables (por ejemplo, aproximadamente 1 micrómetro de tamaño) se puede recubrir con un anticuerpo para un antígeno de glóbulos rojos o para alguna molécula adaptadora. En algunas modalidades, el reactivo contiene además anticuerpos no ligados a los antígenos de superficie de los glóbulos rojos, los cuales pueden no marcarse o marcarse con una porción adaptadora (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 ayudadas por un anticuerpo de fase de solución. Alternativamente, una lectina que reconoce un carbohidrato de superficie de los glóbulos rojos se puede usar como un agente de coaglutinación. A veces, se usan las 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.
- 50
- 55
- 60

- Cuando la sangre se mezcla con un reactivo magnético, se puede producir una coaglutinación en la cual muchos glóbulos rojos, si no todos, forman un aglutinado mezclado con las partículas magnetizables. El proceso de disolución y mezcla de los reactivos se impulsa por la aspiración repetida usando una punta o punta de recolección de la invención o una punta tipo pipeta. Después de formarse la masa magnetizable, la masa se puede separar del plasma sanguíneo mediante el uso de un imán para mantener la masa en su lugar mientras se permite al plasma salir 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
- 65

en su lugar. En otra modalidad, el plasma sale de la punta por un medio de vacío o de presión, mientras que la masa se mantiene dentro de la punta. El plasma se puede depositar en un pocillo, otra punta de recolección, o la unidad de ensayo de la invención.

5 Un ejemplo de un método de separación de plasma de la invención se muestra en las Figuras 9A a 9E. En la Figura 9A, una muestra de sangre total **901** se ha aspirado dentro de una punta de muestreo **910** como se describe en la presente, por ejemplo en la cantidad de aproximadamente 20 microlitros. La muestra de sangre total **901** se deposita después 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 aglutinantes libres). La   
10 Figura 9C muestra una bala de aire de 10 microlitros **930** que se puede usar para evitar la pérdida a partir de la punta **910**. La muestra de sangre total y el reactivo magnético mezclados **902** se incuban durante varios segundos (por ejemplo, 60 a 180 segundos) para permitir que se produzca una reacción de aglutinación.

15 La Figura 9D muestra la aplicación de un campo magnético **940** a la mezcla de células de sangre total y el reactivo magnético **902**. El campo magnético **940** se puede aplicar por un collar magnético **942** que se incorpora con un sistema o con cualquier medio magnético conocido en la técnica. El campo magnético **940** atrae cualesquiera partículas que se hayan adherido al reactivo magnético. De esta manera, el plasma **903**, el cual no se adhiere con el reactivo magnético, se puede separar de las porciones que no son plasma de una muestra de sangre total.

20 La Figura 9E muestra un método para distribuir una muestra de plasma sanguíneo **903**, como se separa por el reactivo magnético descrito en la presente, en un pocillo o unidad **950** de un dispositivo como se describe en la presente. La muestra de plasma sanguíneo **903** se puede distribuir además hacia una punta de recolección o unidad de ensayo, así como también cualquier otro tipo de dispositivo de ensayo como es obvio para un experto en la técnica. En la Figura 9E, el campo magnético **940** se muestra que se mueve con la punta **910** distribuyendo la muestra de plasma sanguíneo   
25 **903**. En este ejemplo, 5 a 8 microlitros de plasma se han eliminado de una muestra de sangre total de 20 microlitros. De 1 a 99% de una muestra de sangre total se puede separar del plasma usando un método de la invención. En una modalidad, 25 a 60% del volumen de la muestra de sangre total es plasma que se puede separar.

30 Se pueden completar otras etapas ilustrativas de un método como se describe. Con el objetivo de mover la muestra de plasma sanguíneo hacia otro pocillo o unidad, una punta de recolección de plasma capilar (que se puede operar por un sistema robótico o cualquier otro sistema de la invención) recolecta la muestra de plasma sanguíneo por fuerza capilar y de aspiración. Otra etapa puede comprender distribuir la muestra de plasma en un diluyente, y la muestra se puede diluir después por el diluyente. La muestra de plasma sanguíneo diluido se puede recolectar después por la punta de   
35 recolección en un volumen predeterminado. La muestra de plasma sanguíneo diluido se puede mezclar y distribuir después en un pocillo o unidad de un dispositivo para distribuirse hacia una o una pluralidad de unidades de ensayo de un dispositivo de la invención. La muestra se puede distribuir además en cualquier otro tipo de dispositivo, tal como una placa de microtitulación, como sería evidente para los expertos en la técnica.

40 El proceso de ejemplo mostrado en las Figuras 9A a 9E se puede usar con otros dispositivos y sistemas, que no sean los descritos en la presente. Por ejemplo, una punta de transferencia de fluidos puede contener la masa aglutinada y el plasma se podría depositar en una placa de microtitulación. Otros dispositivos y sistemas como sería evidente para los expertos en la técnica se podrían usar para ejecutar la separación de plasma sanguíneo de ejemplo como se describe   
45 en la presente.

La muestra de fluido corporal se puede diluir además en una variedad de otras maneras, tales como usando un dispositivo de recolección de muestras capaz de dilución. 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   
50 preferida, el volumen del diluyente se predetermina, 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, un método para la detección automatizada de una pluralidad de analitos en una muestra de fluido corporal se proporciona 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   
55 fluido corporal; una disposición de unidades de ensayo, en donde una unidad de ensayo individual de dicha disposición de unidades de ensayo se configura para ejecutar una reacción química que produce una señal indicativa de un analito individual de dicha pluralidad de analitos que se detecta; y una disposición de unidades de reactivos, en donde una unidad de reactivos individual de dicha disposición de unidades de reactivos contiene un reactivo. El método puede comprender además acoplar la unidad de ensayo individual usando un dispositivo de transferencia de fluidos.   
60 Continuando con el método, la muestra de fluido corporal se puede transferir desde la unidad de recolección de muestras hacia la unidad de ensayo individual usando el dispositivo de transferencia de fluidos y el reactivo de la unidad de reactivos individual se puede transferir hacia la unidad de ensayo individual, reaccionando de ese modo 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,   
65 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 fluido 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.

5 En algunos casos, las instrucciones se proporcionan al procesador programable, por ejemplo, por un usuario, un sujeto, o el fabricante. Las instrucciones se pueden proporcionar 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 hacia la unidad de ensayo individual. Por ejemplo, la etapa de transferir la muestra de fluido corporal puede afectar un grado de dilución de la muestra de fluido corporal en la unidad de ensayo individual para llevar dentro de un intervalo detectable la señal indicativa del analito individual de la pluralidad de analitos que se detectan. 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.

10 Se pueden usar técnicas de reconocimiento de patrones para determinar si la detección de un analito o una pluralidad de analitos por un método como se describe en la presente se encuentran dentro o fuera de un intervalo determinado. Por ejemplo, se pueden rechazar las señales detectables fuera del intervalo que se puede reportar. El intervalo determinado se puede establecer 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.

20 En algunos casos, si la señal detectable de un analito como se detecta con un factor de dilución o grado de dilución inferior excede ese de un factor de dilución más alto, el resultado de dilución inferior se puede rechazar como no válido. En la mayoría de los casos, las concentraciones de un analito en una muestra tal como se deriva a partir de las señales de muestras con diferentes grados de dilución se hacen menores a medida que el grado de dilución se hace mayor. Si esto sucede, se puede verificar un resultado del ensayo. Los sistemas, dispositivos y métodos en la presente proporcionan la flexibilidad de las normas de control de calidad tales como las descritas que muchos dispositivos de POC no pueden ofrecer. Los sistemas, dispositivos y métodos ofrecen muchas de las características de control de calidad como se esperaría en un entorno de laboratorio.

25 En una modalidad, una muestra se diluye en una relación que es satisfactoria para ensayos tanto de alta sensibilidad como de baja sensibilidad. Por ejemplo, una relación de dilución de muestra a diluyente se puede encontrar en el intervalo de aproximadamente 1:10,000 - 1:1. El dispositivo puede permitir que una muestra se diluya en lugares o grados distintos. El dispositivo puede permitir además que la muestra se someta a diluciones en serie. En casos adicionales, la dilución en serie dentro del dispositivo o sistema puede diluir la muestra hasta 10,000,000,000:1.

30 En las modalidades, una muestra que contiene un analito para su detección se puede mover desde un primer lugar hacia un segundo lugar por una acción de tipo de aspiración, de jeringa, o de pipeta. La muestra se puede extraer en la punta de reacción por acción capilar o presión atmosférica reducida. En algunas modalidades, la muestra se mueve hacia muchos lugares, que incluyen una disposición 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 se puede automatizar por un sistema de la invención, como se describe en la presente.

35 Las unidades de ensayo y/o puntas de recolección que contienen la muestra se pueden mover además desde un primer lugar hacia un segundo lugar. El proceso de mover una unidad de ensayo o una punta de recolección se puede automatizar y llevar a cabo por un protocolo definido por el usuario.

40 En una modalidad, las unidades de ensayo se mueven para recolectar el reactivo a partir de una unidad de reactivos de la invención. En muchas modalidades, el movimiento de una unidad de ensayo se automatiza. La acción de tipo de aspiración, de jeringa, o de pipeta se puede usar para recolectar el reactivo a partir de una unidad de reactivos hacia una unidad de ensayo.

45 Una vez que una muestra se ha añadido a una unidad de ensayo que comprende una superficie de captura, toda la unidad se puede incubar 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 necesario para incubar la reacción frecuentemente depende del tipo de ensayo que se ejecuta. El proceso se puede automatizar por un sistema de la invención. En una modalidad, el tiempo de incubación es entre 30 segundos y 60 minutos. En otra modalidad, el tiempo de incubación es de 10 minutos.

50 Una unidad de ensayo se puede incubar además 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 se puede insertar en un bloque de calentamiento para elevar la temperatura de la unidad de ensayo y/o el contenido de la unidad de ensayo.

55 En una modalidad de un método de la invención, se añade un conjugado a la unidad de ensayo después de que una muestra se ha añadido a la unidad. El conjugado puede contener una molécula para marcar un analito capturado por una superficie de captura en la unidad de ensayo. Ejemplos de conjugados y superficie de captura se describen de aquí en adelante. El conjugado puede ser un reactivo contenido dentro de una unidad de reactivos. El conjugado se puede distribuir hacia la unidad de ensayo por una acción de aspiración, de jeringa, o de pipeta. Una vez que un conjugado se ha distribuido hacia una unidad de ensayo, la unidad de ensayo se puede incubar para permitir que el conjugado

reaccione con un analito dentro de la unidad de ensayo. El tiempo de incubación se puede determinar por el tipo de ensayo o el analito a detectar. La temperatura de incubación puede ser cualquier temperatura adecuada para la reacción.

5 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 disposición 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 disposición de unidades de reactivos direccionables, cada una de las cuales se direcciona para corresponder a una o más unidades de ensayo direccionables en dicho dispositivo, de tal manera que las unidades de reactivos individuales se calibran en referencia a la(s) unidad(es) de ensayo correspondiente(s) antes de ensamblar las disposiciones en el dispositivo. El dispositivo se calibra calibrando las unidades de ensayo y las unidades de reactivos antes de que se ensamblen en el dispositivo. El dispositivo se puede ensamblar después usando los componentes calibrados, haciendo que el dispositivo, y un método y sistema que utiliza el dispositivo, sean componentes modulares.

10  
15 La calibración se puede preestablecer midiendo el rendimiento de los reactivos de ensayo, tales como los conjugados, antes de ensamblar las unidades de ensayo y la unidad de reactivos en un dispositivo de la invención. La información y los algoritmos de calibración se pueden almacenar en un servidor enlazado inalámbricamente al sistema de ensayo. La calibración se puede realizar por adelantado o retrospectivamente por ensayos realizados en sistemas de replicación en un lugar separado o usando la información obtenida cuando se usa el sistema de ensayo.

20 En un aspecto, un material de control se puede usar 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 tales como ELISA es que un ensayo usa un reactivo en fase sólida cuya calidad es difícil de controlar sin la destrucción de su función. Los sistemas y métodos en la presente proporcionan métodos para determinar la dilución lograda en un sistema de POC usando un dispositivo desechable con mezcla y/o dilución automatizadas.

25 En una modalidad, un método proporciona un análisis retrospectivo, por ejemplo, usando un servidor en tiempo real para analizar los datos antes de informar los resultados. Por ejemplo, un ensayo se puede realizar y un ensayo de control se puede ejecutar 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 pluralidad de ensayos que se ejecutan dentro del sistema se puede considerar exacta.

30 Un método de medición de 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.

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

40 Por ejemplo, un método que utiliza un dispositivo o sistema descrito en la presente puede comprender además: hacer reaccionar una muestra de fluido corporal que contiene un analito diana con un reactivo para producir una señal detectable indicativa del analito diana; y medir la cantidad de analito diana en la muestra de fluido corporal usando una intensidad de dicha señal detectable indicativa del analito diana 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 diana en la muestra de fluido corporal, proporcionando por ello no interactuar con la detección del analito diana.

45 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.

50 Un analito de control puede ser, sin limitarse a, albúmina marcada con fluoresceína, IgG marcada con fluoresceína, anti fluoresceína, antidigoxigenina, albúmina marcada con digoxigenina, IgG marcada con digoxigenina, proteínas biotiniladas, IgG no humana. Otros analitos de control ilustrativos pueden ser evidentes para un experto en la técnica. En una modalidad, el analito de control no aparece en una muestra de fluido corporal humano.

55 En un sistema de POC como se describe en la presente 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 el usuario pueden usar un ensayo de control para medir la dilución lograda realmente y el factor de esa dilución en la calibración del sistema. Por ejemplo, un analito de control puede no encontrarse nunca en la muestra de interés y secarse en una unidad de reactivos. La cantidad del analito de control seco se puede conocer y mezclar con

una muestra en la unidad de reactivos. La concentración del analito se puede medir para indicar el volumen de la muestra y cualquier dilución realizada sobre la muestra.

5 Ejemplos de analitos de control para un inmunoensayo incluyen, pero sin limitarse a: proteína marcada con fluoresceína, proteína biotilada, inmunoglobulina marcada con fluoresceína, marcada con Axlexa™, marcada con rodamina, marcada con Texas Red. Por ejemplo el marcado se puede lograr al tener ligados al menos dos haptenos por molécula de proteína. En algunas modalidades, se ligan 1-20 haptenos por molécula de proteína. En una modalidad adicional, se ligan 4-10 haptenos por molécula de proteína. Muchas proteínas tienen un gran número de grupos amino libres a los cuales se pueden unir los haptenos. En muchos casos, las proteínas modificadas con haptenos son estables y solubles. 10 Además, los haptenos tales como la fluoresceína y el Texas Red son suficientemente grandes y rígidos que se pueden hacer anticuerpos con alta afinidad (por ejemplo, un hapteno es lo suficientemente grande como para llenar el sitio de unión de los anticuerpos). En algunas modalidades, los haptenos se pueden unir a las proteínas usando reactivos, tales como isotiocianato de fluoresceína, y éster NHS de ácido carboxílico de fluoresceína para crear analitos de control en los cuales la parte reconocida por el sistema de ensayo es el hapteno.

15 En algunas modalidades, un método utiliza un analito de control seco. En algunos ejemplos, un analito de control seco evita la dilución de la muestra y puede hacer más estable el analito de control. El analito de control seco se puede formular de manera que se disuelve rápida y/o completamente al exponerlo a una muestra líquida. En algunas modalidades, un analito de control puede ser un analito por el cual los anticuerpos tienen una 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 barato y/o fácil de hacer. En algunas modalidades, el analito de control es estable durante la vida útil del dispositivo o sistema descrito en la presente. Portadores ilustrativos usados para crear analitos con haptenos unidos covalentemente incluyen proteínas tales como, pero sin limitarse a: albúmina, IgG, y caseína. Portadores poliméricos ilustrativos usados para crear analitos novedosos con haptenos unidos covalentemente incluyen, pero sin limitarse a: dextrano, polivinilpirrolidona. Los excipientes ilustrativos usados para formular y estabilizar los analitos de control incluyen, pero sin limitarse a: sacarosa, sales, y tampones (tales como el fosfato de sodio y cloruro de tris).

20 Un analito de control y el método como se describe en la presente se pueden usar en una variedad de maneras que incluyen los ejemplos descritos en la presente. Por ejemplo, un método puede medir un 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 para detectar una pluralidad de analitos, las mediciones a partir de un método en la presente que usa un analito de control se pueden usar para verificar o describir las mediciones de los analitos diana. Por 35 ejemplo, un dispositivo de transferencia de fluidos con múltiples cabezales se puede usar para distribuir el líquido en una pluralidad de unidades de ensayo, que incluyen una unidad de control. En algunos casos, se puede suponer que la cantidad de líquido distribuida en la pluralidad de unidades es la misma o similar entre las unidades individuales. En algunas modalidades, un método descrito en la presente con un analito de control se puede usar 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 el volumen correcto de diluyente se ha proporcionado a la muestra. Además, el factor de dilución o el grado de dilución también se pueden verificar. En aún otra modalidad, un método con un analito de control verifica que el volumen correcto de la muestra diluida se ha distribuido a la pluralidad de unidades.

40 La Figura 10 muestra un método ilustrativo de un ensayo de control como se describe en la presente que comprende una cantidad conocida de analito de control. Una unidad **1010** antes de su ensamble en un cartucho se puede llenar con una solución **1001** que comprende una masa conocida del analito de control **1002**. El líquido de la solución se puede eliminar y la unidad **1010** se seca para dejar el analito de control **1002** en la unidad **1010**. La unidad **1010** se puede insertar después en un dispositivo y transportarse para su uso. Cuando la unidad **1010** se usa y recibe una muestra o diluyente **1003**, la muestra **1003** se puede entregar 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. La solución de control **1004** se puede diluir opcionalmente. En una modalidad, el analito de control **1002** se puede detectar de las mismas maneras que un analito diana en el dispositivo. Se mide la concentración del analito de control en la solución de control **1004**. La medición de la concentración se puede usar para calcular el volumen de la muestra **1003** añadido 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**. 45 50 55

60 En un ejemplo, los glóbulos rojos se pueden eliminar de una muestra de sangre. Sin embargo, si quedan algunos glóbulos rojos, o los glóbulos rojos no se eliminan de una muestra de sangre, se puede usar 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, de 20 - 60% del volumen total de una muestra), la cantidad de un analito en un volumen fijo 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 el plasma es  $C \cdot v \cdot (1-H)$ . Por lo tanto la cantidad de una muestra con hematocrito 0.3 es 1.4 veces mayor que para una muestra con hematocrito 0.5. En una modalidad ilustrativa, la sangre sin diluir se puede dispensar en un dispositivo como se describe y los glóbulos rojos se pueden eliminar. Una concentración del analito de control en la fracción de plasma se puede medir después para estimar el volumen de plasma de la muestra y determinar el hematocrito. 65

- En algunas modalidades, se puede necesitar que el conjugado no unido se lave de un sitio de reacción para evitar que los conjugados no unidos produzcan una detección inexacta. La etapa limitante de muchos inmunoensayos es una etapa de lavado. El compromiso de arrastre mínimo y alta sensibilidad depende de la eliminación por lavado del conjugado no unido. La etapa de lavado se puede limitar estrictamente en un formato de placa de microtitulación debido a la dificultad de eliminar el líquido de lavado de un pocillo (por ejemplo, por medios automáticos). Un dispositivo de unidad de ensayo y el sistema de la invención pueden tener un número de ventajas en la manera que se manejan los líquidos. Una ventaja puede ser una mejora en la relación señal a ruido de un ensayo.
- Eliminar el conjugado puede ser difícil si los conjugados se pegan a los bordes de las unidades de ensayo de un dispositivo si, por ejemplo, no hay un exceso de una solución de lavado.
- Un lavado del conjugado se puede producir ya sea empujando la solución de lavado desde arriba o absorbiendo la solución de lavado hacia arriba y expulsando el líquido similar a cargar la muestra. El lavado se puede repetir tantas veces como sea necesario.
- Cuando se usa un tampón de lavado en un ensayo, el dispositivo puede almacenar el tampón de lavado en las unidades de reactivos y la unidad de ensayo se puede poner en comunicación continua con el lavado. En una modalidad, el reactivo de lavado es capaz de eliminar el reactivo no unido a partir de las unidades de ensayo en aproximadamente 99, 99.9, o 99.999% por lavado. Generalmente, se prefiere una alta eficacia del lavado que resulta en un alto grado de reducción de las señales de fondo no deseadas. La eficacia del lavado se define por lo general por la relación de la señal a partir de un ensayo dado a la cantidad total de la señal generada por un ensayo sin etapa de lavado y se puede determinar fácilmente por experimentación de rutina. Se puede preferir generalmente aumentar el volumen de solución de lavado y el tiempo de incubación pero sin sacrificar las señales a partir 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 ser ventajoso usar varios ciclos de pequeños volúmenes de solución de lavado que se separan por períodos de tiempo donde no se usa la solución de lavado. Esta secuencia permite el lavado difusivo, donde los anticuerpos marcados se difunden durante el tiempo en la solución de lavado en volumen a partir de partes protegidas de la unidad de ensayo tales como los bordes o las superficies donde esta se une débilmente y se puede eliminar después cuando la solución de lavado se mueve del sitio de reacción.
- En muchas modalidades, la última etapa es para distribuir un sustrato enzimático para detectar el conjugado por medios ópticos o eléctricos. Los ejemplos de sustratos se describen de aquí en adelante.
- Por ejemplo, el reactivo en la unidad de reactivos individual de un dispositivo en la presente puede ser un sustrato enzimático para un inmunoensayo. En otra modalidad, la etapa de transferir el reactivo sustrato a partir de la unidad de reactivos individual se puede repetir después de una reacción en el sitio de captura. Por ejemplo, el sustrato enzimático se transfiere a un sitio de reacción y se incuba. Después de medir la señal de ensayo producida, el sustrato usado se puede eliminar y reemplazarse con sustrato fresco y volver a medir la señal de ensayo. Una señal indicativa del analito individual se puede detectar usando un sistema como se describe en la presente a partir tanto de la primera como de la segunda aplicación del sustrato. El segundo sustrato es generalmente el mismo que el sustrato original. En una modalidad, el segundo sustrato se transfiere hacia un sitio de reacción a partir de una segunda unidad de reactivos de un dispositivo en la presente. En otra modalidad, el segundo sustrato se transfiere hacia un sitio de reacción a partir de la misma unidad de reactivos que el sustrato original. Transferir un segundo sustrato crea de ese modo 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 se pueden comparar para calcular la intensidad final de la señal indicativa del analito individual y si el ensayo se realizó correctamente.
- En una modalidad, las intensidades de las múltiples señales se pueden usar 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 se pueden rechazar.
- En una modalidad, un método como se describe en la presente comprende recargar la muestra y/o el conjugado detector (anticuerpo marcado con enzima) y/o el sustrato enzimático y la muestra para rectificar o confirmar una señal de ensayo o usarla como un control interno. Por ejemplo, reutilizar una punta o unidad de ensayo como se describe se puede proporcionar para verificar la función y/o para añadir adicionalmente muestra o materiales de control obteniendo una segunda señal.
- En algunos casos, un método para recargar un sustrato hacia una unidad enzimática se habilita por la capacidad de un sistema como se describe en la presente para transferir automáticamente muestras líquidas y reactivos hacia 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 se describe ofrece una oportunidad para mejorar posiblemente la fiabilidad de los resultados. Una respuesta observada siguiendo las iteraciones de añadir un sustrato enzimático se puede usar para verificar la respuesta inicial o para calcular la recuperación de pico.

Los experimentos han mostrado que al añadir un segundo sustrato enzimático a una unidad de ensayo, se puede mantener la reproducibilidad de los resultados. En algunas modalidades, un método de control proporciona el análisis de replicados usando una unidad de ensayo que dio una respuesta significativamente menor que la esperada.

5 Con cualesquiera métodos de control descritos en la presente, existen numerosos errores posibles que se pueden explicar o postular a partir de ejecutar un método de control. Los errores de ensayo ilustrativos incluyen, pero sin limitarse a, la fabricación inapropiada de una unidad o dispositivo de ensayo, la aspiración inapropiada de una muestra y/o uno o más reactivos, una unidad de ensayo no se posiciona correctamente con relación al fotomultiplicador durante la detección, y una unidad de ensayo que falta en el dispositivo o sistema.

10 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 utilizando los dispositivos o sistemas de fluidos objeto.

15 Cuando se usan animales de laboratorio en los ensayos preclínicos de un agente farmacéutico, frecuentemente es necesario matar el sujeto de prueba para extraer suficiente sangre para realizar un ensayo para detectar un analito de interés. Esto tiene implicaciones tanto financieras como éticas, y como tal puede ser ventajoso poder extraer una cantidad de sangre de un animal de prueba de tal manera que no sea necesario matar el animal. Además, esto puede permitir además examinar el mismo animal de prueba en varios puntos de tiempo diferentes, permitiendo por lo tanto una evaluación más eficaz de los efectos de un agente en animales individuales. En promedio, el volumen total de sangre en un ratón, por ejemplo, es de 6-8 ml de sangre por cada 100 gramos de peso corporal. Un beneficio de la presente invención es que sólo se requiere un volumen muy pequeño de sangre para realizar los ensayos preclínicos en ratones u otros animales pequeños de laboratorio. En algunas modalidades se extrae entre aproximadamente 1 microlitro y aproximadamente 50 microlitros. En una modalidad se extrae entre aproximadamente 1 microlitro y 10 microlitros. En las modalidades preferidas se extrae aproximadamente 5 microlitros de sangre.

Una ventaja adicional de mantener vivo el animal de prueba es evidente en un estudio preclínico de series temporales. Cuando múltiples ratones, por ejemplo, se usan para monitorear los niveles de un analito en un fluido corporal del sujeto de prueba durante el tiempo, la variable añadida de usar múltiples sujetos se introduce en el ensayo. Cuando, sin embargo, un solo animal de ensayo se puede usar como su propio control sobre una serie temporal, se puede realizar un ensayo preclínico más preciso y beneficioso.

35 En algunas modalidades se proporciona un método para monitorear automáticamente el cumplimiento del paciente con un tratamiento médico usando 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 es compatible o no compatible con dicho tratamiento médico; y notificar a un paciente de dicha compatibilidad o incompatibilidad.

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

45 En otra modalidad, el sistema y los métodos de la invención pueden identificar tendencias en los niveles de los biomarcadores y la información diaria del paciente diariamente durante el tiempo que se pueden usar para ajustar una dosis de medicamento a un nivel óptimo para pacientes específicos (por ejemplo, de variación de dosis adaptativa).

50 En algunas modalidades el incumplimiento puede incluir tomar una dosis incorrecta de un agente farmacéutico que incluye, sin limitarse a múltiples dosis o sin dosis, o puede incluir la mezcla inapropiada de los agentes farmacéuticos. En las modalidades preferidas un paciente se notifica prácticamente de inmediato después de que la señal se compara con un perfil conocido.

55 Un paciente o sujeto de un ensayo clínico puede olvidar tomar una muestra de fluido corporal para el análisis como se describe en la presente. En algunas modalidades un método para alertar a un paciente de que examine una muestra de fluido corporal usando un dispositivo como se describe en la presente comprende proporcionar un protocolo que se ejecuta en dicho dispositivo, dicho protocolo se localiza en un dispositivo externo, asociado con dicho paciente, y que comprende una fecha y hora para examinar dicha muestra de fluido corporal; y notificar al paciente para que examine dicho fluido corporal en dicha fecha y hora si dicha muestra no se ha examinado. En algunas modalidades un paciente se puede notificar de manera inalámbrica como se describe en la presente. El cumplimiento con los regímenes terapéuticos se puede mejorar usando indicaciones en una pantalla y obteniendo respuestas de los pacientes (por ejemplo, por vía de una pantalla táctil).

65 Un paciente se puede proporcionar con un dispositivo cuando adquiere una prescripción de medicamentos por cualquiera de los métodos comunes, por ejemplo, en una farmacia. Similarmente, un sujeto del ensayo clínico se puede proporcionar con tales dispositivos cuando comienza un ensayo clínico. La información de contacto del paciente o sujeto, que incluye sin limitarse a teléfono celular, dirección de correo electrónico, dirección de mensajes de texto, u

5 otros medios de comunicación inalámbrica, se puede introducir en ese momento en el dispositivo externo y asociarse con el paciente o sujeto como se describe en la presente, por ejemplo, en una base de datos. El software en el dispositivo externo puede incluir un guión u otro programa que puede detectar cuándo una señal generada a partir de un dispositivo de detección aún no se ha enviado hacia el dispositivo externo, por ejemplo en un momento dado, y el dispositivo externo puede enviar una alerta que notifica al paciente que tome una muestra de fluido corporal.

10 En una modalidad, el sistema se proporciona directamente a un consumidor y se usa en la gestión del estilo de vida y/o atlética. Los datos pertinentes del estilo de vida y los ejercicios se pueden introducir y se pueden hacer las mediciones de los parámetros indicativos de daño muscular, metabolismo anaeróbico (por ejemplo, ácido láctico). En algunas modalidades, el sistema puede ser suficientemente pequeño para ser portátil.

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

20 En una modalidad, el sistema incluye una forma conveniente para empacar los varios elementos requeridos para múltiples ensayos complejos en una forma segura para su envío. Por ejemplo, los elementos de ensayo se pueden encajar en una carcasa.

#### Ensayos

25 Una variedad de ensayos se pueden realizar en un dispositivo de fluidos de acuerdo con la presente invención para detectar un analito de interés en una muestra. Una amplia diversidad de marcadores está disponible en la técnica que se pueden emplear para realizar los ensayos objeto. En algunas modalidades los marcadores son detectables por medios espectroscópicos, fotoquímicos, bioquímicos, electroquímicos, inmunoquímicos, u otros medios químicos. Por ejemplo, los marcadores de ácido nucleico útiles incluyen los radioisótopos <sup>32</sup>P, <sup>35</sup>S, colorantes fluorescentes, reactivos densos en electrones, enzimas. Una amplia variedad de marcadores adecuados para marcar componentes biológicos se conocen y se reportan extensamente tanto en la literatura científica como de patentes, y generalmente son aplicables a la presente invención para marcar componentes biológicos. Los marcadores adecuados incluyen radionucleótidos, enzimas, sustratos, cofactores, inhibidores, porciones fluorescentes, porciones quimioluminiscentes, marcadores bioluminiscentes, o marcadores colorimétricos. Los reactivos que definen la especificidad del ensayo opcionalmente incluyen, por ejemplo, anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, proteínas, sondas de ácidos nucleicos u otros polímeros tales como matrices de afinidad, carbohidratos o lípidos. La detección puede proceder por cualquiera de una variedad de métodos conocidos, incluyendo el seguimiento espectrofotométrico u óptico de marcadores radioactivos, fluorescentes, o luminiscentes, u otros métodos que siguen una molécula basada en su tamaño, carga o afinidad. Una porción detectable puede ser de cualquier material que tenga una propiedad física o química detectable. Tales marcadores detectables se han desarrollado mucho en el campo de la electroforesis en gel, la cromatografía en columna, los sustratos sólidos, las técnicas espectroscópicas, y lo similar, y generalmente, los marcadores útiles en tales métodos se pueden aplicar a la presente invención. Por lo tanto, un marcador incluye sin limitarse a cualquier composición detectable por medios espectroscópicos, fotoquímicos, bioquímicos, inmunoquímicos, basados en sondas de ácido nucleico, eléctricos, termoópticos, u otros medios químicos.

45 En algunas modalidades el marcador se acopla directa o indirectamente a una molécula a detectar 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, con la elección del marcador que depende de la sensibilidad requerida, la facilidad de conjugación del compuesto, los requisitos de estabilidad, la instrumentación disponible, y las provisiones de eliminación. Los marcadores no radiactivos frecuentemente se unen por medios indirectos. Generalmente, un receptor específico al analito se une a una porción generadora de la señal. A veces el receptor del analito se liga a una molécula adaptadora (tal como biotina o avidina) y el conjunto de reactivos de ensayo incluye una porción aglutinante (tal como un reactivo biotinilado 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 tipo sándwich en donde el analito se encuentra en el centro. El reactivo puede competir además con el analito por los receptores en el sitio de reacción o ligarse a los receptores vacantes en el sitio de reacción no ocupados por el analito. El marcador es ya sea inherentemente detectable o se liga a un sistema de la señal, tal como una enzima detectable, un compuesto fluorescente, un compuesto quimioluminiscente, o una entidad generadora de quimioluminiscencia tal como una enzima con un sustrato luminógeno. Se puede usar un número de ligandos y antiligandos. Donde un ligando tiene un antiligando natural, por ejemplo, biotina, tiroxina, digoxigenina, y cortisol, se pueden usar junto con antiligandos, marcados. Alternativamente, cualquier compuesto hapténico o antigénico se puede usar en combinación con un anticuerpo.

60 En algunas modalidades, el marcador se puede conjugar además directamente a compuestos generadores de la señal, por ejemplo, por conjugación con una enzima o fluoróforo. Las enzimas de interés como marcadores serán principalmente las hidrolasas, específicamente las fosfatasas, las esterasas y las glicosidasas, u las oxidoreductasas, específicamente las 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 el luminol.

5 Los métodos para detectar marcadores se conocen bien por los expertos en la materia. Por lo tanto, por ejemplo, donde el marcador es radiactivo, los medios para la detección incluyen conteo de escintilación o películas fotográficas como en la autorradiografía. Donde el marcador es fluorescente, se puede detectar excitando el fluorocromo con luz de una longitud de onda apropiada y detectando la fluorescencia resultante, por ejemplo, por microscopía, inspección visual, por medio de película fotográfica, por el uso de detectores electrónicos tales como cámaras digitales, dispositivos de carga acoplada (CCD) o fotomultiplicadores y células fotoeléctricas, u otro dispositivo de detección. Similarmente, los marcadores enzimáticos se detectan proporcionando sustratos apropiados para la enzima y detectando el producto de reacción resultante. Finalmente, los marcadores colorimétricos simples se detectan frecuentemente observando simplemente el color asociado con el marcador. Por ejemplo, el oro conjugado aparece frecuentemente rosa, mientras que varias perlas conjugadas aparecen del color de la perla.

15 En algunas modalidades la señal detectable se puede proporcionar por fuentes de luminiscencia. La luminiscencia es el término usado comúnmente para referirse a la emisión de luz a partir de una sustancia por cualquier motivo que no sea un aumento de su temperatura. Generalmente, los átomos o moléculas emiten fotones de energía electromagnética (*por ejemplo*, luz), cuando pasan de un estado excitado a un estado de energía más bajo (por lo general el estado fundamental). Si la causa excitante es un fotón, el proceso de luminiscencia se denomina fotoluminiscencia. Si la causa excitante es un electrón, el proceso de luminiscencia se puede denominar electroluminiscencia. Más específicamente, la electroluminiscencia resulta de la inyección y eliminación directa de electrones para formar un par electrón-hueco, y la posterior recombinación del par electrón-hueco para emitir un fotón. La luminiscencia que resulta a partir de una reacción química normalmente se denomina quimioluminiscencia. La luminiscencia producida por un organismo vivo normalmente se denomina bioluminiscencia. Si la fotoluminiscencia es el resultado de una transición de espín permitido (*por ejemplo*, una transición de singlete a singlete, una transición de triplete a triplete), el proceso de fotoluminiscencia se denomina usualmente fluorescencia. Por lo general, las emisiones de fluorescencia no persisten después de eliminar la causa excitante como un resultado de estados excitados de vida corta los cuales se pueden relajar rápidamente a través de tales transiciones de espín permitido. Si la fotoluminiscencia es el resultado de una transición de espín prohibido (*por ejemplo*, una transición de triplete a singlete), el proceso de fotoluminiscencia se denomina usualmente fosforescencia. Por lo general, las emisiones de fosforescencia persisten mucho después de que se elimina la causa excitante como un resultado de estados excitados de larga vida los cuales se pueden relajar sólo a través de estas transiciones de espín prohibido. Un marcador luminiscente puede tener cualquiera de las propiedades descritas anteriormente.

35 Las fuentes quimioluminiscentes adecuadas incluyen un compuesto que se excita electrónicamente por una reacción química y puede después emitir luz que sirve como la señal detectable, o dona energía a un aceptor fluorescente. Un número diverso de familias de compuestos se han encontrado que proporcionan quimioluminiscencia bajo 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. Otros miembros de la familia incluyen el 5-amino-6,7,8-trimetoxi- y el análogo dimetilamino[ca]benceno. Estos compuestos se pueden hacer para producir luminiscencia con peróxido de hidrógeno alcalino o hipoclorito de calcio y la base. Otra familia de compuestos es los 2,4,5-trifenilimidazoles, con la lofina como nombre común para el producto primario. Los análogos quimioluminiscentes incluyen los sustituyentes paradimetilamino y parametoxi. La quimioluminiscencia se puede obtener además con oxalatos, usualmente ésteres activos de oxalilo, por ejemplo, el p-nitrofenilo y un peróxido tal como el peróxido de hidrógeno, bajo condiciones básicas. Otros compuestos quimioluminiscentes útiles que se conocen además incluyen los ésteres -N-alquilo de acridinio y dioxetanos. Alternativamente, se pueden usar luciferinas junto con luciferasa o lucigeninas para proporcionar bioluminiscencia.

50 El término analitos como se utiliza en la presente incluye sin limitarse a medicamentos, promedicamentos, agentes farmacéuticos, metabolitos de medicamentos, biomarcadores tales como proteínas expresadas y marcadores de células, anticuerpos, proteínas del suero, colesterol y otros metabolitos, polisacáridos, ácidos nucleicos, analitos biológicos, biomarcadores, genes, proteínas, u hormonas, o cualquier combinación de éstos. Los analitos pueden ser combinaciones de polipéptidos, glicoproteínas, polisacáridos, lípidos y ácidos nucleicos.

55 De particular interés son los biomarcadores asociados con una enfermedad específica o con una etapa específica de la enfermedad. Tales analitos incluyen pero sin limitarse a los asociados con enfermedades autoinmunes, obesidad, hipertensión, diabetes, enfermedades degenerativas neuronales y/o musculares, enfermedades cardíacas, trastornos endocrinos, trastornos metabólicos, inflamación, enfermedades cardiovasculares, sepsis, angiogénesis, cánceres, la enfermedad de Alzheimer, complicaciones atléticas, y cualesquiera combinaciones de éstos.

60 De interés además son los biomarcadores que están presentes en abundancia variable en uno o más de los tejidos corporales incluyendo el corazón, el hígado, la próstata, los pulmones, los riñones, la médula ósea, la sangre, la piel, la vejiga, el cerebro, los músculos, los nervios y los tejidos seleccionados que se afectan por varias enfermedades, tales como diferentes tipos de cáncer (malignos o no metastásicos), enfermedades autoinmunes, enfermedades inflamatorias o degenerativas.

- De interés además son los analitos indicativos de un microorganismo, un virus, o una Chlamydiaceae. Los microorganismos ilustrativos incluyen pero sin limitarse a bacterias, virus, hongos y protozoos. Los analitos que se pueden detectar por el método sujeto incluyen además patógenos de origen sanguíneo seleccionados a partir de un grupo no limitante que consiste en *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* resistentes a la metilicina (MRSA), *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 se pueden detectar por el método objeto abarcan además una variedad de enfermedades de transmisión sexual seleccionadas a partir de las siguientes: gonorrea (*Neisseria gonorrhoeae*), sífilis (*Treponema pallidum*), clamidia (*Chlamydia trachomatis*), uretritis no gonococales (*Urealyticum Ureaplasma*), infección por levaduras (*Candida albicans*), chancroide (*Haemophilus ducreyi*), tricomoniasis (*Trichomonas vaginalis*), herpes genital (HSV tipo I y II), VIH I, VIH II y la hepatitis A, B, C, G, así como hepatitis causada por TTV.
- Los analitos adicionales que se pueden detectar por los procedimientos objeto abarcan una diversidad de patógenos respiratorios que incluyen pero sin limitarse a *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* resistentes a la metilicina (MRSA), *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*.
- Más abajo 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 de hígado ilustrativos incluyen sin limitarse la LDH, (LD5), (ALT), arginasa 1 (tipo de hígado), alfafetoproteína (AFP), fosfatasa alcalina, alanina aminotransferasa, lactato deshidrogenasa, y bilirrubina. Los marcadores de riñón ilustrativos incluyen sin limitarse a 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 aglutinante de retinol (RBP).
- Los marcadores cardíacos ilustrativos incluyen sin limitarse a troponina I (Tnl), troponina T (TnT), CK, CKMB, mioglobina, proteína aglutinante de 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 (miosina de cadena ligera-I).
- Los marcadores de páncreas ilustrativos incluyen sin limitarse a amilasa, proteína asociada a la pancreatitis (PAP-1), y proteínas regenerativas (REG).
- Los marcadores de tejido muscular ilustrativos incluyen sin limitarse a miostatina.
- Los marcadores sanguíneos ilustrativos incluyen sin limitarse a eritropoyetina (EPO).
- Los marcadores óseos ilustrativos incluyen sin limitarse a, N-telopéptidos entrecruzados de colágeno de hueso tipo I (NTx) telopéptido de entrecruzamiento de carboxiterminal de colágeno óseo, lisil piridinolina (deoxipiridinolina), 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 1 específico de osteoblastos (OSF-1, pleiotrofina), moléculas de adhesión celular solubles, sTfR, sCD4, sCD8, sCD44 y factor 2 específico de osteoblastos (OSF-2, Periostina).
- En algunas modalidades los marcadores de acuerdo con la presente invención son específicos a la enfermedad. Los marcadores de cáncer ilustrativos incluyen sin limitarse a PSA (antígeno específico de próstata total), creatinina, fosfatasa ácida prostática, 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, tirosina quinasa receptora del factor de crecimiento epidérmico, péptido N-terminal 20 de proadrenomedulina, factor de crecimiento endotelial vascular, receptor del factor de crecimiento endotelial vascular, receptor del factor de célula madre, c-kit/KDR, KDR, y midkina.

- 5 Los estados de enfermedades infecciosas incluyen sin limitarse a viremia, bacteremia, sepsis y los marcadores: PMN elastasa, PMN elastasa/complejos al-PI, proteína D surfactante (SP-D), antígeno HBVc, antígeno HBVs, antiHBVc, antiVIH, antígeno de células supresoras T, la relación de células T antígeno, antígeno de células T colaboradoras, antiHCV, pirógenos, antígeno p24, muramil dipéptido.
- 10 Los marcadores de la diabetes ilustrativos incluyen sin limitarse a 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 limitarse a factor reumatoide (FR), anticuerpos antinucleares (ANA), proteína C reactiva (CRP), proteína de célula de Clara (uteroglobina).
- Los marcadores de alergia ilustrativos incluyen sin limitarse a IgE total e IgE específica.
- 15 Los marcadores de autismo ilustrativos incluyen sin limitarse a ceruloplasmina, metalotionina, zinc, cobre, B6, B12, glutatión, fosfatasa alcalina, y activación de la fosfatasa apoalcalina.
- Los marcadores de trastornos de coagulación ilustrativos incluyen sin limitarse a b-Tromboglobulina, factor plaquetario 4, factor de Von Willebrand.
- 20 En algunas modalidades un marcador puede ser específico de una terapia. Los inhibidores de COX incluyen sin limitarse a TxB2 (COX 1), 6-ceto-PGF-1-alfa (COX 2), 11-deshidro-TxB-1a (COX 1).
- 25 Otros marcadores de la presente incluyen sin limitarse a leptina, receptor de leptina, y procalcitonina, proteína S100 del cerebro, sustancia P, 8-iso-PGF-2a.
- Los marcadores geriátricos ilustrativos incluyen sin limitarse a enolasa específica de neuronas, GFAP, y S100B.
- 30 Los marcadores ilustrativos del estado nutricional incluyen sin limitarse a prealbúmina, albúmina, proteína aglutinante de retinol (RBP), transferrina, proteína estimulante de la acilación (ASP), adiponectina, proteína relacionada Agouti (AgRP), proteína 4 tipo angiopoyetina (ANGPTL4, FIAF), péptido C, AFABP (proteína aglutinante de ácidos grasos de adipocitos, FABP4) Proteína estimulante de la acilación (ASP), EFABP (proteína aglutinante de ácidos grasos epidérmicos, FABP5), glicentina, glucagón, péptido 1 tipo glucagón, péptido 2 tipo glucagón, grelina, insulina, leptina, receptor de leptina, PYY, RELM, resistina, y sTfR (receptor de transferrina soluble).
- 35 Los marcadores ilustrativos del metabolismo de los lípidos incluyen sin limitarse a apolipoproteínas (varias), Apo A1, Apo B, Apo C y CII, Apo D, Apo E.
- 40 Los marcadores del estado de coagulación ilustrativos incluyen sin limitarse a 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 de Stuart-Prower, factor XI: antecedente de la tromboplastina en el plasma, factor XII: factor de Hageman, factor XIII: factor estabilizante de la fibrina, precalicreína, quininógeno de alto peso molecular, proteína C, proteína S, dímero D, activador tisular del plasminógeno, plasminógeno, antiplasmina a2, inhibidor 1 del activador del plasminógeno (PAI1).
- 45 Los anticuerpos monoclonales ilustrativos incluyen aquellos para EGFR, ErbB2, e IGF1R.
- 50 Los inhibidores de la tirosina quinasa ilustrativos incluyen sin limitarse a Ab1, Kit, PDGFR, Src, ErbB2, ErbB4, EGFR, EphB, VEGFR1-4, PDGFRb, FLT3, FGFR, PKC, Met, Tie2, RAF y TrkA.
- Los inhibidores de serina/treonina quinasa incluyen sin limitarse a AKT, Aurora A/B/B, CDK, CDK (pan), CDK1-2, VEGFR2, PDGFRb, CDK4/6, MEK1-2, mTOR, y PKC beta.
- 55 Las dianas de GPCR incluyen sin limitarse a receptores de histamina, receptores de serotonina, receptores de angiotensina, adrenorreceptores, receptores de acetilcolina muscarínica, receptores de GnRH, receptores de dopamina, receptores de prostaglandina, y receptores de ADP.
- 60 En la presente se describe 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 tienen utilidad y/o potencial terapéuticos. Tales sustancias incluyen pero sin limitarse a compuestos biológicos o químicos tales como moléculas simples o complejas orgánicas o inorgánicas, péptidos, proteínas (por ejemplo, anticuerpos) o un polinucleótido (por ejemplo, antisentido). Un amplio conjunto de compuestos se puede sintetizar, por ejemplo polímeros, tales como los polipéptidos y los polinucleótidos, y los compuestos orgánicos sintéticos basados en varias estructuras básicas, y estos se pueden incluir además como agentes terapéuticos. Además, varias fuentes naturales pueden proporcionar compuestos para cribado, tales como extractos de plantas o animales, y lo similar. Se debe entender, aunque no siempre se indique explícitamente que el agente se usa solo o en combinación con otro
- 65

agente, que tiene la misma o diferente actividad biológica que los agentes identificados por la criba de la invención. Los agentes y métodos se destinan además a combinarse con otras terapias. Por ejemplo, los medicamentos de moléculas pequeñas se miden frecuentemente por espectrometría de masa lo cual puede ser impreciso. Los ensayos ELISA (basados en anticuerpos) pueden ser mucho más exactos y precisos.

5 Los parámetros fisiológicos incluyen sin limitarse a parámetros tales como la temperatura, la frecuencia/pulso cardíacos, la presión arterial y la frecuencia respiratoria. Los parámetros farmacodinámicos incluyen concentraciones de biomarcadores tales como proteínas, ácidos nucleicos, células, y marcadores de células. Los biomarcadores podrían ser indicativos de enfermedad o podrían ser un resultado de la acción de un medicamento. Los parámetros farmacocinéticos (PK) incluyen sin limitarse a la concentración de medicamentos y de metabolitos de medicamentos. Identificar y cuantificar los parámetros PK en tiempo real a partir de un volumen de muestra es extremadamente deseable para la seguridad y eficacia apropiadas de los medicamentos. Si las concentraciones de los medicamentos y los metabolitos están fuera de un intervalo deseado y/o se generan metabolitos no esperados debido a una reacción no esperada al medicamento, puede ser necesaria una acción inmediata para garantizar la seguridad del paciente. Similarmente, si alguno de los parámetros farmacodinámicos (PD) caen fuera del intervalo deseado durante un régimen de tratamiento, puede tener que tomarse también una acción inmediata.

20 Poder monitorear la velocidad de cambio de la concentración de un analito o los parámetros PD o PK durante un período de tiempo en un solo sujeto, o realizar el análisis de tendencias de la concentración, de los parámetros PD, o PK, ya sean las concentraciones de los medicamentos o sus metabolitos, pueden 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 velocidad de cambio de la concentración de glucosa durante un período determinado de tiempo podría ser de gran utilidad para predecir y evitar, por ejemplo, eventos de hipoglucemia. Tal análisis de tendencia tiene implicaciones beneficiosas masivas en el régimen de dosificación de medicamentos. Cuando se trata de múltiples medicamentos y sus metabolitos, frecuentemente es deseable la capacidad para detectar una tendencia y tomar medidas proactivas.

30 En la presente se describe un método de negocio para ayudar a un médico a proporcionar un tratamiento médico individualizado. Un método de negocio puede comprender el monitoreo posterior a la prescripción de la terapia medicamentosa monitoreando las tendencias de los biomarcadores en el tiempo. El método de negocio puede comprender recolectar al menos un parámetro farmacológico de un individuo que recibe un medicamento, dicha etapa de recolección se efectúa sometiendo una muestra de fluido corporal a los reactivos contenidos en un dispositivo de fluidos, el cual se proporciona a dicho individuo para producir una señal detectable indicativa de dicho al menos un parámetro farmacológico; y realizar referencias cruzadas con la ayuda de una computadora de los registros médicos de dicho individuo con el al menos un parámetro farmacológico de dicho individuo, ayudando de ese modo a dicho clínico a proporcionar el tratamiento médico individualizado.

40 Los dispositivos, sistemas y métodos en la presente permiten la cuantificación automática de un parámetro farmacológico de un paciente, así como también la comparación automática del parámetro con, por ejemplo, los registros médicos del paciente los cuales pueden incluir una historia del parámetro monitoreado, o los registros médicos de otro grupo de sujetos. Acoplar el monitoreo de analito en tiempo real con un dispositivo externo el cual puede almacenar los datos así como también realizar cualquier tipo de procesamiento de datos o algoritmo, por ejemplo, proporciona un dispositivo que puede ayudar en el cuidado típico del paciente que puede incluir, por ejemplo, comparar los datos actuales del paciente con los datos anteriores del paciente. Por ello, se describe en la presente además un método de negocio que realiza eficazmente al menos parte del monitoreo de un paciente que actualmente se realiza por el personal médico.

#### Ejemplo 1

50 En este ejemplo, un dispositivo, un método, y un sistema de la invención se usan para realizar un ensayo para VEGFR2 humano. El ejemplo muestra un tipo de ensayo que se puede realizar en el punto de cuidados. La superficie de captura de una unidad de ensayo se puede recubrir 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 (hecha a partir de poliestireno moldeado por inyección similar al ejemplo en la Figura 3A) se expuso a una sucesión de reactivos de recubrimiento por aspiración y eyección neumática. Veinte microlitros de cada uno de los reactivos de recubrimiento se absorbieron en las unidades de ensayo y se incubaron a temperatura ambiente durante 10 minutos. Los reactivos de recubrimiento usados en este ejemplo son, tal como se usan en sucesión, Neutravidina (20 ug/ml) en tampón 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 3% de albúmina sérica bovina en solución salina tamponada con tris. Después de la sucesión de recubrimientos, las unidades de ensayo se secaron por exposición al aire seco y se almacenaron desecados.

65 Las muestras para el análisis se distribuyen después hacia la unidad de ensayo diluidas en una solución de 50 mM de tampón de tris (pH 8) que contiene albúmina sérica bovina y sacarosa isotónica durante 20 minutos. En una unidad de reactivos que comprende un conjugado, 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 estabilizante de Biostab se proporciona a la unidad de ensayo durante 10 minutos. Después de que se ha permitido al conjugado ligarse con el complejo del analito ligado a la superficie de captura, la unidad de ensayo se lavó con una solución contenida en una unidad de reactivos (tampón de lavado disponible comercialmente de Assay Designs). La unidad de ensayo se lavó 5 veces. Después la unidad de ensayo se movió para recolectar y mezclar con otro reactivo contenido en un reactivo diferente, una solución de un sustrato luminógeno disponible comercialmente para la fosfatasa alcalina (KPL Phosphaglo), y se incubó durante 10 minutos. La reacción del ensayo en la unidad de ensayo se detectó después por un ensamble detector de la invención.

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

#### Ejemplo 2

Un ensayo para PIGF humano se realizó usando las unidades de ensayo y las unidades de reactivos de la invención y se lee en un instrumento comercial. En paralelo, un ensayo usando los mismos reactivos se realizó en cartuchos desechables prototipos (como se describe más abajo) en un lector prototipo. Las concentraciones de analito fueron de 0, 4, 80 y 400 pg/ml respectivamente. Las mediciones ilustradas en la Figura 13 se usaron para calibrar una unidad de ensayo y la unidad de reactivos necesarias para realizar un ensayo para PIGF humano.

#### Ejemplo 3

Las perlas magnetizables tienen 1.3  $\mu\text{m}$  de diámetro de partículas magnéticas BioMag de Bangs Laboratories. Las perlas se recubren (por el fabricante) con antiIgG de conejo. Las perlas se dispersan a 14 mg/ml en sacarosa tamponada con tris (o, alternativamente, solución salina tamponada con tris) que contiene 3% de albúmina sérica bovina y antiIgG de glóbulos rojos humanos de conejo, de CedarLane a  $\geq 1.15$  mg/ml. Alícuotas (10  $\mu\text{l}$  de esta dispersión) se dispensaron en tubos cónicos y se liofilizaron (congeladas en  $\text{N}_2$  líquido y liofilizadas durante aproximadamente 24 horas a  $-70^\circ\text{C}$ ) antes de su inserción en una ranura en la carcasa del cartucho. El anticuerpo de conejo se liga tanto a los glóbulos rojos como a las perlas recubiertas con antiIgG de conejo y forma un coaglutinado de perlas y glóbulos rojos.

El aglomerado de perlas magnetizables liofilizadas se volvió a suspender añadiendo 20  $\mu\text{l}$  de sangre total aspirando y dispensando después al menos 8 veces (aproximadamente 1.5 min) en un tubo cónico.

La sangre se separó colocando la punta (en una orientación vertical) en un campo magnético fuerte, orientado horizontalmente. Por lo general 8  $\mu\text{l}$  de plasma esencialmente libre de glóbulos rojos sin hemólisis observable se recuperó a partir de una muestra de sangre de 20  $\mu\text{l}$  (rendimiento de 70%). La recuperación de los analitos (comparada con el plasma no expuesto a la separación magnética) fue cerca del 100% para la proteína C, VEGF, PIGF, insulina, GIP y GIP-1.

#### Ejemplo 4

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

Se desarrolló un sistema como se describe en la presente que comprende un dispositivo de transferencia de fluidos y un cartucho o dispositivo con disposiciones de unidades de ensayo y de reactivo. Las puntas de ensayo que tienen antiCRP monoclonal ligado a su superficie interior se montaron en el cartucho junto con una solución detectora de anticuerpos (antiCRP monoclonal marcada con fosfatasa alcalina (que tiene una especificidad de epítipo diferente de esa en las puntas), una solución de lavado y un sustrato generador de quimioluminiscencia de fosfatasa alcalina (PhosphaGLO™) de KPL.

Para el ensayo de 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  $\mu\text{l}$ ), el anticuerpo detector (12  $\mu\text{l}$ ) se absorbieron en la punta incubada durante 10 min a  $34^\circ\text{C}$  y después se descartaron. Las puntas se lavaron por cuatro aspiraciones de 20  $\mu\text{l}$  de solución de lavado antes de que los 15  $\mu\text{l}$  de sustrato se aspiraran en las puntas. Después de 10 min a  $37^\circ\text{C}$ , la emisión de luz se midió por el instrumento durante 5 s. La concentración de CRP se graficó frente a la señal del ensayo (conteos de fotones) y los datos se ajustaron a una función polinómica de 5 términos como se muestra más abajo para generar una función de calibración como se muestra en la Figura 14.

#### Ejemplo 5

Después se ejecutó un experimento usando diluciones en serie de una muestra que contiene el analito altamente concentrado para obtener una respuesta del ensayo sin ambigüedades en un sistema y un dispositivo como se describe

en la presente. Las soluciones de CRP (20 ul) se cargaron en cartuchos y se diluyeron en serie por 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 la CRP diluida sobrepasa el intervalo de calibración del ensayo (300 ng/ml), se observó una respuesta descendente (como se muestra más abajo; los datos a partir de dos instrumentos).

La respuesta como se muestra en la Figura 15 se puede modelar usando una modificación de la isoterma de ligado de Scatchard ( $S/S_{max} = C/(C + C_{0.5})$ ). La modificación supone 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 sobrecontaminación de la CRP en la muestra diluida en el siguiente reactivo (anticuerpo detector) reaccionará rápidamente con el reactivo haciéndola incapaz de unirse al antígeno ligado al anticuerpo en fase sólida. La reducción en la concentración efectiva se reduce en proporción a la sobrecontaminación de la CRP y se puede explicar con un factor  $(D - C*f)/D$ .

Por ello,  $S = S_{max} * (C / (C + C_{0.5})) * (D - C*f) / D$ , en donde S es la señal del ensayo,  $S_{max}$  es la señal máxima (correspondiente a cero sobrecontaminación), C es la concentración del analito,  $C_{0.5}$  es la concentración para la mitad de la señal máxima (sin sobrecontaminación), D es la concentración del anticuerpo detector, y f es la fracción de sobrecontaminación.

Los valores usados para ajustar los datos, se derivaron al optimizar cada uno de los cuatro parámetros más abajo usando la técnica de minimización de las diferencias de mínimos cuadrados entre los datos y el ajuste del modelo. Como se puede ver en la Figura 15, se logró un excelente ajuste y los valores de los parámetros  $S_{max}$ ,  $C_{0.5}$  y D (ver la tabla 2) son cercanos a los valores que se pueden estimar a partir de la máxima señal alcanzada, la  $C_{0.5}$  observada y la concentración del anticuerpo detector conocida. Este modelo estimó el grado de sobrecontaminación como 0.034% (3.83E-04 decimal).

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

Parámetro	Valor	Unidades
$S_{max}$	7.24E+05	Conteos
$C_{0.5}$	5.02E+01	ng/ml
D	5.72E+00	ng/ml
f	3.83E-04	

Los datos se pueden ver después 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 que muestra que las diluciones son exactas y precisas como se muestra en la Figura 16.

El modelo como se describe en la presente se puede usar para calcular las respuestas para cualquier dilución dada y establecer los algoritmos para garantizar que la concentración del analito en cualquier punta está 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 ( $B/B_{max}$ ) se grafica frente al logaritmo de la concentración normalizada ( $C/C_{0.5}$ ) para las diluciones relativas: 1:1 (línea continua), 5:1 (línea discontinua) y 25:1 (línea punteada). Las Figuras 18 y 19 ilustran un ejemplo similar a la Figura 17 para diferentes concentraciones normalizadas. Se pueden usar algoritmos de reconocimiento de patrones simples para identificar los datos válidos para las muestras de alta concentración. Por ejemplo, para la mayoría de la respuesta a la dosis, la señal disminuye con la dilución. Cuando la señal para cualquier dilución iguala o excede esa de la dilución siguiente más alta, se rechaza el resultado de la dilución más baja. En otro ejemplo, las concentraciones derivadas usando la función de calibración mostrada en el Ejemplo 4, deben corresponder dentro de alguna imprecisión del sistema con las diluciones conocidas. Si la concentración calculada para una dilución baja es más baja de la que correspondería con esas para las diluciones más altas, se puede rechazar el resultado de la dilución más baja.

Cuando la respuesta a la dosis del ensayo se aproxima a un máximo, la pendiente de la concentración ( $\Delta C/\Delta S$ ) frente a la señal aumenta. Para los ensayos en los cuales la variación relativa de la señal ( $\Delta S/S$ ) es prácticamente constante (por ejemplo algunos casos del sistema como se describe) esto se traduce en una variación más grande en el resultado de la concentración calculada a concentraciones más altas. Como se proporciona en la presente, la dilución o la dilución en serie pueden proporcionar una precisión de la concentración como se logra por inmunoensayos a niveles de señal significativamente mayores (por ejemplo, > 10 veces) más altos que la señal en blanco (cero analito) pero no cerca de la señal máxima (por ejemplo, < 0.3\*Máx. señal). La dilución en serie puede permitir que la señal del ensayo se encuentre en este intervalo.

Al hacer varias estimaciones de la concentración del analito a partir de diferentes diluciones, se puede obtener un valor medio. Un valor medio se puede lograr además haciendo mediciones repetidas en un solo nivel de dilución. En algunos casos, un método de dilución en serie como los ofrecidos por los métodos, sistemas, y el dispositivo descritos en la

presente pueden eliminar frecuentemente los errores debidos a la no linealidad de la dilución debido a (por ejemplo) los efectos de la matriz a partir de la muestra.

#### Ejemplo 6

La fluoresceína es un producto químico bien conocido y los anticuerpos de alta afinidad se conocen que son específicos para la molécula. Al unir varias porciones de fluoresceína a una proteína tal como albúmina, se crea un analito artificial que se puede medir por ELISA. El ejemplo en la presente se configura en una placa de microtitulación para mostrar la viabilidad de tal ensayo y es fácilmente trasladable a un dispositivo o sistema de la invención como se describe en la presente.

El anticuerpo monoclonal antifluoresceína se unió a los pocillos de placas de microtitulación de 384 pocillos para crear una superficie de captura. Un ensayo se realiza añadiendo una serie de soluciones a los pocillos e incubando a temperatura ambiente durante 10 min en cada etapa cuando sea necesario. 30 ul de concentraciones conocidas de una preparación disponible comercialmente de albúmina bovina marcada con fluoresceína (muestra) con una relación de aproximadamente cinco fluoresceínas por molécula se añadieron a los pocillos. Después de la eliminación mecánica de la muestra, 30 ul de antifluoresceína marcada con fosfatasa alcalina (anticuerpo detector) se añadieron a una concentración de 100 ng/ml. Después de la eliminación del anticuerpo detector, los pocillos se lavaron tres veces con 40 ul de solución de lavado ("tampón de lavado" Cat# 80-1351 [Assay Designs, Ann Arbor, Michigan] diluido 1:20 antes de su uso). El sustrato de PhosphaGLO™ (40 ul) se añadió después y la respuesta del ensayo se leyó después en un espectroluminómetro M5 durante 0.5 s. La respuesta del ensayo se muestra en la Figura 20.

La albúmina marcada con fluoresceína (5 ul a varias concentraciones hasta 80 ng/ml) disuelta en solución salina tamponada con Tris que contenía albúmina bovina a 3 mg/ml (tampón) se colocó en tubos de polipropileno y se secó por la exposición al aire de baja humedad durante la noche. El secado completo se verificó pesando muchos tubos antes y después del secado y verificando la pérdida adecuada de peso y se logró un peso final casi constante. El analito se recuperó añadiendo 5 ul de agua, 20 ul de suero humano y 180 ul de tampón y mezclando. Los experimentos de control se hicieron mezclando alícuotas de 5 ul de la solución del analito con 20 ul de suero y 180 ul de tampón.

La recuperación del analito se midió usando el ensayo como se describe en la presente. Como se muestra más abajo, la recuperación de la señal del ensayo (y el analito) es prácticamente cuantitativa en todas las concentraciones. Puede ser deseable tener una buena recuperación (> 90%), que sea precisa (< 2% de CV en la recuperación). En algunos casos, la respuesta a la dosis del ensayo es lineal sobre el intervalo de interés por tener una baja concentración del analito y un exceso de los reactivos. Por ejemplo, una respuesta a la dosis del ensayo lineal se puede lograr teniendo capacidad suficiente para unir antígenos en la superficie de captura de tal manera que incluso en el nivel más alto de analito sólo una proporción moderada (por ejemplo, < 30%) de los sitios se ocupan al final de la reacción de unión. Como se describe en la presente, para los analitos en el intervalo de ng/ml y los ensayos con tiempos de incubación cortos (es decir, < 30 min) esta condición se logra con superficies de captura recubiertas como se describió previamente. En otro ejemplo, es suficiente la concentración del anticuerpo detector de tal manera que la concentración no se agote de manera significativa 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 se puede satisfacer por el uso de concentraciones de anticuerpo detector de aproximadamente 5 a 100 ng/ml. En aún otro ejemplo, una respuesta a la dosis del ensayo lineal se puede lograr haciendo el desarrollo de una señal inferior a la respuesta lineal del detector (por ejemplo, un PMT con hasta aproximadamente 4 millones de fotones por segundo). Como se describe en la presente, los sistemas y métodos pueden caer dentro de este intervalo. En aún otro ejemplo, una respuesta a la dosis del ensayo lineal se puede lograr al desarrollar una señal suficientemente alta como para medirla con precisión (por ejemplo, velocidades de conteo de fotones mayores de aproximadamente 1,000 por segundo).

Las puntas de ensayo (como se describe en la presente) se recubrieron por la aspiración de la siguiente sucesión de reactivos: 20 ul de antifluoresceína de conejo a 5 ug/ml (Molecular Probes # A6413) en tampón de carbonato a pH 9, 20 ul de albúmina bovina al 3% en solución salina tamponada con tris a pH 8, y 20 ul de albúmina bovina a 2.5 ug/ml marcada con fluoresceína (Sigma-Aldrich A9771), cada una seguida por incubación durante 10 min y la eyección del líquido. Las puntas se lavaron después tres veces por aspiración de albúmina bovina en solución salina tamponada con tris a pH 8 seguido de incubación de albúmina bovina al 3% en solución salina tamponada con tris a pH 8. Las puntas se secaron después como se describe en la presente. Estas puntas se usaron para las muestras de ensayo que contenían antifluoresceína de cabra por incubación de alícuotas de 20 ul de las siguientes soluciones en secuencia: antifluoresceína de cabra (la muestra) en solución salina tamponada con tris a pH 8 que contenía BSA al 3%, antifluoresceína de cabra de conejo marcada con fosfatasa alcalina a 100 ng/ml en Stabilzyme™ (un disolvente disponible comercialmente), lavando cuatro veces con tampón de lavado, y PhosphaGLO™ sustrato generador de quimioluminiscencia de fosfatasa alcalina, cada uno con una incubación a temperatura ambiente durante 10 min. El ensayo se evaluó midiendo los fotones producidos durante aproximadamente 10 s en el instrumento usando un tubo fotomultiplicador en el luminómetro Molecular Devices M5 colocando cada punta en un marco modificado a la medida que se ajusta a la base de placa de microtitulación del instrumento y los resultados se muestran en la Figura 21. En este ejemplo, la Figura 21 muestra una respuesta lineal similar a esa en la Figura 20.

Tabla 2: Configuraciones de ensayos para analitos de control candidatos

Reactivo 1 de superficie de captura	Reactivo 2 de superficie de captura	Analito	Detector: marcado con APasa
Antifluoresceína		Albúmina marcada con fluoresceína	Antifluoresceína
Antifluoresceína	Albúmina marcada con fluoresceína	Antifluoresceína (especies X)	Ig Anti X
Avidina		IgG especies X biotinilada	Ig Anti X
Antibiotina	Albúmina marcada con biotina		Antibiotina o estreptavidina
Antidigoxina	Albúmina marcada con digoxina		Antidigoxina
Albúmina marcada con fluoresceína		Antifluoresceína (especies X)	Ig Anti X
Antibiotina	Antifluoresceína biotinilada	Antifluoresceína (especies X)	Ig Anti X

## Ejemplo 7

5 Este ejemplo ilustra la previsibilidad de la respuesta a partir de un inmunoensayo para la CRP usando puntas de ensayo como se describe en la presente siguiendo la adición inicial de los reactivos, eliminar el producto de reacción, lavando las puntas después de reintroducir algunos o todos los componentes del ensayo. La secuencia del ensayo fue: las puntas se incubaron en instrumentos prototipos a 34 C durante 10 min en sucesión con (1) muestra (CRP a 0.3, 3, 30, 150 y 300 ug/ml), diluida por el instrumento 500 después 2000 veces (2) antiIgG de cabra de conejo marcada con fosfatasa alcalina ["Dab"] (5 ng/ml) lavada después tres veces y (3) con PhosphaGLO™ sustrato generador de quimioluminiscencia de fosfatasa alcalina ["Sustrato"]. El experimento se realizó en varios instrumentos los cuales leen además la velocidad de producción de protones durante 10 segundos después de la etapa 3. Las concentraciones finales (en la punta) de CRP fueron 0.15, 0.6, 1.5, 6, 15, 60, 75, 300 y 600 ng/ml y los niveles de brillo variaron de 2,000 a 600,000 conteos/0.5 seg. En algunos experimentos, después de la etapa (3) en el ensayo, el producto de reacción se descartó y de varias maneras las etapas 3 (diamantes y línea continua), las etapas 2 + 3 (cuadrados y línea discontinua), o las etapas 1 + 2 + 3 (triángulos y línea de puntos) se repitieron y los resultados se presentan como la señal del ensayo reprocesado frente a la señal del ensayo original como se muestra en la Figura 22.

20 Las señales del ensayo reprocesado se relacionaron linealmente (proporcional) a la señal del ensayo original. La segunda adición del sustrato dio una señal más alta con relación al original mientras que los ensayos reprocesados en los cuales la Dab y el sustrato se introdujeron ambos o aquellos donde la muestra, la Dab y el sustrato se reintrodujeron todos dieron señales más bajas que el original. En un ejemplo que usa este método, todas las etapas en una secuencia de ensayo se pueden examinar por el control de calidad para entender si transcurrieron como se esperaba de acuerdo con la relación esperada entre la primera y las repeticiones subsiguientes de las etapas del ensayo.

25 Por ejemplo como se describe en la presente, si una etapa del ensayo no ha transcurrido correctamente, entonces el resultado del ensayo se puede o bien rechazar como incorrecto o se pueden usar las iteraciones posteriores del resultado del ensayo como la respuesta apropiada del ensayo.

30 Un inmunoensayo para la proteína C reactiva se realizó en un sistema como se describe en la presente. Seis puntas de ensayo equivalentes se incubaron en sucesión con la muestra (200 ng/ml de CRP), antiIgG de cabra de conejo marcada con fosfatasa alcalina se lavó después y se incubó con PhosphaGLO™ sustrato generador de quimioluminiscencia de fosfatasa alcalina. Las incubaciones se hicieron durante 10 min a 34 C. El experimento se realizó en tres instrumentos los cuales además leen la velocidad de producción de protones durante 10 segundos. En promedio se detectaron aproximadamente 40,000 conteos (fotones) por 0.5 segundos de tiempo de lectura. En este ejemplo, el nivel de brillo en las puntas uno y dos en el instrumento tres dio claramente resultados diferentes como se muestra en la Tabla 3. El instrumento se usó después para lavar las puntas y para introducir sustrato fresco PhosphaGLO™ (aspiración 2). Los resultados se presentan como relaciones del índice de brillo para cada punta al promedio para 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 indicando que cualquier problema que haya sido responsable de la señal baja en las puntas uno y dos se había rectificado.

Tabla 3: Recuperación de la señal adecuada de puntas que funcionan mal

	Señal, relación al promedio			
Instrumento #	1	2	3	3
Aspiración #	1	1	1	2
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 cartucho para la detección automatizada de un analito en una muestra de fluido corporal que comprende:
- 5 una disposición de unidades de ensayo direccionables configurada para ejecutar una reacción química que produce una señal detectable indicativa de la presencia o ausencia del analito; y  
una disposición de unidades de reactivos direccionables, en donde una unidad de reactivos direccionable individual de la disposición se direcciona para corresponder a una unidad de ensayo direccionable individual de la disposición de unidades de ensayo, en donde la unidad de reactivos individual se configura para calibrarse en referencia a la unidad de ensayo individual correspondiente antes de ensamblar las  
10 disposiciones en el cartucho, y en donde la unidad de ensayo individual de la disposición de unidades de ensayo direccionables y la unidad de reactivos individual de la disposición de unidades de reactivos direccionables se configuran para ser móviles en comunicación continua de tal manera que los reactivos para ejecutar la reacción química se ponen en contacto con la porción de la muestra en la unidad de ensayo.
- 15 2. El cartucho de la reivindicación 1 en donde:
- (a) la unidad de reactivos individual se configura para recibir una unidad de ensayo móvil;  
(b) la unidad de ensayo individual comprende una punta de ensayo;  
(c) la unidad de ensayo individual se configura para ejecutar un inmunoensayo; o  
20 (d) la muestra de fluido corporal es una muestra de sangre.
3. El cartucho de la reivindicación 1 que comprende además:
- (a) una unidad de recolección de muestras configurada para:  
25 (i) recibir la muestra de fluido corporal;  
(ii) recibir un volumen de la muestra de fluido corporal de aproximadamente 50 microlitros o menos; o  
(iii) recibir un volumen de la muestra de fluido corporal que es una única gota de sangre; o
- 30 (b) 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 opcionalmente en donde la muestra de fluido corporal es una muestra de sangre total y la porción es plasma;
4. Un sistema para la detección automatizada de un analito en una muestra de fluido corporal que comprende:
- 35 a. un cartucho de la reivindicación 1; y  
b. un ensamble de detección:
- (i) para detectar la señal detectable indicativa de la presencia o ausencia del analito;  
40 (ii) configurado para detectar las intensidades de la señal llevada dentro del intervalo detectable por dilución de la muestra de fluido corporal;  
(iii) configurado para detectar las intensidades de la señal por encima de aproximadamente 1000 a aproximadamente 1 millón de conteos por segundo usando un fotomultiplicador.
- 45 5. El sistema de la reivindicación 4 que comprende además:
- (a) un dispositivo mecánico programable configurado para mover la unidad de ensayo individual a partir de un primer lugar hacia un segundo lugar;  
50 (b) un ensamble de comunicación para transmitir un protocolo basado en el analito a detectar;  
(c) un bloque de calentamiento configurado para recibir la unidad de ensayo individual; o  
(d) un bloque magnético.
6. El sistema de la reivindicación 4 que comprende además un dispositivo de transferencia de fluidos en donde el dispositivo de transferencia de fluidos:
- 55 (a) es una pipeta, y opcionalmente en donde la pipeta es una pipeta de desplazamiento de aire;  
(b) se automatiza; o  
(c) 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 comprende un procesador programable  
60 configurado para dirigir la transferencia de fluido de la muestra de fluido corporal a partir de una unidad de recolección de muestras y el reactivo a partir de la unidad de reactivos individual hacia la unidad de ensayo individual;  
y opcionalmente

- (i) en donde la configuración del procesador para dirigir la transferencia de fluidos realiza un grado de dilución de la muestra de fluido corporal en la disposición de unidades de ensayo para llevar a un intervalo detectable las señales indicativas de la pluralidad de analitos que se detectan, de tal manera que dicha pluralidad de analitos son detectables con dicho sistema; o
- 5 (ii) en donde el dispositivo de transferencia de fluidos comprende además un motor en comunicación con el procesador programable.
7. El sistema de la reivindicación 4, en donde:
- 10 (a) la muestra de fluido corporal comprende al menos dos analitos que están presentes en concentraciones que difieren en al menos 2 órdenes de magnitud;
- (b) la muestra de fluido corporal comprende al menos dos analitos que están presentes en concentraciones que difieren en al menos 5 órdenes de magnitud;
- 15 (c) un grado de dilución de la muestra de fluido corporal lleva las señales indicativas de los al menos dos analitos dentro del intervalo detectable;
- (d) la muestra de fluido corporal es menos de aproximadamente 50 ul;
- (e) la muestra de fluido corporal es una única gota de sangre;
- (f) un cabezal individual de un dispositivo de transferencia de fluidos se configura para adherirse a la unidad de ensayo individual;
- 20 (g) dicha unidad de ensayo individual proporciona un sitio de reacción de inmunoensayo; o
- (h) dicha unidad de ensayo individual es una punta de pipeta.
8. Un método para detectar un analito en una muestra de fluido corporal recolectada a partir de un sujeto que comprende:
- 25 a. proporcionar una muestra de fluido corporal al cartucho de la reivindicación 1;
- b. permitir que dicha muestra reaccione dentro de al menos una unidad de ensayo; y
- c. detectar dicha señal detectable generada a partir de dicho analito recolectado en dicha muestra de fluido corporal.
- 30 9. El método de la reivindicación 8, en donde la muestra de fluido corporal es sangre y el método comprende además recuperar el plasma a partir de la sangre.
10. Un sistema para la detección automatizada de un analito en una porción de plasma de una muestra de sangre total, que comprende:
- 35 a. un cartucho de la reivindicación 1, donde dicho cartucho se configura además para recibir y procesar automáticamente la muestra de sangre total para producir la porción de plasma, a partir de la cual una señal detectable indicativa de la presencia o ausencia del analito de interés se genera a bordo del cartucho;
- 40 y
- b. un ensamble de detección para detectar la señal detectable indicativa de la presencia o ausencia del analito.
11. Un método para el ensamble a demanda de un cartucho de la reivindicación 1, en donde el cartucho comprende una carcasa, dicho método que comprende:
- 45 (i) colocar de acuerdo con el analito a detectar la disposición de unidades de ensayo direccionables, en donde la unidad de ensayo individual de la disposición se configura para ejecutar una reacción química que detecta un analito de interés ordenado por dicho usuario final, en la carcasa;
- 50 (ii) colocar de acuerdo con el analito a detectar la disposición de unidades de reactivos, en la carcasa; y
- (iii) asegurar las disposiciones de (i) y (ii) dentro de la carcasa del cartucho.
12. El método de la reivindicación 11 que comprende además:
- 55 (a) seleccionar un analito a detectar;
- (b) sellar el cartucho; o
- (c) etiquetar el cartucho con una etiqueta legible que indica el analito a detectar, y opcionalmente en donde la etiqueta legible es un código de barras o una RFID.
- 60 13. Un método para la detección automatizada de una pluralidad de analitos en una muestra de fluido corporal recolectada a partir de un sujeto, que comprende:
- 65 a. proporcionar la muestra de fluido corporal al cartucho de la reivindicación 1;
- b. acoplar la unidad de ensayo individual usando un dispositivo de transferencia de fluidos;
- c. transferir la muestra de fluido corporal a partir de una unidad de recolección de muestras hacia la unidad de ensayo individual usando el dispositivo de transferencia de fluidos; y

d. transferir un reactivo a partir de la unidad de reactivos individual hacia la unidad de ensayo individual, haciendo reaccionar de ese modo el reactivo con la muestra de fluido corporal para producir la señal indicativa del analito individual de la pluralidad de analitos a detectar.

5 **14.** El método de la reivindicación 13, en donde:

10 (a) 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 fluido 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, que comprende opcionalmente además proporcionar instrucciones para el procesador programable, en donde opcionalmente las instrucciones dirigen la etapa de transferir la muestra de fluido corporal hacia la unidad de ensayo individual;

15 (b) la etapa de transferir la muestra de fluido corporal efectúa un grado de dilución de la muestra de fluido corporal en la unidad de ensayo individual para llevar dentro de un intervalo detectable la señal indicativa del analito individual de la pluralidad de analitos que se detecta;

20 (c) la muestra de fluido corporal comprende al menos dos analitos individuales que están presentes en concentraciones que difieren en al menos 2 órdenes de magnitud;

(d) la muestra de fluido corporal comprende al menos dos analitos individuales que están presentes en concentraciones que difieren en al menos 5 órdenes de magnitud;

(e) 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;

25 (f) el grado de dilución de la muestra de fluido corporal se detecta con un fotomultiplicador y los al menos dos analitos individuales están en un intervalo de aproximadamente 1000 a aproximadamente 1 millón de conteos por segundo;

(g) la muestra de fluido corporal es menos de aproximadamente 50 ul;

(h) la muestra de fluido corporal es una única gota de sangre; o

30 (i) el reactivo en la unidad de reactivos individual es un sustrato enzimático para un inmunoensayo, que comprende además opcionalmente repetir la etapa de transferir el reactivo a partir de la unidad de reactivos individual después de completar la reacción para producir la señal indicativa del analito individual de la pluralidad de analitos a detectar, creando de ese modo una segunda reacción para producir una segunda señal indicativa del analito individual, y opcionalmente en donde una intensidad de la señal y una segunda intensidad de la segunda señal indicativa del analito individual se promedian para calcular la intensidad final de la señal indicativa del analito individual.

35 **15.** Un método para medir un volumen de una muestra de un fluido biológico recolectada a partir de un sujeto, que comprende:

40 a. hacer reaccionar una cantidad conocida de un analito de control en dicha muestra con un reactivo para producir una señal detectable indicativa de la cantidad del analito de control, en donde dicha etapa de reacción se produce en un cartucho de la reivindicación 1; y

45 b. comparar dicha señal detectable con una señal detectable esperada, en donde la señal esperada es indicativa de un volumen esperado de la muestra, y en donde dicha comparación proporciona una medición de dicho volumen de dicha muestra que se mide;

opcionalmente que comprende además:

50 (a) verificar el volumen de dicha muestra cuando la medición del volumen de la muestra está dentro de aproximadamente 50% del volumen esperado de la muestra;

(b)

55 (i) hacer reaccionar dicha muestra que contiene un analito diana con un reactivo para producir una señal detectable indicativa del analito diana; y

(ii) medir la cantidad de analito diana en la muestra basado en dicha señal detectable indicativa del analito diana y la medición de dicho volumen de dicha muestra líquida; o (c)

60 (i) mezclar la muestra en presencia de las partículas magnetizables en una unidad de recolección de muestras, en donde las partículas magnetizables comprenden una superficie de captura de anticuerpos para aglutinar porciones que no pertenecen al plasma de la muestra; y

(ii) aplicar un campo magnético por encima de un área de recolección de plasma a la muestra mezclada para efectuar la suspensión de las porciones que no pertenecen al plasma de la muestra en la parte superior de la zona de recolección de plasma, en donde opcionalmente

65 (1) la muestra es una muestra de sangre;

(2) la unidad de recolección de muestras es un tubo capilar;

- (2) la muestra es menos de aproximadamente 50 microlitros;
- (3) el plasma recuperado es menos de aproximadamente 10 microlitros;
- (4) la muestra no se diluye;
- (5) la mezcla se produce en presencia de anticuerpos no unidos a una superficie sólida;
- (6) la mezcla comprende mezclar por la acción de una jeringa; o
- (7) el método se lleva a cabo en un sistema de la reivindicación 4 u 8; o

5

(d) transmitir el resultado de la comparación hacia un usuario final, y en donde opcionalmente el resultado se transmite de manera inalámbrica; y en donde opcionalmente:

10

(a) el analito de control normalmente no está presente en dicha muestra en una cantidad detectable;

(b) una muestra líquida y la muestra de fluido corporal son la misma muestra;

(c) el analito de control no reacciona con un analito diana en la muestra de fluido corporal;

(d) una muestra líquida y la muestra de fluido corporal son muestras líquidas diferentes;

15

(e) el analito de control se selecciona a partir del grupo que consiste en: albúmina, fluoresceína, IgG, proteína C, albúmina marcada con fluoresceína, IgG marcada con fluoresceína, antifluoresceína, antidigoxigenina, albúmina marcada con digoxigenina, IgG marcada con digoxigenina, proteínas biotiniladas, e IgG no humana;

(f) la reacción es un inmunoensayo;

20

(g) la reacción es un ELISA; o

(h) el método se lleva a cabo en un sistema de la reivindicación 4 u 8.

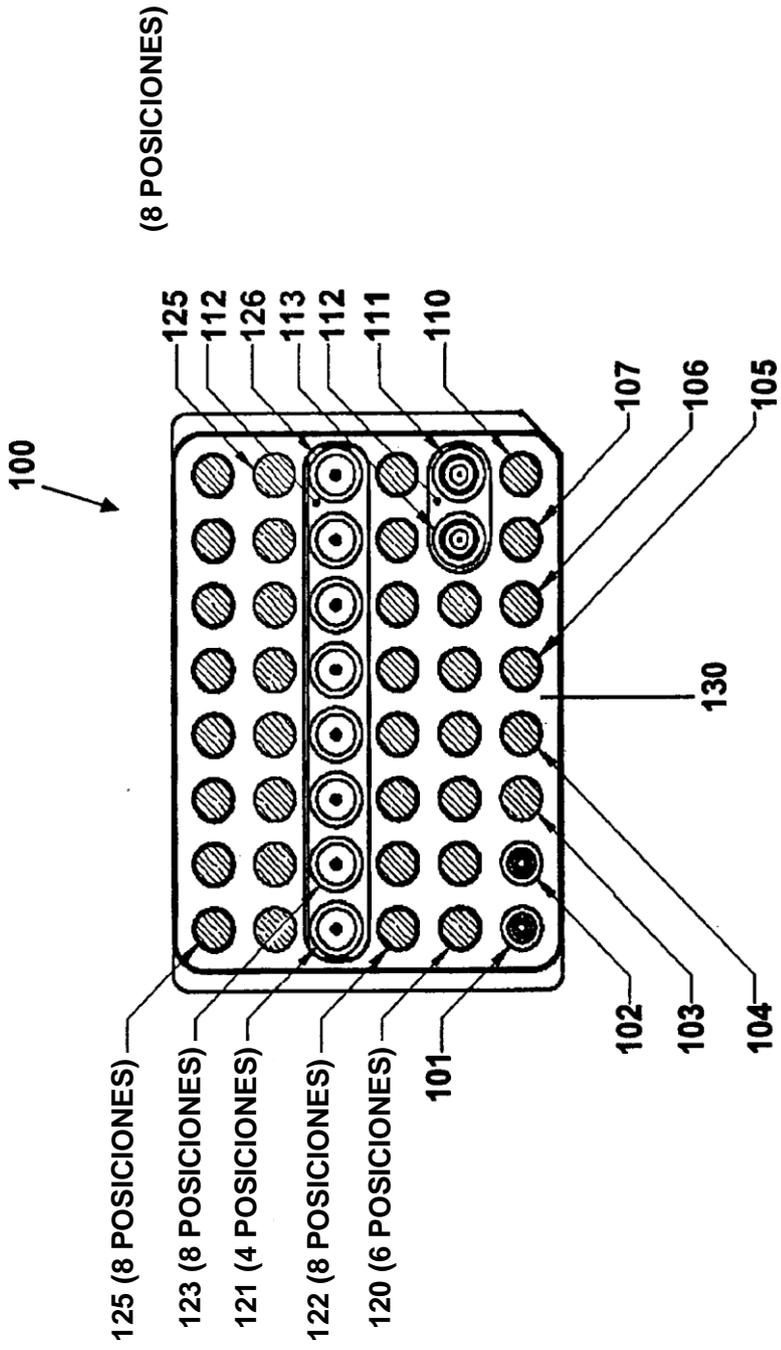


FIGURA 1

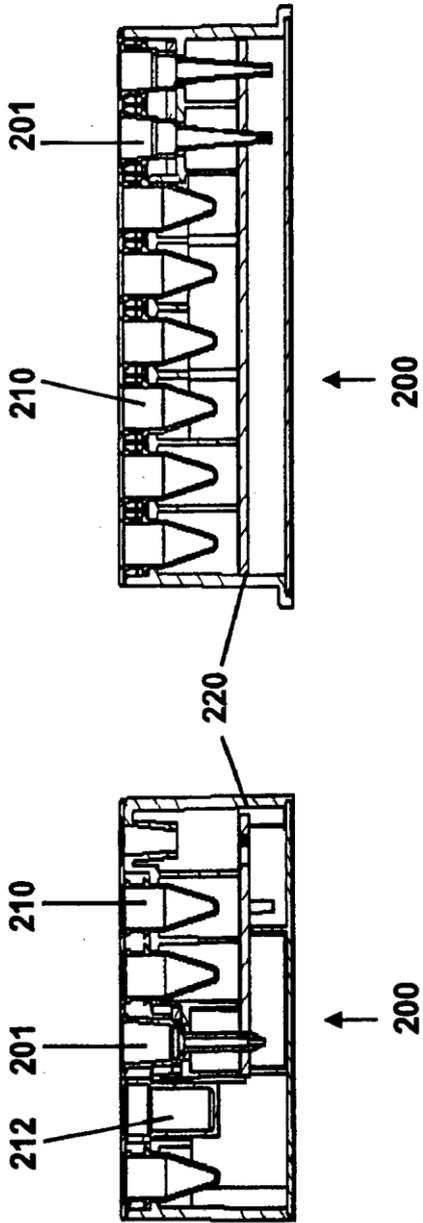
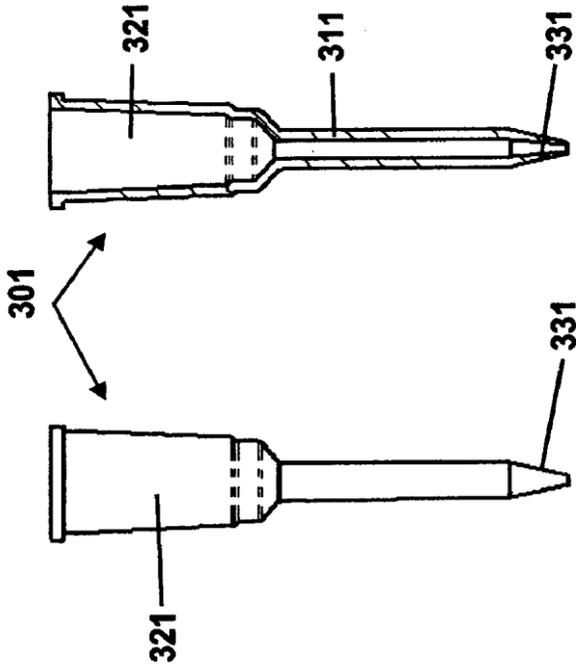
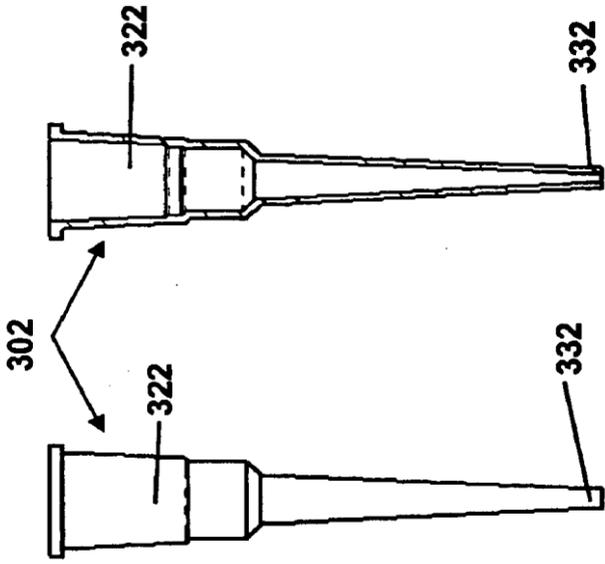


FIGURA 2



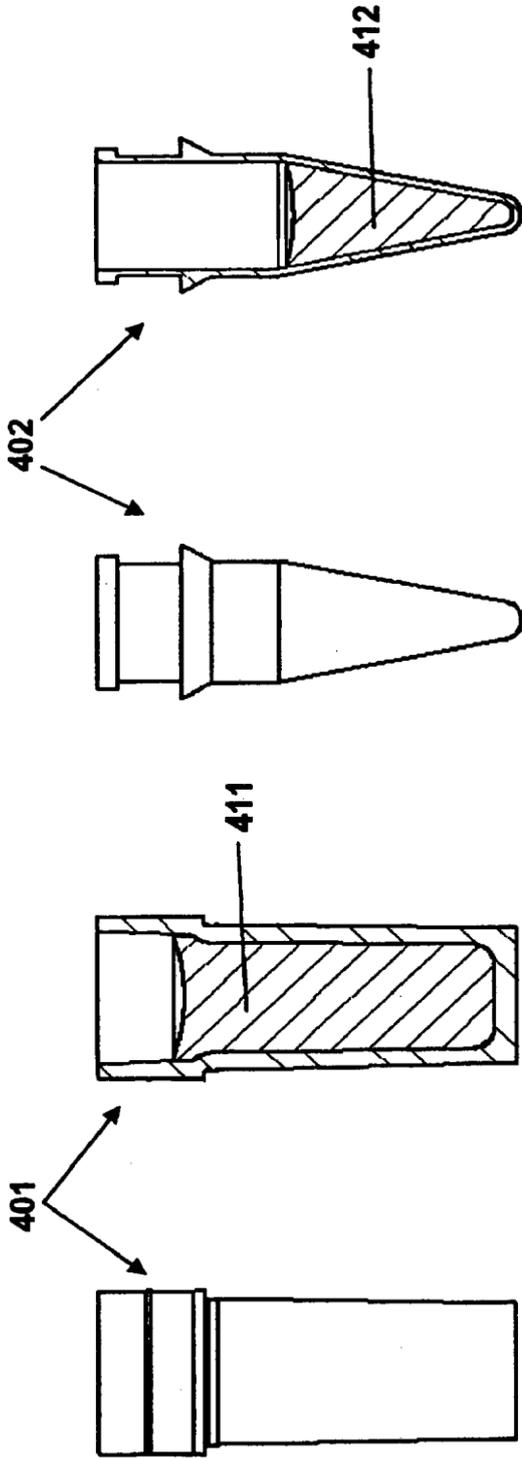


FIGURA 4A

FIGURA 4B

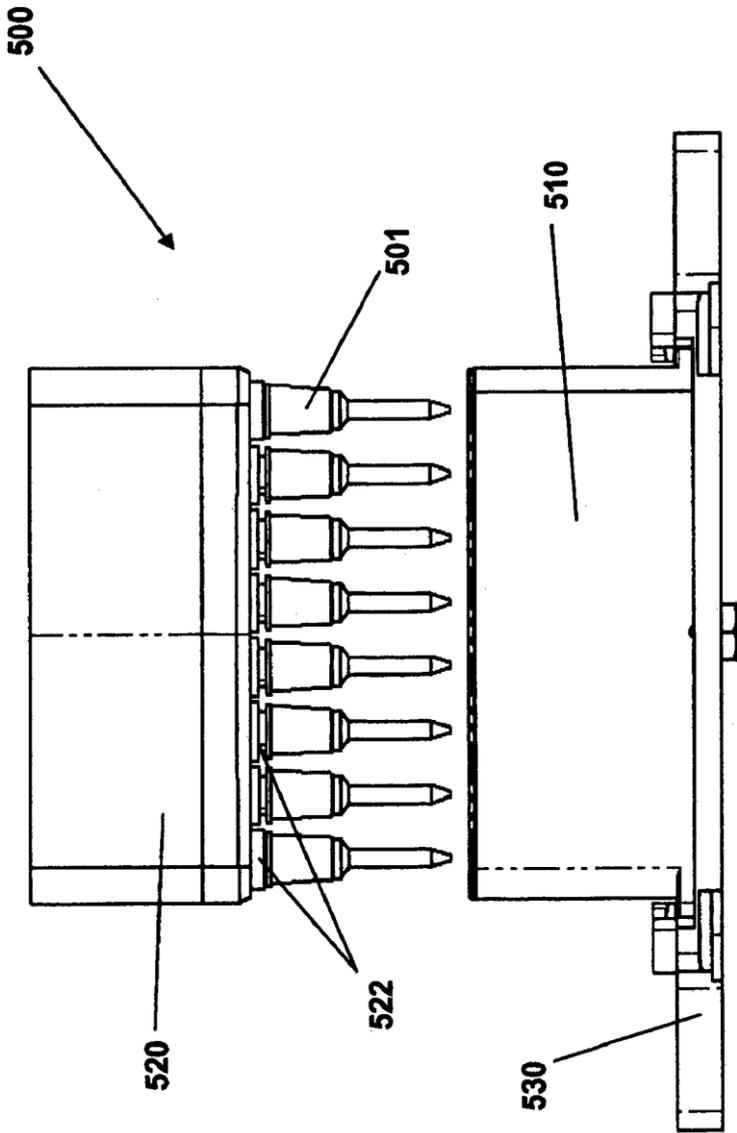


FIGURA 5

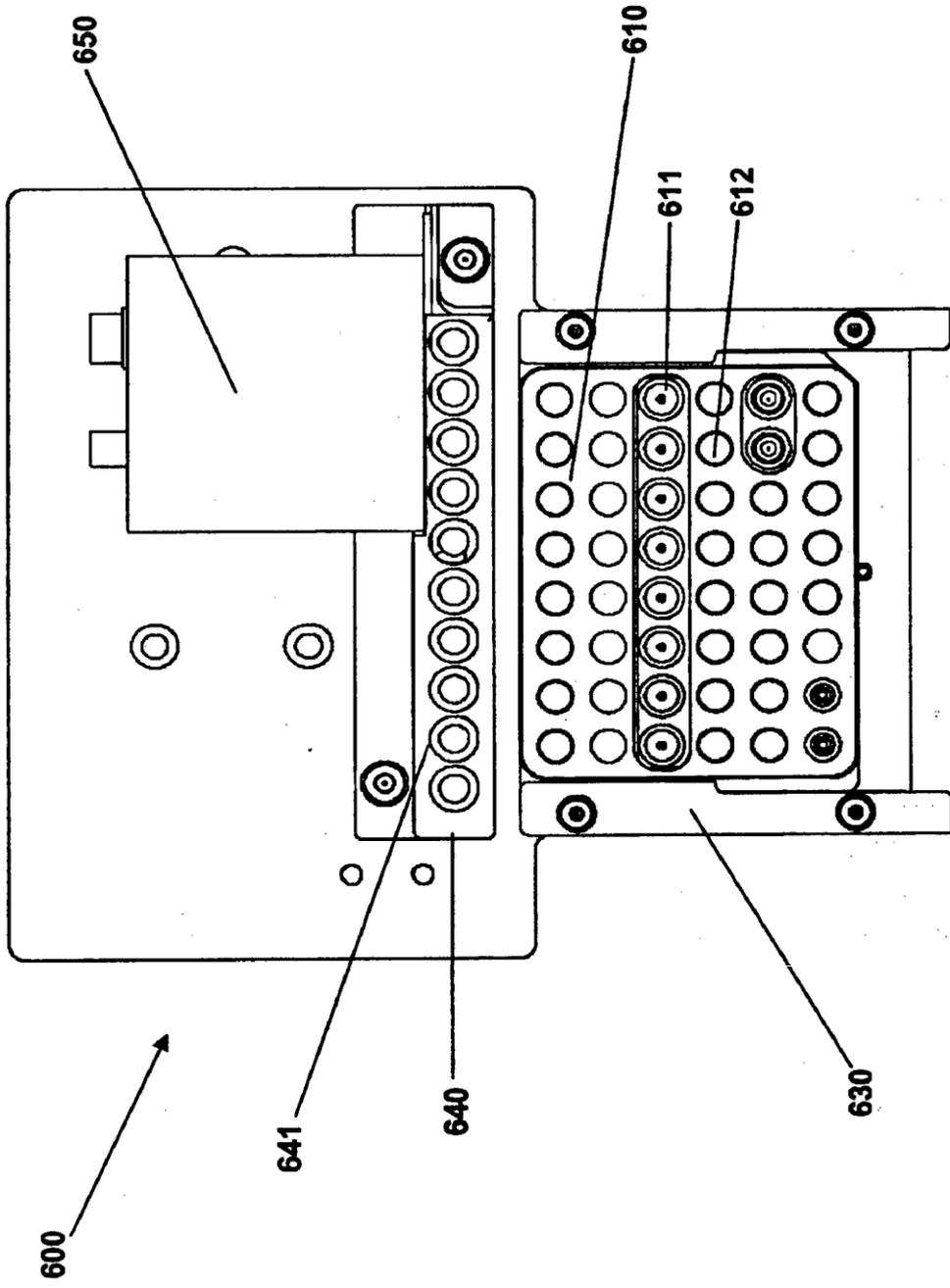
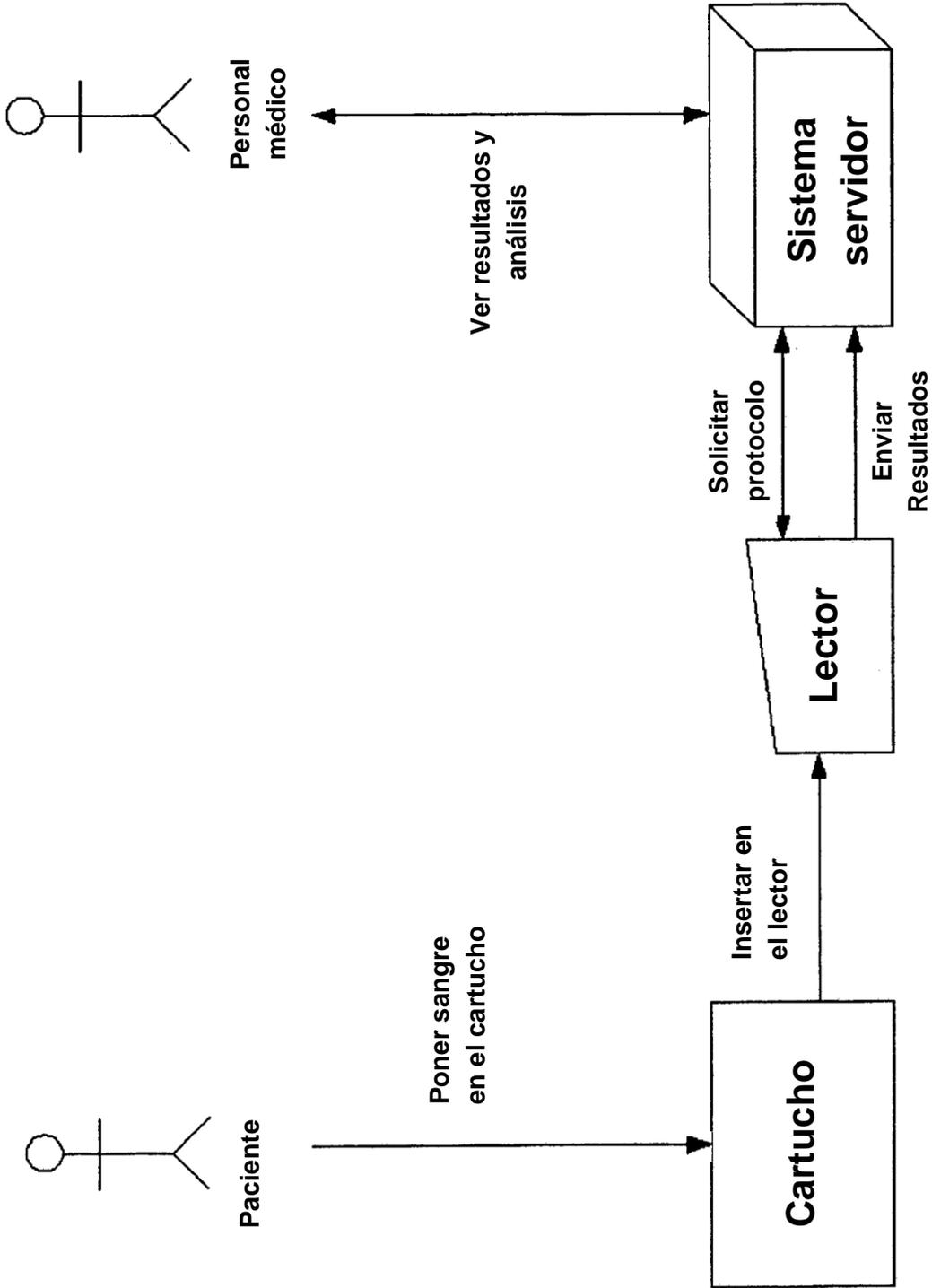
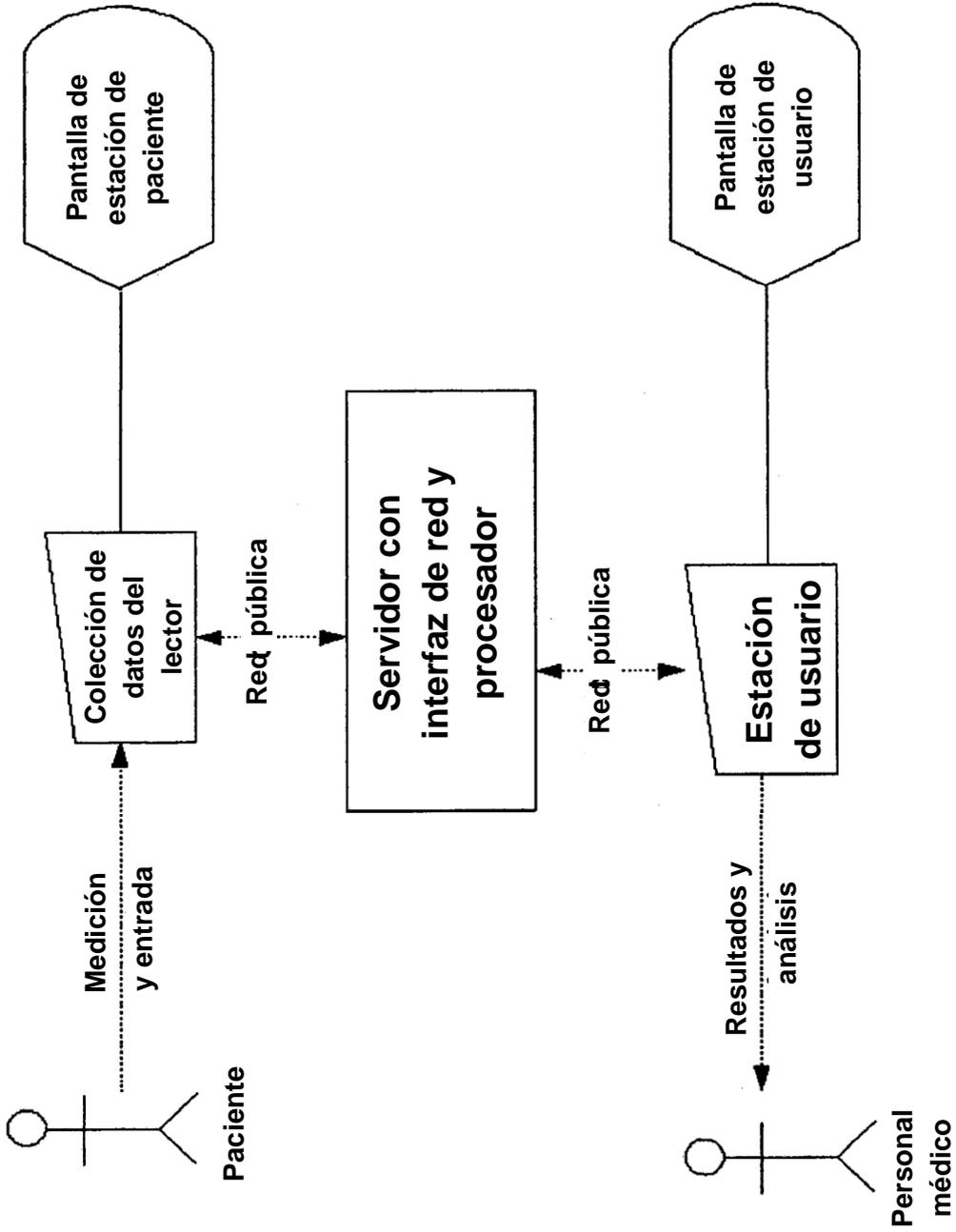


FIGURA 6



**FIGURA 7**



**FIGURA 8**

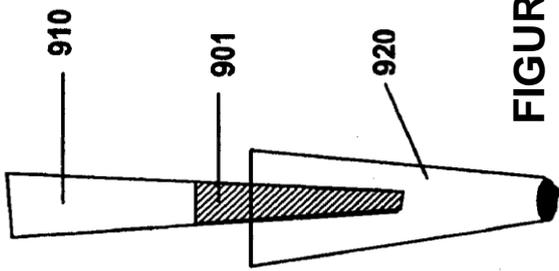


FIGURA 9A

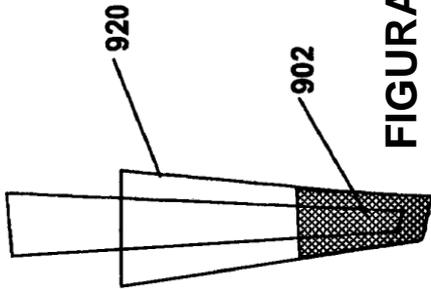


FIGURA 9B

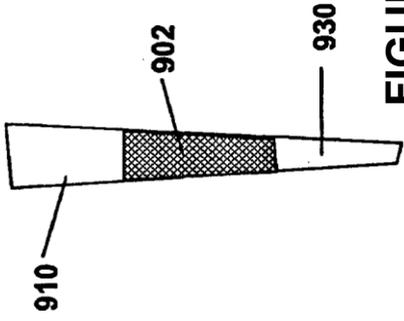


FIGURA 9C

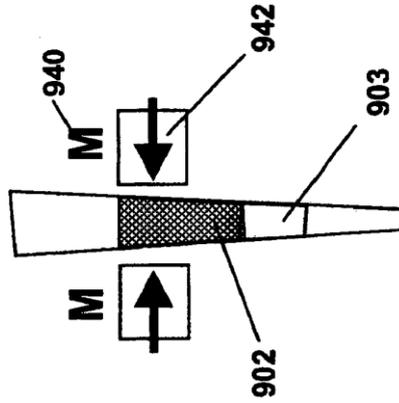


FIGURA 9D

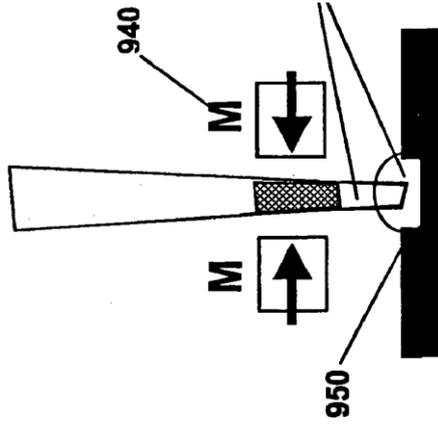


FIGURA 9E

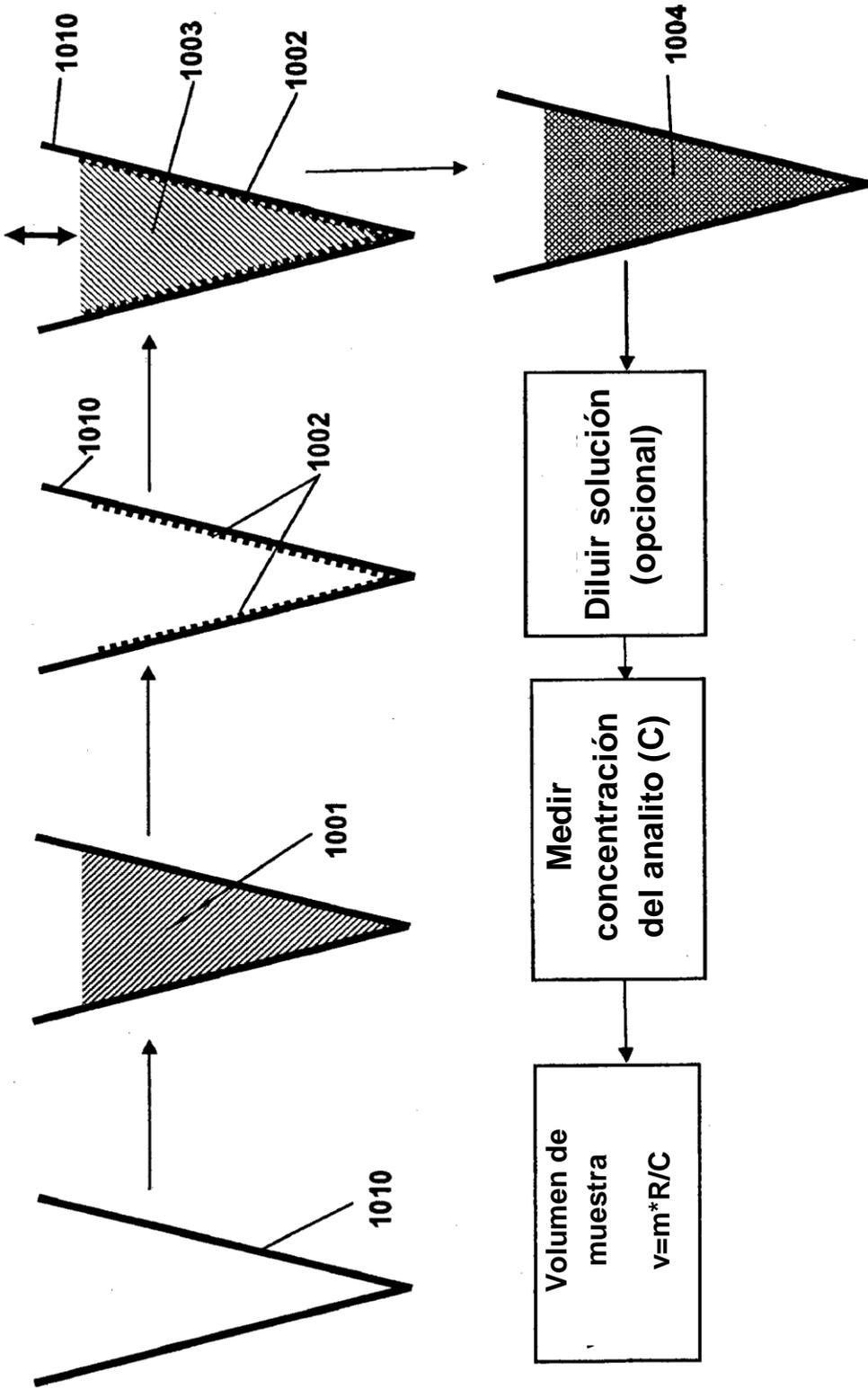


FIGURA 10

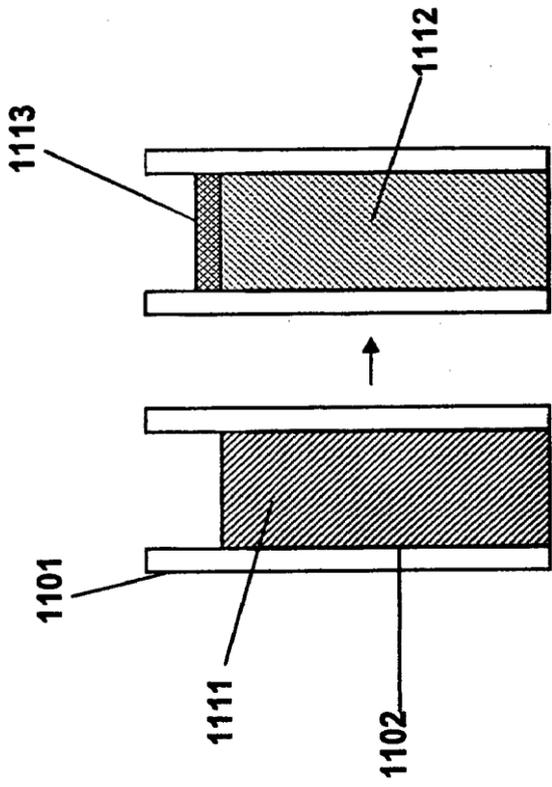


FIGURA 11

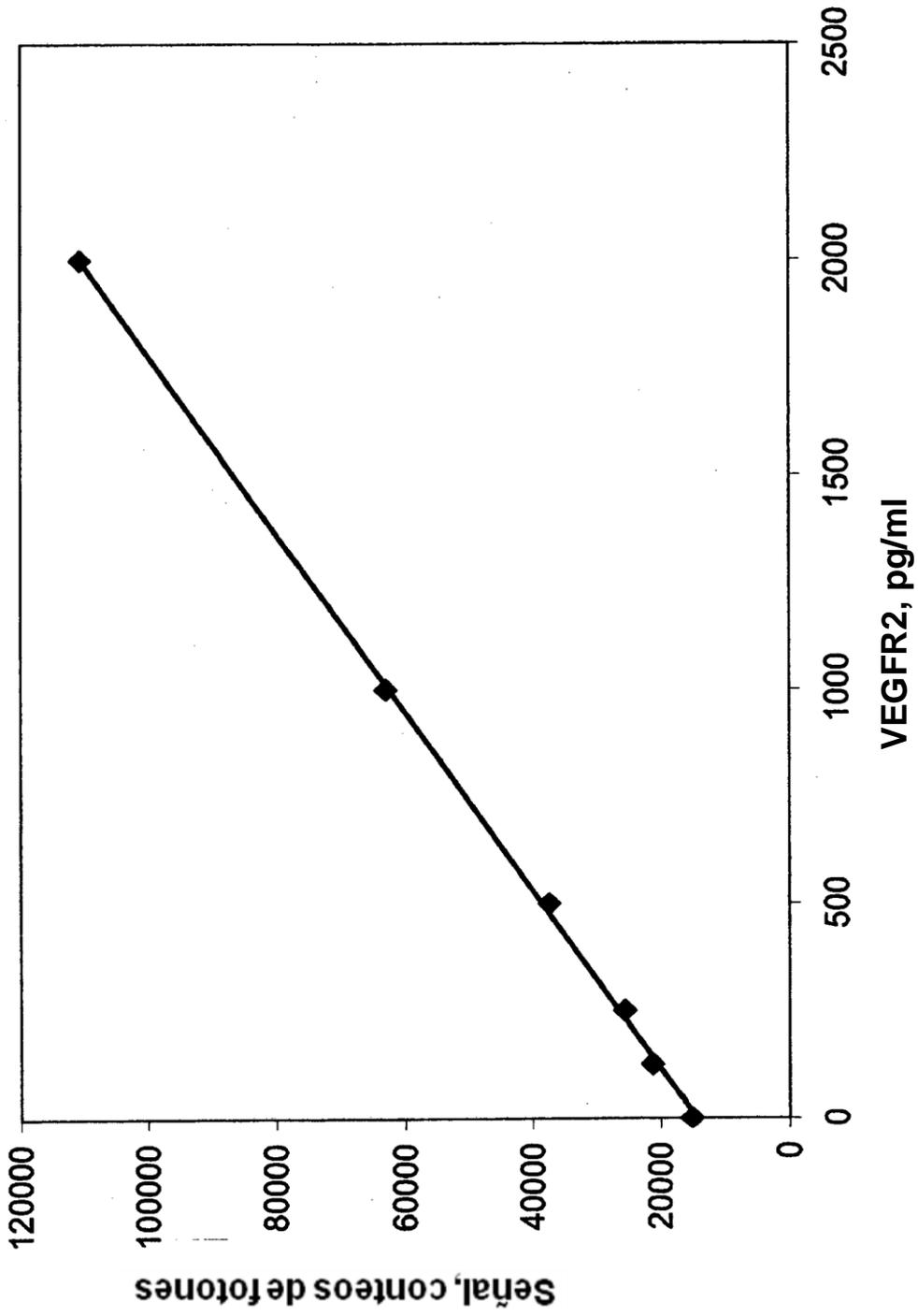


FIGURA 12

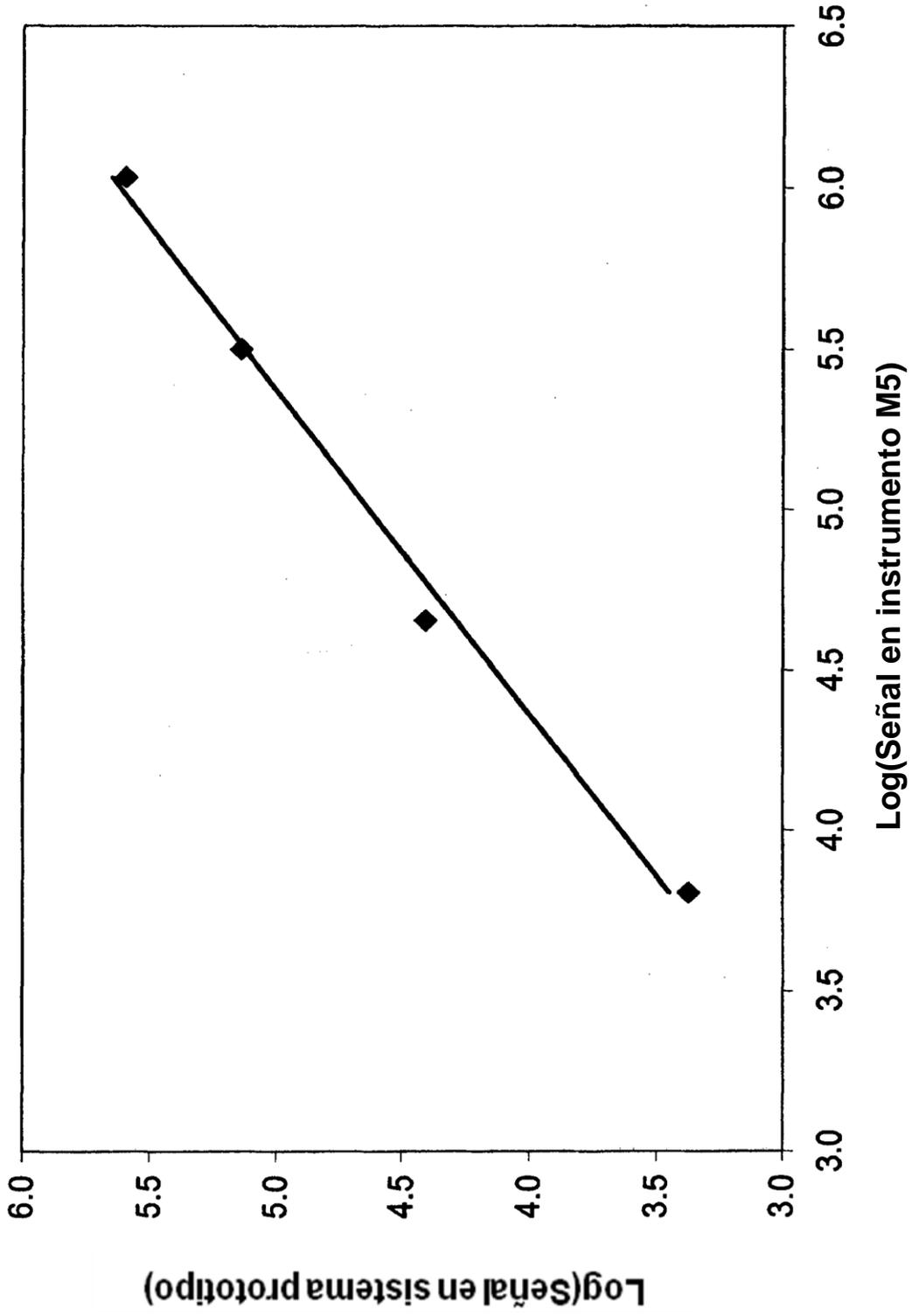


FIGURA 13

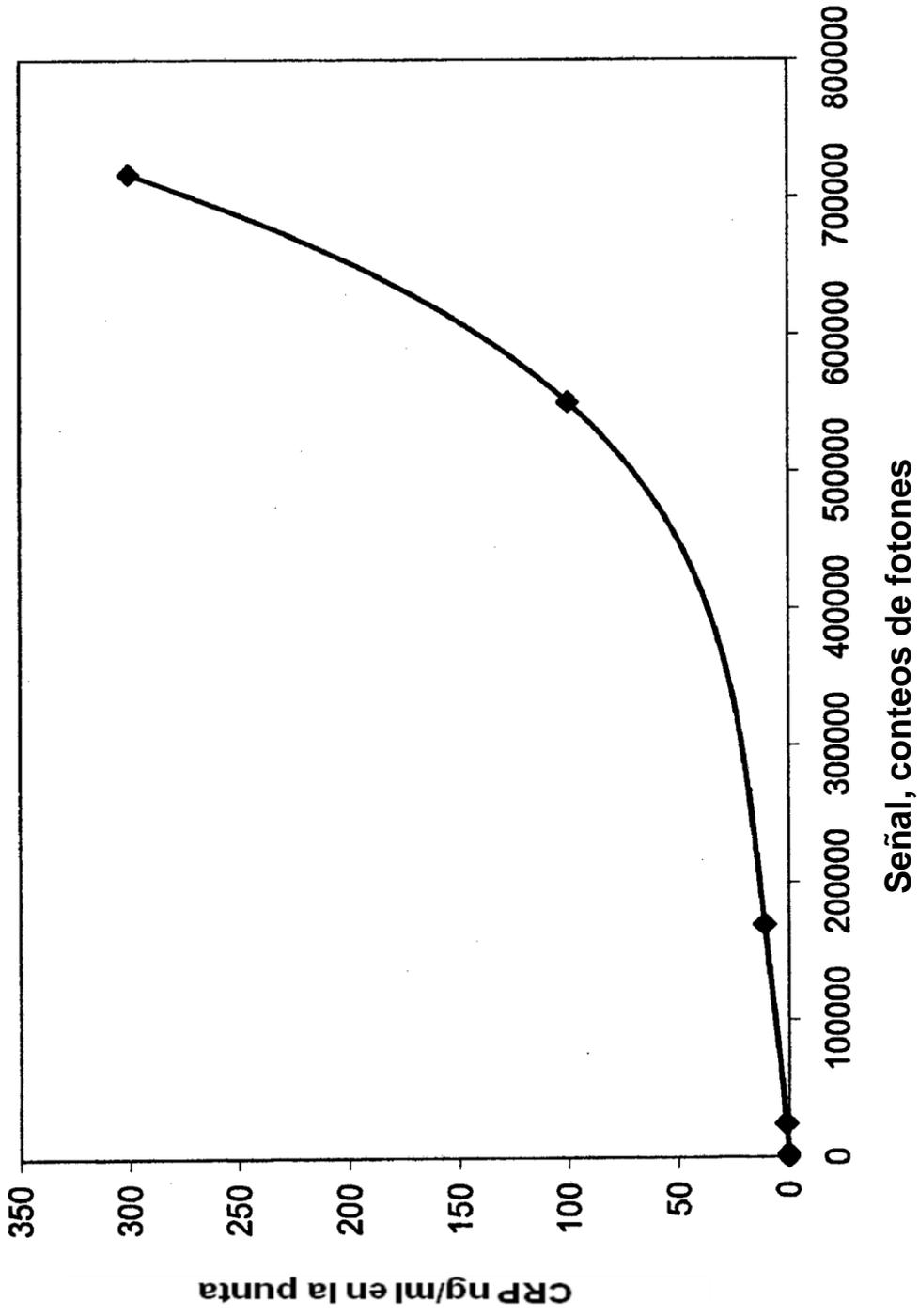


FIGURA 14

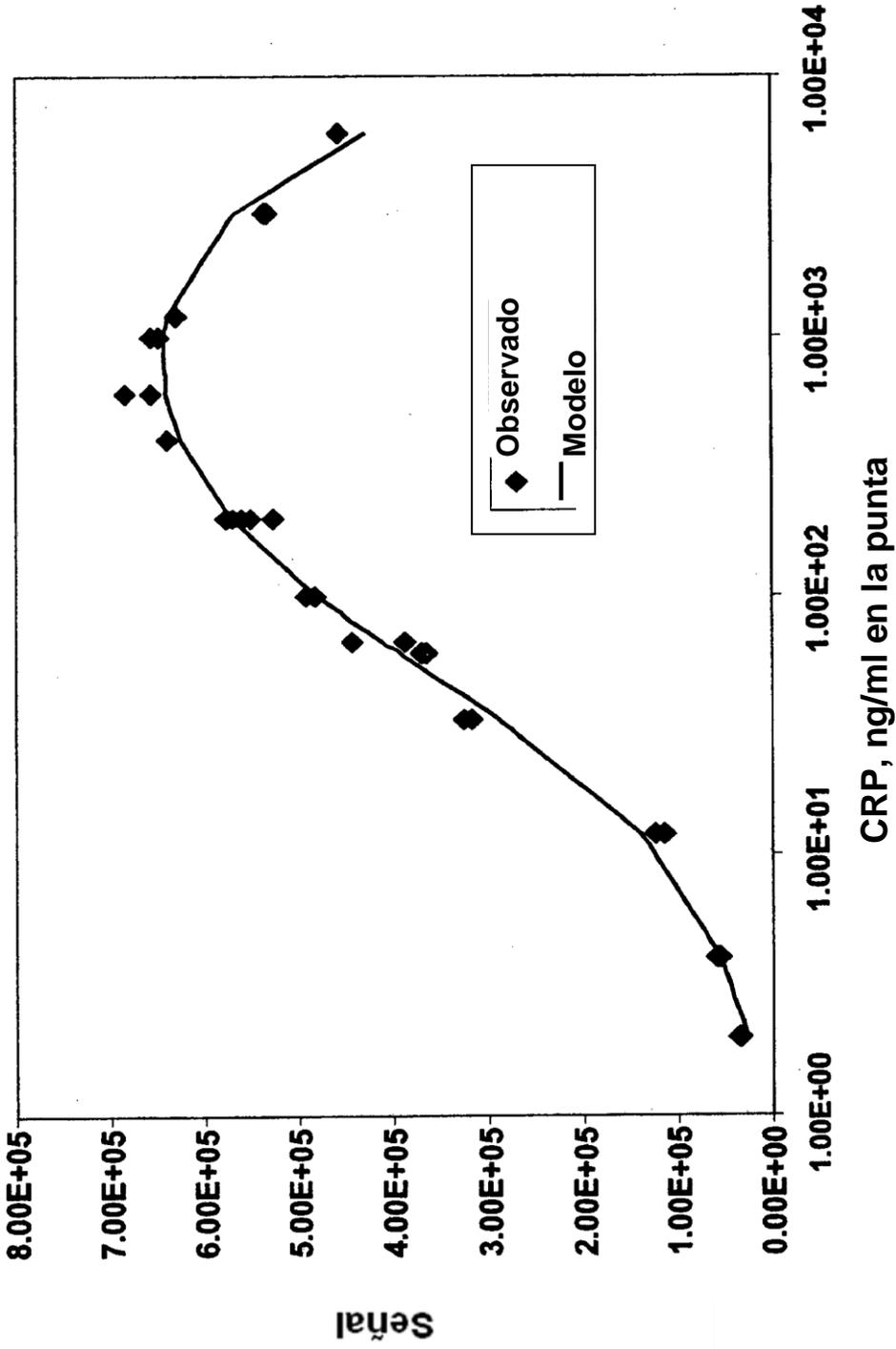


FIGURA 15

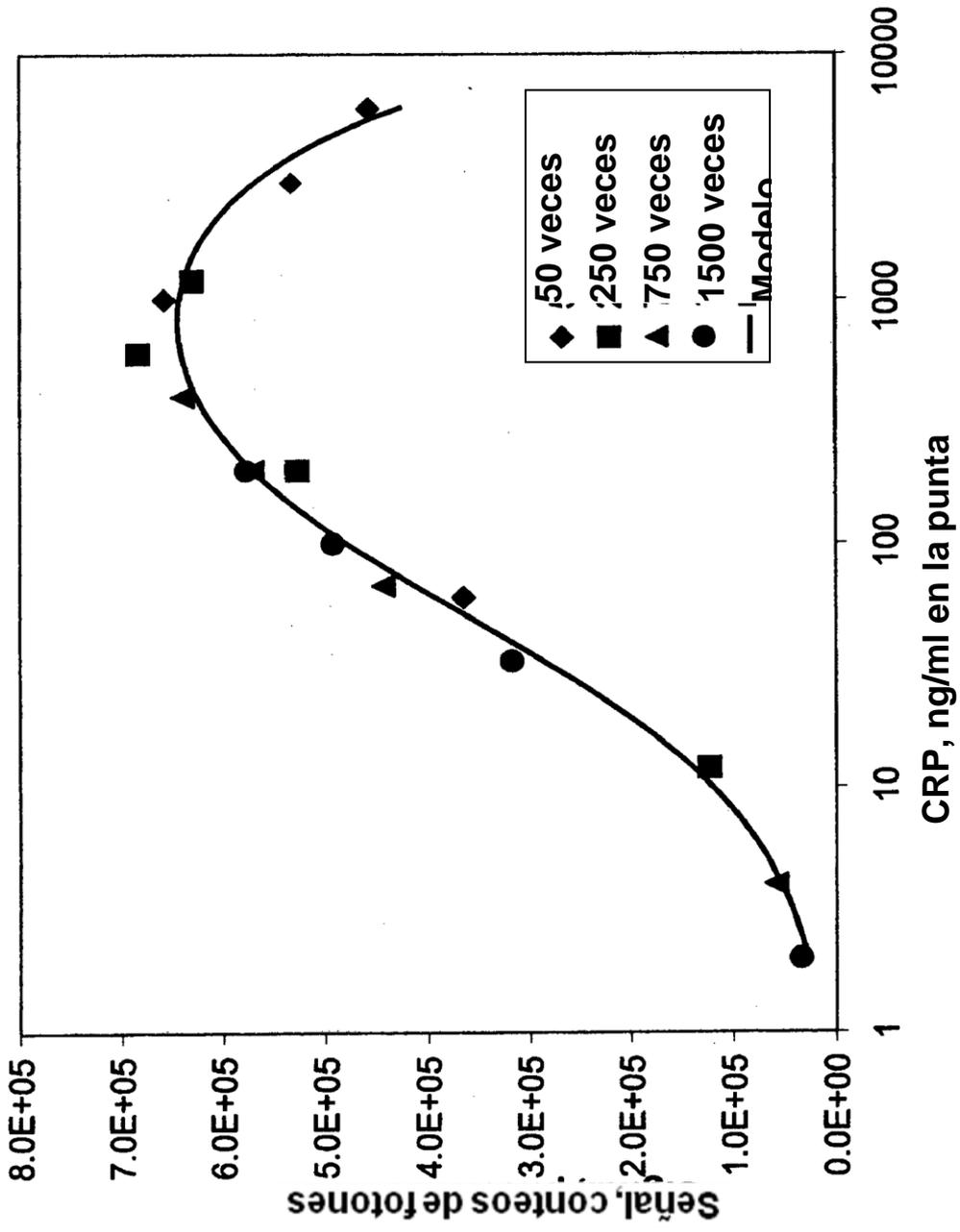
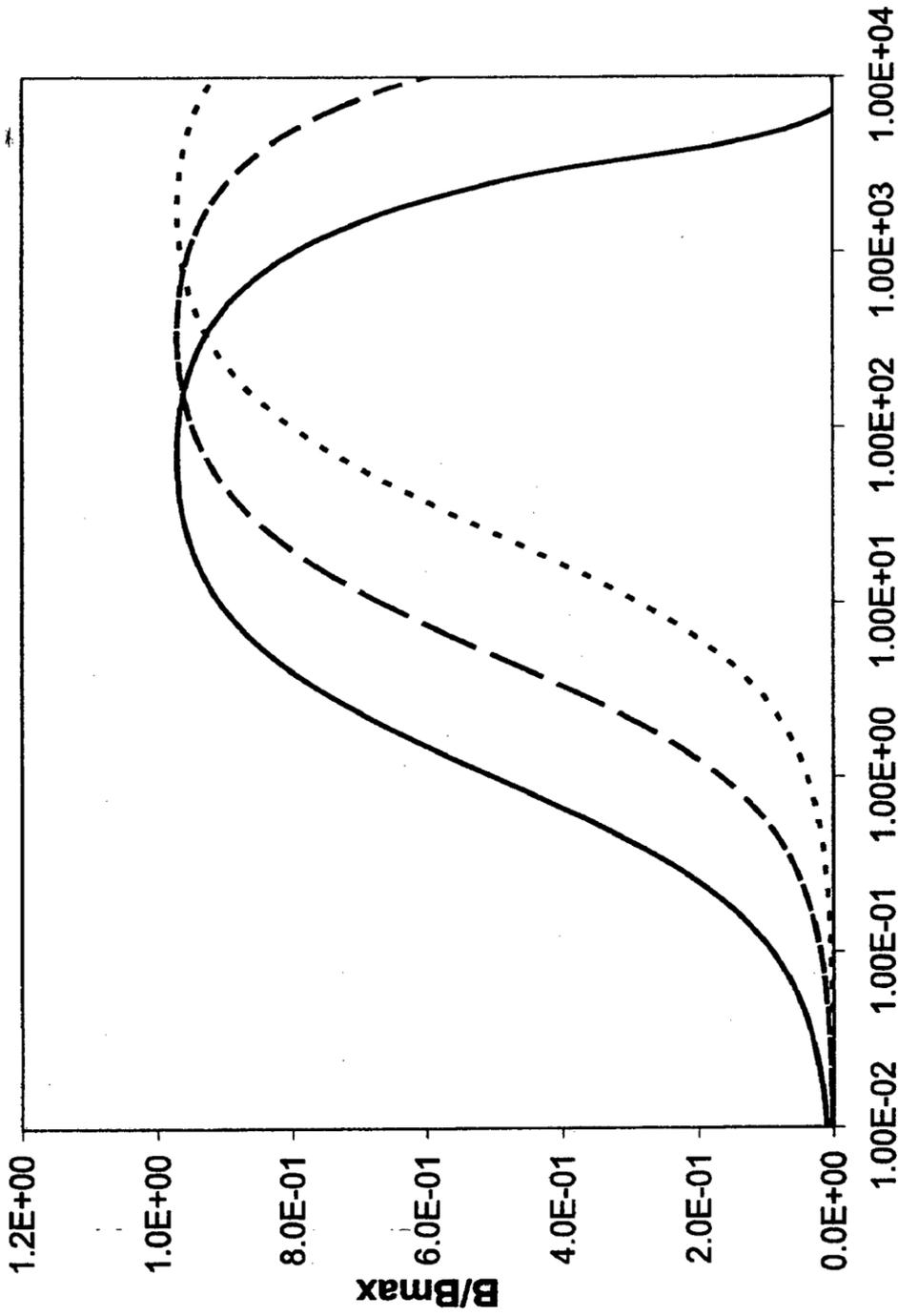
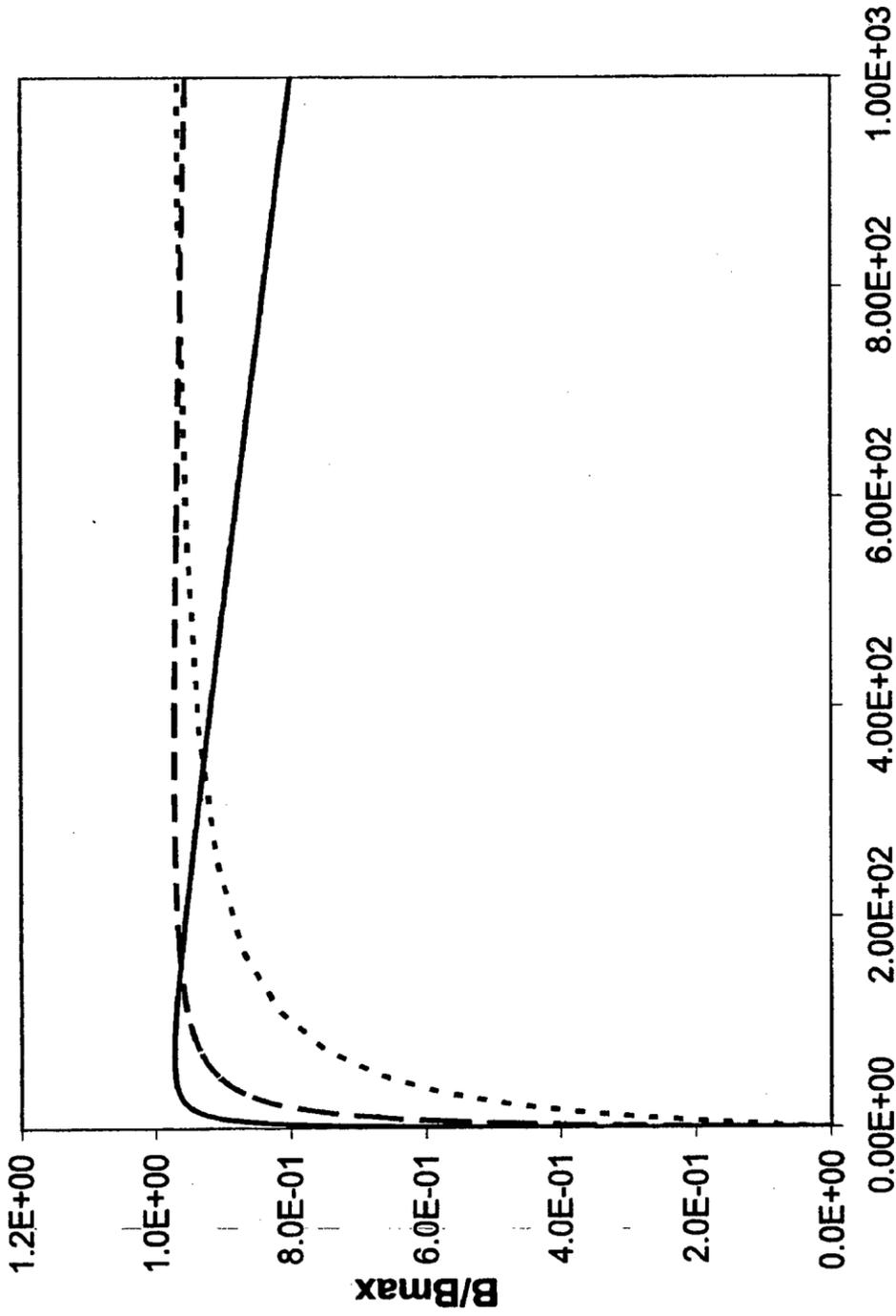


FIGURA 16



C/C0.5 dilución 1

FIGURA 17



C/C0.5 dilución 1

FIGURA 18

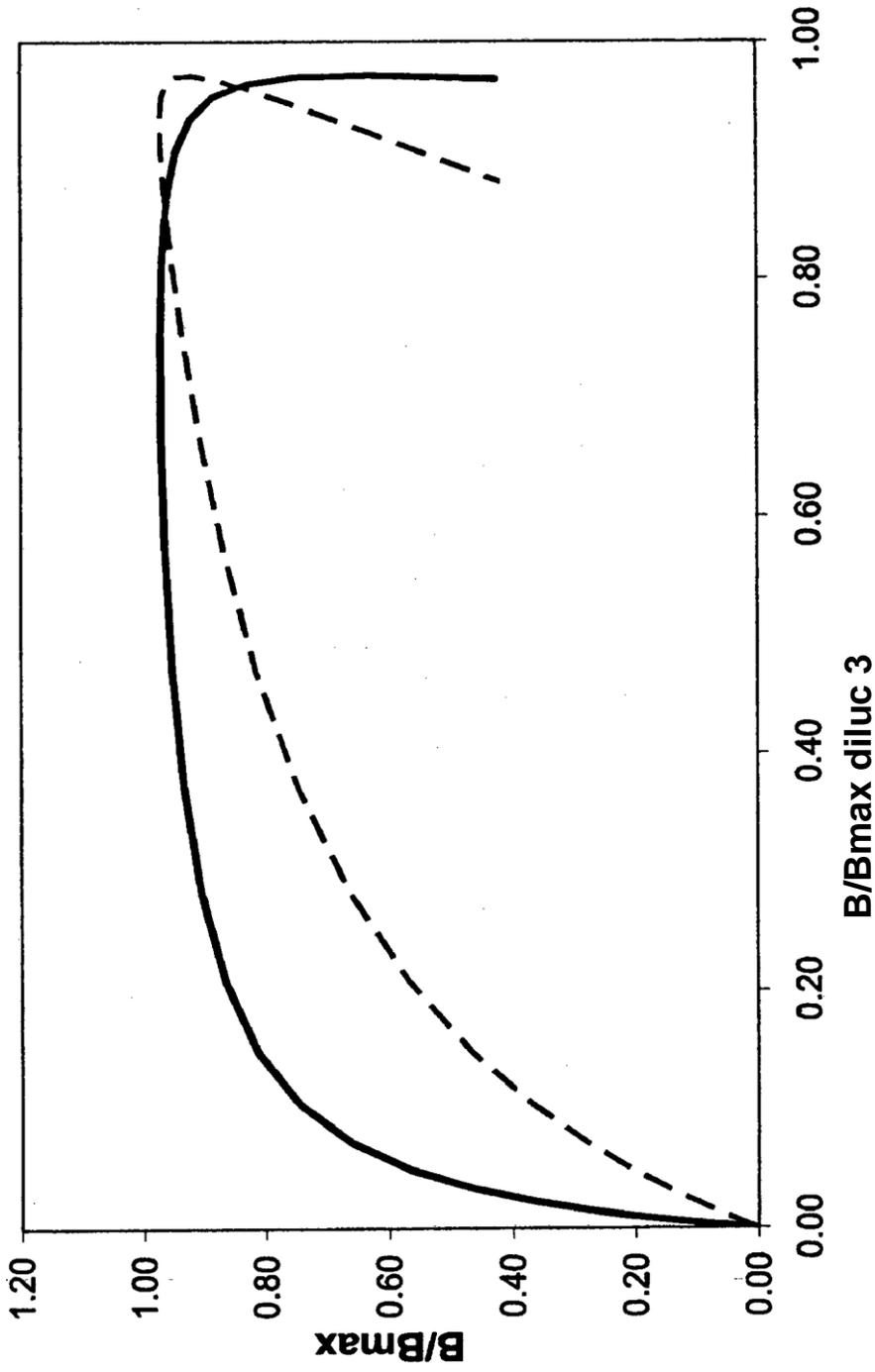


FIGURA 19

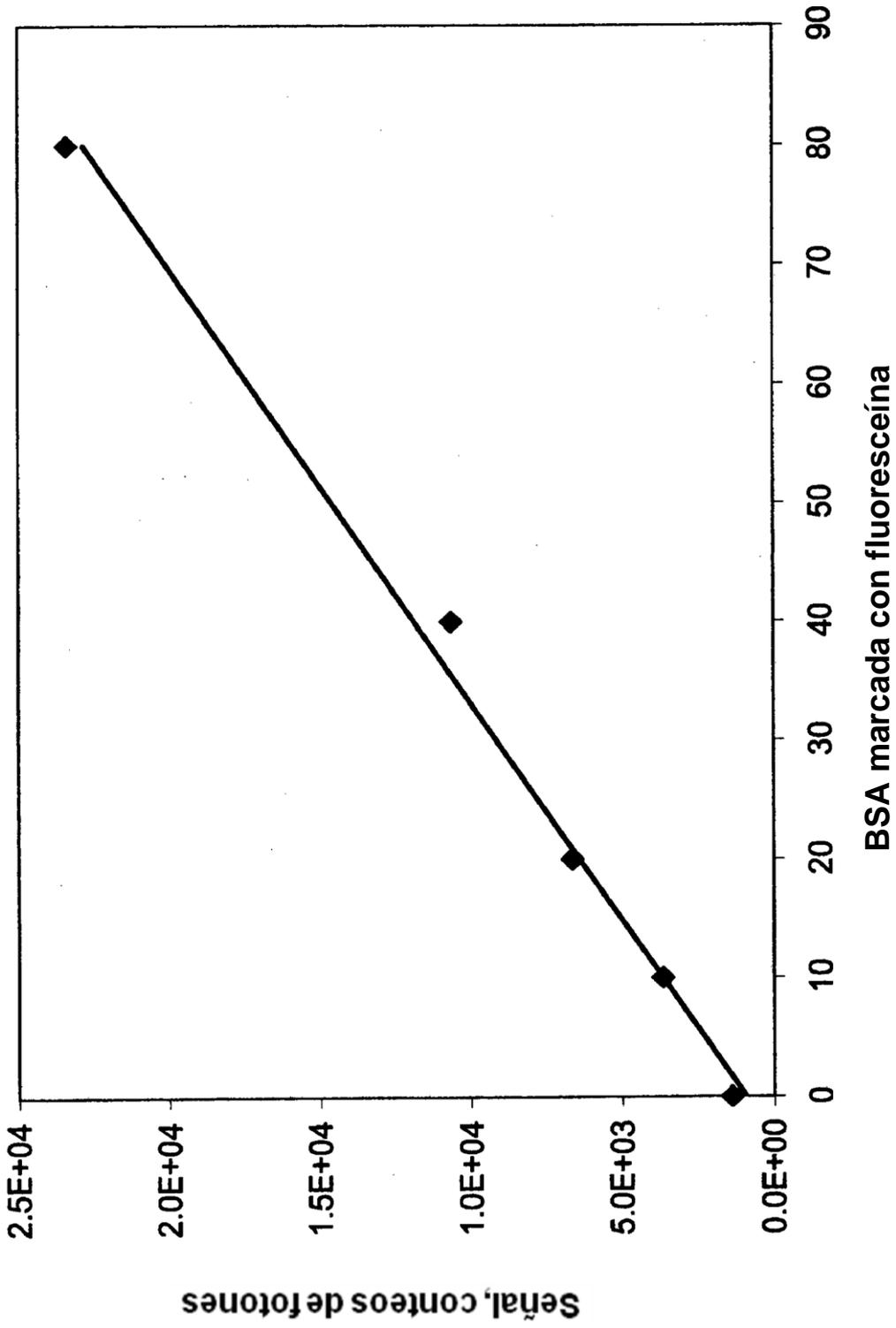


FIGURA 20

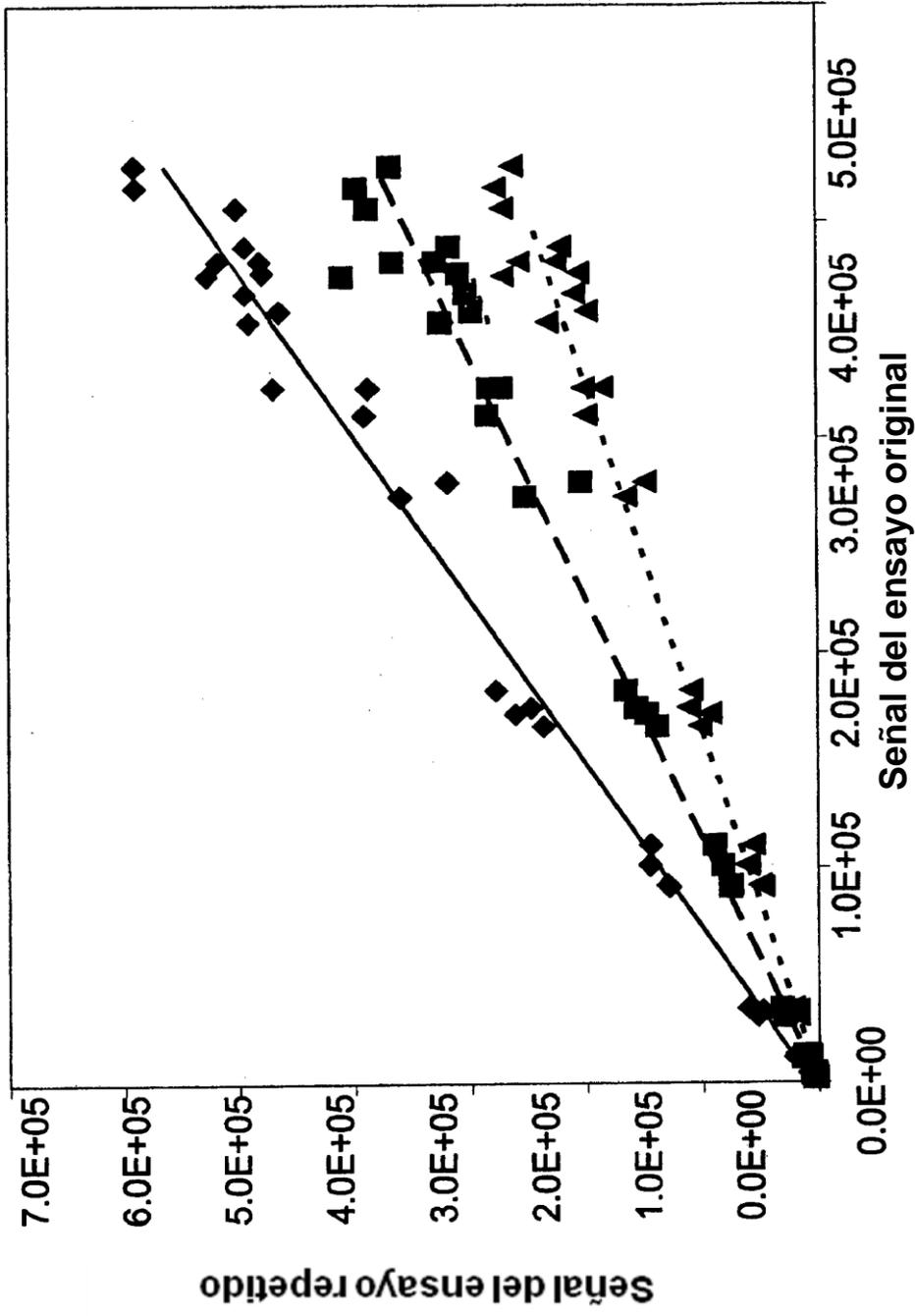


FIGURA 21