

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 549 609**

51 Int. Cl.:

**G01N 33/543** (2006.01)

**G01N 33/553** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.11.2010 E 10830336 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.07.2015 EP 2502075**

54 Título: **Dispositivo de filtración para ensayos**

30 Prioridad:

**16.11.2009 US 261726 P**

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

**29.10.2015**

73 Titular/es:

**SILICON BIODEVICES, INC. (100.0%)  
1400 Arcadia Place  
Palo Alto, CA 94303, US**

72 Inventor/es:

**FLORESCU, OCTAVIAN**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

**ES 2 549 609 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

Dispositivo de filtración para ensayos

### 1. Campo técnico

5 La presente invención se refiere a un dispositivo y a un método para analizar una muestra de fluido biológico. Más particularmente, el dispositivo puede usarse para filtrar sangre completa para pruebas en un circuito integrado.

### 2. Sumario de la técnica relacionada

10 Los dispositivos médicos de diagnóstico en el punto de atención (POC) facilitan la detección en fase temprana de enfermedades, posibilitan terapias adaptadas más individualmente y permiten a los médicos un seguimiento más fácil de los pacientes para observar si los tratamientos recetados están funcionando. Para garantizar su adopción generalizada, estas herramientas deben ser exactas, fáciles de usar por individuos no formados y baratas de producir y distribuir. Las aplicaciones de inmunoensayo (IA) son particularmente muy adecuadas para el POC puesto que puede identificarse una amplia variedad de estados, desde enfermedad cardiovascular hasta cáncer e infecciones transmisibles, a partir de biomarcadores proteicos solubles. La detección y cuantificación de estos biomarcadores a partir de muestras sin procesar tales como sangre completa implican a menudo el marcaje de la proteína diana usando moléculas fluorescentes o fosforescentes, enzimas, puntos cuánticos, partículas metálicas o partículas magnéticas. Para aplicaciones de alta sensibilidad, los marcadores unidos específicamente a los analitos diana deben distinguirse de los no unidos que contribuyen al ruido de fondo. Combinando tanto una separación de los marcadores como un formato de detección a bajo coste, fácil de usar, la prueba inmunocromatográfica (ICT) logra un funcionamiento independiente, es decir la capacidad para realizar un ensayo sin necesitar un dispositivo secundario como un lector electrónico o un sistema de preparación de muestras externo. El funcionamiento independiente es un atributo que a menudo se pasa por alto, pero es clave para la popularidad de las ICT, logrado a pesar de otras desventajas tales como baja sensibilidad bioquímica, interpretación del usuario, cuantificación inexacta, requisitos de cronometraje y difícil multiplexación.

25 El uso de marcaje con partículas magnéticas es ideal para aplicaciones de POC; las partículas magnéticas pueden detectarse individualmente, de modo que pueden lograrse sensibilidades de orden subpicomolar sin etapas de amplificación de la señal que pueden llevar hasta una hora como en el caso del marcaje enzimático. Además, disponiendo en microalineamientos las zonas de sensor sobre las que se unen las partículas, puede lograrse un funcionamiento multiplexado a bajo coste. El uso de partículas magnéticas puede reducir los tiempos de incubación, puesto que pueden unirse a los analitos diana con cinética de fase de disolución debido a su alta razón de área superficial con respecto a volumen. Además, la capacidad de separar las partículas magnéticas de la disolución magnética y gravitacionalmente supera los procesos de difusión lenta que padecen los protocolos de la sensibilidad más alta. Las señales de las partículas magnéticas pueden ser estables a lo largo del tiempo, insensibles a cambios en la temperatura o las características químicas y detectarse en disoluciones opacas o translúcidas como sangre completa o plasma. La señal de fondo magnética biológica puede ser baja, de modo que puede lograrse una alta sensibilidad del ensayo con una preparación mínima de la muestra. Y lo que es más importante, el uso de partículas magnéticas como marcadores de ensayo puede permitir un funcionamiento independiente del dispositivo, puesto que estas partículas pueden tanto manipularse como detectarse electromagnéticamente.

40 Las "partículas magnéticas" son normalmente partículas de tamaño nanométrico o micrométrico que presentan un comportamiento magnético, diamagnético, ferromagnético, ferrimagnético, paramagnético, superparamagnético o antiferromagnético. "Partículas magnéticas" puede referirse a partículas individuales o agregados más grandes de partículas tales como perlas magnéticas.

45 Las ICT en las que se usan partículas magnéticas como marcadores de ensayo son una mejora de las ICT convencionales puesto que la detección de las partículas no se limita a la superficie de la tira, sino que puede realizarse por todo el volumen de la tira, dando como resultado sensibilidades superiores y una exactitud cuantitativa mejorada. Sin embargo, la detección volumétrica de partículas magnéticas no puede integrarse fácilmente en un dispositivo independiente, de modo que estas implementaciones requieren un dispositivo externo para medir la magnetización en volumen de la tira.

50 Una alternativa para la integración en un dispositivo independiente es usar partículas magnéticas que se unen a los analitos diana en disolución antes de sedimentarse por medio de gravedad o fuerza magnética en zonas de sensor en las que pueden detectarse las partículas específicamente unidas. Puede usarse un IC biofuncionalizado para detectar las partículas específicamente unidas. Sin embargo, la mayoría de las implementaciones de inmunoensayo basadas en IC notificadas hasta la fecha no pueden funcionar independientemente puesto que requieren o bien componentes fuera del chip para la detección de partículas, o bien accionamiento microfluidico para la manipulación de partículas y la preparación de muestras. Otras implementaciones simplemente no pueden alcanzar las estructuras de coste necesarias para competir en el mercado actual.

55 Para la aplicación en POC, es deseable que la preparación de muestras sea rápida puesto que el ensayo se limita a 10-15 minutos. Además, para obviar la necesidad de equipo de refrigeración y para facilitar el almacenamiento y la distribución, se desea un sistema de preparación de muestras en seco. También es deseable tener un sistema de

preparación de muestras que reciba muestras no procesadas pequeñas de los pacientes. La gota de sangre pendiente promedio de una punción del dedo produce aproximadamente 15  $\mu$ l de fluido. Para lograr más fluido, puede ser necesaria una venopunción complicada. Además, el sistema de preparación de muestras debe tener un bajo coste ya que problemas de contaminación biológica establecen que todo el material en contacto con muestras biológicas debe desecharse. También es deseable que el sistema de preparación de muestras pueda someterse a funcionamiento multiplexado.

Se conoce un dispositivo de la técnica anterior para analizar muestras de fluidos biológicos, por ejemplo, del documento WO 2007/002 579, en el que la muestra de fluido se forma como una composición que comprende un analito de interés, una pareja de unión y un componente reactivo que puede unirse con dicho analito, en el que se añade una pluralidad de perlas de captura magnetizables que pueden unirse con la sustancia mencionada anteriormente, en el que dicha composición se pone en contacto con un reactivo líquido y en el que se aplica un campo magnético a través de la composición y el reactivo líquido para desplazar las perlas de captura magnetizables al interior de la zona de medición de un sensor.

Se conocen dispositivos y métodos adicionales para analizar muestras de fluidos biológicos de los documentos WO 2008/055 257, WO 2009/060 357, WO 2009/068 584, WO 2009/044 088 y el artículo de Thorslund, S. *et al.*: "Bioactive heparin immobilized onto microfluidic channels in poli( dimetilsiloxane) results in hydrophilic surface properties", en *Colloids and Surfaces, Biointerfaces*, Elsevier, Ámsterdam, Países Bajos, vol. 46, n.º 4, 30 de diciembre de 2005, págs. 240-247.

### Breve resumen de la invención

Un objetivo subyacente de la presente invención es proporcionar un dispositivo mejorado y un método mejorado para analizar una muestra de fluido biológico que puede satisfacer los requisitos de velocidad, coste y rendimiento descritos anteriormente.

Según la presente invención, este objetivo se logra mediante un dispositivo tal como se define en la reivindicación 1 y un método tal como se define en la reivindicación 8. Se encuentran realizaciones preferidas de la invención en las reivindicaciones dependientes.

Un material poroso como un filtro de membrana puede obviar la necesidad de centrifugación o una preparación de muestra microfluídica complicada. Puesto que los filtros de membrana son compactos y baratos, el coste del sistema puede reducirse, permitiendo un funcionamiento en el POC independiente. Las membranas pueden separar el plasma de las células de sangre completa sin ayuda adicional en menos de 30 segundos. La incubación del filtrado con partículas magnéticas funcionalizadas puede lograr una cinética de fase de disolución para un funcionamiento rápido con sensibilidades de orden subpicomolar. El sistema puede usar un IC para realizar la detección de las partículas magnéticas, por ejemplo para permitir un funcionamiento de bajo coste, independiente. El sistema puede tener una combinación de un filtro, capilar, partículas magnéticas y un IC, por ejemplo dando como resultado una plataforma independiente, exacta, multiplexada con el factor de forma de una memoria miniatura. El tamaño de todo el sistema excluyendo la batería y la pantalla puede estar por debajo de aproximadamente 1 cm<sup>3</sup>.

El dispositivo puede usarse para inmunoensayos. El dispositivo puede usarse para pruebas de ácido nucleico, moléculas pequeñas y moléculas inorgánicas, o combinaciones de los mismos.

Se da a conocer un sistema de preparación de muestras que comprende un filtro de membrana y un canal capilar configurado para suministrar partículas magnéticas a la superficie expuesta de un circuito integrado (IC) que manipula y detecta las partículas. El filtro de membrana puede colocarse horizontalmente, paralelo a la superficie del IC, por encima de la entrada a un canal capilar. El IC puede colocarse horizontalmente con una o más zonas de sensor expuestas por debajo de la salida del canal capilar. Pueden almacenarse partículas magnéticas químicamente funcionalizadas y otros reactivos en un estado secado en el filtro de membrana, el capilar, las zonas de sensor sobre la superficie del IC, o combinaciones de los mismos. Las partículas magnéticas pueden secarse y almacenarse en la entrada del canal capilar. Una muestra biológica acuosa, tal como sangre completa, que contiene uno o más analitos diana puede depositarse sobre la parte superior del filtro de membrana. La materia particulada grande en la muestra, tal como células de sangre completa, puede atraparse sobre la parte superior o en la membrana, mientras que el filtrado que contiene los analitos diana atraviesa la membrana al interior de la entrada del capilar, donde las partículas magnéticas pueden resuspenderse y unirse a los analitos diana en el filtrado. El filtrado con las partículas magnéticas resuspendidas puede fluir a través del capilar y sobre las zonas de sensor sobre la superficie del IC como resultado de la acción capilar.

Las partículas magnéticas unidas a un analito diana pueden unirse fuertemente a través de interacciones químicas específicas con las zonas de sensor funcionalizadas sobre la superficie del IC. El número de partículas magnéticas específicamente unidas a la superficie del IC es representativo de la concentración del analito diana en la muestra biológica presentada.

La superficie del IC puede contener una o más zonas de sensor, definidas como las zonas sobre la superficie del IC en las que se encuentran las partículas magnéticas específicamente unidas. Las zonas de sensor corresponden a la zona sobre la superficie del chip en la que sensores de partículas magnéticas pueden detectar partículas magnéticas

específicamente unidas. Los sensores de partículas magnéticas pueden incrustarse en el IC. Los sensores de partículas magnéticas pueden colocarse fuera de las zonas de sensor para detectar las perlas magnéticas no específicamente unidas retiradas de las zonas de sensor para lograr un recuento exacto del número total de partículas magnéticas.

5 El IC puede contener uno o más generadores de fuerza magnética para manipular las partículas magnéticas no específicamente unidas sobre las zonas de sensor. Estas fuerzas magnéticas pueden usarse para atraer las perlas magnéticas a las zonas de sensor y para retirar las partículas magnéticas no específicamente unidas de las zonas de sensor. El sistema puede tener dos o más capilares, por ejemplo cuando la entrada de un capilar de suministro se coloca directamente por debajo del filtro y suministra el filtrado al interior de un capilar de sedimentación que se  
10 coloca verticalmente por encima directamente de la zona de sensor. Las partículas magnéticas secadas pueden colocarse en la parte superior del capilar de sedimentación. Desde la parte superior del capilar de sedimentación, las partículas magnéticas secadas pueden sedimentarse en la zona de sensor una vez que el filtrado las alcanza. La duración de tiempo del ensayo puede determinarse por la altura del capilar de sedimentación.

15 El sistema puede tener múltiples capilares no conectados por debajo de múltiples membranas no conectadas para suministrar distintos filtrados a múltiples zonas de sensor no conectadas sobre las zonas de sensor de uno o más IC distintos para lograr un funcionamiento multiplexado.

20 El sistema puede tener un filtro de membrana o uno o más conjuntos de filtro de membrana que comprenden múltiples filtros de membrana apilados de características iguales o variables, en el que cada filtro puede cargarse con diferentes proteínas secadas, reactivos, compuestos químicos, partículas magnéticas y combinaciones de los mismos.

El dispositivo puede estar configurado para tomar sangre completa o previamente filtrada, orina, lágrimas, esputos, muestras fecales, orales, nasales u otras muestras acuosas biológicas o no biológicas.

25 Las características de la membrana pueden variar para adaptarse a los diferentes tipos de muestra. El filtro de membrana puede reemplazarse o usarse conjuntamente con un material poroso como una fibra de vidrio o una tira de nitrocelulosa.

30 Productos químicos tales como, pero sin limitarse a: aptámeros, oligonucleótidos, proteínas, agentes para prevenir la coagulación, analitos diana para curvas de calibración internas, agentes catalíticos de unión, partículas magnéticas, o combinaciones de los mismos pueden secarse en el conjunto de filtro de membrana junto con el eje del capilar o sobre la superficie del IC y pueden resolubilizarse por el plasma sanguíneo pero permanecen unidos a la superficie sobre la que se secaron.

### Breve descripción de los dibujos

Las figuras 1 y 2 son una vista en despiece ordenado en perspectiva y que deja ver parcialmente el interior, y una vista en sección transversal, respectivamente, de una variación del sistema.

35 La figura 3 es una vista en perspectiva, en despiece ordenado y que deja ver parcialmente el interior de una variación del sistema.

Las figuras 4 a 7 son vistas en sección transversal lateral de una variación de un método de uso del sistema.

La figura 8 es una vista en sección transversal lateral de una variación de un método de realización del ensayo de partículas magnéticas.

40 Las figuras 9 a 11 son vistas laterales de una variación de un método para usar una variación de un circuito integrado.

La figura 12 es una vista desde arriba de una variación de un método para usar una variación del circuito integrado.

Las figuras 13 a 18 son vistas en perspectiva, en despiece ordenado y que dejan ver parcialmente el interior de variaciones del sistema.

45 Las figuras 19 a 21 son vistas en sección transversal de una variación de un método para usar una variación del sistema.

La figura 22 es una vista en sección transversal de una variación de un método para usar una variación del circuito integrado.

Las figuras 23 a 25 son vistas en sección transversal parcial de una variación de un método para incubar las partículas magnéticas con diferentes fluidos.

50 **Descripción detallada**

En las figuras 1-14 se describe un dispositivo o sistema de filtración de sangre 1 para ensayos químicos con partículas magnéticas marcadas, componentes del sistema y mecanismos del mismo.

El sistema 1 puede tener una estructura de soporte de filtro 4 montada sobre la superficie superior de una placa de circuito impreso 11 directamente por encima de una abertura 29 formada en la placa de circuito impreso mediante perforación, punzonado, moldeo u otros métodos adecuados. La estructura de soporte de filtro 4 puede tener lengüetas u otras características para mantener la alineación con la abertura de la placa de circuito impreso 29. La estructura de soporte de filtro 4 puede fabricarse a partir de cualquier material rígido, tal como plástico moldeado por inyección. La estructura de soporte de filtro 4 puede unirse a la placa de circuito impreso 11 mediante un adhesivo o mediante ajuste por presión. Puede formarse un canal de ventilación 28 mediante una ranura radial en la superficie inferior de la estructura de soporte de filtro 4 y/o la superficie superior de la placa de circuito impreso 11.

La placa de circuito impreso 11 puede fabricarse a partir de materiales rígidos tales como laminado de fibra de vidrio, o a partir de materiales flexibles laminados en un sustrato rígido, tal como película de poliimida laminada en un sustrato de plástico.

Puede unirse un circuito integrado 16 al lado inferior de la placa de circuito impreso 11 por ejemplo mediante una pluralidad de puntos de soldadura 22. Los puntos de soldadura 22 pueden unirse a áreas de conexión de IC 24a y una metalización de placa de circuito impreso 24b, proporcionando así unión mecánica e interconexión eléctrica entre el circuito integrado 16 y la placa de circuito impreso 11. Puede colocarse un sello de polímero 26 entre el circuito integrado 16 y la placa de circuito impreso 11, formando una cavidad sellada y protegiendo las conexiones eléctricas de la contaminación por fluidos. También pueden usarse otros métodos de unión, sellado e interconexión eléctrica. Por ejemplo, pueden hacerse conexiones eléctricas usando alambres de conexión, contactos de resorte, polímeros conductores o combinaciones de los mismos; la unión mecánica puede proporcionarse mediante adhesivos, pinzas u otros métodos adecuados; puede proporcionarse sellado mediante recubrimientos aislantes, recubrimientos hidrófobos, sellos flexibles o combinaciones de los mismos.

Puede unirse un filtro de membrana 2 a la parte superior de una estructura de soporte de filtro 4 usando un anillo adhesivo 3. El filtro de membrana 2 puede estar compuesto por pero sin limitarse a polivinilpirrolidona/polietersulfona (PVP/PES). El filtro de membrana 2 puede tener un gradiente de porosidad para atrapar eficazmente células en sangre completa al mismo tiempo que se permite que el plasma sanguíneo y los analitos en el mismo pasen a través de la membrana. El filtro óptimo puede ser un filtro de PVP/PES de 0,26 mm de grosor con aproximadamente un tamaño de poro de 35  $\mu\text{m}$  en la parte superior y aproximadamente un tamaño de poro de 2,5  $\mu\text{m}$  en la parte inferior. El filtro de membrana 2 puede cortarse para dar un disco que tiene un diámetro de filtro de membrana 150 que puede ser de desde aproximadamente 0,5 mm hasta aproximadamente 30 mm, de manera más estrecha desde aproximadamente 2 mm hasta aproximadamente 20 mm, aún de manera más estrecha desde aproximadamente 1 mm hasta aproximadamente 8 mm, por ejemplo aproximadamente 4 mm. El filtro de membrana 2 puede estar orientado en un plano horizontal. El filtro de membrana 2 puede estar orientado en un plano paralelo con la superficie superior 20 del IC 16 y/o las zonas de sensor 18 del IC 16. El filtro de membrana 2 puede estar orientado paralelo con la superficie superior de la estructura de soporte de filtro 4.

El anillo adhesivo 3 puede estar formado de cualquier material adhesivo resistente a líquidos, tal como cinta adhesiva de doble cara o un adhesivo líquido. El filtro de membrana 2 también puede unirse a la estructura de soporte de filtro 4 por cualquier otro medio, por ejemplo usando compuesto epoxídico u otro adhesivo, soldando, fundiendo, ajustando de manera forzada, o combinaciones de los mismos.

Puede unirse un canal capilar 12 a la estructura de soporte de filtro 4, de manera que una entrada de capilar 6 puede situarse directamente por debajo del filtro 2, y una salida de capilar 14 puede situarse directamente por encima de las zonas de sensor 18 sobre la superficie 20 del circuito integrado 16. La salida de capilar 14 puede situarse por ejemplo con una separación de aproximadamente 0,1 mm a aproximadamente 1 mm de la superficie 20 del circuito integrado 16. El canal capilar 12 puede estar integrado con la estructura de soporte de filtro 4, o una unidad separada unida a la estructura de soporte de filtro 4 mediante adhesivos adecuados o un ajuste por fricción. El canal capilar 12 puede tener una longitud de capilar 154 tal como se establece en otra parte en el presente documento o de desde aproximadamente 0,5 mm hasta aproximadamente 10 cm, de manera más estrecha desde aproximadamente 1 mm hasta aproximadamente 5 mm, por ejemplo de aproximadamente 0,5 mm o aproximadamente 10 cm. El canal capilar 12 puede tener un diámetro interno de capilar 156 tal como se establece en otra parte en el presente documento o, por ejemplo, de desde aproximadamente 0,25 mm hasta aproximadamente 5 mm, de manera más estrecha desde aproximadamente 0,25 mm hasta aproximadamente 2,5 mm, por ejemplo de aproximadamente 0,25 mm o 5 mm. El capilar puede recibir aproximadamente una muestra de 15  $\mu\text{l}$  de sangre completa obtenida usando una lanceta de dedo. Puede seleccionarse un capilar con una longitud de capilar 154 y un diámetro interno 156 más pequeños para lograr un flujo más rápido a través del capilar 12. Puede seleccionarse un capilar con una longitud de capilar 154 y un diámetro interno 156 más grandes para lograr un flujo más lento a través del capilar.

El canal capilar 12 puede entrar en contacto parcialmente con la superficie 20 del IC 16. Puede proporcionarse un orificio de ventilación en la salida 14 de la abertura del capilar para permitir que salga el aire. La presión de aire puede no ventilarse para evitar o minimizar que el filtrado 38 fluya sobre las zonas de sensor 18.

Una pluralidad de partículas magnéticas 10 y un agente de carga 8 pueden liofilizarse dentro de una microesfera seca 90 que tiene un diámetro de microesfera 160 por ejemplo, de desde aproximadamente 0,1 mm hasta aproximadamente 5 mm, de manera más estrecha desde aproximadamente 1 mm hasta aproximadamente 5 mm, aún de manera más estrecha desde aproximadamente 0,5 mm hasta aproximadamente 4 mm, por ejemplo aproximadamente 2 mm.

Las partículas magnéticas 10 pueden secarse en una microesfera 90 mediante liofilización. La microesfera 90 puede contener las partículas magnéticas 10 recubiertas con anticuerpos 30 en disolución de PBS con aproximadamente el 0,05% de monolaurato de polioxietileno y (20) sorbitano (es decir, polisorbato 20, Tween-20), y un agente de carga 8. El agente de carga 8 puede ser un azúcar, un polímero, tal como trehalosa y/o polietilenglicol, o combinaciones de los mismos. El polietilenglicol puede usarse con un peso molecular de aproximadamente 4-8 kDa. El agente de carga puede ser más de aproximadamente el 90% de la masa de la microesfera 90.

La microesfera 90 puede obtenerse preparando una disolución líquida de la cantidad apropiada (más adelante se explica una variación de cómo puede determinarse esto) de partículas magnéticas 10 y cualquier otro componente minoritario más aproximadamente el 10%-70% en peso del agente de carga 90. La disolución líquida puede dispensarse en nitrógeno líquido. La disolución dispensada puede congelarse instantáneamente en aproximadamente un minuto o menos, produciendo la microesfera congelada 90. La microesfera congelada 90 puede transferirse a un recipiente que puede colocarse en un liofilizador. La microesfera 90 puede liofilizarse entonces según un perfil de temperatura programado diseñado para garantizar que no se funden (es decir, "refusión") durante el procedimiento. La refusión puede producirse a medida que la cantidad de agua (por ejemplo, hielo) disminuye mientras que la cantidad de soluto sólido permanece constante. El cambio de la razón de soluto con respecto a agua puede reducir el punto de congelación de las microesferas. Si el liofilizador no está lo suficientemente frío, puede producirse refusión. Sin embargo, una temperatura del liofilizador demasiado baja puede aumentar el tiempo requerido para secar las microesferas.

Como ejemplo, se describe un posible procedimiento de producción;

a. Puede dispensarse una microesfera 90 de aproximadamente 7,5  $\mu$ l de volumen usando una bomba de precisión en nitrógeno líquido.

b. La microesfera con nitrógeno líquido adicional puede transferirse a recipientes de metal o Pyrex y colocarse sobre una bandeja preenfriada en el liofilizador. La temperatura de la bandeja puede fijarse a aproximadamente -30°C.

c. Puede conectarse el condensador en el liofilizador y comenzar la fase de secado primario. El vacío puede ser generalmente de aproximadamente 50 $\pm$ 10 mtorr en la cámara.

d. Esta fase de secado primario puede durar al menos aproximadamente 16 horas.

e. Puede elevarse la temperatura de anaquel hasta aproximadamente -10°C y puede mantenerse durante al menos aproximadamente 4 horas.

f. Puede elevarse la temperatura de anaquel hasta aproximadamente +25°C y mantenerse durante aproximadamente 15 minutos antes de retirar las partículas y colocarlas en dos viales separados.

g. Las partículas pueden inspeccionarse para detectar residuos, uniformidad y fusión.

h. Los productos secados pueden mantenerse desecados.

Puede producirse muy poca agregación de partículas magnéticas 10.

Una vez secada, la microesfera 90 puede protegerse de la humedad. El volumen de la microesfera secada, tal como se define por el perímetro externo de la esfera, puede incluir aproximadamente un 90% de vacío. La microesfera 90 puede tener un área superficial eficaz muy grande y puede ser muy hidrófila. En presencia de agua líquida, la microesfera 90 puede disolverse muy rápidamente. Puesto que toda la estructura tridimensional de la microesfera 90 puede colapsar de una vez, las partículas magnéticas 10 contenidas en la microesfera 90 pueden mezclarse con el agua y resuspenderse tras el colapso de la microesfera 90 sin agregación. Puede controlarse el volumen del líquido que disuelve la microesfera 90, y puede calcularse la concentración de todos los componentes en la disolución que resultan de la rehidratación de la microesfera 90. Puede haber aproximadamente 1.000.000 de partículas magnéticas 10 en cada aproximadamente 7,5  $\mu$ l de microesfera 90.

La microesfera 90 puede ajustarse por presión en el interior de la entrada de capilar 6, donde la microesfera 90 puede inmovilizarse. Puesto que el diámetro de la microesfera 90 puede ser mayor que el diámetro interno del canal capilar 12, la microesfera 90 puede deformarse para dar una conformación cilíndrica tras su inserción dentro del capilar. La entrada de capilar 6 puede tener una sección transversal decreciente, por ejemplo, para aceptar toda la microesfera 90 sin requerir que la microesfera 90 se deforme. La microesfera 90 puede hacerse lo suficientemente grande de manera que la microesfera 90 no pueda desplazarse más allá de la entrada de capilar 6 o la longitud del canal capilar adyacente a la entrada de capilar 6 y además al interior del canal capilar 12.

Los reactivos, aunque no es necesario, pueden secarse o liofilizarse en forma de una microesfera 90. Los reactivos pueden secarse o liofilizarse para dar diferentes conformaciones que pueden empaquetarse dentro del canal capilar 12.

5 Pueden liofilizarse compuestos químicos para mejorar el rendimiento del ensayo junto con las partículas magnéticas 10 en las microesferas 90. Por ejemplo, estos pueden incluir sales de tampón, agentes de ajuste del pH, bloqueantes de la unión no específica, detergentes aniónicos, catiónicos, no iónicos y zwitteriónicos, agentes antiespumantes, sales inorgánicas, quelantes, bloqueantes de anticuerpos heterófilos, estabilizadores de proteínas, agentes antimicrobianos y agentes antiaglutinación. Además o por separado, pueden unirse y secarse conjuntos de reactivos tales como anticuerpos de superficie 44 para la unión a las partículas magnéticas 10 en presencia del analito diana 36 o agentes bloqueantes sobre las zonas de sensor 18 sobre la superficie 20 del IC 16.

El subsistema de filtración puede tener la estructura de soporte 4, el filtro de membrana 2, el capilar 12 y las partículas magnéticas secadas 10. El subsistema de filtración puede fabricarse independientemente del subsistema electrónico que consiste en el circuito integrado 16 y la PCB 11. El IC 16 puede fabricarse, someterse a prueba y biofuncionalizarse de manera barata antes de su integración en el sistema más amplio.

15 Para funcionalizar el IC 16, las zonas de sensor 18 pueden recubrirse con uno o más compuestos químicos tales como pero sin limitarse a anticuerpos 44, oligonucleótidos y aptámeros que se unen específicamente al analito diana 36. Para reducir la unión no específica de partículas magnéticas 10 a las zonas de sensor 18, la zona de sensor 18 puede recubrirse con un compuesto químico de bloqueo tal como pero sin limitarse a albúmina, caseína y leche desnatada en polvo. Una vez recubiertas y bloqueadas las zonas de sensor 18 pueden secarse y el subsistema electrónico puede combinarse con el subsistema de filtración.

20 En un formato de inmunoensayo de captura de tipo sándwich, las partículas magnéticas 10 pueden conjugarse covalentemente con anticuerpos 30 específicos para un epítipo sobre un analito diana 36 en la muestra de sangre 32 presentada. Las zonas de sensor 18 pueden recubrirse con un segundo anticuerpo 44 específico para un segundo epítipo en el mismo analito diana 36. Para un funcionamiento multiplexado, las zonas de sensor 18a y 18b y las partículas magnéticas 10 pueden recubrirse con múltiples anticuerpos diferentes.

La funcionalización de las zonas de sensor 18 puede realizarse mediante disposición en microalineamientos en contacto. Las moléculas de captura pueden adsorberse de manera pasiva en las zonas de sensor, o unirse usando agentes de reticulación.

30 La funcionalización de las partículas magnéticas puede realizarse a través de químicas de EDC, activada por tosilo o de conjugación de grupos epoxídicos convencionales.

Pueden incrustarse sensores de partículas magnéticas 60 en el IC 16. Los sensores de partículas magnéticas 60 pueden ser de naturaleza óptica, magnética, mecánica, acústica, térmica, electromagnética, o combinaciones de los mismos. Puede incrustarse una serie de sensores de partículas magnéticas 60 en el IC 16, donde cada sensor de partículas magnéticas 16 puede abordarse individualmente.

35 Uno o más generadores de fuerza de concentración magnética pueden atraer las partículas magnéticas 10 a las zonas de sensor 18. El/los generador(es) de fuerza de concentración magnética pueden ser uno o más conductores de concentración eléctricos 62 incrustados en el IC 16, directamente por encima de los sensores de partículas magnéticas 60. Las fuerzas de concentración magnéticas también pueden generarse de manera externa al IC 16 usando uno o más imanes permanentes o electroimanes externos.

40 Puede usarse uno o más generadores de fuerza de separación magnética para retirar las partículas magnéticas no específicamente unidas 68 de las zonas de sensor 18. Los generadores de fuerza de separación magnética pueden ser uno o más conductores de separación eléctricos 64 incrustados en el IC y ubicados en proximidad a las zonas de sensor. Las fuerzas de separación magnéticas también pueden generarse externamente al IC 16 usando uno o más imanes permanentes o electroimanes externos.

45 Se describe un método de fabricación e integración de los sensores de partículas magnéticas 60, los generadores de fuerza de concentración magnética y los generadores de fuerza de separación magnética en la solicitud de patente internacional PCT con número de serie PCT/US09/031155, presentada el 15 de junio de 2009, y la solicitud provisional 61/021.861, presentada el 17 de enero de 2008.

El dispositivo puede realizar inmunoensayos en un formato de captura de tipo sándwich.

50 Para realizar el ensayo, pueden suministrarse aproximadamente 15  $\mu$ l de una muestra, tal como pero sin limitarse a 15  $\mu$ l de una muestra de sangre completa 32 sobre la parte superior del filtro de membrana 2. El filtro de membrana 2 puede atrapar las células de sangre completa 34 sin lisarlas, mientras que se permite que pase el filtrado 38 que contiene las moléculas solubles incluyendo el analito diana 36. Tras atravesar el filtro de membrana 2, el filtrado 38 puede fluir al interior de la entrada 6 del canal capilar, donde las partículas magnéticas secadas 10 pueden resuspenderse y pueden fluir junto con el filtrado 38 a través de la longitud del canal capilar 12 por medio de acción capilar.

- 5 Sin ayuda, el filtrado de plasma viscoso no fluye fácilmente desde la parte inferior del filtro 2, que tiene un tamaño de poro pequeño, al interior del capilar 12, que tiene un diámetro interno más grande. Con el fin de evitar tener que aplicar presión o usar un volumen de muestra grande, pueden colocarse reactivos secados en la entrada 6 del capilar 12, en proximidad al filtro 2. El filtrado 38 presentado en la parte inferior del filtro 2 puede atraerse por los reactivos secados fuertemente hidrófilos. Una vez en la entrada 6 del capilar 12, los reactivos secados pueden disolverse y la fuerza capilar puede ser suficiente para arrastrar el filtrado el resto de la distancia a través del capilar 12 hasta las zonas de sensor 18.
- 10 Sin los reactivos secados en la entrada 6 del capilar, variaciones de fabricación pueden dar como resultado una separación mayor de la esperada entre la superficie inferior del filtro 2 y la entrada 6 del capilar 12, o alineamientos erróneos donde la entrada 6 del capilar 12 no está a nivel con la superficie inferior del filtro 2, lo que impediría el flujo del filtrado 38 al interior del capilar 12.
- 15 Las partículas magnéticas secadas 10 en el agente de carga 8 pueden colocarse en la entrada 6 del capilar 12 para arrastrar el filtrado 38 desde la parte inferior del filtro 2 al interior del capilar 12.
- Una vez en el capilar 12, las partículas magnéticas 10 pueden resuspenderse y fluir con el filtrado 38 a lo largo de la longitud del capilar 12. Mientras que fluyen a través del capilar 12, las partículas magnéticas 10 pueden unirse al analito diana 36 en el filtrado 38.
- 20 La longitud, el diámetro y la hidrofobicidad del capilar 12 pueden variarse para controlar la velocidad de flujo y los tiempos de incubación de partículas magnéticas. Para lograr un flujo más rápido a través del capilar 12, la longitud y anchura pueden reducirse hasta aproximadamente 0,5 mm y aproximadamente 0,25 mm, respectivamente. Para lograr un flujo más lento, la longitud y anchura del capilar 12 pueden aumentarse hasta más de aproximadamente 10 cm y aproximadamente 5 mm, respectivamente.
- 25 La salida de capilar 14 puede ser hidrófila. El filtrado 38 puede crear una gota pendiente 42 a partir de una salida de capilar hidrófila 14. El circuito integrado 16 puede estar orientado horizontalmente, por ejemplo, lo suficientemente próximo a la salida de capilar 14 para permitir que la gota pendiente 42 fluya sobre las zonas de sensor 18. El tamaño del hueco puede oscilar entre menos de 0,1 mm y 2 mm, punto por encima del cual el tamaño de la gota 42 ya no forma un puente en el hueco. Después de que la gota pendiente 42 fluya sobre la superficie 20 del circuito integrado 16, las partículas magnéticas 10 en el filtrado 38 pueden sedimentarse sobre las zonas de sensor 18.
- 30 Las partículas magnéticas 10 se sedimentan por medio de gravedad y fuerzas magnéticas en la superficie 20 del IC 16. 2 mA de corriente a través de conductores de concentración 62 de 2  $\mu\text{m}$  de ancho arrastran las partículas magnéticas 10 de 4,5  $\mu\text{m}$  hacia las zonas de sensor 18 con 1,1 pN de fuerza.
- 35 En presencia del analito diana 36, las partículas magnéticas 10 se unen al sedimento en la zona de sensor 18 sobre la superficie 20 del IC 16 y se unen fuertemente a través de interacciones inorgánicas o bioquímicas específicas. En ausencia del analito diana, el sedimento magnético en la zona de sensor 18 sobre la superficie 20 del IC 16 se une débilmente a través de interacciones no específicas.
- 40 En un formato de captura de inmunoensayo, las partículas magnéticas 10 capturan el analito diana 36 durante la sedimentación y se unen a las zonas de sensor 18 sobre la superficie 20 del circuito integrado 16.
- Con el fin de contar el número de partículas magnéticas específicamente unidas 10a en las zonas de sensor, las partículas magnéticas no específicamente unidas 10b pueden retirarse. Las partículas magnéticas no específicamente unidas 10b pueden retirarse mediante fuerzas magnéticas, fuerzas fluidicas, fuerzas electrostáticas, o una combinación de las mismas.
- 45 Para realizar un inmunoensayo, las fuerzas de separación magnéticas pueden ser lo suficientemente fuertes como para arrastrar las partículas no específicamente unidas aproximadamente 10b ( $>0,1 - 10$  pN), lejos de las zonas de sensor 18, pero no demasiado fuertes como para retirar las partículas magnéticas específicamente unidas aproximadamente 10a ( $<60$  pN). Aproximadamente 50 mA de corriente que fluye a través de los conductores de separación 64 de aproximadamente 5  $\mu\text{m}$  de ancho colocados a aproximadamente 18  $\mu\text{m}$  de las partículas magnéticas 10 de aproximadamente 4,5  $\mu\text{m}$  las arrastra con aproximadamente 1,1 pN de fuerza. Sin embargo, puesto que las partículas magnéticas 10 pueden estar pivotando sobre la superficie 20 del IC 161, la fuerza de separación magnética sobre el último anclaje molecular puede amplificarse por el efecto de palanca mecánica que resulta de la diferencia en las longitudes de los brazos de momento del anclaje molecular y la fuerza de separación.
- 50 La fuerza magnética lateral de aproximadamente 1,1 pN se traduce en una fuerza de tracción de aproximadamente 7,5 pN sobre el enlace no específico, suficiente para retirar partículas no específicamente unidas 10b.
- 55 Tras la aplicación de las fuerzas de separación magnéticas, y tras la retirada de las partículas magnéticas no específicamente unidas 10b de las zonas de sensor 18, las partículas magnéticas específicamente unidas 10a que permanecen en las zonas de sensor pueden detectarse por los sensores 60b incrustados en el IC. El número de partículas magnéticas específicamente unidas 10a en las zonas de sensor corresponde a la concentración de uno o más analitos diana 36 en la muestra 32.

Pueden colocarse sensores de partículas magnéticas 60e fuera de las zonas de sensor con el fin de contar el número de partículas magnéticas no específicamente unidas 10b que se han retirado de las zonas de sensor 18. Los sensores de partículas magnéticas 60e pueden contar el número total de partículas magnéticas 10 que se han asentado sobre la superficie 20 del IC 16, para compensar cualquier variación.

- 5 Un método de realización del ensayo de partículas magnéticas sobre la superficie 20 del chip 16 se describe en la solicitud de patente internacional PCT con número de serie PCT/US09/031155, presentada el 15 de enero de 2009, y la solicitud provisional estadounidense n.º: 61/021.861, presentada el 17 de enero de 2008.

10 El IC 16 puede contener componentes electrónicos digitales para identificar la cantidad de analitos diana 36, procesar y presentar visualmente los resultados del ensayo. Los resultados del ensayo pueden combinarse numéricamente con curvas de calibración en el chip y el producto puede encriptarse y transmitirse. Además o por separado, puede haber sensores electrónicos sobre el IC 16 o junto al IC 16. Los sensores electrónicos pueden ser sensores de temperatura, inerciales, de humedad, y combinaciones de los mismos. Los sensores electrónicos pueden integrarse en el IC 16. Pueden integrarse temporizadores para controlar el protocolo del ensayo en el IC. Pueden usarse sensores de circuitos integrados capacitivos o resistivos para detectar humedad a lo largo de los bordes de las zonas de sensor 18. Los sensores de humedad pueden garantizar que el filtrado 38 ha fluido a lo largo de toda la zona de sensor 18 sobre la superficie 20 del IC 16. Estos sensores de humedad también pueden usarse para iniciar y controlar el protocolo en el chip. Puede combinarse un dispositivo de vibración con el dispositivo de la presente invención. Este dispositivo puede vibrar mientras que las partículas magnéticas 10 fluyen a través del capilar 12 y se asientan en la superficie 20 del IC 16 para acelerar los tiempos de incubación.

20 Pueden emplearse diversos grados de multiplexación. Las partículas magnéticas 10 y las zonas de sensor 18a y 18b sobre la superficie 20 del IC 16 pueden recubrirse con uno o más compuestos químicos para la detección de múltiples analitos diana 38 de una vez (es decir, simultáneamente). El uno o más compuestos químicos de detección pueden segregarse espacialmente sobre la superficie 20 del IC 16 a través de disposición en microalineamientos de manera que las diferentes zonas de sensor 18a y 18b sobre el mismo IC 16, o diferentes sensores de partículas magnéticas 60 dentro de una zona de sensor 18 pueden recubrirse con diferentes compuestos químicos de detección.

30 Dos o más capilares 12a y 12b pueden contener partículas magnéticas funcionalizadas con diferentes compuestos químicos de detección, 10c y 10d. Los capilares 12c y 12d pueden conducir a la misma zona de sensor 18 o los capilares 12a y 12b pueden conducir a diferentes zonas de sensor 18a y 18b sobre el mismo IC 16. Dos o más filtros 2a y 2b pueden instalarse en múltiples capilares 12a y 12b que conducen a la misma zona de sensor 18 o diferentes zonas de sensor 18a y 18b sobre el mismo IC 16. Los diferentes filtros 2a y 2b y diferentes capilares 12a y 12b pueden contener diferentes partículas magnéticas recubiertas con diferentes compuestos químicos. Un filtro 2 puede segregarse espacialmente en subfiltros no conectados mediante barreras hidrófobas estampadas o mediante estructuras voluminosas fabricadas y ensambladas.

35 Los grados de multiplexación descritos anteriormente pueden usarse para realizar curvas de calibración del ensayo simultáneamente con la detección y cuantificación del analito diana 38. Puede realizarse un control negativo, por ejemplo, cuando una porción de la zona de sensor 18 puede recubrirse con un compuesto químico de prevención que puede impedir la unión con la superficie de las partículas magnéticas 10, tal como caseína o albúmina. El control negativo puede indicar la cantidad de interacción no específica que se produce en la muestra sometida a prueba. Además o por separado, puede realizarse un control positivo cuando una porción de las zonas de sensor 18 puede recubrirse con un compuesto químico de activación para garantizar la unión con la superficie de al menos una porción de las partículas magnéticas 10, tal como uno o más de los analitos diana 38. Puede realizarse una curva de calibración completa junto con la medición del analito diana 38 para lograr una cuantificación exacta.

45 Puede usarse una pluralidad de capilares 12c y 12d para lograr una transferencia más rápida del filtrado 38 al IC 16. Además, los canales capilares 12 pueden llenarse con un material de efecto mecha como fibra de vidrio o nitrocelulosa para lograr una transferencia más rápida del filtrado 38 al IC 16.

Para lograr características de filtración mejoradas, puede apilarse un conjunto de filtro de membrana que contiene múltiples filtros de membrana 2c y 2d de características variables por encima de la entrada 6 del capilar. Cada filtro puede cargarse con diferentes proteínas secadas, reactivos, compuestos químicos y partículas magnéticas.

50 El dispositivo puede estar configurado sin capilares. Las partículas magnéticas 10 pueden secarse en o en la parte inferior de un material poroso como un filtro de membrana 2 o una tira de nitrocelulosa. El filtro de membrana 2 puede colocarse a una pequeña distancia por encima de la parte superior del chip.

55 El sistema puede tener un capilar de sedimentación 84 y un capilar de suministro 92. La entrada 94 del capilar de suministro 92 puede colocarse directamente por debajo del filtro 2 y suministra el filtrado 38 al interior del capilar de sedimentación 84. Este capilar de suministro 92 puede tener reactivos secados 82 en la entrada 94 para facilitar el flujo del filtrado 38 desde la parte inferior del filtro 2 al interior del capilar 92. El capilar de suministro 92 puede colocarse de manera que el filtrado 38 fluya lateralmente desde la parte inferior del filtro 2 hasta el capilar de sedimentación 84. El capilar de sedimentación 84 puede colocarse verticalmente por encima directamente de la

- 5 zona de sensor 18 y el capilar de suministro 92 puede unirse al capilar de sedimentación 84 en cualquier punto a lo largo de la altura del capilar de sedimentación 84, por ejemplo en el medio. Los capilares de suministro y sedimentación 92 y 84 pueden fabricarse en un cartucho capilar de plástico individual 80. Los capilares en el cartucho 80 pueden fabricarse usando grabado en relieve de plástico, moldeo por inyección o fotolitografía. Puede colocarse una microesfera liofilizada 90 en la entrada 86 en la parte superior del capilar de sedimentación 84.
- 10 Puede colocarse una gota de sangre completa 32 sobre el filtro de membrana 2. Las células de sangre completa 34 pueden atraparse en la membrana 2, y el filtrado 38 que contiene los analitos diana 36 fluye a su través al interior de la entrada 94 del capilar de suministro 92. El filtrado 38 puede fluir a través del capilar de suministro 92 y al interior del capilar de sedimentación 84. El filtrado 38 puede fluir entonces hacia abajo hasta la zona de sensor 18 sobre la superficie 20 del IC 16, y hacia arriba hasta la microesfera 90. El filtrado 38 puede fluir sobre la zona de sensor 18 y a través de la superficie 20 del circuito integrado 16 antes de que el filtrado 38 alcance la microesfera 90 de manera que el filtrado 38 ya no puede fluir a través del capilar de sedimentación 84 en el momento en el que el filtrado alcanza la microesfera 90.
- 15 Tras el contacto con la microesfera 90, el agente de carga 8 puede solubilizarse. Por ejemplo, cuando no hay flujo, el agente de carga soluble 98 puede estar estacionario, es decir, sin fluir en ninguna dirección. La difusión del agente de carga solubilizado 98 puede ser lenta, y puede verse superada por la velocidad de sedimentación de las partículas magnéticas 10 por medio de gravedad o una fuerza de concentración magnética. Las partículas magnéticas 10 se sedimentan fuera del agente de carga solubilizado 98, a través del capilar de sedimentación 84 sobre la zona de sensor 18 en la superficie 20 del circuito integrado 16. Las partículas magnéticas 10 se unen a la superficie 20 del IC 16 en la zona de sensor 18 en presencia de uno o más analitos diana 36, y el protocolo del ensayo puede avanzar tal como se describió anteriormente.
- 20 El empaquetamiento o la inserción de las microesferas 90 puede reemplazarse por colocar simplemente las microesferas en la entrada superior 86 del capilar de sedimentación 84, lo que facilita la fabricación.
- 25 El tiempo de incubación de las partículas magnéticas 10 con el filtrado 38 puede controlarse de manera precisa mediante la longitud del capilar de sedimentación 84, para aplicaciones de alta exactitud. Partículas magnéticas 10 de aproximadamente 4,5  $\mu\text{m}$  pueden asentarse gravitacionalmente a aproximadamente 0,4 mm/min en plasma, de modo que aproximadamente una altura de capilar de sedimentación 154 de 4 mm podría dar como resultado aproximadamente un tiempo de incubación de 10 minutos.
- 30 El mezclado puede reducirse o eliminarse puesto que a medida que las partículas magnéticas 10 se sedimentan a través del capilar de sedimentación 84, las partículas magnéticas 10 pueden unirse con todo el analito 36 en la trayectoria de las partículas magnéticas 10.
- 35 El agente de carga solubilizado 98 puede interferir con el rendimiento del ensayo. Para mitigar este efecto, puede colocarse menos de aproximadamente 0,1  $\mu\text{l}$  de agente de carga en la entrada del capilar de suministro 94. Los menos de aproximadamente 0,1  $\mu\text{l}$  de agente de carga pueden diluirse aproximadamente 100 veces en aproximadamente 15  $\mu\text{l}$  de plasma. El agente de carga solubilizado 98 a partir de la microesfera de 7,5  $\mu\text{l}$  más grande no puede interferir con el ensayo puesto que la microesfera no tiene suficiente tiempo como para difundir a la zona de sensor 18 desde una distancia de aproximadamente 4 mm.
- 40 El capilar de sedimentación 84 puede llenarse con más de una región adyacente de fluido, es decir diferentes tampones cargados en serie en el canal capilar 84. En ausencia de flujo turbulento, estas regiones de fluido sólo se mezclan en la superficie de contacto debido a procesos de difusión. Las partículas magnéticas 10 se sedimentan mucho más rápido que la difusión de los fluidos de modo que las partículas magnéticas 10 pueden sedimentarse a través de todas las diferentes regiones de fluido más rápido de lo que se mezclan. Esta funcionalidad puede ser útil para intercambiar tampones para reacciones de amplificación de ácido nucleico. El capilar de sedimentación 84 puede llenarse con un tampón de lisis 110, un tampón de amplificación isotérmico 112 y un tampón de detección 114. El flujo laminar a partir de por ejemplo el capilar de suministro 92 puede provocar que el tampón de lisis entre en contacto con la microesfera 90 en la parte superior del capilar de sedimentación 84 y la resolubilizce, resuspendiendo las partículas magnéticas 10. Las partículas magnéticas 10 pueden capturar los oligonucleótidos diana a medida que las partículas magnéticas 10 atraviesan la materia orgánica lisada en el tampón de lisis 110, los oligonucleótidos pueden amplificarse a medida que las partículas magnéticas 10 atraviesan el tampón de amplificación 112 y finalmente las partículas magnéticas 10 entran en el tampón de detección 114 lo que permite que se unan a la superficie 20 del IC 16. El capilar de sedimentación 84 puede precargarse con las diferentes regiones de fluido o el capilar de suministro puede llenarse con el tampón de sedimentación con las regiones de fluido deseables. Los reactivos necesarios para generar las regiones de fluido pueden secarse en un capilar y resolubilizarse por la muestra.
- 45 50 55 Puede colocarse un segundo capilar más ancho 70 por encima del filtro de membrana 2 para una fácil recogida de la muestra, tal como sangre completa a partir de una punción del dedo. Este capilar puede oscilar entre 0,25 mm y 1 cm de diámetro y de 1 mm a 5 cm de longitud. Como norma general, el diámetro del capilar 70 debe ser mayor que el diámetro del capilar 12 con el fin de permitir el flujo del filtrado.

Anticoagulantes tales como heparina, citrato de sodio y ácido etilendiaminetetraacético pueden secarse y colocarse sobre la parte superior de la membrana, en la parte inferior de la membrana, en la entrada del capilar, a lo largo de los lados internos del capilar o sobre la superficie del IC.

5 El canal capilar puede reemplazarse funcionalmente por o usarse además de un sistema microfluídico que puede procesar adicionalmente el analito en un sistema microfluídico antes de suministrar el analito al IC.

Pueden añadirse funcionalidades a la cámara microfluídica (válvulas, bombas, calentamiento térmico) para mezclar o separar fluidos o contenido fluido y/o lisar células y núcleos de sangre completa para realizar amplificación del ADN.

10 Los sensores de partículas magnéticas 60 pueden ser sensores ópticos 104a y b incrustados en el IC, con una fuente externa para la iluminación 100. Las partículas magnéticas 10c y d sobre la superficie 20 del circuito integrado 16 proyectan una sombra 102 que puede reducir la cantidad de luz transmitida desde la fuente de luz 100 hasta el sensor óptico 104b. El sensor óptico 104b detecta la partícula magnética 10c midiendo la reducción de la luz incidente. El circuito integrado 16 puede tener una superficie que transmite la luz, tal como aunque sin limitarse a dióxido de silicio.

15 Los sensores ópticos 104a y b pueden implementarse como pero sin limitarse a sensores de píxeles activos, dispositivos de carga acoplada, fotodiodos de avalancha, fotodiodos PIN u otros detectores ópticos en estado sólido.

20 Una o más fuentes de iluminación 100 pueden situarse directamente por encima del circuito integrado 16 de manera que las sombras de las partículas magnéticas se proyecten hacia abajo. Una o más fuentes de iluminación 100 pueden iluminar la superficie 20 del circuito integrado 16 indirectamente y/o en ángulos oblicuos. La fuente de iluminación 100 puede colocarse por encima del capilar por el que fluye el filtrado 38 sobre la superficie 20 del IC 16.

Alternativamente, las partículas magnéticas 10 pueden detectarse ópticamente de manera externa al IC, con una cámara CCD desde arriba o abajo del IC, por ejemplo.

A partir de lo anterior, se apreciará que la plataforma descrita puede usarse para muchas aplicaciones, incluyendo, pero sin limitarse a, las siguientes.

25 1. Diagnóstico:

- (a) ensayos simples;
- (b) ensayos en paralelo o multiplexados;
- (c) ensayos de microalineamientos de ADN;
- (e) detección de glucosa, colesterol, metabolitos, moléculas pequeñas.

30 2. Ensayos medioambientales:

- (a) contaminación de alimentos;
- (b) contaminación de agua/suelo.

3. Proteómica:

- (a) mediciones de la fuerza de unión de proteína-proteína;
- 35 (b) frecuencias resonantes de la unión proteína-proteína;
- (c) investigación de la cinética de proteínas.

4. Genómica:

- (c) perfil de metilación del ADN;
- (d) mediciones de la fuerza del ADN.

40 5. AFM de partículas magnéticas:

- (a) AFM de ruido 1/f bajo;
- (b) AFM con fuerza y frecuencia controladas digitalmente;
- (c) AFM multiplexada.

6. Caracterización de partículas magnéticas:

(a) exploración de propiedades magnéticas de partículas de diferentes tamaños y características.

7. Redes de biosensores de bajo coste:

(a) transmisión inalámbrica integrada y directa de los resultados del ensayo;

(b) monitorización del surgimiento/contaminación en tiempo real.

5 La figura 1 es una vista tridimensional del sistema de preparación y detección de muestras 1. El sistema 1 puede colocarse adyacente a un IC, o puede ser un sistema de preparación y detección completamente integrado que puede incluir uno o más detectores/sensores de IC. El sistema 1 puede estar configurado para colocarse adyacente a, o integrado con un IC tal como el dado a conocer en la solicitud de patente internacional PCT con número de serie PCT/US09/031155, presentada el 15 de enero de 2009, y la solicitud provisional estadounidense n.º: 61/021.861, presentada el 17 de enero de 2008. El sistema de preparación de muestras 1 puede estar configurado para funcionar conjuntamente con, o estar integrado con, otros tipos de dispositivos de sensor tales como sensores de temperatura, inerciales y de humedad.

10 Tal como se muestra en las figuras 1 y 2, el sistema 1 puede tener una estructura de soporte de filtro 4 que puede estar montada sobre la superficie superior de una placa de circuito impreso 11 directamente por encima de una abertura 29 formada en la placa de circuito impreso 11. Un anillo adhesivo 3 puede unir la estructura de soporte de filtro 4 a un filtro de membrana 2. El filtro de membrana 2 puede ser cilíndrico, o tener una sección transversal generalmente ovalada, cuadrada, triangular o rectangular. El filtro de membrana 2 puede tener una anchura o diámetro de filtro de membrana 150 que puede ser de desde aproximadamente 0,5 mm hasta aproximadamente 20 mm, de manera más estrecha desde aproximadamente 1 mm hasta aproximadamente 8 mm, por ejemplo de aproximadamente 4 mm. El tamaño y la forma periférica del filtro de membrana 2 y la estructura de soporte de filtro 4 pueden ser iguales o diferentes.

15 Puede formarse un canal de ventilación 28 mediante una ranura radial en la superficie inferior de la estructura de soporte de filtro 4 y/o la superficie superior de la placa de circuito impreso 11. Puede unirse un circuito integrado 16 al lado inferior de la placa de circuito impreso 11 por ejemplo mediante una pluralidad de puntos de soldadura 22. Los puntos de soldadura 22 pueden unirse a áreas de conexión de IC 24a y una metalización de placa de circuito impreso 24b, proporcionando por tanto unión mecánica e interconexión eléctrica entre el circuito integrado 16 y la placa de circuito impreso 11. Puede colocarse un sello de polímero 26 entre el circuito integrado 16 y la placa de circuito impreso 11, formando una cavidad sellada y protegiendo las conexiones eléctricas de la contaminación por fluidos. Puede unirse un canal capilar 12 a la estructura de soporte de filtro 4, de manera que puede colocarse una entrada de capilar 6 directamente por debajo del filtro 2, y puede colocarse una salida de capilar 14 directamente por encima de las zonas de sensor 18 sobre la superficie 20 del circuito integrado 16.

20 La parte inferior de la salida de capilar 14 puede estar en contacto con o separada de la superficie 20 del circuito integrado 16 por un hueco de IC 152. El hueco de IC 152 puede ser de desde aproximadamente 0,05 mm hasta aproximadamente 2 mm, de manera más estrecha desde aproximadamente 0,1 mm hasta aproximadamente 1 mm. El canal capilar 12 puede tener una longitud de canal capilar 154 y un diámetro o anchura de canal capilar 156. La longitud de canal capilar 154 puede ser de desde aproximadamente 0,5 mm hasta aproximadamente 20 mm, de manera más estrecha desde aproximadamente 1 mm hasta aproximadamente 8 mm, por ejemplo de aproximadamente 4 mm. La anchura de canal capilar 156 puede ser de desde aproximadamente 0,05 mm hasta aproximadamente 2 mm, de manera más estrecha desde aproximadamente 0,1 mm hasta aproximadamente 1 mm, por ejemplo aproximadamente 0,5 mm.

25 Las partículas magnéticas 10 pueden secarse en un agente de carga 8 y colocarse en el canal capilar 12, por ejemplo cerca de o en la entrada 6 y/o la salida 14 y/o a lo largo de toda o parte de la longitud del canal capilar 12.

30 La figura 3 ilustra que el filtro 2 puede estar por encima del canal capilar 12. Las partículas magnéticas secadas 10 pueden estar en un agente de carga 8 en la entrada 6 del canal capilar 12. La salida 14 del canal capilar 12 puede colocarse directamente sobre la zona de sensor 18 sobre la superficie 20 de un circuito integrado 16.

35 Las figuras 4 a 8 son vistas laterales en sección transversal de los componentes clave del dispositivo y demuestran el funcionamiento del dispositivo para un formato de inmunoensayo de captura de tipo sándwich.

40 La figura 4 muestra la muestra de sangre completa 32 que contiene células de sangre completa 34 y uno o más analitos diana 36 colocada sobre la parte superior del filtro de membrana 2.

45 La figura 5 muestra el filtrado 38 atravesando hasta la parte inferior del filtro 2. Desde la parte inferior del filtro 2, el filtrado 38 entra en contacto con el agente de carga altamente hidrófilo 8 en la entrada 6 del canal capilar 12. El agente de carga hidrófilo 8 arrastra el filtrado al interior del canal capilar 12 y las partículas magnéticas 10 se resuspenden. Las partículas magnéticas se recubren con uno o más anticuerpos de captura 30 para su unión a uno o más analitos diana 36.

50 La figura 6 muestra el filtrado 38 fluyendo a través del canal capilar 12. El filtro 2 bloquea el paso de las células de

sangre completa 34, pero no del analito diana 36 que pasa a su través al interior del capilar 12 donde las partículas magnéticas resuspendidas 10 se unen a uno o más analitos diana 36. El flujo debido a la acción capilar arrastra el filtrado a la superficie 20 de un circuito integrado 16.

5 La figura 7 ilustra la formación de una gota pendiente 42 de filtrado 38 a partir de la salida 14 del canal capilar 12. Esta gota se hará más grande hasta que entra en contacto con la superficie 20 del circuito integrado 16, punto en el que el filtrado 38 fluirá a través de la superficie 20 del circuito integrado 16.

10 La figura 8 muestra cómo el filtrado 38 se extiende a través de la superficie 20 del circuito integrado 16. Las partículas magnéticas 10 se sedimentan en la superficie 20 del circuito integrado 16. La superficie 20 puede recubrirse con anticuerpos de superficie 44, y en presencia de uno o más analitos diana, las partículas magnéticas 10 pueden unirse a través de interacciones específicas fuertes con la superficie 20 del circuito integrado 16.

15 La figura 9 muestra una vista en primer plano de dos partículas magnéticas 10a y 10b en la superficie 20 del circuito integrado 16. La partícula magnética 10a puede unirse específicamente a la superficie 20 a través de un complejo inmunológico específico que implica el anticuerpo de superficie 44, el analito diana 36 y el anticuerpo de captura 30. Las partículas magnéticas 10b se han sedimentado en la superficie, pero pueden no estar unidas específicamente, por ejemplo, puesto que no hay complejo inmunológico para anclar fuertemente la partícula magnética 10b a la superficie 20 del circuito integrado 16.

Las figuras 9-11 son vistas en sección transversal que ilustran el funcionamiento del circuito integrado 16.

20 La figura 9 presenta partículas magnéticas 10 a medida que se sedimentan en la superficie 20 del circuito integrado 16. La corriente que fluye fuera del plano de visión a través de los conductores de concentración 62 arrastra las partículas magnéticas a la superficie 20 del circuito integrado 16 directamente por encima de los conductores de concentración 62.

25 La figura 10 muestra partículas magnéticas que se han asentado sobre la superficie 20 del circuito integrado 16. La corriente a través de los conductores de concentración 62 puede desconectarse. Como ejemplo ilustrativo, la partícula magnética 10a puede estar específicamente unida a la superficie 20, mientras que la partícula magnética 10b puede no estar específicamente unida a la superficie 20. La corriente que fluye fuera del plano de visión a través los conductores de separación 64 generó una fuerza magnética sobre las partículas magnéticas. La partícula magnética no específicamente unida 10b puede arrastrarse hacia el conductor de separación, mientras que la partícula magnética específicamente unida 10a permanece inmóvil.

30 La figura 11 muestra las partículas magnéticas tras haberse manipulado las no específicamente unidas. La partícula magnética específicamente unida 10a puede permanecer inmovilizada en la superficie 20, por encima del conductor de concentración 62 y puede detectarse mediante el sensor 60b. La partícula magnética no específicamente unida 10b puede arrastrarse aparte del conductor de concentración 62 y puede permanecer inmovilizada sobre la superficie 20 por encima del conductor de separación 64 y puede detectarse por el sensor 60e. En este caso, el circuito integrado 16 puede detectar una partícula magnética específicamente unida (10a), lo que indica la presencia del analito diana. Con un mayor número de partículas magnéticas y una serie grande de sensores 60, conductores de separación magnética 64 y conductores de concentración 62, puede realizarse un ensayo altamente sensible, multiplexado y cuantitativo.

40 La figura 12 es una vista desde arriba de la superficie 20 del circuito integrado 16. Tras la aplicación de las fuerzas de separación magnéticas, la partícula magnética específicamente unida 10a permanece en la zona de sensor 18. La partícula magnética no específicamente unida 10b puede arrastrarse lejos de la zona de sensor. Sin embargo, obsérvese que ambas partículas magnéticas, 10a y 10b pueden detectarse mediante los sensores 60.

Las figuras 13 a 18 son vistas tridimensionales de las diversas implementaciones del sistema de preparación de muestras. Estas diversas implementaciones pueden usarse para realizar diversos grados de ensayo multiplexado.

45 La figura 13 muestra dos filtros 2a y 2b en proximidad con dos capilares 12a y 12b que pueden contener partículas magnéticas 10c y 10d funcionalizadas con diferentes compuestos químicos de detección. Los capilares 12a y 12b pueden suministrar sus respectivos filtrados a dos zonas de sensor diferentes 18a y 18b.

La figura 14 muestra un filtro 2 en proximidad con dos capilares 12a y 12b que pueden contener partículas magnéticas 10c y 10d funcionalizadas con diferentes compuestos químicos de detección. Los capilares 12a y 12b pueden suministrar sus respectivos filtrados a dos zonas de sensor diferentes 18a y 18b.

50 La figura 15 muestra un filtro 2 en proximidad con dos capilares 12a y 12b que pueden suministrar sus respectivos filtrados a la misma zona de sensor 18.

La figura 16 muestra dos filtros 2c y 2d apilados por encima de un canal capilar 12.

La figura 17 muestra un dispositivo configurado sin capilares. Las partículas magnéticas 10 pueden secarse en o a la parte inferior de un material poroso como un filtro de membrana 2 o una tira de nitrocelulosa. El filtro de membrana 2

puede colocarse a una pequeña distancia por encima de la parte superior del chip.

La figura 18 muestra que puede colocarse un segundo capilar 70 por encima del filtro de membrana 2, por ejemplo para la recogida de la muestra, tal como sangre completa a partir de una punción del dedo. El segundo capilar puede tener un segundo canal capilar 12b que puede tener un segundo diámetro de capilar 156b. El segundo diámetro de capilar 156b puede ser mayor, menor o igual que el primer diámetro de canal capilar 156a. Los canales capilares 156a y 156b pueden ser tal como se enumera en otra parte en el presente documento o de desde aproximadamente 0,25 mm hasta aproximadamente 1 cm, por ejemplo aproximadamente 4 mm. El segundo capilar 70 puede tener una segunda longitud de canal capilar 154b. La segunda longitud de canal capilar 154b puede ser mayor, menor o igual que la primera longitud de capilar 154a. Las longitudes de canal capilar 154a y 154b pueden ser tal como se enumera en otra parte en el presente documento o de desde aproximadamente 1 mm hasta aproximadamente 5 cm, por ejemplo de aproximadamente 5 mm. El diámetro del segundo capilar 70 puede ser mayor que el diámetro del primer capilar 12, por ejemplo, para aumentar el flujo del filtrado.

Las figuras 19 a 21 son vistas en sección transversal de una implementación con 2 canales capilares para lograr un mejor control del protocolo del ensayo.

La figura 19 muestra el sistema con un capilar de sedimentación 84 y un capilar de suministro 92. La entrada 94 del capilar de suministro 92 puede colocarse directamente por debajo del filtro 2. La entrada 94 puede estar configurada para suministrar el filtrado 38 al interior del capilar de sedimentación 84. El capilar de suministro 92 puede tener reactivos secados 82 en la entrada 94 para facilitar el flujo del filtrado 38 desde la parte inferior del filtro 2 al interior del capilar 92. El capilar de suministro 92 puede situarse de manera que el filtrado 38 fluya lateralmente desde la parte inferior del filtro 2 hasta el capilar de sedimentación 84. El capilar de sedimentación 84 puede colocarse verticalmente por encima directamente de la zona de sensor 18. El capilar de suministro 92 puede unirse al capilar de sedimentación 84 en cualquier punto a lo largo de la altura del capilar de sedimentación 84, por ejemplo en el medio. Los capilares de suministro y sedimentación 92 y 84 pueden fabricarse en un cartucho capilar de plástico individual 80. Los capilares en el cartucho 80 pueden fabricarse usando grabado en relieve de plástico, moldeo por inyección o fotolitografía. Puede colocarse una microesfera liofilizada 90 en la entrada 86 en la parte superior del capilar de sedimentación 84. La microesfera liofilizada 90 puede tener un diámetro de microesfera 160, por ejemplo, de desde aproximadamente 0,1 mm hasta aproximadamente 5 mm, de manera más estrecha desde aproximadamente 0,5 mm hasta aproximadamente 4 mm, por ejemplo de aproximadamente 2 mm.

La figura 20 muestra una gota de sangre completa 32 colocada sobre el filtro de membrana 2. Las células de sangre completa 34 pueden atraparse en la membrana 2. El filtrado 38 que contiene los analitos diana 36 puede fluir a través de la entrada 94 del capilar de suministro 92. El filtrado 38 puede fluir a través del capilar de suministro 92 y al interior del capilar de sedimentación 84. El filtrado 38 puede fluir entonces hacia abajo hasta la zona de sensor 18 sobre la superficie 20 del IC 16, y hacia arriba hasta la microesfera 90. El filtrado 38 puede fluir sobre la zona de sensor 18 y a través de la superficie 20 del circuito integrado 16 antes de que el filtrado 38 alcance la microesfera 90. El filtrado 38 ya no puede fluir a través del capilar de sedimentación 84 en el momento en el que el filtrado alcanza la microesfera 90. Tras el contacto con la microesfera 90, el agente de carga 8 puede solubilizarse.

La figura 21 muestra las partículas magnéticas 10 incubándose con el analito diana 36. Cuando no hay flujo, el agente de carga soluble 98 puede estar estacionario, es decir, sin flujo en ninguna dirección. La difusión del agente de carga solubilizado 98 puede ser lenta, y puede verse superada por la velocidad de sedimentación de las partículas magnéticas 10 por medio de gravedad o una fuerza de concentración magnética. Las partículas magnéticas 10 pueden sedimentarse fuera del agente de carga solubilizado 98, por ejemplo, a través del capilar de sedimentación 84 sobre la zona de sensor 18 en la superficie 20 del circuito integrado 16. Las partículas magnéticas 10 pueden unirse a la superficie 20 del IC 16 en la zona de sensor 18 en presencia de uno o más analitos diana 36, y el protocolo del ensayo puede avanzar tal como se describió anteriormente.

La figura 22 es una vista en sección transversal del circuito integrado 16 con sensores ópticos de partículas magnéticas 104a a 104e. Los sensores de partículas magnéticas 104a a 104e pueden incrustarse en el IC. El sistema puede tener una fuente de iluminación externa 100. La fuente de iluminación 100 puede emitir fotones hacia el IC. La fuente de iluminación 100 puede emitir luz visible, luz invisible (por ejemplo, infrarroja, ultravioleta), o combinaciones de las mismas. Las partículas magnéticas 10c y 10d sobre la superficie 20 del circuito integrado 16 pueden proyectar una sombra 102 que puede reducir la cantidad de luz transmitida desde la fuente de luz 100 hasta el sensor óptico 104b. El sensor óptico 104b puede detectar la cantidad de partícula magnética 10c midiendo la reducción de la luz incidente. El circuito integrado 16 puede tener una superficie que puede transmitir la luz, tal como aunque sin limitarse a dióxido de silicio. Además, los conductores de concentración 62 y los conductores de separación 64 pueden ser más delgados que el diámetro de las partículas magnéticas 10, por ejemplo para detectar la mayoría o todas las partículas magnéticas.

Los sensores ópticos 104a y 104b pueden ser sensores de píxeles activos, dispositivos de carga acoplada, fotodiodos de avalancha, fotodiodos PIN, otros detectores ópticos en estado sólido, LED, o combinaciones de los mismos.

Las figuras 23 a 25 son secciones transversales parciales de una implementación en la que las partículas

magnéticas se incuban con diferentes fluidos secuencialmente.

5 La figura 23 muestra el capilar de sedimentación 84 lleno con más de una región de fluido, es decir diferentes tampones cargados en serie en el canal capilar 84. En ausencia de flujo turbulento, estas regiones de fluido sólo se mezclan en la superficie de contacto debido a procesos de difusión. La acción capilar puede arrastrar estas regiones de fluido hasta la parte superior del capilar de sedimentación 84 donde se encuentra una microesfera 90. El capilar de sedimentación 84 puede llenarse con un tampón de lisis 110, un tampón de amplificación isotérmica 112 y un tampón de detección 114.

La figura 24 muestra que una vez que la región más superior de fluido alcanza la microesfera, el agente de carga 8 se solubiliza para dar un agente de carga solubilizado 98.

10 La figura 25 muestra las partículas magnéticas 10 sedimentándose mucho más rápido que la difusión de los fluidos de modo que las partículas magnéticas 10 pueden sedimentarse a través de todas las diferentes regiones secuencialmente. Las partículas magnéticas 10 pueden capturar los oligonucleótidos diana a medida que las partículas magnéticas 10 atraviesan la materia orgánica lisada en el tampón de lisis 110, los oligonucleótidos diana pueden amplificarse a medida que las partículas magnéticas 10 atraviesan el tampón de amplificación 112 y finalmente las partículas magnéticas 10 entran en el tampón de detección 114, lo que permite que se unan a la superficie 20 del IC 16.

20 Aunque la descripción anterior contiene muchos detalles, estos no deben interpretarse como limitativos del alcance de la divulgación sino que simplemente proporcionan ilustraciones de una variedad de variaciones del dispositivo y el método dados a conocer. Por tanto, se apreciará que el alcance de la divulgación en el presente documento abarca completamente otras variaciones que pueden resultar obvias para los expertos en la técnica. Las referencias a un elemento en singular no pretenden significar “uno y sólo uno” a menos que se establezca así explícitamente, sino más bien “uno o más.” Los términos dispositivo y sistema se usan de manera intercambiable en el presente documento. Pueden usarse dispositivos, sistemas, elementos, rasgos distintivos, características, etapas y métodos dados a conocer en el presente documento en cualquier combinación funcional más allá de las mostradas, y sólo se muestran en las combinaciones ilustradas explícitamente para fines de ejemplo.

25

**REIVINDICACIONES**

1. Dispositivo para analizar una muestra de fluido biológico (32) que comprende:  
un filtro (2) configurado para filtrar la muestra de fluido biológico (32) dando como resultado un filtrado (38) que comprende un analito diana (36);
- 5 una superficie expuesta (20) que tiene una zona de sensor (18),  
en el que la zona de sensor comprende un sensor (60);  
un capilar de sedimentación (84) colocado verticalmente por encima de la zona de sensor (18);  
partículas magnéticas secadas (10) en una entrada superior (86) del capilar de sedimentación (84) que comprenden partículas magnéticas (10) funcionalizadas para reaccionar con el analito diana;
- 10 un capilar de suministro (92) que tiene una entrada (94) colocada directamente por debajo del filtro (2) y una salida conectada mediante comunicación de fluido al capilar de sedimentación (84), en el que el capilar de suministro (92) está configurado para suministrar el filtrado (38) a la zona de sensor (18) antes de que el filtrado (38) fluya hacia arriba en el capilar de sedimentación (84) hasta las partículas magnéticas secadas (10); y
- 15 en el que las partículas magnéticas (10) pueden sedimentarse a través del capilar de sedimentación (84) en la superficie expuesta (20) tras el contacto con el filtrado (38), y  
en el que el sensor está configurado para detectar partículas magnéticas que se unen específicamente a la zona de sensor (18) sobre dicha superficie expuesta (20).
2. Dispositivo según la reivindicación 1, que comprende además un agente de carga (8), en el que el agente de carga (8) y las partículas magnéticas se secan o se liofilizan en una microesfera seca (90).
3. Dispositivo según la reivindicación 1, en el que el sensor comprende un sensor óptico (104).
4. Dispositivo según la reivindicación 1, en el que el sensor comprende un sensor magnético (104).
5. Dispositivo según la reivindicación 1, en el que la muestra de fluido biológico comprende sangre completa, y en el que el filtro (2) está configurado adicionalmente para bloquear células sanguíneas en la sangre completa.
- 25 6. Dispositivo según la reivindicación 1, en el que el dispositivo está configurado para realizar un ensayo biológico contando el número de partículas magnéticas (10) unidas a la zona de sensor (18) en el que el número de partículas magnéticas (10) unidas a la zona de sensor (18) corresponde a una concentración del analito diana en la muestra de fluido biológico presentada para su análisis.
- 30 7. Dispositivo según la reivindicación 1, en el que la superficie expuesta (20) está recubierta con uno o más compuestos químicos para realizar ensayos múltiples en paralelo.
8. Método para analizar una muestra de fluido biológico (32) que comprende:  
proporcionar un dispositivo (1) para analizar la muestra de fluido biológico (32) que tiene:  
35 una superficie expuesta (20) que tiene una zona de sensor (18), en el que la zona de sensor (18) comprende un sensor (60);  
un capilar de sedimentación (84) verticalmente por encima de la zona de sensor (18);  
partículas magnéticas secadas (10) en la entrada superior (86) del capilar de sedimentación (84) que comprenden partículas magnéticas (10) funcionalizadas para reaccionar con un analito diana (36); y  
un capilar de suministro (92) que tiene una entrada colocada directamente por debajo de un filtro (2) y una salida conectada mediante comunicación de fluido con el capilar de sedimentación (84), que suministra la muestra de fluido biológico (32) sobre el filtro (2) dando como resultado un filtrado (38) que comprende el analito diana (36);  
40 transferir el filtrado (38) al capilar de suministro (92);  
transferir el filtrado (38) a través del capilar de suministro (92) a la superficie expuesta (20) antes de que el filtrado fluya hacia arriba en el capilar de sedimentación (84) hasta la entrada superior (86) del capilar de sedimentación (84), en el que las partículas magnéticas (10) pueden sedimentarse a través del capilar de sedimentación (84) hasta la superficie expuesta (20); y
- 45

detectar, mediante el sensor (60), partículas magnéticas (10) que se unen específicamente a la superficie (20).

9. Método según la reivindicación 8, en el que las partículas magnéticas (10) se secan en un agente de carga (8), y en el que el agente de carga (8) se solubiliza tras el contacto con el filtrado.
- 5 10. Método según la reivindicación 8, en el que el sensor comprende un sensor óptico (104).
11. Método según la reivindicación 8, en el que el sensor comprende un sensor magnético (104).
12. Método según la reivindicación 8, en el que la muestra de fluido biológico comprende sangre completa, y en el que el filtro (2) está configurado adicionalmente para bloquear células en la sangre completa.
13. Método según la reivindicación 8, que comprende además:
- 10 contar el número de partículas magnéticas (10) unidas a la zona de sensor (18), en el que el número de partículas magnéticas (10) unidas a la zona de sensor corresponde a una concentración del analito diana en la muestra de fluido biológico analizada.
14. Método según la reivindicación 8, en el que la superficie expuesta (20) está recubierta con uno o más compuestos químicos para realizar múltiples ensayos en paralelo.

15

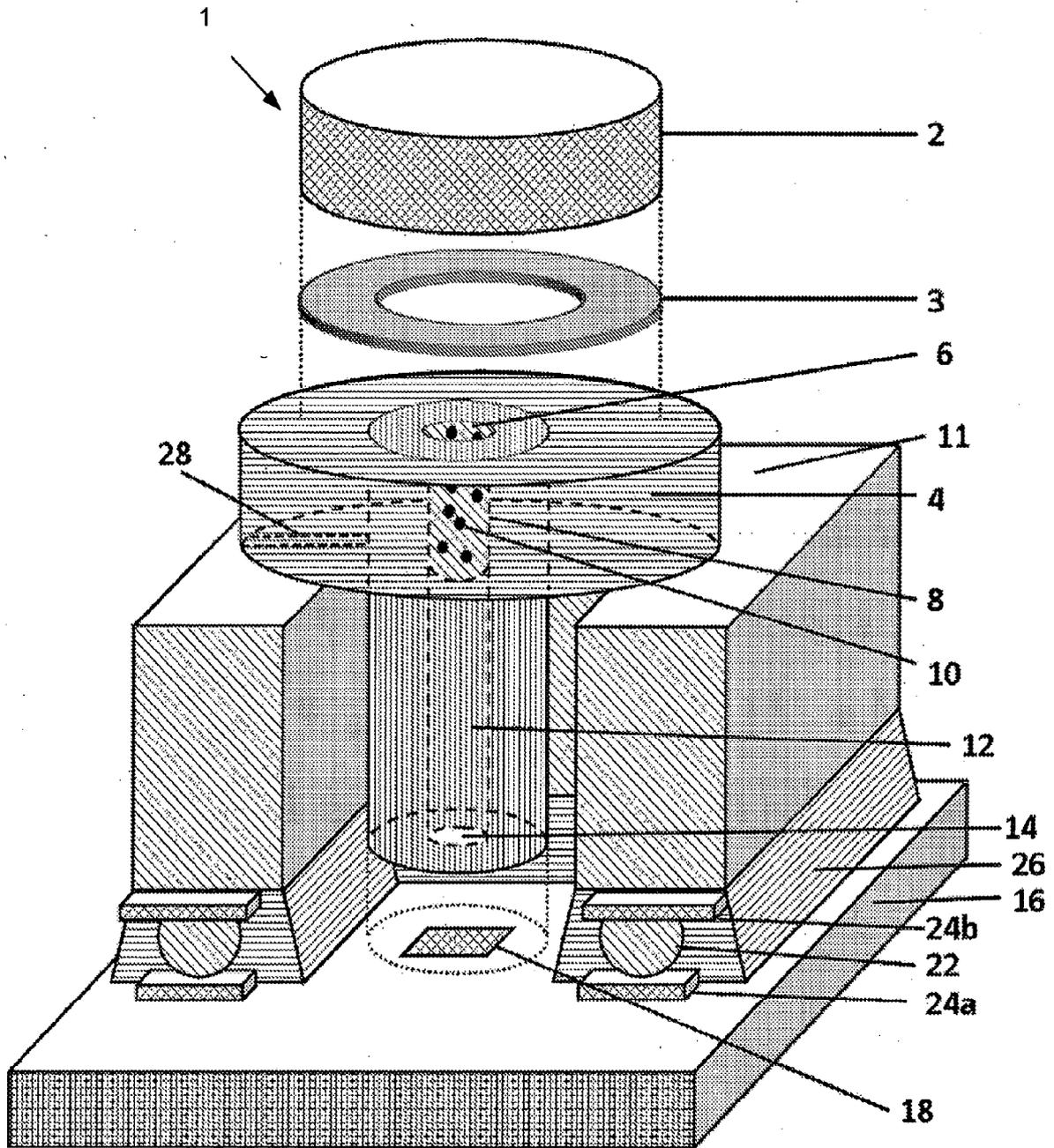


Fig. 1



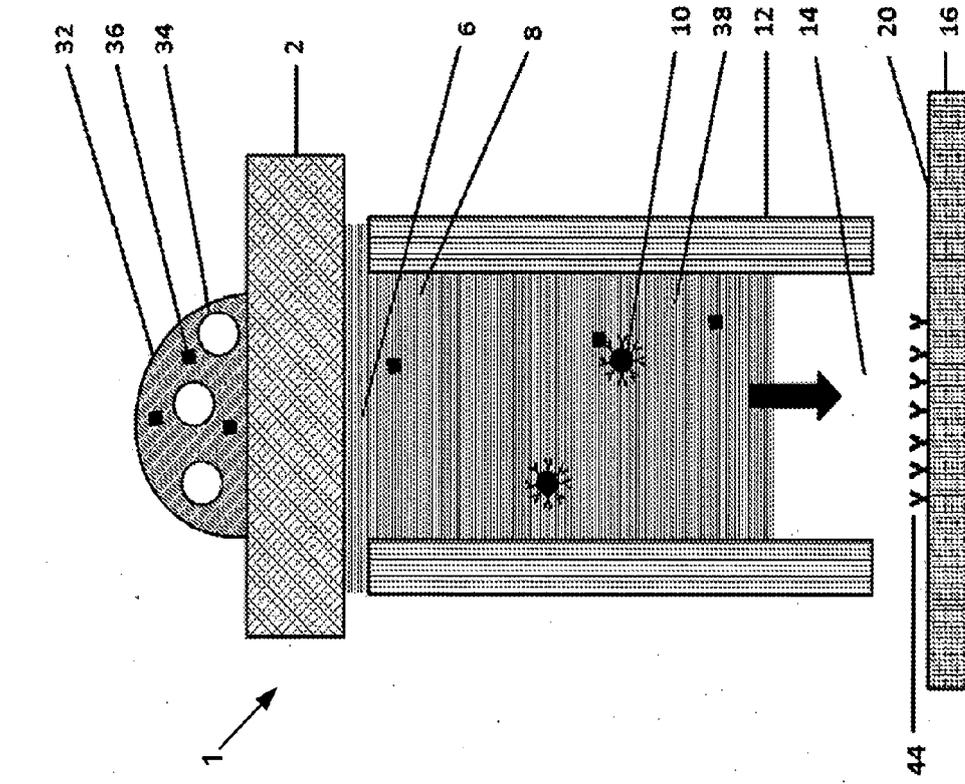


Fig. 4

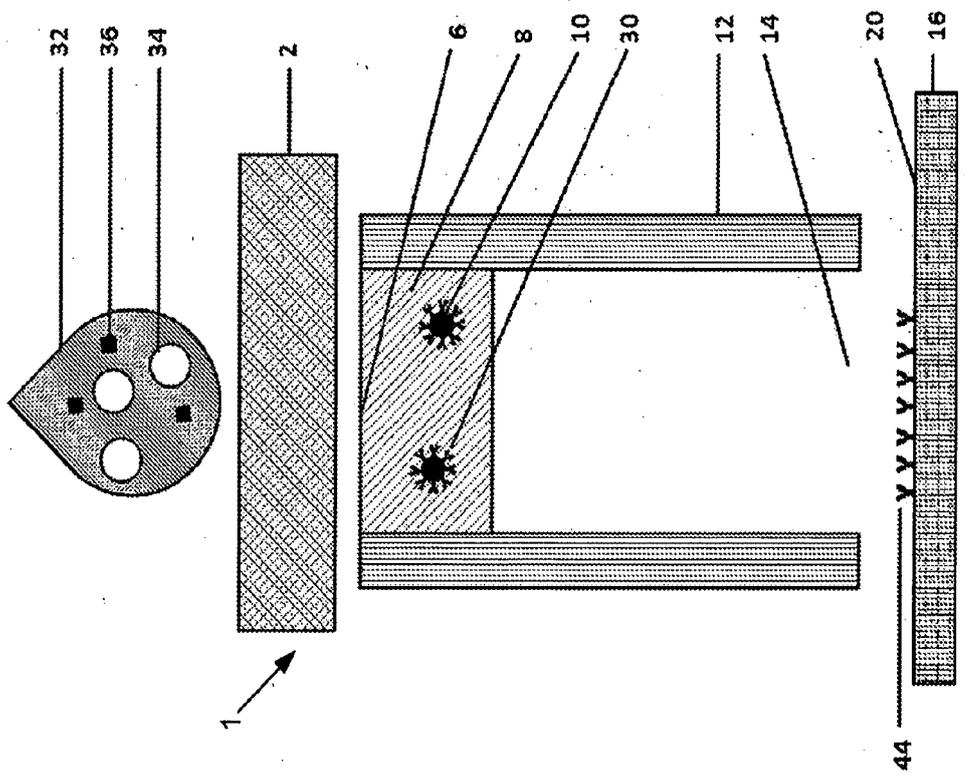


Fig. 5

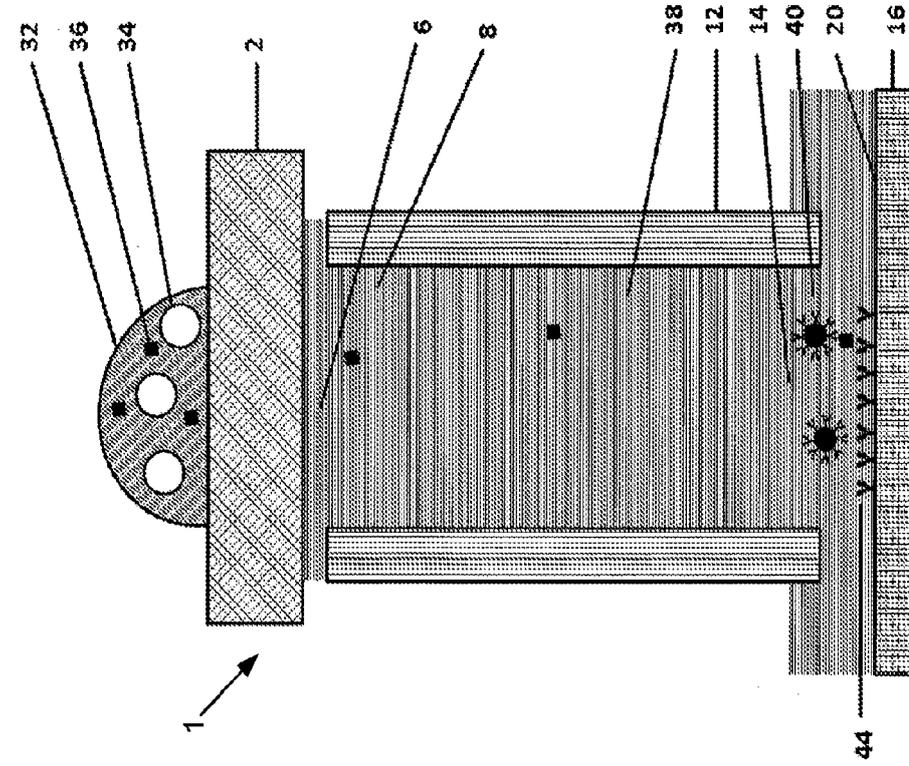


Fig. 6

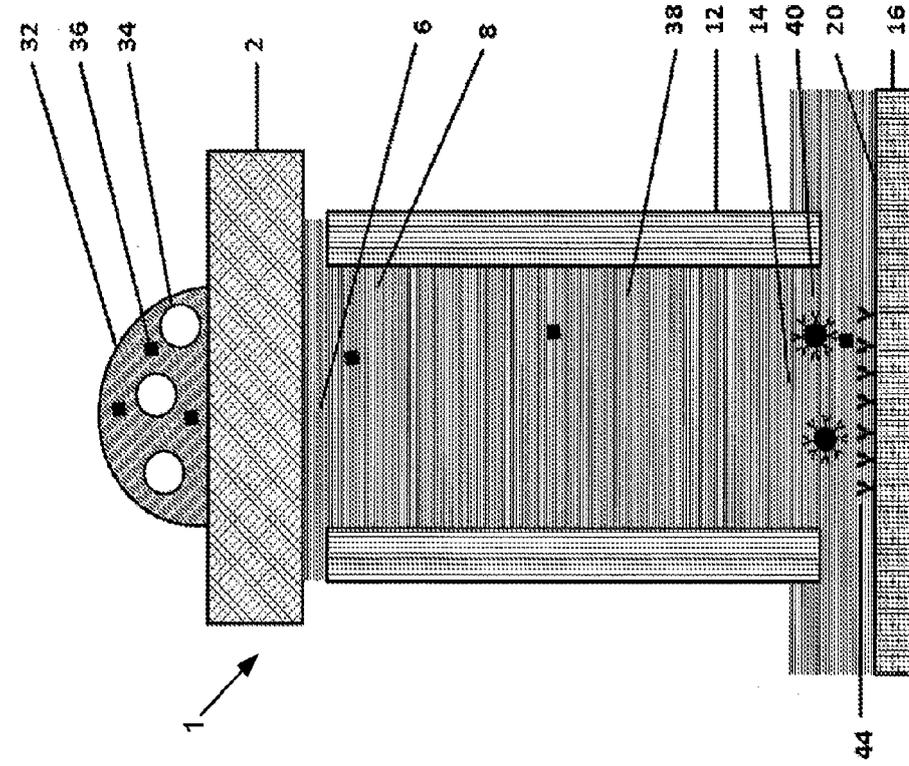


Fig. 7

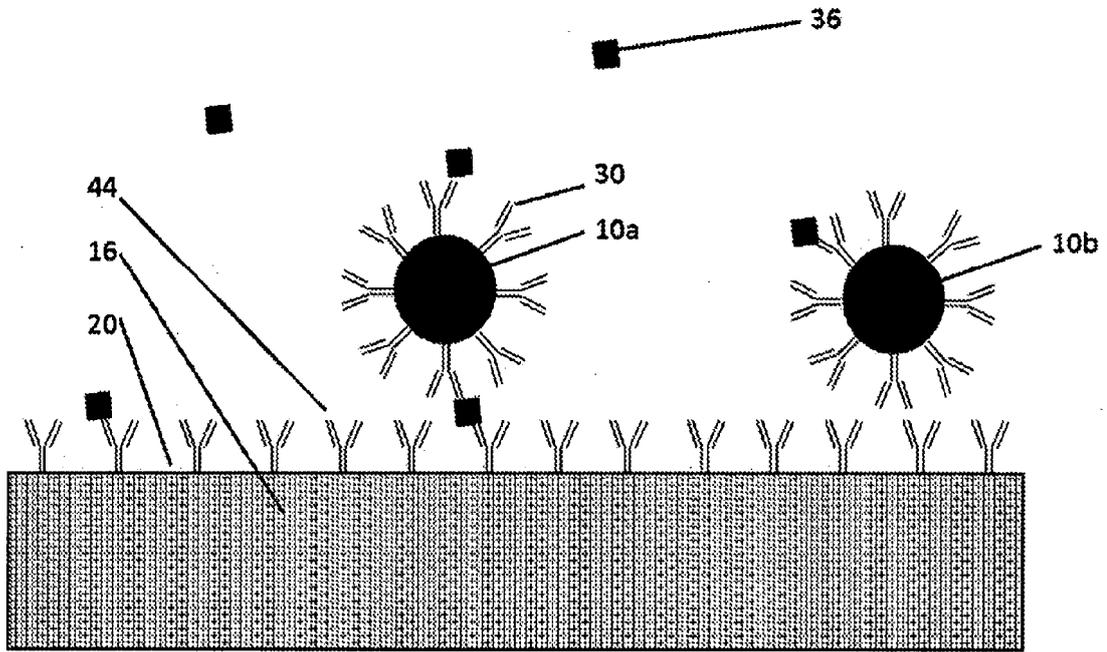


Fig. 8

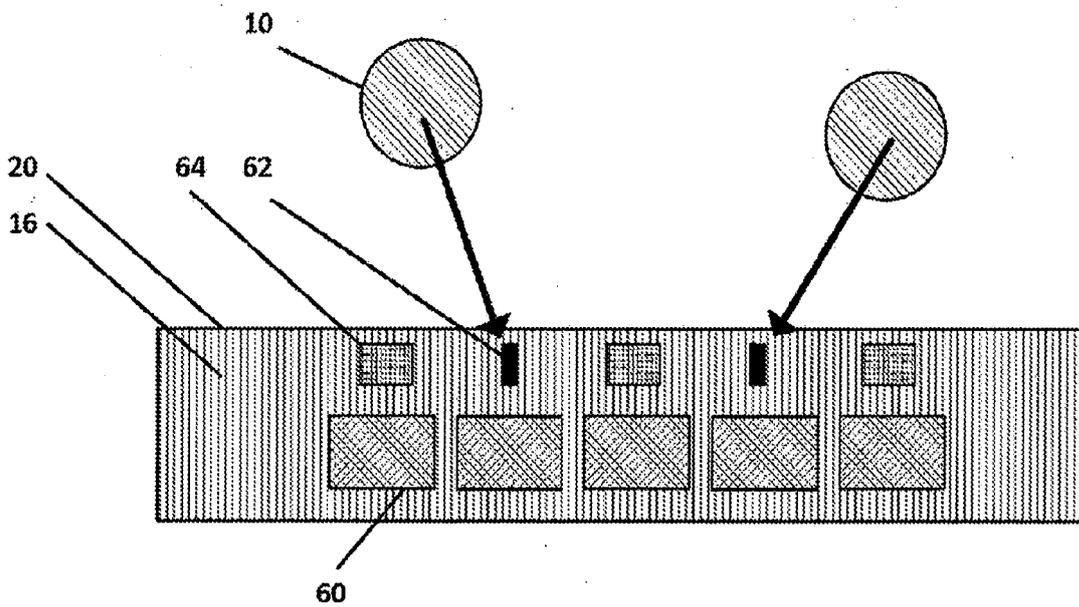


Fig. 9

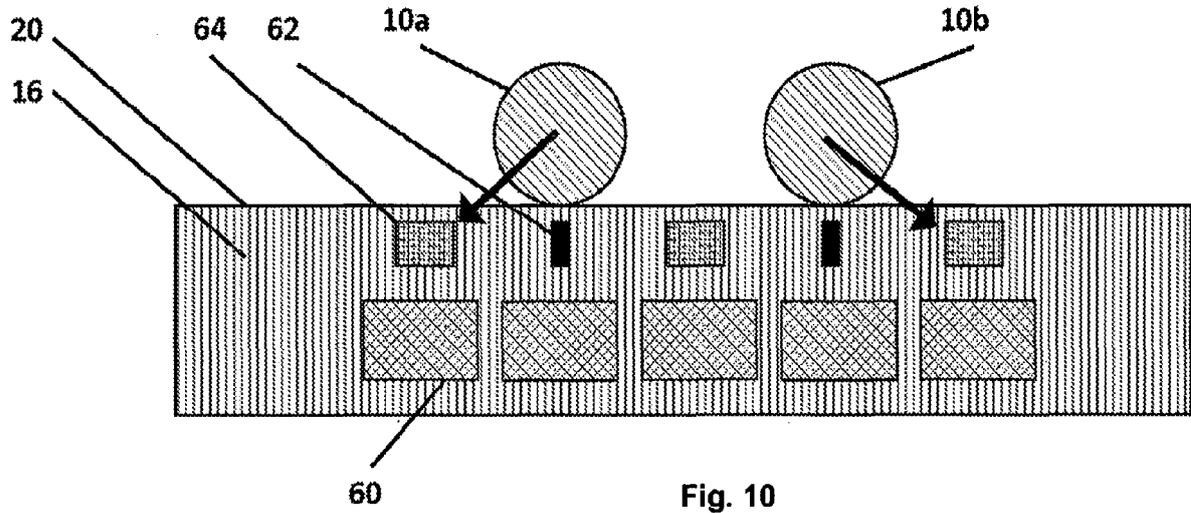


Fig. 10

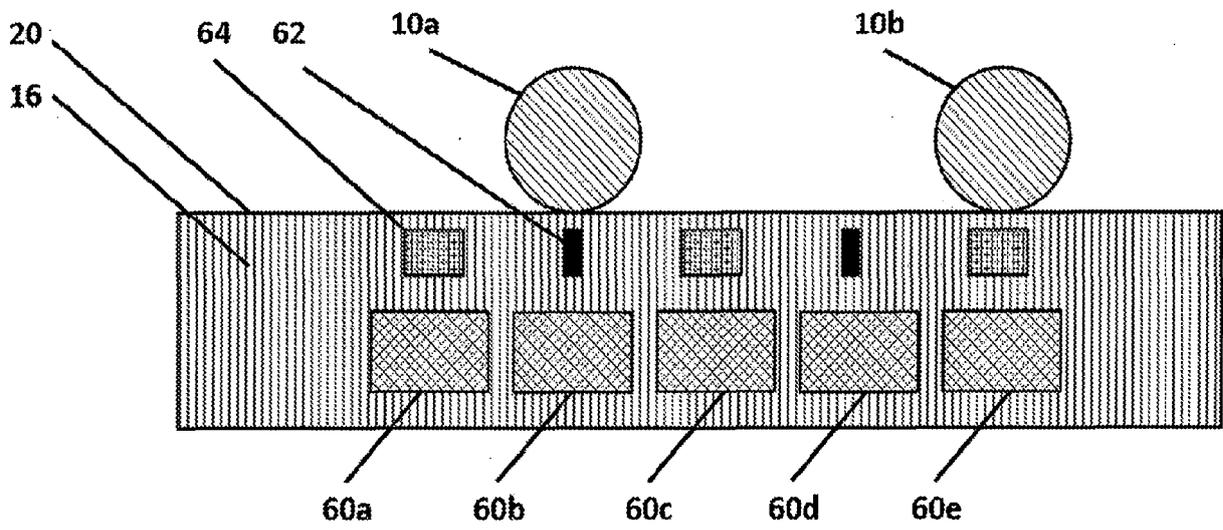


Fig. 11

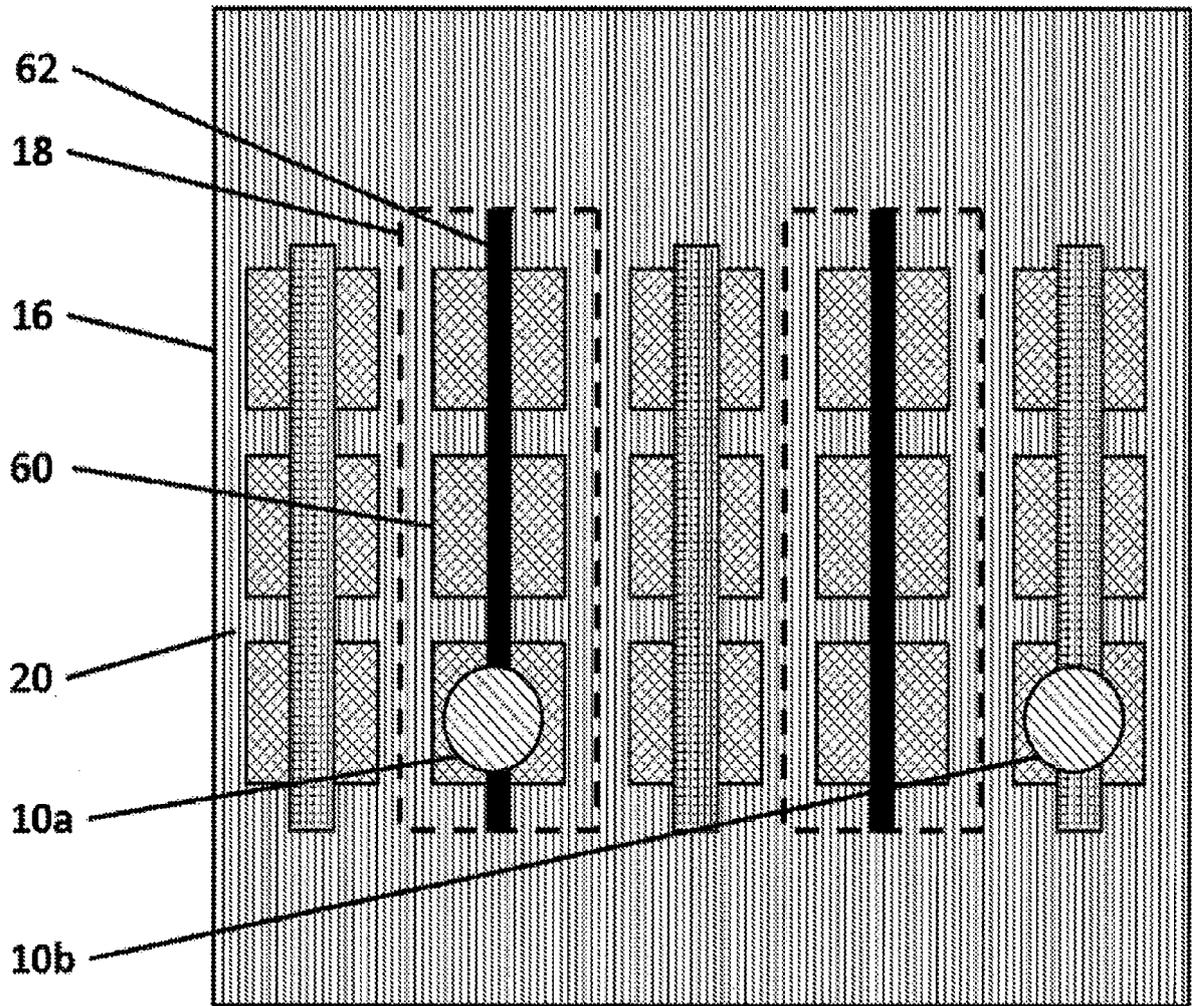


Fig. 12

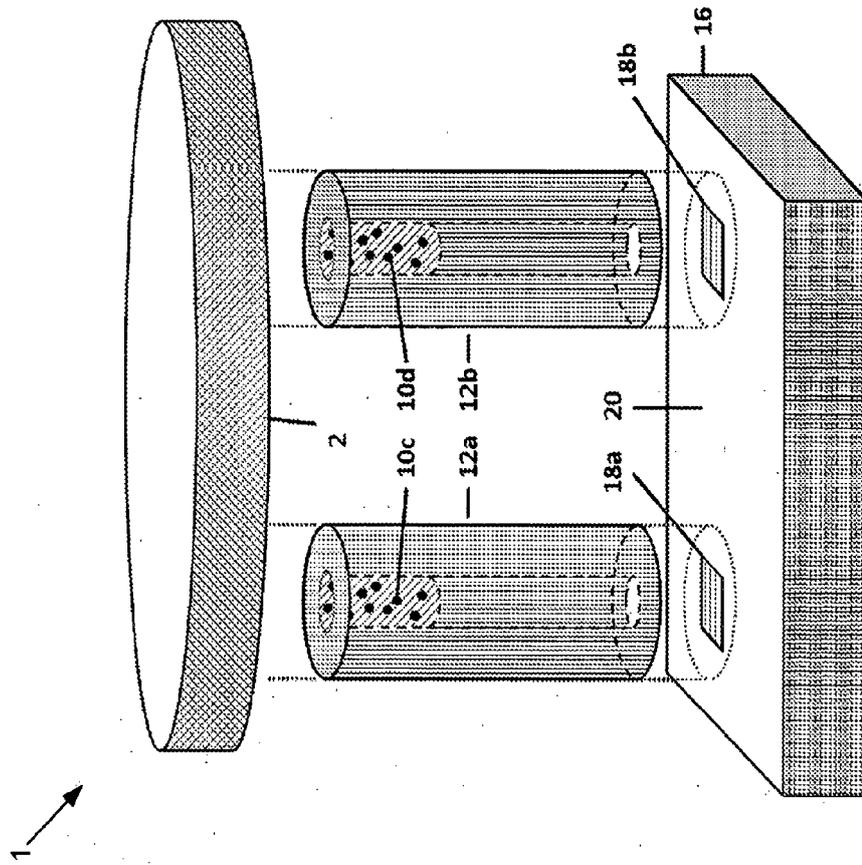


Fig. 13

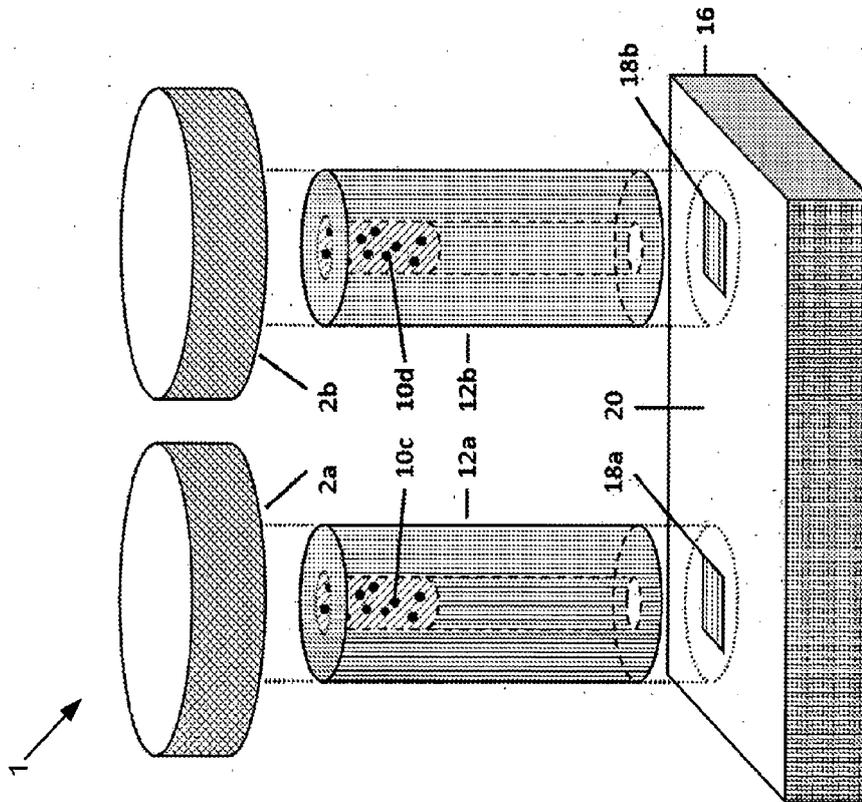


Fig. 14

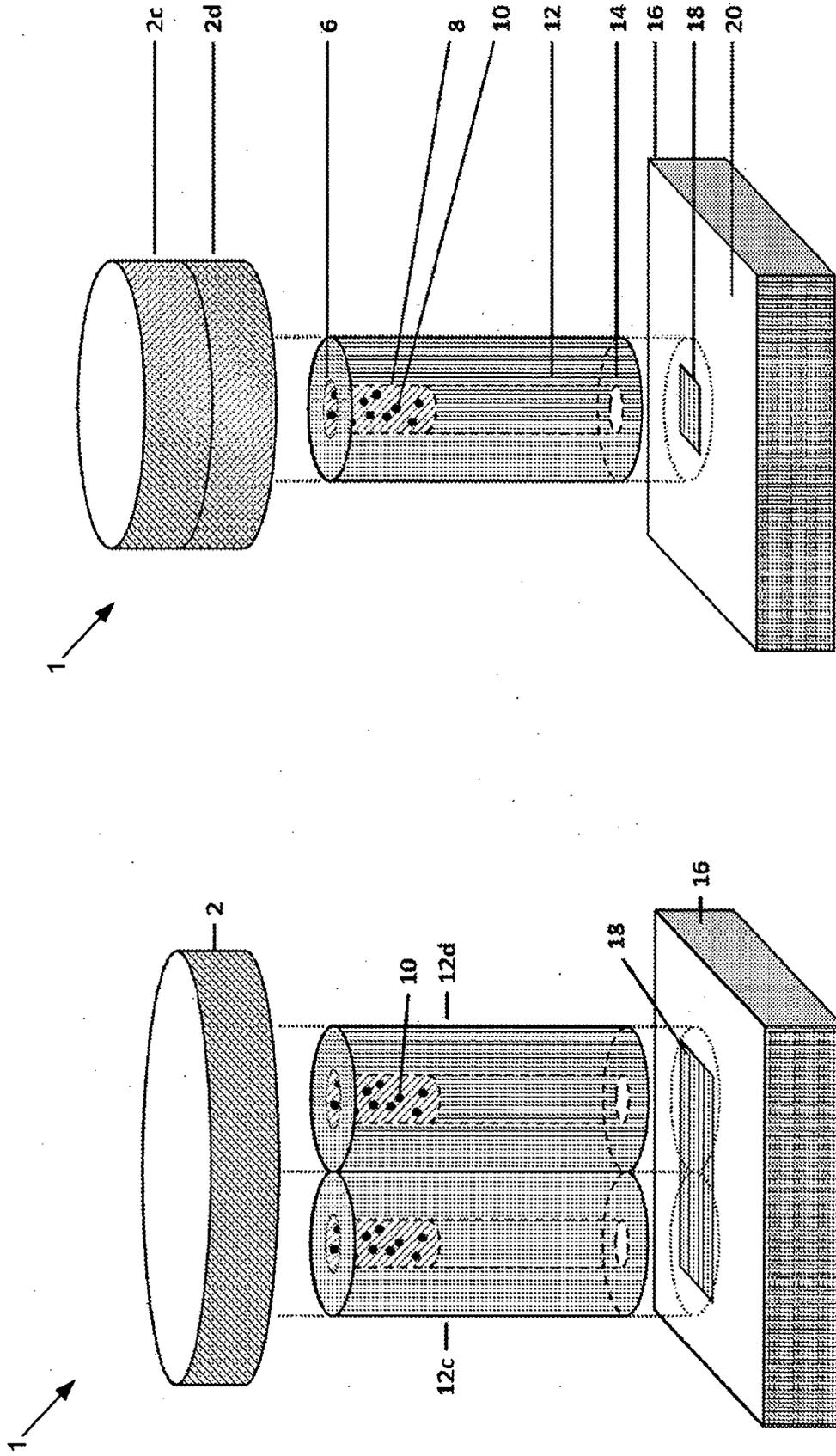


Fig. 15

Fig. 16

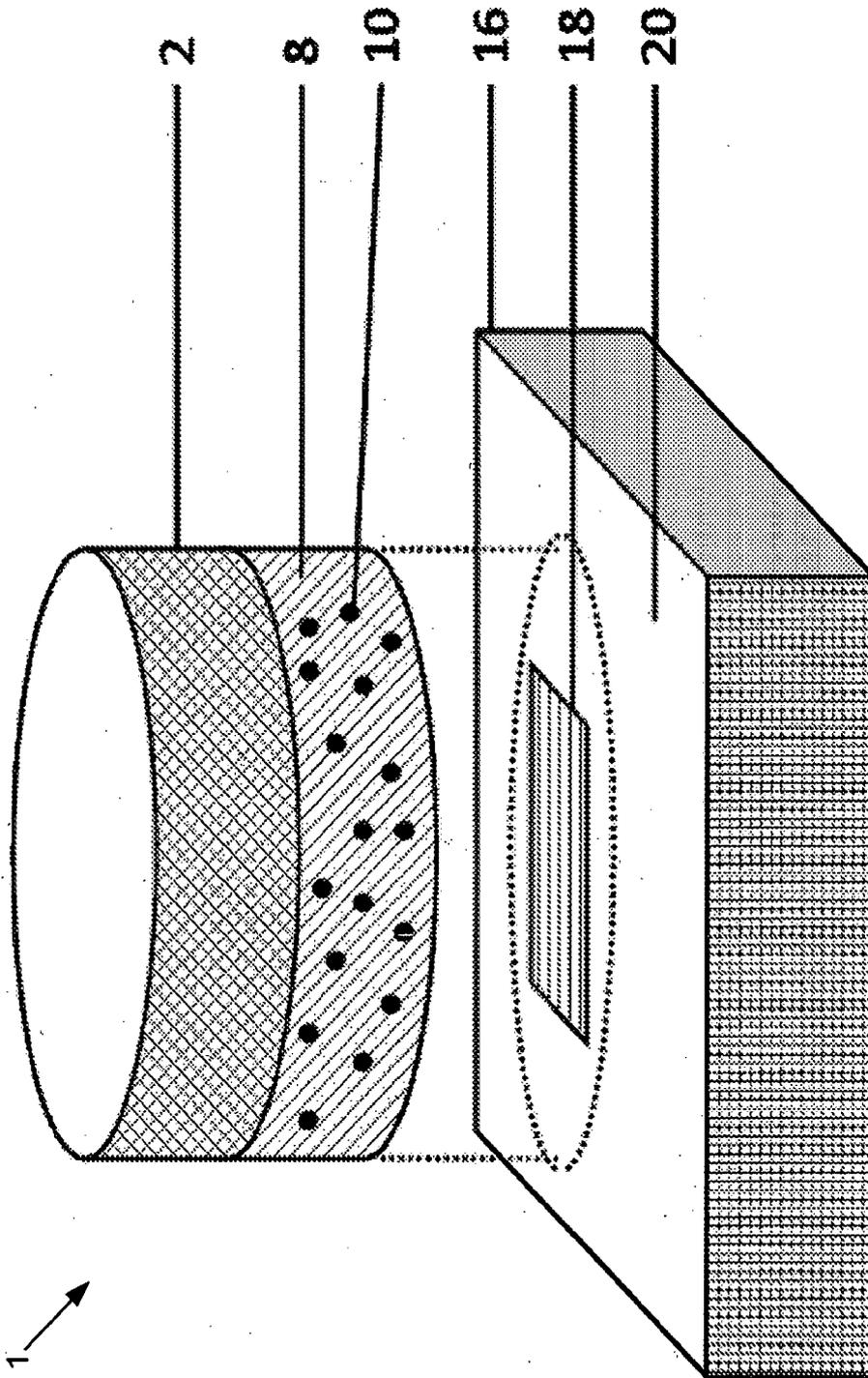


Fig. 17

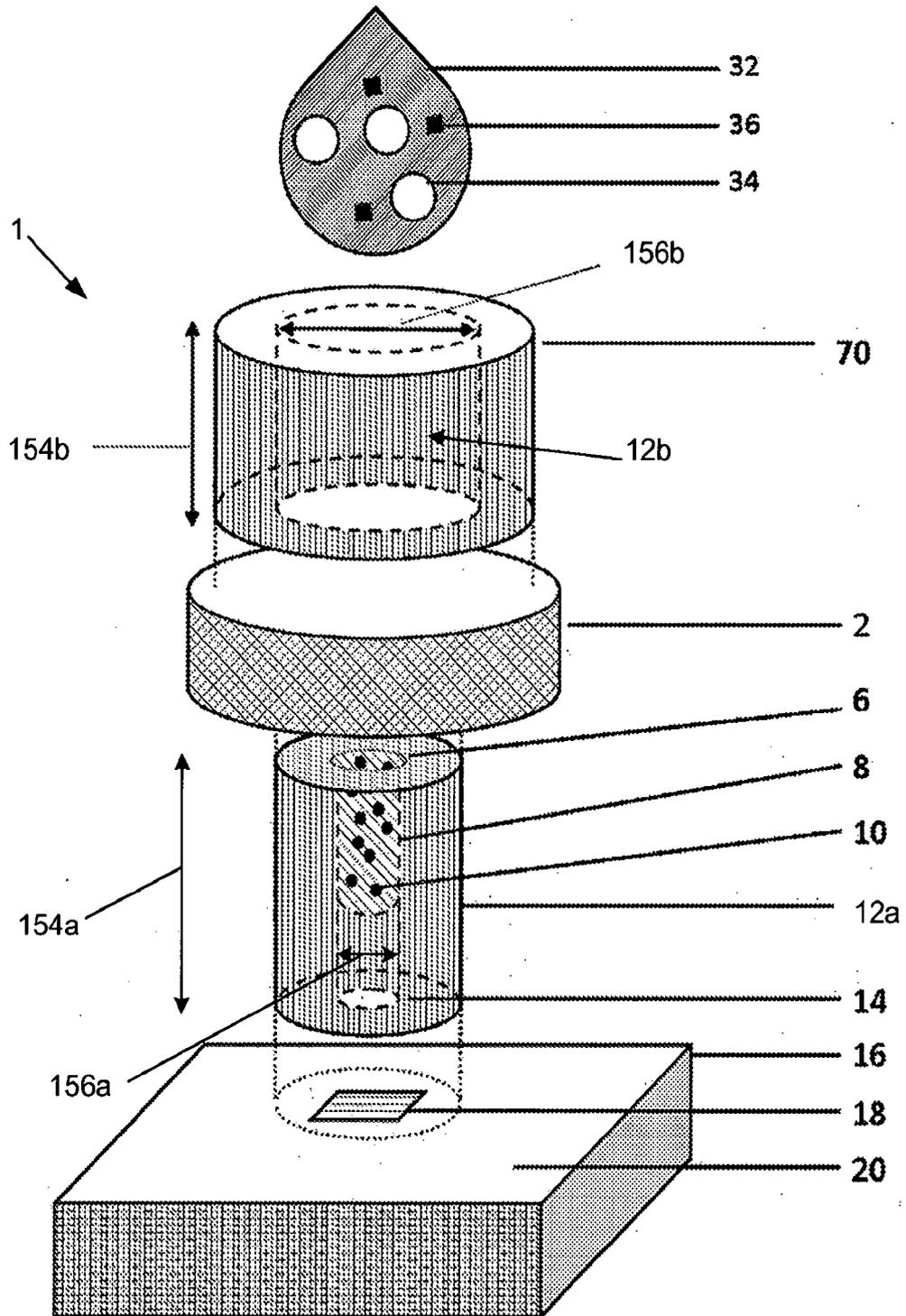


Fig. 18

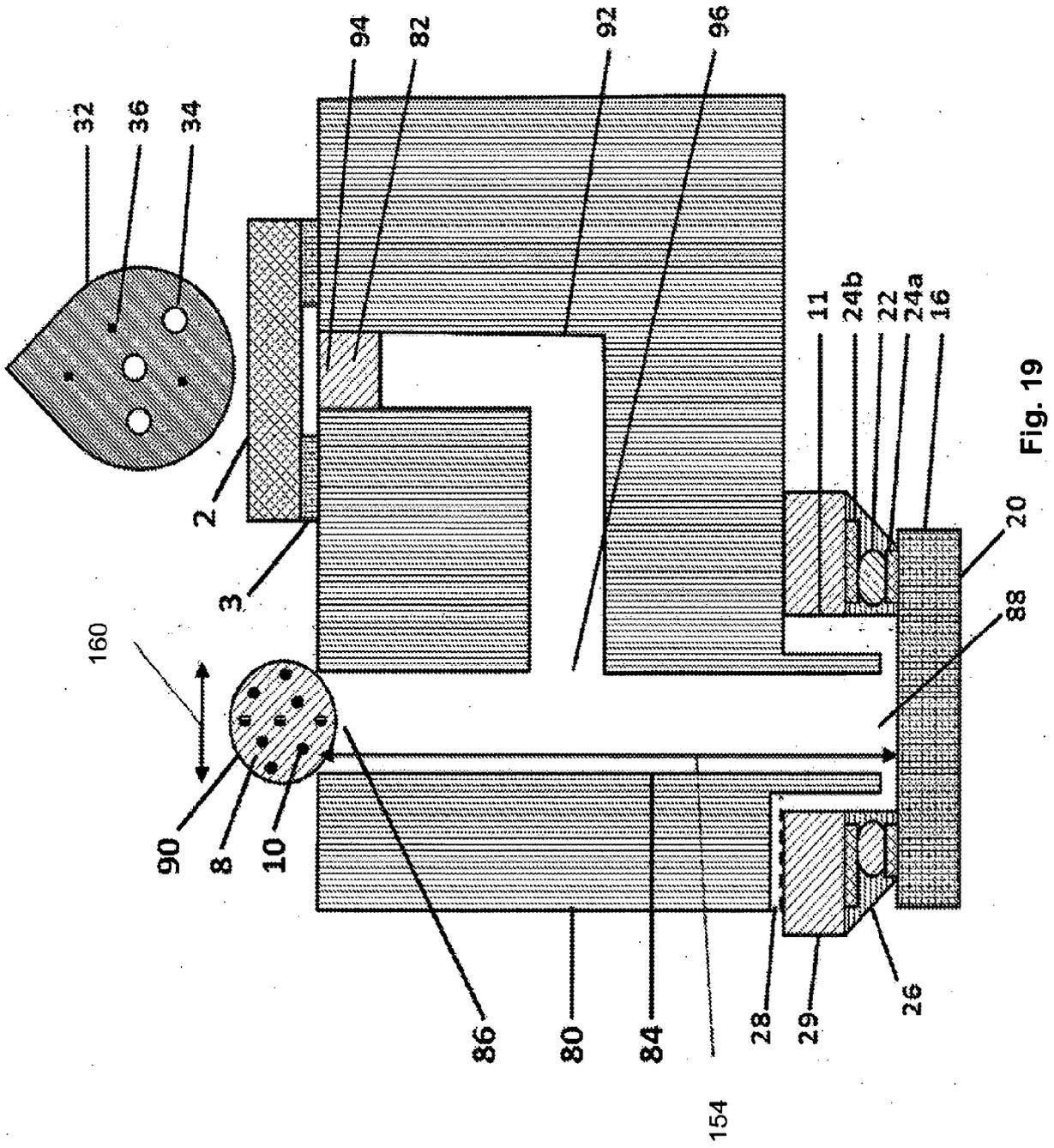


Fig. 19



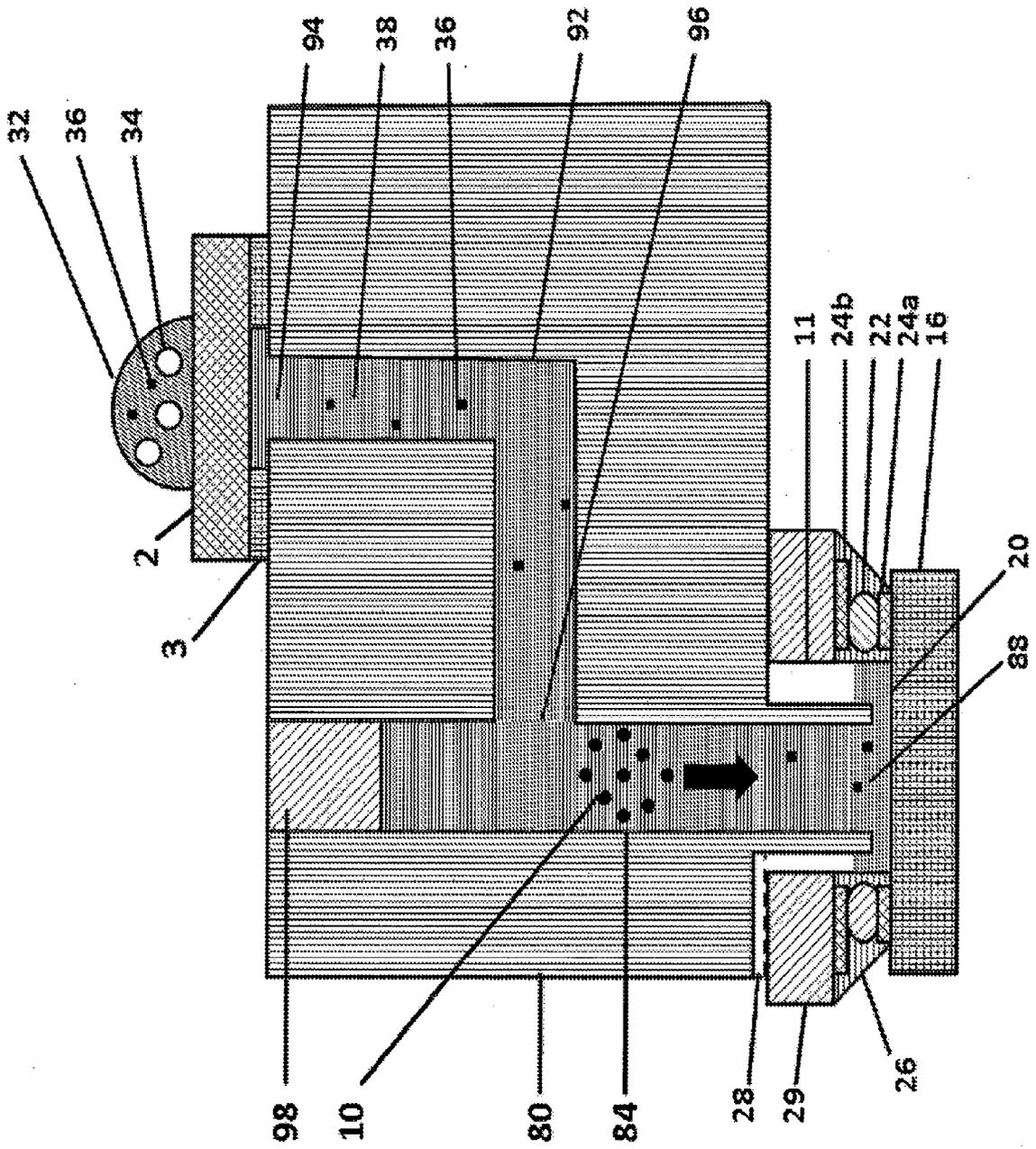


Fig. 21

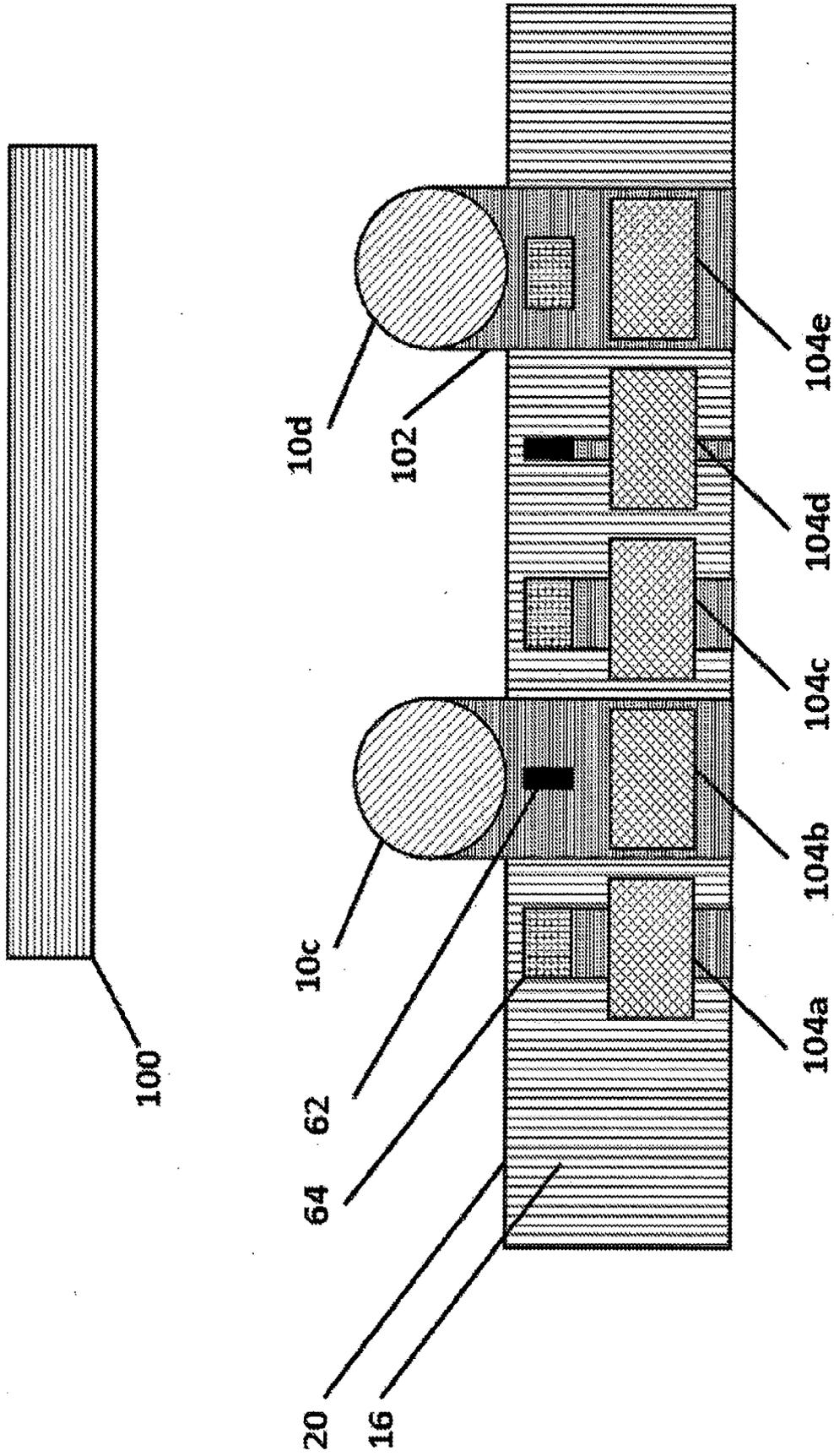


Fig. 22

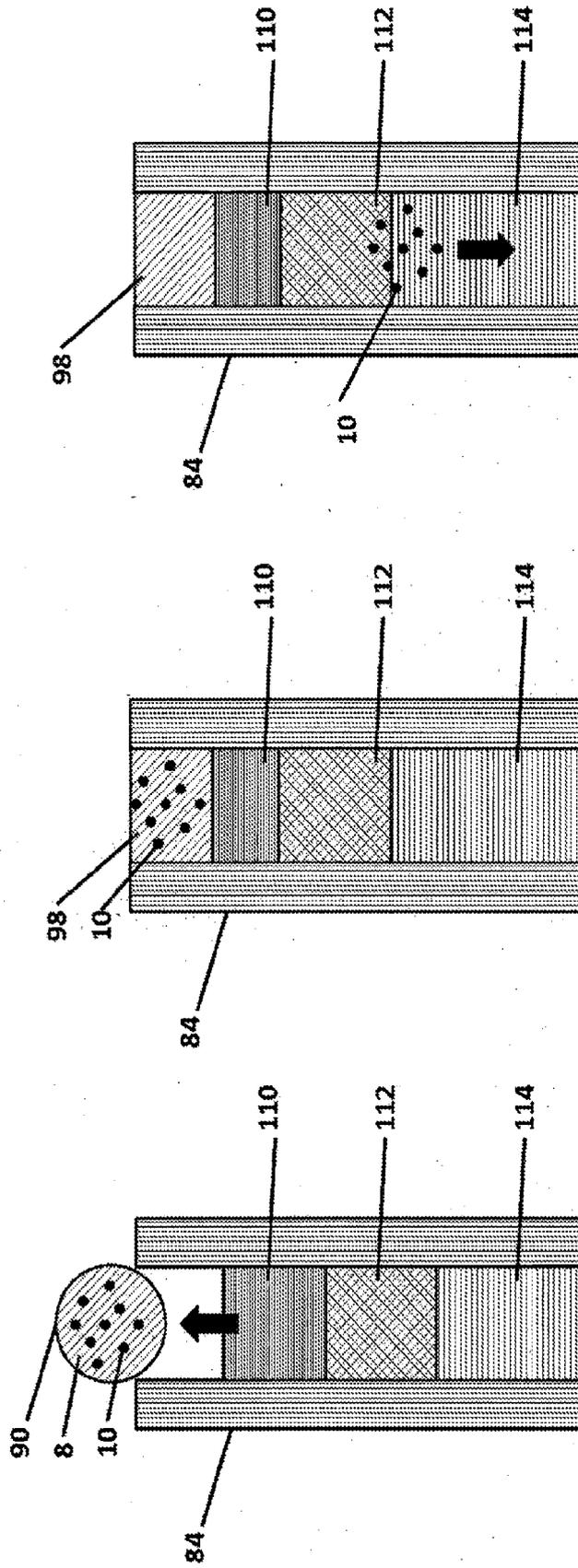


Fig. 25

Fig. 24

Fig. 23