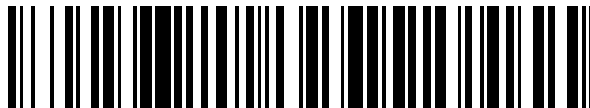


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 663 450**

51 Int. Cl.:

B01L 3/00	(2006.01)
F04B 19/00	(2006.01)
G01N 21/11	(2006.01)
G01N 21/76	(2006.01)
B01L 3/02	(2006.01)
G01N 35/10	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.04.2014 PCT/AT2014/050100**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.10.2014 WO14172740**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.04.2014 E 14734714 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.12.2017 EP 2988871**

54 Título: **Procedimiento para llenar un dispositivo microfluídico mediante un sistema dispensador y sistema de ensayo correspondiente**

30 Prioridad:

25.04.2013 AT 502862013

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

12.04.2018

73 Titular/es:

**GREINER BIO-ONE GMBH (100.0%)
Bad Haller Strasse 32
4550 Kremsmünster, AT**

72 Inventor/es:

**MÜLLEDER, OLIVER y
SONNLEITNER, MAX**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 663 450 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

Procedimiento para llenar un dispositivo microfluidico mediante un sistema dispensador y sistema de ensayo correspondiente

5 La presente invención se refiere a un procedimiento para llenar boquillas de un sistema dispensador de un sistema de ensayo, así como a un sistema de ensayo que comprende un sistema dispensador, un dispositivo microfluidico y por lo menos un sensor fotosensible con una pluralidad de fotodetectores.

10 Muchos sistemas de ensayo point-of-care en el diagnóstico in vitro requieren la introducción manual de diversas soluciones en un recipiente de muestras. Así, por ejemplo, el documento WO 2012/080339 A1 describe un aparato de medición, en el que de manera manual y secuencial se deben introducir gota a gota tres reactivos diferentes en el orden de volumen de 10 µl durante la realización del ensayo. Esta introducción manual por goteo representa una desventaja, ya que el tiempo de manipulación durante la ejecución de los ensayos es muy largo y ocupa personal. Además, debido a su escasa robustez y reproducibilidad, el goteo manual encierra un cierto riesgo de generar resultados erróneos. Adicionalmente, en el documento WO 2012/080339 A1 también se describe un dispositivo de descarga de reactivos que está diseñado como una ampolla.

15 Los dispositivos dispensadores automáticos resuelven los problemas de la adición manual de reactivos. Ellos permiten una aplicación rápida y precisa de diferentes volúmenes en un recipiente con muestras de ensayo. Para el diagnóstico in vitro, con frecuencia se emplean sistemas que permiten un dispensado altamente preciso y libre de contacto de volúmenes comprendidos en el orden de magnitudes que van desde los microlitros hasta los nanolitros.

20 Los documentos US 2010/0221704 A1, US 2003/0132112 A1 y US 6.589.790 B1 desvelan respectivamente un procedimiento para introducir soluciones en dispositivos microfluidicos. Sin embargo, los sistemas dispensadores convencionales para varios reactivos usan componentes costosos y complicados, que no son apropiados para sistemas point-of-care.

25 En los sistemas dispensadores automáticos convencionales con tan sólo una boquilla con una abertura de salida y varias válvulas (también multicanal) para el paso del reactivo requerido, quedan volúmenes muertos en la ruta del líquido, en la que se mezclan los reactivos. A este respecto, es necesario hacer un lavado completo después de cada reactivo y recoger el líquido de lavado en un recipiente separado. Sin embargo, la disposición de un circuito de líquido propio para el lavado de las boquillas representa una desventaja en un sistema point-of-care.

30 Si además los líquidos que se van a dispensar no deben entrar en contacto entre sí antes del dispensado, porque de lo contrario se pudieran producir reacciones bioquímicas en el sistema fluido en lugar de la cámara de ensayo, es necesario disponer rutas de fluido separadas. Para tales sistemas es particularmente importante tener cuidado de que antes del dispensado no exista ningún aire en la ruta de fluido, que de otra manera pudiera reflejarse en la cantidad dispensada de reactivo.

Por lo tanto, el objetivo de la presente invención consiste en asegurar que la ruta fluidica, antes del comienzo del proceso de medición propiamente dicho, se llene completamente con el reactivo hasta la abertura de salida.

35 El objetivo de la invención se logra respectivamente de manera independiente a través de un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 para el llenado de un dispositivo microfluidico, en particular de boquillas de un sistema dispensador del sistema de ensayo que comprende un sistema dispensador y un dispositivo microfluidico, así como a través de un sistema de ensayo de acuerdo con la reivindicación 9, que comprende por lo menos un sistema dispensador, un dispositivo microfluidico y por lo menos un sensor fotosensible con una pluralidad de fotodetectores.

40 A este respecto, se ha demostrado como ventajoso que se pueda asegurar que en la boquilla se encuentre una solución y que, por lo tanto, se pueda emitir el volumen correcto de la solución para las siguientes etapas del procedimiento desde la boquilla, sin necesidad de volver a llenar, lavar, enjuagar, etc., la boquilla.

45 En un desarrollo adicional de la invención, el sistema dispensador comprende por lo menos dos recipientes con soluciones, en los que en el primer recipiente se encuentra una primera solución, en particular una solución, y en el segundo recipiente una solución adicional, preferentemente una solución enzimática, y los recipientes se conectan a través de un conducto de fluido con por lo menos una microbomba, y de manera posterior se encuentran dispuestos por lo menos dos boquillas, de las que una primera boquilla sirve para aplicar la primera solución, en particular la solución quimioluminescente, y la segunda boquilla sirve para aplicar la solución adicional, preferentemente la solución enzimática, en la abertura de aplicación de muestras del dispositivo microfluidico, comprendiendo por lo menos las siguientes etapas:

- Transportar la primera solución, en particular la solución quimioluminescente, y la solución adicional, en particular la solución enzimática, desde el respectivo recipiente a través de la respectiva boquillas del sistema dispensador a la abertura de aplicación de muestras del dispositivo microfluidico por medio de por lo menos una microbomba,
- 55 - medir una señal luminosa, en particular una señal de quimioluminiscencia, por reacción de la primera solución,

en particular la solución quimioluminescente, con la solución adicional, en particular la solución enzimática, en el alcance de medición del dispositivo microfluídico con por lo menos un sensor fotosensible con una pluralidad de fotodetectores, y

- 5 - desconectar la por lo menos una microbomba al detectarse la señal luminosa, en particular la señal de quimioluminiscencia.

Si en el canal microfluídico se puede detectar una señal luminosa, entonces se ha producido la reacción entre la primera solución, en particular la solución quimioluminescente, y la solución adicional, preferentemente la solución enzimática, porque la señal sólo se genera por la reacción de los dos reactivos entre sí. Debido a que el encuentro y, por lo tanto, la reacción entre las dos soluciones sólo es posible después de su emisión de las respectivas boquillas, esto indica que tanto la primera solución, en particular la solución quimioluminescente, como también la solución adicional, preferentemente la solución enzimática, tienen que haber pasado por las boquillas. Mediante la detección de la señal luminosa, que se forma por la reacción química o bioquímica entre los dos reactivos, se asegura que tanto la primera solución, en particular la solución quimioluminescente, como también la solución adicional, preferentemente la solución enzimática, han llegado a la zona de medición del canal microfluídico y, por lo tanto, también existen dentro de las boquillas del sistema dispensador que transportan el líquido hacia el dispositivo microfluídico a través de la abertura de aplicación de muestras. A este respecto, se ha demostrado como ventajoso que es posible asegurar que tanto la boquilla para la aplicación de la primera solución, en particular la solución quimioluminescente, como también la boquilla para la solución adicional, preferentemente la solución enzimática, están rellenas hasta el extremo de salida con el respectivo líquido y, por lo tanto, que durante el dispensado se emita respectivamente el volumen correcto, que se ajusta mediante el tiempo de dispensado. Para la realización de diversos análisis con el sistema de ensayo, es importante que antes de la medición se asegure que el menisco de líquido en el dispositivo dispensador se encuentre al final de las boquillas de inyección. Si el menisco de la primera solución, en particular de la solución quimioluminescente, o de la otra solución, preferentemente la solución enzimática, se encontrase más atrás en el canal de líquido de la boquilla, entonces faltaría la correspondiente cantidad de la respectiva solución en el desarrollo de la medición y se producirían resultados erróneos en el análisis con el sistema de ensayo, debido a que los volúmenes de líquido dispensado son insuficientes. También es ventajoso que con esto además se dispone de un sistema económicamente favorable y con una alta reproducibilidad. Asimismo, en el procedimiento de acuerdo con la presente invención y en el sistema de ensayo de acuerdo con la presente invención se elimina además la desventaja conocida en el estado de la técnica de tener que usar un recipiente adicional para la solución de lavado de la ruta fluidica. Para determinar el llenado de las boquillas hasta el final de la abertura de salida, tampoco se requieren sensores adicionales, que impedirían una forma de construcción compacta de un sistema point-of-care.

De acuerdo con un desarrollo adicional de la presente invención, está previsto que

- 35 (a) la primera solución, en particular la solución quimioluminescente, se transporta a través de la primera boquilla hacia la abertura de aplicación de muestras del dispositivo microfluídico por medio de la por lo menos una microbomba y luego se aspira dentro de la zona de medición del dispositivo microfluídico,
- (b) se efectúa una medición de la señal luminosa en la zona de medición del dispositivo microfluídico mediante por lo menos un sensor fotosensible con una pluralidad de fotodetectores,
- 40 (c) la microbomba se desconecta al modificarse la señal luminosa, en particular con un aumento por el efecto de lente optofluídico,
- (d) la solución adicional, en particular la solución enzimática, se transporta a través de la boquilla adicional hacia la abertura de aplicación de muestras del dispositivo microfluídico por medio de la microbomba y luego se aspira dentro de la zona de medición del dispositivo microfluídico,
- 45 (e) la señal luminosa, en particular la señal quimioluminescente, se detecta en la zona de medición del dispositivo microfluídico mediante el sensor fotosensible con una pluralidad de fotodetectores,
- (f) la microbomba se desconecta al detectarse la señal luminosa, en particular la señal de quimioluminiscencia.

Una aplicación secuencial de las soluciones presenta la ventaja de que se puede controlar la existencia de la primera solución, en particular de la solución quimioluminescente, de manera independiente de la solución adicional, preferentemente la solución enzimática. Por lo tanto, en ausencia de la señal luminosa, en particular la señal de quimioluminiscencia, se puede encontrar rápidamente la causa del error, bien sea que no se haya emitido ninguna cantidad o una cantidad insuficiente de la primera solución, en particular de la solución quimioluminescente, o que no se haya emitido ninguna cantidad o una cantidad insuficiente de la solución adicional, en particular de la solución enzimática, a través de la boquilla dentro de la abertura de aplicación de muestras.

55 Tan pronto como la primera solución se haya transportado dentro del canal microfluídico, la señal luminosa se modifica por un efecto de lente optofluídico, en particular se incrementa, lo que permite medir el menisco de la primera solución.

De acuerdo con un desarrollo adicional de la presente invención, se ejecutan etapas adicionales, en las que

(g) una solución adicional, en particular una solución de lavado, se transporta a través de una boquilla adicional a la abertura de aplicación de muestras del dispositivo microfluídico por medio de la microbomba y luego se aspira dentro de la zona de medición del dispositivo microfluídico,

5 (h) se mide el desplazamiento de la señal luminosa previamente medida, en particular de la señal de quimioluminiscencia, en la zona de medición del dispositivo microfluídico con el por lo menos un sensor fotosensible con una pluralidad de fotodetectores,

(i) la microbomba se desconecta al detectarse el desplazamiento de la señal luminosa.

10 Debido a esto se logra que también el llenado de la boquilla con la solución adicional, en particular la solución de lavado, se pueda asegurar antes del dispensado de la solución adicional durante el análisis efectivo en el sistema de ensayo.

15 Un contacto de las soluciones, en particular de la solución enzimática, con el aire puede causar la obturación de la abertura de salida de la boquilla. Sin embargo, las aberturas de salida de las boquillas también se pueden reseca, por lo que el menisco de líquido dentro de la misma se retrae y se emite un volumen de ensayo erróneo en el siguiente análisis. Por esta razón, las aberturas de salida de las boquillas ventajosamente se cierran después de desconectarse la microbomba, en particular de manera hermética al aire, mediante por lo menos un dispositivo de obturación.

20 La combinación de la microbomba con la boquilla presenta la ventaja de que se genera un chorro formado por gotas en el orden de tamaño de los nanolitros del respectivo líquido, lo que permite una emisión precisa y libre de contacto de la respectiva solución fuera de la abertura de salida de la boquilla sobre la abertura de aplicación de muestras del dispositivo microfluídico. La emisión dirigida con precisión es necesaria para asegurar que el volumen entero de la respectiva solución efectivamente se aplique en la abertura de aplicación de muestras del dispositivo microfluídico, con el fin de obtener un resultado de análisis correcto. Por medio de la microbomba se logra el dispensado de pocos microlitros dentro de la abertura de aplicación de muestras del dispositivo microfluídico con una precisión de + 1 μ l.

25 Después del llenado de las boquillas del sistema dispensador se coloca una muestra biológica en la abertura de aplicación de muestras y se transporta dentro del canal microfluídico, donde las moléculas objetivo de la muestra biológica reaccionan a través de sitios de enlace específicos con moléculas dispuestas en secciones de ensayo de la zona de medición, y mediante la adición de las soluciones desde el sistema dispensador se produce una reacción química o bioquímica con emisión de luz y se genera una señal luminosa que es detectada por el sensor fotosensible con una pluralidad de fotodetectores, por lo que se puede efectuar una rápida evaluación de la muestra biológica, ya que es posible medir varias muestras consecutivamente sin tener que hacer un lavado intermedio.

30 Adicionalmente, en un desarrollo adicional de la presente invención, el sistema dispensador puede comprender por lo menos dos recipientes con soluciones, en los que el primer recipiente contiene una primera solución, en particular una solución quimioluminescente, y el segundo recipiente contiene una solución adicional, preferentemente una solución enzimática, y los recipientes están conectados a través de un conducto de fluido con por lo menos una microbomba, y de manera posterior se disponen por lo menos dos boquillas, de las que una primera boquilla sirve para aplicar la primera solución, en particular la solución quimioluminescente, y la segunda boquilla sirve para aplicar la solución adicional, preferentemente la solución enzimática, dentro de la abertura de aplicación de muestras del dispositivo microfluídico, lo que permite un rápido cebado (priming) del sistema de ensayo.

35 40 En otro desarrollo adicional de la presente invención, está previsto que los recipientes presenten una interfaz con un puerto para la conexión con un cono Luer estándar del conducto de fluido, con el fin de establecer una conexión separable de los recipientes a través del conducto de fluido con la microbomba. De esta manera se puede lograr un acoplamiento de los recipientes sin inclusiones de aire. Adicionalmente, es ventajoso que los recipientes vacíos, tan pronto como se haya agotado el líquido en los mismos, puedan sustituirse simplemente por otros recipientes llenos, sin que entre aire en la ruta fluidica del sistema dispensador.

45 Si los recipientes, que forman el depósito para la respectiva solución, están realizados como bolsas autocolapsables, también se previene la inclusión de burbujas de aire en el sistema dispensador, en particular en las boquillas. Debido a esto también se convierte en obsoleta la necesidad de purgar el aire del recipiente.

50 De acuerdo con un desarrollo adicional de la presente invención, en el conducto de fluido entre el recipiente y la microbomba se dispone por lo menos una válvula de reflujo, en particular con tensión previa. La válvula de reflujo bloquea el reflujo de líquido al depósito del recipiente. Debido a la pretensión se amortigua una sobrepresión eventualmente existente en el depósito del recipiente y de esta manera se previene el eventual goteo posterior del líquido desde la abertura de salida de la boquilla dentro de la abertura de aplicación de muestras del dispositivo microfluídico.

55 Adicionalmente, está previsto que por lo menos un dispositivo de obturación se disponga en la zona de la abertura de salida de las boquillas, lo que permite obturar la abertura de salida de las boquillas y, por lo tanto, se puede

prevenir tanto una retracción del menisco de líquido como también un taponamiento de la abertura de salida de las boquillas. En particular entre las mediciones, las boquillas se pueden cerrar de manera hermética al aire para prevenir con ello el taponamiento de las boquillas.

5 El sistema dispensador comprende por lo menos dos unidades dispensadoras, en lo que en la primera unidad dispensadora se encuentra dispuesto un recipiente con una primera solución, en particular la solución quimioluminescente, que a través de un conducto de fluido está conectado con por lo menos una microbomba y posteriormente con una boquilla, mientras que en la segunda unidad dispensadora se dispone un recipiente con una solución adicional, en particular una solución enzimática, que también se conecta a través de un conducto de fluido con por lo menos una microbomba y posteriormente con una boquilla, y, dado el caso, en una tercera unidad dispensadora se dispone un recipiente con una solución adicional, en particular una solución de lavado, que igualmente se conecta a través de un conducto de fluido con por lo menos una microbomba y posteriormente con una boquilla. La disposición paralela de por lo menos dos unidades dispensadoras es ventajosa, porque de esta manera existen rutas fluidica hace completamente separadas en el sistema dispensador, que sólo en la transición al dispositivo microfluidico pueden entrar en contacto mutuo y, por lo tanto, se puede prevenir una reacción prematura o la contaminación de una solución con otra.

En cada unidad dispensadora, en el recipiente puede disponerse una interfaz con un puerto para la conexión a un cono Luer estándar, y en el conducto de fluido entre el recipiente y la microbomba se puede disponer por lo menos una válvula de reflujo, en particular pretensada, lo que por una parte permite una remoción y cambio fácil de los recipientes del resto del sistema de ensayo, en particular del sistema dispensador, y por otra parte se puede interceptar una sobrepresión de los recipientes, con el fin de prevenir un goteo posterior sobre la abertura de aplicación de muestras, así como también un reflujo de la solución al interior del recipiente.

Las boquillas de unidades dispensadoras adyacentes preferentemente se disponen de tal manera que introducen gotas de las soluciones por nanolitros en la misma abertura de aplicación de muestras del dispositivo microfluidico. A este respecto, es ventajoso que ya no se requieran otros dispositivos o medidas adicionales para dirigir el chorro de líquido sobre la abertura de aplicación de muestras.

Se ha demostrado que es ventajoso disponer el extremo de salida de una boquilla a una distancia de 0,1 mm a 80 mm desde la abertura de aplicación de muestras del dispositivo microfluidico, con lo que se cubrió una distancia entre el dispositivo dispensador y el dispositivo microfluidico que permite una aplicación libre de contacto de la respectiva solución dentro de la abertura de aplicación de muestras del dispositivo microfluidico. De esta manera se previene que las soluciones de diferentes unidades dispensadoras o boquillas se puedan contaminar entre sí.

Para un mejor entendimiento de la presente invención, la misma se describe más detalladamente con referencia a los dibujos adjuntos.

En los dibujos se representa respectivamente una manera fuertemente simplificada y esquemática lo siguiente:

La Fig. 1 muestra una representación esquemática de un sistema de ensayo.

35 La Fig. 2 es una representación de la amplificación de señal por un efecto optofluídico.

La Fig. 3 es una representación de la señal de quimioluminiscencia en la zona de medición del canal microfluidico.

La Fig. 4 es una representación del desplazamiento de la señal de quimioluminiscencia en la zona de medición del canal microfluidico.

40 De manera introductoria, cabe señalar que en las diferentes formas de realización descritas los elementos iguales se designan con los mismos caracteres de referencia o con las mismas denominaciones de componente, respectivamente, en lo que las características desveladas en la descripción entera pueden aplicarse en su sentido a elementos iguales con caracteres de referencia iguales o denominaciones de componentes iguales, respectivamente. Asimismo, las indicaciones de posición empleadas en la descripción, tales como arriba, abajo, lateralmente, etc., se refieren a la figura actualmente descrita y representada, y con un cambio de posición se han de transferir en su sentido a la nueva situación. Adicionalmente, también las características individuales o las combinaciones de características originadas en los diferentes ejemplos de realización mostrados y escritos pueden representar soluciones inventivas independientes o de acuerdo con la presente invención.

45 Todas las indicaciones sobre alcances de valores en la descripción concreta se han de entender de tal manera que ellos incluyen cualesquiera y todos los alcances parciales de los mismos, por ejemplo, bajo la indicación de 1 a 10 se ha de entender que la misma también comprende todos los valores parciales, partiendo del límite inferior 1 y llegando hasta el límite superior 10, es decir, todos los alcances parciales comienzan con un límite inferior de 1 o más y terminan en un límite superior de 10 o menos, por ejemplo, de 1 a 1,7 o de 3,2 a 8,1 o de 5,5 a 10.

55 La presente invención se refiere a un procedimiento para preparar un sistema de ensayo para su aplicación en el diagnóstico in vitro, en particular en el ámbito del point-of-care (POC), así como al sistema de ensayo.

La Fig. 1 muestra una representación de sección esquemática del sistema de ensayo 1 de acuerdo con la presente invención, que comprende por lo menos un sistema dispensador 2, un dispositivo microfluídico 3 y un sensor fotosensible 4 con una pluralidad de fotodetectores 5. El sistema de ensayo 1 se controla por medio de módulos de mando.

- 5 Adicionalmente, se muestra un recipiente 6 con una bolsa 7, una interfaz 8, una válvula de reflujo 9, una microbomba 10 y una boquilla 11 del sistema dispensador 2, que se encuentran conectados entre sí a través de un conducto de fluido 12.

El dispositivo microfluídico 3 comprende junto a la abertura de aplicación de muestras 13 un canal microfluídico 14 con la sola de medición con varias secciones de ensayo y, dado el caso, un depósito colector 15. El dispositivo microfluídico 3 se sostiene por medio de un dispositivo de alojamiento 16, sobre o dentro del que se encuentra dispuesto el sensor fotosensible 4.

Por la reacción del material de muestra transportado dentro del dispositivo microfluídico 3 con los reactivos del sistema dispensador 2, o por los propios reactivos del sistema dispensador 2, en las secciones de ensayo se produce un cambio de la propiedad óptica, o una emisión de luz basada en una reacción química o bioquímica, respectivamente, de tal manera que los fotodetectores 5 asignados a la respectiva sección de ensayo detectan un cambio de la intensidad luminosa incidente.

La emisión de luz o el cambio de la señal luminosa, como en el caso de la quimioluminiscencia o el cambio de color, puede basarse en una reacción química o bioquímica, o también, como en el caso de la fluorescencia o la fosforescencia, por ejemplo, puede basarse en el suministro de energía de excitación proveniente de otras fuentes. Preferentemente se detecta una señal de quimioluminiscencia.

En una variante de realización posible, el sistema dispensador 2 está formado por un recipiente 6 con un depósito colector para la solución. Un conducto de fluido 12 conecta el recipiente 6 con la microbomba 10 y posteriormente con la boquilla 11.

El sistema dispensador 2 preferentemente está formado por dos recipientes 6, que a través de respectivamente un conducto de fluido 12 están conectados con una microbomba 10, así como por al menos dos boquillas 11. El sistema dispensador 2 también puede estar formado por varias unidades dispensadoras 17, de las que una unidad dispensadora 17 comprende por lo menos un recipiente 6, un conducto de fluido 12, una microbomba 10 y una boquilla 11. La boquilla 11 y de una unidad dispensadora 17 puede cerrarse mediante un dispositivo de obturación 18.

Los recipientes 6 sirven como depósito colector para las diferentes soluciones. En una forma de realización posible, los mismos están realizados como bolsas autocolapsables 7, tal como se conocen en el ámbito de la medicina de infusión, por lo que no pueden introducirse burbujas de aire en la ruta fluidica del sistema dispensador 2. Preferentemente, una bolsa 7 contiene la solución quimioluminescente, otra bolsa 7 contiene la solución enzimática y otra bolsa adicional 7 contiene la solución de lavado. En los recipientes 6, sin embargo, también puede haber otras soluciones, que se requieren, por ejemplo, para una reacción de color.

La bolsa autocolapsable 7 y el conducto de fluido 12, que está realizado como sistema de mangueras, se conectan entre sí por medio de una interfaz 8. A este respecto, la interfaz 8 está formada por una conexión de Luer. Las bolsas autocolapsables 7 presentan en su extremo inferior un cono de Luer, que establece una conexión estanca al líquido y hermética al aire con el conducto de fluido 12. A este respecto, la obturación se logra a través de la construcción en forma de cono de las piezas de conexión, el así llamado cono de Luer. El recipiente 6 con el depósito colector puede cambiarse fácilmente sin inclusión de aire debido al uso de la conexión de Luer.

Varias de estas bolsas 7 pueden estar reunidas en una carcasa y formar una unidad constructiva propia. Esta unidad constructiva puede removerse fácilmente del sistema dispensador 2 restante a través de la interfaz 8, por ejemplo, cuando se haya efectuado un determinado número de análisis con el sistema de ensayo 1 y el volumen de los líquidos dispuestos en las bolsas 7 se haya consumido. El número de veces que se haya usado una unidad constructiva de este tipo y, por lo tanto, tenga que cambiarse, se puede evaluar, por ejemplo, por medio de un sistema de RFID.

La microbomba 10 permite el transporte de volúmenes mínimos. Ella comprende piezas moldeadas por inyección para la carcasa y la cámara de bomba, un piezoactor y válvulas. Este tipo de micro bombas 10 se conocen en el estado de la técnica, por ejemplo, de la compañía Bartels-Mikrotechnik, y se describen, por ejemplo, en el documento WO 2009/059664 A1.

La ruta fluidica de las soluciones comienza en el respectivo depósito de líquido en el recipiente 6 y se extiende a lo largo del conducto de fluido 12 hacia la microbomba 10 y termina en la respectiva boquilla 11. La microbomba 10, en combinación con la boquilla 11, produce un chorro de gotitas en el orden de volumen de los nanolitros, lo que permite el dispensado preciso y libre de contacto de unos pocos microlitros en la abertura de aplicación de muestras 13 del dispositivo microfluídico 3. Las gotas de nanolitro son pequeñas gotas con volúmenes ubicados en el alcance de 1 nl a 100 nl, preferentemente de 2 nl a 10 nl, en particular 5 nl.

En la zona del extremo de salida o en la abertura de salida, respectivamente, las boquillas 11 presentan un diámetro menor de 500 μm . Preferentemente, el diámetro de la boquilla 11 en esta zona se ubica entre 100 μm y 300 μm , en particular 250 μm .

5 En una forma de realización preferente, entre la microbomba 10 y el recipiente 6 se dispone una válvula de reflujo 9 en la ruta fluidica, que bloquea el reflujo de la respectiva solución al depósito colector del recipiente 6. Adicionalmente, una válvula de reflujo 9 se puede disponer de manera pretensada, por lo que con la pretensión se compensa una sobrepresión del depósito y así se previene un goteo posterior de líquido desde las boquillas 11 dentro de la abertura de aplicación de muestras 13 del dispositivo microfluídico 3.

10 En un desarrollo adicional de la presente invención, en la zona de la abertura de salida de las boquillas 11 se puede disponer adicionalmente un dispositivo de obturación 18, que cierra las boquillas 11 de manera hermética al aire entre las diferentes mediciones y de esta manera previene los taponamientos en las boquillas 11. A este respecto, el dispositivo de obturación 18 puede proveerse para cada boquilla 11 por separado, o solamente para determinadas boquillas 11 seleccionadas. En una forma de realización alternativa, el dispositivo de obturación 18 también puede estar realizado como una sola pieza para varias boquillas 11, por ejemplo, en forma de una almohadilla de silicona.

15 Una bolsa 7 con una interfaz 8 hacia el conducto de fluido 12 con una válvula de reflujo 9 pretensada y una microbomba 10 en combinación con la boquilla 11 forman conjuntamente una unidad dispensadora 17 de un sistema dispensador 2.

20 Varias de estas unidades dispensadoras 17 pueden disponerse en paralelo en el sistema dispensador 2. En una variante de realización preferente, tres unidades dispensadoras 17 se disponen de manera mutuamente adyacente, en lo que las unidades dispensadoras 17 se distinguen por las soluciones contenidas en el depósito colector de la bolsa 7. Una primera bolsa 7 contiene una solución responsable o requerida para la reacción química o bioquímica, en particular una solución quimioluminescente, mientras que una segunda bolsa 7 contiene la solución adicional, preferentemente la solución enzimática, y una tercera bolsa 7 contiene otra solución adicional, en particular una solución de lavado. Para poder incidir en la misma abertura de aplicación de muestras 13 del dispositivo microfluídico 3, cuando se usan tres boquillas 11 dispuestas de manera mutuamente adyacente, las dos boquillas 11 exteriores se disponen formando un ángulo agudo con relación a la boquilla 11 central.

30 En una forma de realización alternativa, el sistema dispensador 2 también puede comprender solamente una unidad dispensadora 17, que consiste en varias bolsas 7 con respectivamente un conducto de fluido 12, que se reúnen en una microbomba 10 con varias cámaras para las diferentes soluciones, y desde allí se transporta la respectiva solución a las correspondientes boquillas 11 separadas entre sí.

Para asegurar la emisión dirigida con precisión de la respectiva solución al interior de la abertura de aplicación de muestras 13 del dispositivo microfluídico 3, la abertura de salida de la boquilla 11 se dispone a una distancia de 0,1 mm a 80 mm desde la abertura de aplicación de muestras 13. Preferentemente, a una distancia de 1 mm a 50 mm, y en particular a una distancia de 2 mm a 20 mm.

35 El dispositivo microfluídico 3 comprende por lo menos una abertura de aplicación de muestras 13, un canal microfluídico 14 y un depósito colector 15. El canal microfluídico 14 presenta una longitud de 30 mm a 50 mm, una anchura de 1 mm a 4 mm y una altura de 10 μm a 200 μm , y puede fabricarse mediante moldeo por inyección. Preferentemente se usa una forma de realización del canal con una longitud de 40 mm, una anchura de 2 mm y una altura de 100 μm . En el canal microfluídico 14 se dispone la zona de medición, en la que también se inmovilizan moléculas que presentan sitios de enlace específicos para determinadas moléculas objetivo de una muestra biológica. Debido a las características geométricas del canal microfluídico 14, se produce un movimiento capilar de los líquidos desde la abertura de aplicación de muestras 13 a través del canal microfluídico 14 y hasta el depósito colector 15. Después de depositar una muestra en la abertura de aplicación de muestras 13 en el canal 14, se forma un gradiente de presión con una fuerza capilar resultante del mismo en dirección hacia el depósito colector 15, por lo que se asegura que se produzca un tránsito autónomo de la muestra a través del canal o del sistema microfluídico, respectivamente, es decir que en particular no se requiere ningún medio para generar una diferencia de presión o un movimiento de corriente. En particular, a este respecto se trata de una así llamada hibridación impulsada por convección, en la que en el canal 14 se forman gradientes de convección, que además del tránsito de la muestra a través del canal 14 también aseguran que el material de muestras se dirija a las correspondientes secciones de ensayo de la zona de medición (Squires TM et al., "Making it stick: convection, reaction and diffusion in surface-based biosensors", Nature Biotech, 26, 4, 2008). Cuando se efectúa un análisis, también se produce un contacto del analito que se encuentra en la muestra biológica con las moléculas inmovilizadas en la zona de medición, por lo que en la respectiva zona de medición, al existir un analito correspondiente, se produce una reacción de enlace químico en la muestra, lo que posteriormente, después de la adición de reactivos correspondientes, resulta en una reacción química o bioquímica (por ejemplo, quimioluminiscencia, cambio de color, etc.) con emisión de luz.

Otras formas de realización del dispositivo microfluídico 3, para aplicar una mayor cantidad de luz al sensor fotosensible 4, consisten en configurar de una manera ópticamente reflectante la superficie de delimitación del canal 14 opuesta al sensor fotosensible 4; realizar una sección transversal cóncava en el canal 14, que sirva como lente convergente; disponer una estructura directora de la luz en el dispositivo microfluídico 3; realizar el dispositivo

microfluídico 3 como placa de fibras fotoconductoras. Detalles sobre las respectivas posibilidades de realización del dispositivo microfluídico 3 se encuentran en el documento WO 2012/080339. En una forma de realización alternativa, el canal microfluídico 14 también puede llenarse por medio de una bomba, preferentemente una microbomba. Con un dispositivo microfluídico 3 de este tipo, no se requiere ningún depósito colector que produzca el efecto capilar.

El dispositivo microfluídico 3 se dispone de manera separable dentro o en un dispositivo de alojamiento 16, de tal manera que el lado de salida de luz del dispositivo microfluídico 3 está orientado hacia el sensor fotosensible 4. El sensor fotosensible 4 está dispuesto en un cuerpo de base, y los diferentes fotodetectores 5 están recubiertos por una capa de recubrimiento transparente. En la zona de medición del dispositivo microfluídico 3 se dispone una pluralidad de secciones de ensayo. Durante el análisis, las secciones de ensayo están orientadas hacia un volumen del sistema microfluídico, por lo que al depositarse una muestra de análisis en la abertura de aplicación de muestras 13 se produce un movimiento capilar del analito. Debido a esto, también se produce un contacto del analito con las secciones de ensayo en la zona de medición.

El dispositivo microfluídico 3 se posiciona sobre un dispositivo de alojamiento 16 en la carcasa, en la que el sistema de ensayo 1 se encuentra contenido por lo menos parcialmente, que está configurada de tal manera que el dispositivo microfluídico 3 se coloca dentro de una parte fija del dispositivo de alojamiento 16 y se mantiene fijado por una segunda parte móvil y/o abatible del dispositivo de alojamiento 16. También es posible que en una parte del dispositivo de alojamiento 16 se disponga un elemento pretensado, que se comprime cuando se introduce el dispositivo microfluídico 3 y de esta manera fija el dispositivo microfluídico 3 en el dispositivo de alojamiento 16. El dispositivo de alojamiento 16 también puede estar realizado en forma de gaveta y mediante el accionamiento de un elemento la gaveta puede moverse fuera de la carcasa, el dispositivo microfluídico 3 puede colocarse y fijarse en la misma y luego puede volver a retraerse al interior, en lo que el sensor fotosensible 4 con los fotodetectores 5 ya puede estar dispuesto en el elemento de gaveta.

El sensor fotosensible 4 con una pluralidad de fotodetectores 5 se dispone de tal manera que, si el dispositivo microfluídico 3 se encuentra posicionado y sujetado en el dispositivo de alojamiento 16, las secciones de ensayo en la zona de ensayo del canal microfluídico 14 quedan colocados con su lado de salida de luz sobre los fotodetectores 5 del sensor fotosensible 4. Para esto, el dispositivo de alojamiento 16 puede presentar, por ejemplo, una pieza de sujeción móvil, longitudinalmente desplazable y pretensada por resorte, de tal manera que al introducir el dispositivo microfluídico 3, la parte móvil se puede mover en una dirección longitudinal para facilitar la introducción del dispositivo microfluídico 3 y fijar el mismo correspondientemente después de regresar a la posición de sujeción por efecto de resorte. Además de una forma de realización longitudinalmente desplazable, también se puede proveer un mecanismo abatible o de acción rápida. También es posible que en por lo menos una de las partes de retención se provea un medio de presión, por ejemplo, un elemento de goma o un elemento elástico, para fijar el dispositivo microfluídico 3 de la manera arriba descrita después de su inserción.

El sistema de ensayo 1 está dispuesto por lo menos parcialmente dentro de una carcasa, mientras que los recipientes 6 del sistema dispensador 2, que deben ser fácilmente accesibles para su oportuno recambio, también pueden estar dispuestos en el exterior de la carcasa. La carcasa debe asegurar un cierre hermético a la luz del dispositivo microfluídico 3 con respecto al entorno circundante. Dentro de la carcasa puede disponerse un dispositivo de alimentación para aplicar la muestra, que permite su transporte hacia la abertura de aplicación de muestras 13 del dispositivo microfluídico 3.

El dispositivo de alojamiento 16 está realizado en forma similar a gavetas y transporta el dispositivo microfluídico 3 para el cebado al interior de la carcasa. También el sensor fotosensible 4 con la pluralidad de fotodetectores 5 puede estar dispuesto en el elemento de gavetas. Un elemento de obturación cierra el dispositivo microfluídico 3 y el sensor fotosensible 4 de manera hermética a la luz frente al entorno circundante. El elemento de obturación puede estar realizado, por ejemplo, mediante una conexión de ranura-resorte. Sin embargo, el elemento de obturación también puede estar formado por un elemento elásticamente deformable, por ejemplo, un material de espuma o una empaquetadura de goma, en lo que al cerrarse el elemento de gavetas, debido a una compresión del elemento de obturación causada por ello, se produce un cierre hermético a la luz del espacio interior del aparato de medición frente al entorno circundante. Para llevar una muestra biológica después del cebado a la abertura de aplicación de muestras 13 del dispositivo microfluídico 3, el elemento de gavetas vuelve a extenderse hacia afuera.

Por lo tanto, el dispositivo microfluídico 3 puede insertarse en el dispositivo de alojamiento 16 y después se puede cerrar el elemento de gavetas, sin que en el sistema microfluídico ya se encuentre algún material de muestras o químicos de muestreo, respectivamente, con lo que se asegura que no se desencadenen ninguna reacción química en las secciones de ensayo de la zona de medición. Sólo entonces, con el elemento de gavetas cerrado y el establecimiento seguro de un cierre hermético a la luz del dispositivo microfluídico 3, se efectúa el cebado y se realizan las mediciones requeridas para ello. Después del cebado se efectúa la aplicación de la muestra biológica, para lo que el elemento de gavetas primero se abre y posteriormente, para la por lo menos una medición requerida con el sensor fotosensible 4 con una pluralidad de fotodetectores 5, el elemento de gavetas vuelve a cerrarse de manera hermética a la luz.

Dentro de la carcasa también se puede proveer un dispositivo de iluminación, por ejemplo, en forma de LEDs. Otras posibles formas de realización para el dispositivo de alojamiento 16, para el dispositivo de iluminación, así como para la realización de la disposición de mediciones con el sensor fotosensible 4 con la pluralidad de fotodetectores 5, se describen en el documento WO 2012/080339 y forman parte de lo desvelado en el marco de la presente invención.

Para reducir al mínimo las posibles fuentes de error por manipulación y los costes de personal, y por ende los costos generales de un análisis, el procedimiento realizado con el sistema de ensayo debe automatizarse en la mayor medida posible. Después de la adición manual del material de muestra, es decir, de la muestra biológica que se debe analizar, las soluciones requeridas para el análisis se introducen en la abertura de aplicación de muestras 13 del dispositivo microfluídico 3. Sin embargo, esto es problemático en el sentido de que por una parte los volúmenes que deben emitirse deben ser tan exactos como sea posible y, por otra parte, la secuencia de aplicación de las soluciones que deben usarse en el análisis está exactamente predefinida.

Con el procedimiento de acuerdo con la presente invención, el análisis se automatiza hasta el punto que tan sólo la muestra a ser analizada tiene que aplicarse de forma manual.

Con el procedimiento de acuerdo con la presente invención para el cebado del sistema de ensayo 1 se miden los cambios en la señal luminosa y/o la emisión de luz de reacciones químicas o bioquímicas, y los respectivos resultados se usan como parámetros para controlar el rellenado del sistema dispensador 2.

El dispositivo microfluídico 3 requerido para el respectivo análisis se coloca en el sistema de ensayo 1, en particular sobre el dispositivo de alojamiento 16 previsto para esto. Posteriormente, el sistema dispensador 2 debe prepararse correspondientemente para poder emitir los reactivos requeridos para el análisis, con el volumen correcto, libres de burbujas de aire y en la secuencia correcta. Para esto, a través de una unidad de mando se puede iniciar la preparación o el cebado, respectivamente. Alternativamente, la preparación también puede iniciarse automáticamente, tan pronto como el sistema de ensayo 1 haya detectado que un dispositivo microfluídico 3 se encuentra dispuesto en el sistema de ensayo 1 y que además está cerrado de manera hermética a la luz.

En la forma de realización más simple, una solución se transporta desde el recipiente 6 a través de la boquilla 11 del sistema dispensador 2 hacia la abertura de aplicación de muestras 13 del dispositivo microfluídico 3 mediante la microbomba 10 y luego se transporta a la zona de medición del canal microfluídico 14 del dispositivo microfluídico 3. En la zona de medición del dispositivo microfluídico 3 se efectúa una medición de una señal luminosa con por lo menos un sensor fotosensible 4 con una pluralidad de fotodetectores 5, en lo que se miden los cambios en la señal luminosa y/o la emisión de luz de reacciones químicas o bioquímicas. Tan pronto como se haya detectado una señal luminosa o un cambio de la señal luminosa, se desconecta la microbomba 10.

Para la preparación o el cebado, respectivamente, del sistema de ensayo, mediante la puesta en marcha de la microbomba 10, una primera solución, con la que a través de una reacción química o bioquímica con otra solución adicional es posible una emisión de luz, se transporta a través de la ruta a fluidica, que comprende por lo menos un conducto de manguera, una microbomba 10 y una boquilla 11, hacia la abertura de aplicación de muestras 13 del dispositivo microfluídico 3. De manera simultánea o posterior, desde el segundo recipiente 6 se transporta la solución adicional, preferentemente la solución enzimática, a través de una ruta a fluidica adicional igualmente a la abertura de aplicación de muestras 13. Allí se produce la reacción de la primera solución, en particular la solución quimioluminescente, con la solución adicional, preferentemente la solución enzimática, y se genera una señal luminosa, en particular una señal de quimioluminiscencia, que puede detectarse tan pronto como el líquido se encuentre en la zona de medición del canal microfluídico 14. De esta manera se asegura que tanto la primera solución, en particular la solución quimioluminescente, como también la solución adicional, preferentemente la solución enzimática, se encuentren en las boquillas 11 del sistema dispensador 2 y que, por lo tanto, éstas se encuentran rellenas y listas para el siguiente análisis.

En una forma de realización alternativa, para la preparación o el cebado del sistema de ensayo 1, desde la primera bolsa 7 se puede transportar la primera solución, en particular la solución quimioluminescente, a través del conducto de fluido 12 pasando por la válvula de reflujo 9 a través de la microbomba 10 hasta la primera boquilla 11, para emitirse desde allí en forma de gotas con un volumen ubicado en el orden de los nanolitros al interior de la abertura de aplicación de muestras 13 del dispositivo microfluídico 3, para luego transportarse debido al efecto capilar a través de la zona de medición al depósito colector 15. Para esto, en primer lugar se pone en marcha la microbomba 10 y en la zona de medición del canal microfluídico 14 se efectúa una medición. Tan pronto como la medición indique un cambio de la señal o se sobrepase un valor límite predefinido, respectivamente, lo que sucede ya al existir un menisco de líquido, dentro del canal microfluídico 14 hay una solución y la microbomba 10 se para porque la primera solución, en particular la solución quimioluminescente, se encuentra en la abertura de salida de la primera boquilla 11. Para medir el cambio de la señal luminosa, en el sistema de ensayo 1 puede disponerse una fuente luminosa, en particular en forma de LEDs. Preferentemente, la primera solución transparente. Debido a la forma del canal microfluídico 14 y el índice de refracción del líquido, la señal luminosa emitida por una fuente de luz, cuando el líquido transparente se encuentra dentro del canal microfluídico 14, se amplifica debido al efecto de lente optofluídico sobre el fotodetector 5. Mediante la realización de acuerdo con la presente invención del sistema de ensayo 1, la intensidad de la señal se incrementa debido al efecto de lente, desencadenado por el flujo de la primera

solución dentro del canal microfluídico 14. Esta intensificación de la señal es bien reconocible y, por lo tanto, fácilmente detectable, como se representa en la Fig. 2, en lo que I(AU) representa el cambio de la intensidad de la señal luminosa.

5 Posteriormente se pone en marcha la segunda microbomba 10, para transportar la solución adicional, preferentemente la solución enzimática, desde la segunda bolsa 7 a través del conducto de fluido 12, la válvula de reflujo 9 y la microbomba 10 a la segunda boquilla 11, y desde allí en forma de gotas con un volumen en el orden de los nanolitros al interior de la abertura de aplicación de muestras 13 del dispositivo microfluídico 2. Debido al efecto capilar, la solución también se aspira a la zona de medición del dispositivo microfluídico 3. Debido a que ya está presente la primera solución, en particular la solución quimioluminescente, se produce una reacción química o bioquímica entre ambas soluciones bajo emisión de luz y se genera una señal luminosa, en particular una señal de quimioluminiscencia, que se mide en la zona de medición. Tan pronto como se detecte la señal luminosa, la microbomba 10 se para, debido a que la solución adicional, preferentemente la solución enzimática, llega hasta la abertura de salida de la segunda boquilla 11.

15 En una forma de realización preferente, el canal microfluídico 14 también se somete a un lavado, por una parte para prevenir una reacción prematura de la muestra que se va a analizar y que será aplicada posteriormente, y por otra parte también para preparar correspondientemente la boquilla 11 con la solución de lavado. Para esto se pone en marcha una tercera microbomba 10 y la solución adicional, en particular la solución de lavado, se transporta desde una tercera bolsa 7 con una interfaz 8 al conducto de fluido 12 a través de la válvula de reflujo 9 y la microbomba 10 hasta la tercera boquilla 11, y desde allí se aplica en forma de gotas con un volumen en el orden de los nanolitros en la abertura de aplicación de muestras 13 del dispositivo microfluídico 3. Debido a la adición de la solución adicional, en particular la solución de lavado, en el canal microfluídico 14 entra un volumen de líquido adicional y la señal luminosa, en particular la señal de quimioluminiscencia, se desplaza. Tan pronto como se detecte este desplazamiento de la señal luminosa, en particular de la señal de quimioluminiscencia, se desconecta la tercera microbomba 10, porque ahora también la solución adicional, en particular la solución de lavado, llega hasta el extremo de salida de la tercera boquilla 11.

La Fig. 3 muestra la distribución de señal típica de una señal de quimioluminiscencia en el alcance de medición del canal microfluídico 14 después de la reacción de la solución quimioluminescente con la solución enzimática, en lo que [pA] el eje y es corriente fotoeléctrica.

30 En la Fig. 4 se representa el desplazamiento de la señal de quimioluminiscencia después de la adición de la solución de lavado.

A más tardar después del llenado de la tercera boquilla 11 hasta el final de la abertura de salida, las boquillas 11 pueden cerrarse por medio del dispositivo de obturación 18. Obviamente, las boquillas 11 también pueden cerrarse ya de manera conjunta o individual después del llenado de la respectiva boquilla 11, con lo que se previenen taponamientos por resequedad de las boquillas 11.

35 Las boquillas 11 ahora están preparadas para el siguiente análisis y se pueden aplicar volúmenes con una precisión de + 1 µl en el dispositivo microfluídico 3.

Si el sistema de ensayo 1, en particular el sistema dispensador 2, se diseña para la aplicación de volúmenes de respectivamente 10 µl a 100 µl, las bolsas 7 en el depósito colector deben presentar una capacidad para aproximadamente 50 ensayos, es decir, aproximadamente de 0,5 ml a 5 ml.

40 En la realización del siguiente análisis, en primer lugar se aplica la muestra que se debe analizar sobre el dispositivo microfluídico 3, en lo que la muestra se puede pipetear o gotear directamente, o a través de un dispositivo de alimentación en la carcasa, dentro de la abertura de aplicación de la muestra 13. Posteriormente, la muestra biológica se transporta en el canal microfluídico 14, en el que las moléculas objetivo de la muestra biológica reaccionan a través de sitios de enlace específicos con moléculas que se encuentran inmovilizadas en secciones de ensayo de la zona de medición. Luego se añade automáticamente la solución adicional, preferentemente la solución enzimática, que se aspira así al interior del canal microfluídico 14. Mediante la adición de la otra solución adicional, en particular la solución de lavado, se elimina el exceso de la solución adicional, en particular la solución enzimática, con el fin de prevenir señales no específicas. Por último, la primera solución, en particular la solución quimioluminescente, se aplica automáticamente sobre el dispositivo microfluídico 3, que al reaccionar con las enzimas de la solución enzimática específicamente ligadas en las secciones de ensayo genera una señal luminosa, en particular una señal de quimioluminiscencia, que es medida por el sensor fotosensible 4 con una pluralidad de fotodetectores 5, y mediante la asignación a la sección de ensayo en la zona de medición se puede determinar qué analito se encuentra presente en la muestra. Como se ha expuesto más arriba, en lugar de la solución enzimática y de la solución quimioluminescente también se pueden emplear otras soluciones, que en combinación producen un cambio de color.

La medición de la señal luminosa, en particular de la señal de quimioluminiscencia, se efectúa preferentemente a través del sensor fotosensible 4 dispuesto en el sistema de ensayo 1 con varios fotodetectores 5 y en una forma de realización alternativa también puede efectuarse a través de un sensor externo.

En la realización del análisis de la muestra, es necesario documentar el resultado de la medición. Por esta razón, en el dispositivo microfluídico 3 se puede disponer una característica de identidad o de identificación y, por lo tanto, se puede incorporar una asignación directa del desarrollo de las lecturas de señal de las distintas secciones del sello en un protocolo de medición. Adicionalmente, también se pueden emplear diferentes dispositivos microfluídico 3 con diferentes secciones de ensayo, de tal manera que en la característica de identificación también se puede incluir una característica o datos de configuración de las secciones de ensayo. La característica preferentemente puede leerse mediante un dispositivo de lectura que funciona en el sistema de ensayo 1 de manera inalámbrica y sin contacto, y la característica que puede estar formada, por ejemplo, por un código 1D o 2D, aunque también es posible su realización como característica de RFID. Este dispositivo de lectura puede estar formado, por ejemplo, por un sensor óptico de detección 1D o 2D, o por una unidad de transmisión y recepción de RFID.

Los ejemplos de realización muestran variantes de realización posibles del sistema de ensayo, y a este respecto cabe señalar que la presente invención no se limita a las variantes de realización representadas, sino que más bien también son posibles diversas combinaciones de las diferentes variantes de realización entre sí, y esta posibilidad de variación basada en el principio de la actuación técnica se encuentra comprendida dentro del alcance del conocimiento de las personas especializadas en este campo técnico.

En aras del buen orden, por último se quiere señalar que para un mejor entendimiento de la construcción del sistema de ensayo 1, el mismo o sus componentes se han representado parcialmente sin escala y/o de manera ampliada y/o reducida.

El objetivo subyacente a las soluciones inventivas independientes se puede deducir de la descripción.

20 **Lista de caracteres de referencia**

- 1 Sistema de ensayo
- 2 Sistema dispensador
- 3 Dispositivo microfluídico
- 4 Sensor fotosensible
- 25 5 Fotodetector

- 6 Recipiente
- 7 Bolsa
- 8 Interfaz
- 30 9 Válvula de reflujo
- 10 Microbomba

- 11 Boquilla
- 12 Conducto de fluido
- 35 13 Abertura de aplicación de muestras
- 14 Canal microfluídico
- 15 Depósito colector

- 16 Dispositivo de alojamiento
- 40 17 Unidad dispensadora
- 18 Dispositivo de obturación

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para llenar boquillas (11) de un sistema dispensador (2) de un sistema de ensayo (1) que comprende el sistema dispensador (2) y un dispositivo microfluídico (3), en el que

5 - el dispositivo microfluídico (3) presenta por lo menos una abertura de aplicación de muestras (13) y un canal microfluídico (14), en el que se encuentra dispuesta una zona de medición, y la abertura de aplicación de muestras (13) está conectada con el canal microfluídico (14), y

10 - el sistema dispensador (2) comprende por lo menos un recipiente (6) con por lo menos un depósito colector con una solución, en el que el recipiente (6) se conecta a través de por lo menos un conducto de fluido (12) con al menos una microbomba (10), y de manera posterior se dispone por lo menos una boquilla (11) que está diseñada para aplicar la solución en la abertura de aplicación de muestras (13) del dispositivo microfluídico (3), comprendiendo por lo menos las siguientes etapas:

15 - transportar la solución desde el recipiente (6) a través de la boquilla (11) del sistema dispensador (2) a la abertura de aplicación de muestras (13) del dispositivo microfluídico (3) por medio de la microbomba (10),

- transportar la solución a la zona de medición del canal microfluídico (14) del dispositivo microfluídico (3),

20 - medir la señal luminosa en la zona de medición del dispositivo microfluídico (3) con por lo menos un sensor fotosensible (4) con una pluralidad de fotodetectores (5), y

- desconectar la microbomba (10) al producirse una detección y/o cambio de la señal luminosa que indique que la solución ha llegado a la zona de medición del canal microfluídico y que, por lo tanto, también está presente en la boquilla del sistema dispensador (2).

2. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado porque** el sistema dispensador (2) comprende por lo menos dos recipientes (6) con soluciones, en el que el primer recipiente (6) contiene una primera solución, en particular una solución quimioluminescente, y el segundo recipiente (6) contiene una solución adicional, preferentemente una solución enzimática, y los recipientes (6) se conectan a través de un conducto de fluido (12) con la por lo menos una microbomba (10), y de manera posterior se encuentran dispuestas por lo menos dos boquillas (11), de las que una primera boquilla (11) sirve para aplicar la primera solución (en particular la solución quimioluminescente, y la segunda boquilla (11) sirve para aplicar la solución adicional, preferentemente la solución enzimática, dentro de la abertura de aplicación de muestras (13) del dispositivo microfluídico (3), comprendiendo por lo menos las siguientes etapas:

30 - transportar la primera solución, en particular la solución quimioluminescente, y la solución adicional, en particular la solución enzimática, desde el respectivo recipiente (6) a través de la respectiva boquilla (11) del sistema dispensador (2) a la abertura de aplicación de muestras (13) del dispositivo microfluídico (3) por medio de la por lo menos una microbomba (10),

35 - medir una señal luminosa, en particular una señal de quimioluminiscencia, por reacción de la primera solución, en particular la solución de quimioluminiscencia, con la solución adicional, en particular la solución enzimática, en la zona de medición del dispositivo microfluídico (3) con por lo menos un sensor fotosensible (4) con una pluralidad de fotodetectores (5),

- desconectar la por lo menos una microbomba (10) al detectarse la señal luminosa, en particular la señal de quimioluminiscencia.

3. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, **caracterizado porque**

40 (a) la primera solución, en particular la solución quimioluminescente, se transporta a través de la primera boquilla (11) hacia la abertura de aplicación de muestras (13) del dispositivo microfluídico (3) por medio de la por lo menos una microbomba (10) y luego se aspira dentro de la zona de medición del dispositivo microfluídico (3),

(b) se efectúa una medición de la señal luminosa en la zona de medición del dispositivo microfluídico (3) mediante por lo menos un sensor fotosensible (4) con una pluralidad de fotodetectores (5),

45 (c) la microbomba (10) se desconecta al modificarse la señal luminosa, en particular con un aumento por el efecto de lente optofluídico,

(d) la solución adicional, en particular la solución enzimática, se transporta a través de la boquilla adicional (11) hacia la abertura de aplicación de muestras (13) del dispositivo microfluídico (3) por medio de la microbomba (10) y luego se aspira dentro de la zona de medición del dispositivo microfluídico (3),

50 (e) la señal luminosa, en particular la señal quimioluminescente, se detecta en la zona de medición del dispositivo microfluídico (3) mediante el sensor fotosensible (4) con una pluralidad de fotodetectores (5),

(f) la microbomba (10) se desconecta al detectarse la señal luminosa, en particular la señal de quimioluminiscencia.

4. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado porque** la señal luminosa se modifica por un efecto de lente optofluídico, en particular se incrementa, tan pronto como la primera solución se transporte dentro del canal microfluídico (14).

5. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado porque** se efectúan etapas adicionales, en las que

- (g) una solución adicional, en particular una solución de lavado, se transporta a través de una boquilla adicional (11) a la abertura de aplicación de muestras (13) del dispositivo microfluídico (3) por medio de la microbomba (10) y luego se aspira dentro de la zona de medición del dispositivo microfluídico (3),
- 5 (h) se mide el desplazamiento de la señal luminosa previamente medida, en particular de la señal de quimioluminiscencia, en la zona de medición del dispositivo microfluídico (3) con el por lo menos un sensor fotosensible (4) con una pluralidad de fotodetectores (5),
- (i) la microbomba (10) se desconecta al detectarse el desplazamiento de la señal luminosa.
6. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 5, **caracterizado porque** las boquillas (11) presentan una abertura de salida, que después de desconectarse la microbomba (10) se cierra, en particular de
10 manera hermética al aire, mediante por lo menos un dispositivo de obturación (18).
7. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 6, **caracterizado porque** mediante la combinación de la microbomba (10) con la boquilla (11) se produce un chorro formado por gotas con un volumen en el orden de los nanolitros de la respectiva solución.
8. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 7, **caracterizado porque** después del llenado de
15 las boquillas (11) del sistema dispensador (2) se coloca una muestra biológica en la abertura de aplicación de muestras (13) y se transporta dentro del canal microfluídico (14), donde moléculas objetivo de la muestra biológica reaccionan a través de sitios de enlace específicos con moléculas que se encuentran dispuestos en secciones de ensayo de la zona de medición, y mediante la adición de las soluciones desde el sistema dispensador se produce una reacción química o bioquímica bajo emisión de luz, y se forma una señal luminosa que es detectada por el
20 sensor fotosensible (4) con una pluralidad de fotodetectores (5).
9. Sistema de ensayo (1), en particular para un procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 8, que comprende por lo menos un sistema dispensador (2), un dispositivo microfluídico (3), por lo menos un sensor fotosensible (4) con una pluralidad de fotodetectores (5), así como módulos de mando, en lo que
- 25 - el dispositivo microfluídico (3) presenta una abertura de aplicación de muestras (13) y un canal microfluídico (14), en el que se encuentra dispuesta una zona de medición, y la abertura de aplicación de muestras (13) está conectada con el canal microfluídico (14), y el dispositivo microfluídico (3) se encuentra dispuesta de manera separable en un dispositivo de alojamiento (16) del sistema de ensayo (1), de tal manera que la zona de medición se dispone sobre los fotodetectores (5) del sensor fotosensible (4), y
- 30 - el sistema dispensador (2) comprende por lo menos un recipiente (6) con por lo menos un depósito colector con una solución, en el que el recipiente (6) está conectado a través de un conducto de fluido (12) con por lo menos una microbomba (10), y de manera posterior se dispone por lo menos una boquilla (11), que está diseñada para aplicar la solución en la abertura de aplicación de muestras (13) del dispositivo microfluídico (3), **caracterizado porque** los módulos de mando están diseñados para controlar el sistema de ensayo (1) de tal manera que
- 35 - la solución se transporta desde el recipiente (6) a través de la boquilla (11) del sistema dispensador (2) a la abertura de aplicación de muestras (13) por medio de la microbomba (10),
- solución se transporta adicionalmente a la zona de medición del canal microfluídico (14),
- se mide una señal luminosa con el sensor fotosensible (4) en la zona de medición, y
- al producirse una detección y/o cambio de la señal luminosa, que indique que la solución ha llegado a la zona
40 de medición del canal microfluídico (14) y que, por lo tanto, también se encuentra presente en la boquilla (11) del sistema dispensador (2), se desconecta la microbomba (10).
10. Un sistema de ensayo (1) de acuerdo con la reivindicación 9, **caracterizado porque** el sistema dispensador (2) comprende por lo menos dos recipientes (6) con soluciones, de los que el primer recipiente (6) contiene una primera solución, en particular una solución quimioluminescente, y el segundo recipiente (6) contiene una solución adicional, preferentemente una solución enzimática, y los recipientes (6) se conectan a través de un conducto de fluido (12)
45 con la por lo menos una microbomba (10), y de manera posterior se disponen por lo menos dos boquillas (11), de las que una primera boquilla (11) sirve para aplicar la primera solución, en particular la solución quimioluminescente, y la segunda boquilla (11) sirve para aplicar la solución adicional, preferentemente la solución enzimática, en la abertura de aplicación de muestras (13) del dispositivo microfluídico (3).
11. Sistema de ensayo (1) de acuerdo con la reivindicación 9 o 10, **caracterizado porque** los recipientes (6)
50 presentan una interfaz (8) con un puerto para conectarse a un cono Luer estándar del conducto de fluido (12).
12. Sistema de ensayo (1) de acuerdo con una de las reivindicaciones 9 a 11, **caracterizado porque** en el conducto de fluido (12) entre el recipiente (6) y la microbomba (10) se dispone por lo menos una válvula de reflujo (9), en particular pretensada.
13. Sistema de ensayo (1) de acuerdo con una de las reivindicaciones 9 a 12, **caracterizado porque** por lo menos
55 un dispositivo de obturación (18) se dispone en la zona de una abertura de salida de las boquillas (11).
14. Sistema de ensayo (1) de acuerdo con una de las reivindicaciones 9 a 13, **caracterizado porque** el sistema dispensador (2) comprende por lo menos dos unidades dispensadoras (17), en lo que en la primera unidad dispensador (17) se dispone por lo menos un recipiente (6) con una primera solución, en particular una solución

5 quimioluminescente, que se conecta a través de un conducto de fluido (12) con por lo menos una microbomba (10) y posteriormente con una boquilla (11), y en la segunda unidad dispensadora (17) se dispone por lo menos un recipiente (6) con una solución adicional, en particular una solución enzimática, que igualmente se conecta a través de un conducto de fluido (12) con por lo menos una microbomba (10) y posteriormente con una boquilla (11), y, dado el caso, en la tercera unidad dispensadora (17) se dispone por lo menos un recipiente (6) con una solución adicional, en particular una solución de lavado, que igualmente se conecta a través de un conducto de fluido (12) con por lo menos una microbomba (10) y posteriormente con una boquilla (11).

10 15. Sistema de ensayo (1) de acuerdo con la reivindicación 14, **caracterizado porque** en cada unidad dispensadora (17) se dispone en el recipiente (6) una interfaz (8) con un puerto para conectarse a un cono Luer estándar, y en el conducto de fluido (12) entre el recipiente (6) y la microbomba (10) se dispone por lo menos una válvula de reflujo (9), en particular pretensada.

Fig.1

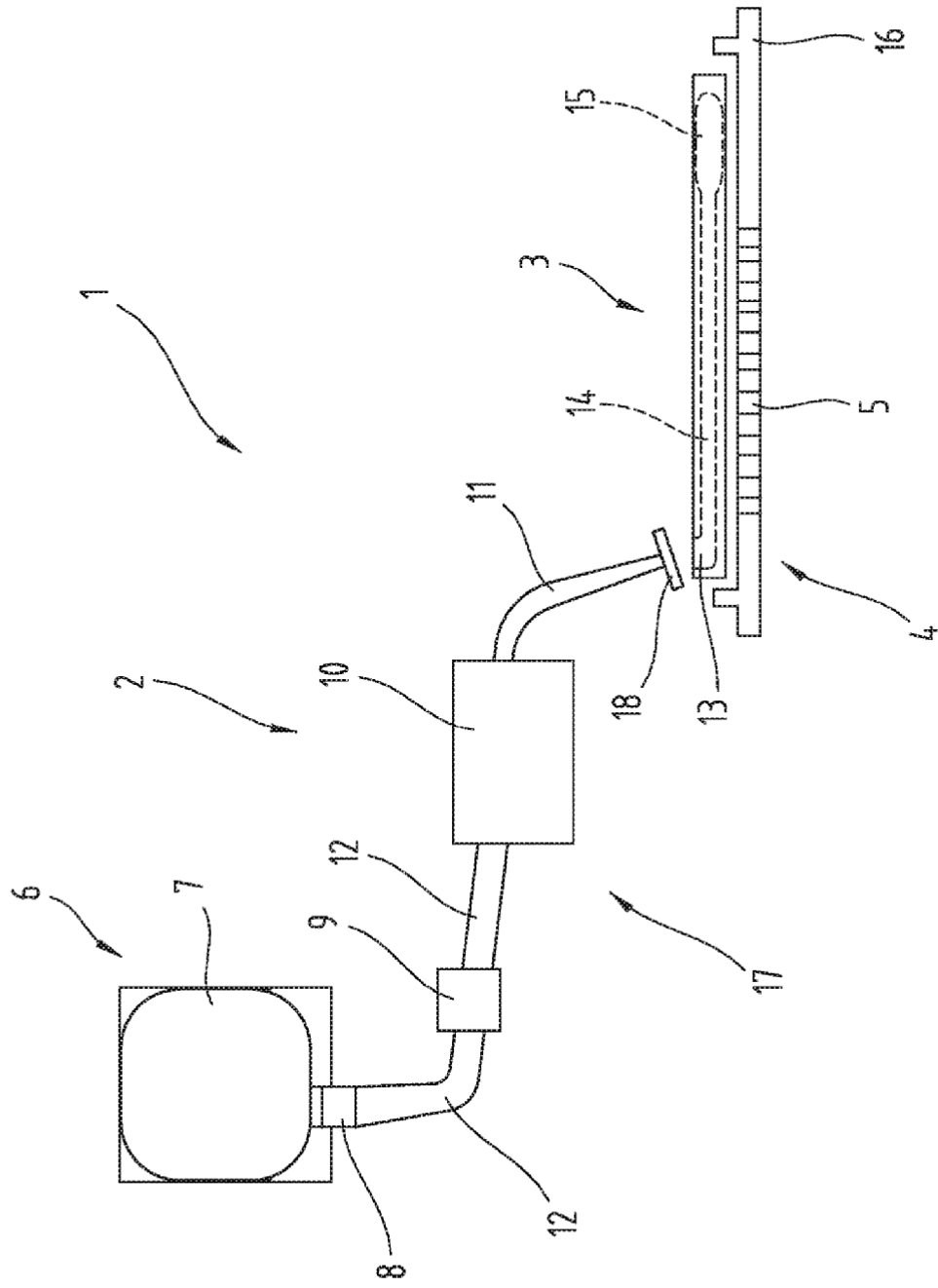


Fig.2

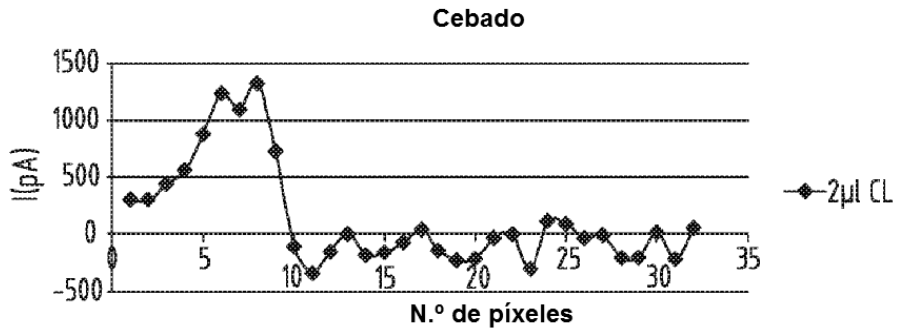


Fig.3

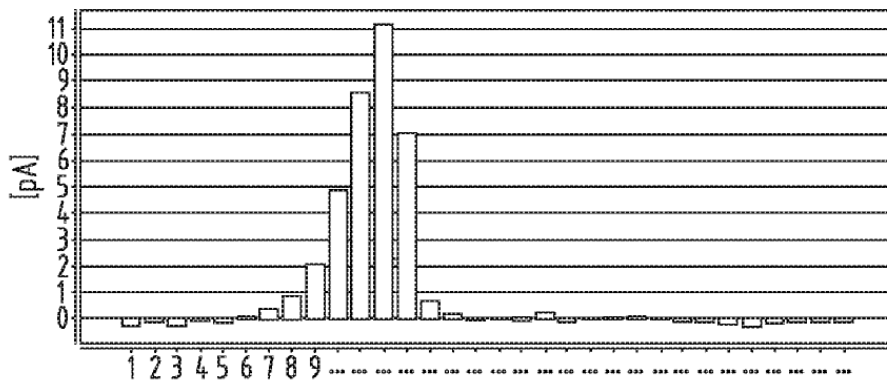


Fig.4

