

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 703 601**

51 Int. Cl.:

G01N 33/53 (2006.01)

G01N 33/542 (2006.01)

C12P 19/34 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.03.2014 PCT/US2014/023422**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.10.2014 WO14164768**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.03.2014 E 14779477 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.10.2018 EP 2972354**

54 Título: **Aparato y método de detección**

30 Prioridad:

13.03.2013 US 201361779177 P
13.03.2013 US 201313802461

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.03.2019

73 Titular/es:

GENEWEAVE BIOSCIENCES INC. (100.0%)
983 University Avenue Bldg. B200
Los Gatos, CA 95032, US

72 Inventor/es:

REY, DIEGO ARIEL;
ROY, SHAUNAK;
TEIXEIRA, LEONARDO M.;
GRISWOLD, RYAN C.;
MATTHEWS, DAMIAN S.;
OLSON, KENNETH G.;
RICHARDSON, BRUCE J.;
STELLMACHER, RICK V. y
YEE, VICTOR H.

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 703 601 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

Aparato y método de detección

5 Antecedentes

Los aspectos de la divulgación que se describen en el presente documento se refieren a sistemas y métodos para la detección de células usando partículas de transducción manipuladas por ingeniería. De manera más particular, los aspectos que se describen en el presente documento se refieren a métodos para detectar bacterias usando partículas de transducción deficientes en replicación como un sistema indicador. Los aspectos que se describen en el presente documento también se refieren a un recipiente e instrumento dentro del cual se puede llevar a cabo la detección de bacterias en un sistema cerrado e integrado con una funcionalidad completamente automatizada.

La detección de bacterias, en especial de cepas resistentes a fármacos, es una etapa crítica en el diagnóstico y la limitación de la extensión de infecciones bacterianas. Por ejemplo, la MRSA es una versión resistente a fármacos de la bacteria común *Staphylococcus aureus* que es portada por una porción significativa de la población en los Estados Unidos de América. La mayoría de las infecciones de MRSA se presentan en hospitales y pueden tener una alta proporción de mortalidad (las infecciones por MRSA matan aproximadamente 19.000 personas cada año en los Estados Unidos de América). Por consiguiente, existe la necesidad de una identificación eficiente, exacta y rápida de las cepas bacterianas (incluyendo su fenotipo y / o genotipo y otras dianas moleculares) que provocan infección, tales como MRSA. Es particularmente importante la capacidad para identificar el fenotipo y / o genotipo bacteriano y otras dianas moleculares a partir de una diversidad de muestras diferentes (por ejemplo, muestras humanas, muestras ambientales, muestras vegetales, muestras veterinarias, muestras alimentarias o similares), de tal modo que se pueda iniciar de una manera oportuna el régimen de tratamiento y de control apropiado.

Un método conocido para identificar bacterias incluye el cultivo bacteriano. El cultivo es altamente sensible, pero precisa a menudo de dos a tres días (o aún más tiempo) para producir un resultado y, por lo tanto, no es adecuado para el diagnóstico rápido ni para propósitos de un examen eficiente. Los métodos conocidos de cultivo a menudo se llevan a cabo usando unos sistemas que requieren un personal altamente cualificado para llevar a cabo el ensayo y, por lo tanto, no son adecuados para el uso en una diversidad de escenarios diferentes. Los métodos conocidos de cultivo también son propensos a contaminación, lo que pueda dar como resultado falsos positivos y / o una mala identificación de las bacterias. Además, los métodos conocidos de cultivo emplean unos protocolos de cultivo específicamente diseñados para la identificación de varias especies bacterianas, por lo tanto la prueba de un panel amplio de bacterias puede elevar rápidamente el coste.

La inmunodetección bacteriana directa, es decir, la detección usando una reacción de antígeno de anticuerpo, es otros métodos para la detección bacteriana. Los métodos conocidos de inmunodetección pueden producir resultados más rápidamente y a menor coste que un cultivo, pero a menudo están limitados por la disponibilidad de anticuerpos selectivos para la cepa bacteriana de interés y los anticuerpos disponibles son propensos a reactividad cruzada. Estos métodos conocidos también son menos sensibles que el cultivo, de tal modo que, no obstante, a menudo es un requisito de la amplificación bacteriana que puede prolongar el tiempo del ensayo.

Otros métodos conocidos para la detección de células bacterianas incluyen el aislamiento y el análisis de ácidos nucleicos tales como ADN o ARN. Los métodos conocidos para aislar los ácidos nucleicos de una muestra incluyen a menudo varias etapas de preparación severa de la muestra que requieren un equipo costoso y especializado. En particular, estas etapas incluyen 1) retirar las proteínas dentro de una muestra que contiene bacterias o células al adicionar una proteasa; 2) descomponer la muestra volumétrica restante para exponer los ácidos nucleicos contenidos en la misma (a lo que también se hace referencia como lisis celular); 3) precipitar el ácido nucleico de la muestra; 4) lavar y / o preparar de otro modo el ácido nucleico para un análisis adicional; 5) analizar el ácido nucleico para identificar la especie. Después de preparar la muestra, los métodos conocidos de análisis pueden incluir la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*), la secuenciación génica, la huella genética, la fluorescencia, el inmunoensayo, el inmunoensayo electroquímico, los microarreglos, cualquier otra técnica adecuada o una combinación de estas. La PCR ha hallado un uso comercial generalizado pero requiere a menudo múltiples etapas que comprenden una instrumentación y unos reactivos costosos. Muchos métodos conocidos que comprenden una PCR no son adecuados para la prueba en banco (por ejemplo, requieren un personal relativamente especializado). Además, los métodos conocidos de PCR emplean ciclos térmicos y / o temperaturas elevadas, lo que puede incrementar el coste, el tiempo y / o la complejidad del análisis. Por último, debido a que los métodos de PCR para detectar secuencias de ADN lisan las células de muestra, estos métodos no pueden distinguir entre células vivas y muertas.

Algunos métodos y sistemas conocidos para la identificación de células incluyen el uso de bacteriófagos para identificar y / o detectar ciertas bacterias. En algunos métodos conocidos, los fagos que se marcan con una molécula indicadora se pueden usar como diana e infectar una cepa bacteriana específica. Después de la infección, los fagos pueden experimentar un ciclo lítico (es decir, rompen la pared celular aniquilando las bacterias diana) y / o un ciclo lisogénico (es decir, la replicación del fago junto con las bacterias sin la aniquilación de las bacterias), seguido por la detección del fago de progenie amplificado. Estos métodos conocidos que dependen de la detección de los fagos

incluyen a menudo unas etapas limitantes o complejas. Por ejemplo, algunos métodos conocidos basados en detección de fagos para la identificación, dependen de la replicación de los fagos (durante la cual se pueden lisar las bacterias), y requieren por lo general un cultivo celular para facilitar este proceso. Algunos métodos conocidos basados en detección de fagos requieren la retirada o la "desunión" de fagos específicamente unidos de las muestras usando reactivos controlados por pH y/o cuidadosamente dosificados. Además, algunos métodos conocidos basados en detección de fagos dependen de la dosificación cuidadosa de la cantidad de fago adicionado y/o incluyen la apertura o cierre de la cámara de reacción para adicionar / retirar los reactivos, lo que puede conducir a la contaminación y / o mezclado prematuro de los reactivos, lo que conduce a resultados erróneos y hace que la naturaleza del ensayo sea compleja.

Otros métodos basados en fagos emplean bacteriófagos que se manipulan por ingeniería para distribuir en la bacteria diana un nucleótido que puede incluir un gen indicador, que provoca que la bacteria diana exprese una molécula indicadora. No obstante, algunos métodos conocidos incluyen fagos que se replican durante el ensayo, lo que puede dar como resultado un lisado indeseable de las células dentro de las cuales se van a producir las moléculas indicadoras. Otros métodos conocidos basados en fagos emplean bacteriófagos en los cuales las fusiones replicativas se suprimen durante las condiciones del ensayo. No obstante, estos métodos conocidos son difíciles de implementar debido al intervalo estrecho de condiciones (por ejemplo, condiciones de temperatura) bajo las cuales las funciones replicativas permanecerán suprimidas. Estos métodos no se controlan fácilmente, y de esta manera pueden dar como resultado una actividad lítica. Aún otros métodos sugieren el uso de fagos templados que experimentan un ciclo lisogénico en lugar de un ciclo lítico. Estos métodos conocidos, no obstante, también son susceptibles a una actividad lítica esporádica. La incorporación de los ciclos de vida de los fagos nativos también puede conducir a la limitación del intervalo de hospedador del fago indicador debido a la inmunidad por superinfección por las células diana que se pueden lisogenizar con un profago. Por lo tanto, a pesar de que se han llevado a cabo métodos conocidos de este tipo en un escenario académico, no son aplicables en un escenario clínico.

Además de las desventajas que se han descrito en lo que antecede con respecto al uso de los métodos basados en fagos, los métodos conocidos no emplean una automatización o instrumentación para permitir un sistema de identificación de bacteriófagos "completamente automatizado". Por ejemplo, muchos sistemas conocidos no dan cabida al manejo del sistema cerrado y/o a la medición de una señal que sea producida por ciertas moléculas indicadoras, tales como, por ejemplo, una reacción de luminiscencia instantánea. Por lo tanto, los sistemas y métodos conocidos requieren un personal cualificado y un manejo íntimo de las muestras, lo que puede incrementar la posibilidad de falsos positivos o negativos. El documento US2008/261294 divulga un aparato para un ensayo y detección quimioluminiscente. El documento US2003/148536 divulga un analizador quimioluminiscente.

Por lo tanto, existe la necesidad de un aparato y métodos mejorados para la detección e identificación rápida, rentable y fácil de las especies bacterianas en las muestras clínicas.

Sumario

De acuerdo con un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un aparato, que comprende un montaje de detector, comprendiendo dicho montaje de detector un alojamiento, un detector óptico y un obturador, definiendo dicho alojamiento un canal que está configurado para recibir un recipiente de muestra y definiendo un volumen de detección que está configurado para colocar el canal en comunicación con el detector; incluyendo dicho alojamiento una primera superficie de sello y una segunda superficie de sello, en donde una primera porción del recipiente de muestra y la primera superficie de sello están configuradas para aislar el volumen de detección con respecto a un volumen en el exterior del alojamiento cuando una segunda porción del recipiente de muestra está dispuesta dentro del volumen de detección; teniendo dicho obturador una porción que está dispuesta de forma móvil dentro del alojamiento y que se puede mover entre una primera posición de obturador y una segunda posición de obturador, en donde una superficie de sello del obturador y la segunda superficie de sello del alojamiento están configuradas para aislar el volumen de detección con respecto al canal del alojamiento cuando dicho obturador se encuentra en la primera posición de obturador, y en donde el canal del alojamiento se encuentra en comunicación con el volumen de detección cuando el obturador se encuentra en la segunda posición de obturador; caracterizado por que el obturador define un orificio de calibración que incluye una fuente de luz de calibración, en donde el orificio de calibración se encuentra en comunicación con el volumen de detección y coloca la fuente de luz de calibración en comunicación con el detector cuando el obturador se encuentra en la primera posición de obturador y en donde el orificio de calibración está aislado del volumen de detección cuando el obturador se encuentra en la segunda posición de obturador. La primera superficie de sello puede incluir una junta. El aparato se puede disponer de tal modo que el obturador se encuentra en la primera posición de obturador cuando la segunda porción del recipiente de muestra dentro del canal se encuentra en el exterior del volumen de detección, y el obturador se encuentra en la segunda posición de obturador cuando la segunda porción del recipiente de muestra se encuentra dentro del volumen de detección. El obturador puede incluir una superficie de accionamiento que está configurada para acoplarse con la segunda porción del recipiente de muestra para mover el obturador desde la primera posición de obturador a la segunda posición de obturador. El obturador puede incluir una rampa que está configurada para acoplarse con la segunda porción del recipiente de muestra cuando la segunda porción del recipiente de muestra se mueve dentro del canal hacia el volumen de detección para mover el obturador hacia la segunda posición de obturador. El

obturador se puede configurar para trasladarse dentro del alojamiento en una dirección que está descentrada con respecto a un eje longitudinal del canal. El aparato puede comprender adicionalmente: un miembro de desviación que está configurado para empujar el obturador hacia la primera posición de obturador. La fuente de luz puede incluir un diodo emisor de luz (LED, *light emitting diode*) o un láser e incluye adicionalmente una guía de luz. De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se proporciona un aparato, que comprende un montaje de detector, comprendiendo dicho montaje de detector un alojamiento, un detector óptico y un obturador, definiendo dicho alojamiento un canal que está configurado para recibir un recipiente de muestra y definiendo un volumen de detección que está configurado para colocar el canal en comunicación con el detector e incluyendo una superficie de sello; teniendo dicho obturador una porción que está dispuesta de forma móvil dentro del alojamiento y que se puede mover entre una primera posición de obturador y una segunda posición de obturador, en donde el obturador incluye una superficie de sello y una porción de accionamiento, en donde la porción de accionamiento está configurada para acoplarse con una porción de extremo distal de un recipiente de muestra para trasladar el obturador en una dirección que está descentrada con respecto a un eje longitudinal del canal desde la primera posición de obturador a la segunda posición de obturador cuando la porción de extremo distal del recipiente de muestra es movida hacia el volumen de detección, y en donde la superficie de sello del obturador y la superficie de sello del alojamiento está configurada para aislar el volumen de detección con respecto al canal del alojamiento cuando el obturador se encuentra en la primera posición de obturador, y en donde el canal del alojamiento se encuentra en comunicación con el volumen de detección cuando el obturador se encuentra en la segunda posición de obturador; caracterizado por que el obturador define un orificio de calibración que incluye una fuente de luz de calibración, en donde el orificio de calibración se encuentra en comunicación con el volumen de detección y coloca la fuente de luz de calibración en comunicación con el detector cuando el obturador se encuentra en la primera posición de obturador y en donde el orificio de calibración está aislado del volumen de detección cuando el obturador se encuentra en la segunda posición de obturador. La superficie de sello del alojamiento puede ser una superficie de sello distal, definiendo el alojamiento una superficie de sello proximal; y una porción de extremo proximal del recipiente de muestra y la superficie de sello proximal del alojamiento están configuradas para aislar el volumen de detección con respecto a un volumen en el exterior del alojamiento cuando la porción de extremo distal del recipiente de muestra está dispuesta dentro del volumen de detección. El aparato puede comprender adicionalmente un miembro de desviación que está configurado para empujar el obturador hacia la primera posición de obturador. La fuente de luz puede incluir un diodo emisor de luz (LED, *light emitting diode*) o un láser e incluye adicionalmente una guía de luz. De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se proporciona un método para calibrar y medir una señal usando un aparato del primer o el segundo aspectos, que comprende: transmitir, en un primer momento, una primera señal de luz desde la fuente de luz de calibración al volumen de detección, estando incluida dicha fuente de luz de calibración dentro del orificio de calibración del obturador y encontrándose el obturador en la primera posición de obturador con lo que el volumen de detección está ópticamente aislado del canal que se define en el alojamiento; detectar la primera señal de luz por medio del detector; mover, en un segundo momento, el obturador desde la primera posición de obturador a la segunda posición de obturador mediante la aplicación de una fuerza al recipiente de muestra, moviendo de ese modo la porción de extremo segunda o distal del recipiente de muestra al interior del volumen de detección y poniendo el canal del alojamiento en comunicación óptica con el volumen de detección; detectar una segunda señal de luz que se emite a partir del recipiente de muestra en el volumen de detección por medio del detector. El método puede incluir adicionalmente: calibrar el detector sobre la base de la primera señal de luz que se transmite a partir de la fuente de luz de calibración. El método puede incluir adicionalmente, antes de detectar la segunda señal de luz: transportar un sustrato a la porción de extremo segunda o distal del recipiente de muestra para hacer reaccionar dicho sustrato con unas moléculas indicadoras que se encuentran presentes en una muestra que está contenida en el recipiente de muestra para producir dicha segunda señal de luz. En un aspecto de la divulgación que no forma parte de la invención, un método incluye mezclar una cantidad de partículas de transducción dentro de una muestra. Las partículas de transducción están asociadas con una célula diana. Las partículas de transducción son no replicativas, y están manipuladas por ingeniería para incluir una molécula de ácido nucleico que se formula para dar lugar a que la célula diana produzca una serie de moléculas indicadoras. La muestra y las partículas de transducción se mantienen para expresar la serie de las moléculas indicadoras cuando la célula diana se encuentra presente en la muestra. Se recibe una señal que está asociada con una cantidad de las moléculas indicadoras. En algunos aspectos, una magnitud de la señal es independiente de una cantidad de la partícula de transducción por encima de una cantidad previamente determinada.

En algunos aspectos de la divulgación que no forman parte de la invención, un recipiente incluye un alojamiento, un miembro de distribución y un accionador. El alojamiento, que se puede acoplar de manera amovible con una cámara de reacción, define un volumen de reactivo. El miembro de distribución se acopla con el alojamiento y define una ruta entre el volumen de reactivo y la cámara de reacción cuando el alojamiento se acopla con la cámara de reacción. Una primera porción de extremo del miembro de distribución se coloca dentro del volumen de reactivo y una segunda porción de extremo del miembro de distribución se coloca fuera del volumen de reactivo. El accionador tiene una porción de émbolo colocada dentro del volumen de reactivo que se puede mover dentro del volumen de reactivo a lo largo de un eje longitudinal del alojamiento para producir un flujo de reactivo a partir del volumen de reactivo por medio de la ruta. El miembro de distribución se configura para dirigir el flujo del reactivo que sale de la segunda porción de extremo del miembro de distribución en una dirección de salida paralela al eje longitudinal del alojamiento.

En algunos aspectos de la divulgación que no forman parte de la invención, un instrumento incluye un montaje de retención, un montaje de activación y un accionador. El montaje de detección incluye un primer sujetador, un segundo sujetador y un miembro de desviación. El primer sujetador y el segundo sujetador se configuran para encontrarse en contacto con una primera porción de un recipiente de muestra para limitar el movimiento del recipiente de muestra. El recipiente de muestra define un volumen de reacción y un volumen de reactivo. El miembro de activación se acopla de forma móvil con el montaje de retención, y se configura para acoplarse con una segunda porción del recipiente de muestra para transportar un reactivo desde el volumen de reactivo al volumen de reacción. El accionador se configura para retirar el miembro de activación en relación con el montaje de retención entre una primera posición y una segunda posición. En la primera posición, una superficie del miembro de activación se encuentra en contacto con una superficie del montaje de retención para mantener el primer sujetador y el segundo sujetador en una configuración abierta. En la segunda posición, la superficie del miembro de activación está separada de la superficie del montaje de activación de tal modo que el miembro de desviación empuja el primer sujetador y al segundo sujetador a una configuración cerrada. Una porción de émbolo del miembro de activación se configura para moverse dentro del volumen de reactivo cuando el miembro de activación se mueve hacia la segunda posición.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es un diagrama de bloques de un sistema para la identificación de bacterias, de acuerdo con un aspecto.

Las figuras 2 y 3 son unas ilustraciones esquemáticas de un cartucho de acuerdo con un aspecto, en una primera configuración y una segunda configuración.

La figura 4 ilustra un diagrama de flujo de un método para detectar una célula diana en una muestra, de acuerdo con un aspecto.

La figura 5 es una ilustración esquemática de una partícula de transducción y una molécula de ácido nucleico manipulado por ingeniería contenida en la misma, de acuerdo con un aspecto.

La figura 6 muestra una ilustración esquemática de un método para la identificación de una célula diana, de acuerdo con un aspecto.

Las figuras 7A y 7B muestran una ilustración esquemática de unas partículas de transducción que interactúan con células diana en un primer momento (la figura 7A) y un segundo momento (la figura 7B), de acuerdo con un aspecto.

La figura 8 ilustra un diagrama de flujo de un método para la identificación de una célula diana viable, de acuerdo con un aspecto.

La figura 9 es una ilustración esquemática de una formulación de un ácido nucleico manipulado por ingeniería, de acuerdo con un aspecto.

La figura 10 ilustra un diagrama de flujo de un método para la identificación genotípica de una célula diana, de acuerdo con un aspecto.

La figura 11 muestra una ilustración esquemática de un método genotípico para la identificación de una célula diana, de acuerdo con un aspecto.

Las figuras 12 - 14 son unas vistas esquemáticas en sección transversal de un recipiente de muestra de acuerdo con un aspecto, en una primera configuración, una segunda configuración y una tercera configuración, de forma respectiva.

Las figuras 15 - 17 son unas vistas laterales de un montaje de recipiente de acuerdo con un aspecto, en una primera configuración, una segunda configuración y una tercera configuración, de forma respectiva.

La figura 18 es una vista en perspectiva de un montaje de recipiente de acuerdo con un aspecto.

La figura 19 muestra una vista en despiece ordenado del montaje de recipiente de la figura 18.

La figura 20 muestra una vista superior de un alojamiento que está incluido en el montaje de recipiente de la figura 19.

La figura 21 muestra una vista inferior en perspectiva del alojamiento que está incluido en el montaje de recipiente de la figura 19.

ES 2 703 601 T3

- La figura 22 muestra una vista en perspectiva de un recipiente de reactivo que está incluido en el montaje de recipiente de la figura 19, de acuerdo con un aspecto.
- 5 Las figuras 23 - 25 son unas vistas laterales en sección transversal de una porción del recipiente de la figura 19 en una primera configuración, una segunda configuración y una tercera configuración, de forma respectiva.
- La figura 26 muestra una vista en perspectiva de un montaje de recipiente, de acuerdo con un aspecto.
- 10 La figura 27 muestra una vista inferior en perspectiva de un alojamiento que está incluido en el montaje de recipiente de la figura 26.
- La figura 28 muestra una vista lateral en sección transversal del montaje de recipiente de la figura 26.
- 15 La figura 29 es una vista lateral en sección transversal de un montaje de recipiente, de acuerdo con un aspecto.
- Las figuras 30 - 32 son unas vistas laterales en sección transversal de un montaje de recipiente de acuerdo con un aspecto, en una primera configuración, una segunda configuración y una tercera configuración, de forma respectiva.
- 20 La figura 33 muestra una vista en despiece ordenado en sección transversal de un montaje de recipiente, de acuerdo con un aspecto.
- 25 Las figuras 34 - 36 son unas vistas laterales en sección transversal del montaje de recipiente de la figura 33 en una primera configuración, una segunda configuración y una tercera configuración, de forma respectiva.
- Las figuras 37 y 38 son unas ilustraciones esquemáticas laterales en sección transversal de un montaje de recipiente de acuerdo con un aspecto en una primera configuración y una segunda configuración, de forma respectiva.
- 30 Las figuras 39 y 40 son unas ilustraciones esquemáticas laterales en sección transversal de un montaje de recipiente de acuerdo con un aspecto en una primera configuración y una segunda configuración, de forma respectiva.
- 35 La figura 41 es una ilustración esquemática lateral en sección transversal de un montaje de recipiente, de acuerdo con un aspecto.
- La figura 42 ilustra un diagrama de flujo de un método de detección de señal, de acuerdo con un aspecto.
- 40 Las figuras 43 - 45 son unas vistas laterales esquemáticas de una porción de un instrumento de acuerdo con un aspecto, en una primera configuración, una segunda configuración y una tercera configuración, de forma respectiva.
- 45 Las figuras 46 - 48 son unas vistas laterales esquemáticas de una porción de un instrumento de acuerdo con un aspecto, en una primera configuración, una segunda configuración y una tercera configuración, de forma respectiva.
- Las figuras 49 y 50 son unas vistas laterales esquemáticas de una porción de detección de un instrumento de acuerdo con un aspecto, en una primera configuración y una segunda configuración, de forma respectiva.
- 50 La figura 51 muestra una vista en perspectiva de un instrumento, de acuerdo con un aspecto.
- La figura 52 muestra una vista frontal inclinada del instrumento de la figura 51 con una tapa abierta.
- 55 La figura 53 muestra una vista frontal inclinada de un alojamiento que está incluido en el instrumento de la figura 51.
- La figura 54 muestra una vista posterior del alojamiento que se muestra en la figura 53.
- 60 Las figuras 55 - 57 muestran unas vistas en perspectiva de una porción de los componentes internos y los submontajes del instrumento de la figura 51 con el alojamiento retirado por razones de claridad.
- La figura 58 muestra una vista en perspectiva de una fuente de alimentación que está incluida en el instrumento de la figura 51.
- 65 La figura 59 muestra una vista en perspectiva de un procesador que está incluido en el instrumento de la figura 51.

ES 2 703 601 T3

- La figura 60 muestra una vista en perspectiva de un módulo de comunicaciones que está incluido en el instrumento de la figura 51.
- 5 La figura 61 muestra una vista en perspectiva del instrumento de la figura 51 en una primera configuración.
- La figura 62 muestra una vista en perspectiva de un cartucho que está incluido en el instrumento de la figura 51.
- 10 La figura 63 muestra una vista en perspectiva de un receptor de cartucho que está incluido en el instrumento de la figura 51.
- La figura 64 es una vista lateral del cartucho de la figura 62 y el receptor de cartucho de la figura 63 en una configuración acoplada.
- 15 La figura 65 muestra una vista en perspectiva de un montaje de calentador que está incluido en el instrumento de la figura 51.
- La figura 66 es una vista parcialmente en despiece ordenado del montaje de calentador de la figura 65.
- 20 La figura 67 muestra una vista posterior del montaje de calentador de la figura 65.
- La figura 68 es una vista en perspectiva de un montaje de accionamiento que está incluido en el instrumento de la figura 51, de acuerdo con un aspecto.
- 25 La figura 69 muestra una vista frontal del montaje de accionamiento de la figura 68.
- Las figuras 70 y 71 muestran el montaje de accionamiento de la figura 68 en una primera configuración y una segunda configuración, de forma respectiva.
- 30 La figura 72 muestra una vista en perspectiva de un sistema de circuito electrónico para controlar el montaje de accionamiento que está incluido en el instrumento de la figura 51.
- La figura 73 muestra una vista en perspectiva de un montaje de manipulador de acuerdo con un aspecto que está incluido en el instrumento de la figura 51.
- 35 La figura 74 muestra una vista en despiece ordenado del montaje de manipulador de la figura 73.
- La figura 75 muestra una vista lateral del montaje de manipulador de la figura 73 en una primera configuración (o de "de sujeción abierta").
- 40 La figura 76 muestra una vista lateral del montaje de manipulador de la figura 73 en una segunda configuración (o de "sujeción cerrada").
- La figura 77 muestra una vista en perspectiva del montaje de manipulador de la figura 73 en una segunda configuración (de "sujeción cerrada") y transportando un recipiente.
- 45 Las figuras 78 y 79 muestran unas vistas laterales del montaje de manipulador de la figura 73 en la primera configuración (de "sujeción abierta") y acoplándose con un recipiente.
- La figura 80 muestra una sección lateral del montaje de manipulador de la figura 78 en la configuración abierta y acoplándose con el recipiente en una operación de "primer accionamiento con émbolo".
- 50 La figura 81 muestra una sección transversal lateral del montaje de manipulador de la figura 73 en la segunda configuración (de "sujeción cerrada").
- 55 Las figuras 82 y 83 son una vista lateral y una vista en perspectiva, de forma respectiva, del montaje de manipulador de la figura 73 en una tercera configuración (de "sujeción cerrada") que se acopla con el recipiente en una operación de "segundo accionamiento con émbolo".
- La figura 84 muestra una sección transversal lateral del montaje de manipulador de la figura 82.
- 60 La figura 85 muestra una vista en perspectiva de un montaje de detector, de acuerdo con un aspecto, que está incluido en el instrumento de la figura 51.
- La figura 86 muestra una vista superior de una porción del montaje de detector de la figura 85.
- 65 La figura 87 muestra una vista en perspectiva del detector de la figura 85 con un alojamiento retirado.

La figura 88 muestra una vista en despiece ordenado del montaje de detector de la figura 85 con el alojamiento retirado.

5 La figura 89 muestra una vista en perspectiva de un obturador que está incluido en el montaje de detector de la figura 85, de acuerdo con un aspecto.

La figura 90 muestra una sección lateral del obturador de la figura 89.

10 Las figuras 91 - 94 son unas vistas laterales en sección transversal del montaje de detector de la figura 85 en una primera configuración, una segunda configuración, una tercera configuración y una cuarta configuración, de forma respectiva.

15 La figura 95 muestra una vista en perspectiva de un conjunto de circuitos que está incluido en el instrumento de la figura 51 para controlar el montaje detector de la figura 85, de acuerdo con un aspecto.

La figura 96 ilustra un diagrama de flujo de un método para recibir una señal, de acuerdo con un aspecto.

La figura 97 ilustra un diagrama de flujo de un método para manipular un recipiente, de acuerdo con un aspecto.

20 Descripción detallada

25 En el presente documento se describen sistemas y métodos para detectar y / o identificar células (por ejemplo, bacterias) usando una partícula de transducción y / o vectores virales manipulados por ingeniería. En algunos aspectos, un método incluye mezclar una cantidad de partículas de transducción dentro de una muestra. Las partículas de transducción están asociadas con una célula diana. Expuesto de forma similar, las partículas de transducción se formulan para unirse a y distribuir una molécula de ácido nucleico en la célula diana. Las partículas de transducción no son replicativas y se manipulan por ingeniería para incluir una molécula de ácido nucleico formulada para hacer que la célula diana produzca una serie de moléculas indicadoras. La muestra y las partículas de transducción se mantienen para expresar la serie de las moléculas indicadoras cuando está presente la célula diana en la muestra. Se recibe una señal asociada con una cantidad de las moléculas indicadoras. En algunos aspectos, una magnitud de las señales es independiente de una cantidad de la partícula de transducción por arriba de una cantidad previamente determinada.

35 En algunos aspectos, un método para detectar una célula diana incluye mezclar con una muestra una serie de partículas de transducción asociadas con la célula diana. Las partículas de transducción se manipulan por ingeniería para incluir una molécula de ácido nucleico formulada para hacer que la célula diana produzca una serie de moléculas indicadoras. Las partículas de transducción están desprovistas de un ADN de tipo silvestre que es capaz de mostrar unas funciones virales de tipo silvestre asociadas con un virus a partir del cual se derivan la serie de partículas de transducción. La muestra y la serie de partículas de transducción se mantienen de tal modo que la serie de moléculas indicadoras solo se expresa cuando la célula diana está presente en la muestra. Entonces se recibe una señal asociada con la cantidad de moléculas indicadoras. En algunos aspectos, la magnitud de las señales es independiente de la cantidad de la serie de partículas de transducción por arriba de una cantidad previamente determinada. Expuesto de forma similar, en algunos aspectos, la fuerza de la señal es sustancialmente independiente de la cantidad de la serie de partículas de transducción.

45 En algunos aspectos, un método para detectar una célula diana incluye mezclar dentro de una muestra una serie de partículas de transducción asociadas con la célula diana. La serie de partículas de transducción se manipulan por ingeniería para ser incapaces de replicación lisogénica y para incluir una molécula de ácido nucleico formulada para que la célula diana produzca una serie de moléculas indicadoras. La muestra y la serie de partículas de transducción se mantienen para expresar la serie de las moléculas indicadoras cuando la muestra incluye la célula diana. El método también incluye recibir una señal asociada con una cantidad de la serie de las moléculas indicadoras.

55 En algunos aspectos, un recipiente incluye un alojamiento, un primer accionador y un segundo accionador. El alojamiento se configura para que se acople de manera amovible a una cámara de reacción (por ejemplo, que puede contener una muestra que incluye una célula diana). El alojamiento define un primer volumen de reactivo y un segundo volumen de reactivo, que incluye una porción de distribución que define una primera ruta entre el primer volumen de reactivo y la cámara de reacción y una segunda ruta entre el segundo volumen de reactivo y la cámara de reacción. El primer accionador tiene una porción de émbolo colocada dentro del primer volumen de reactivo, y una porción de acoplamiento configurada para que se manipule para mover la porción de émbolo dentro del primer volumen de reactivo. El segundo accionador tiene una porción de émbolo colocada dentro del segundo volumen de reactivo y una porción de acoplamiento del segundo accionador se configura para que se manipule para mover la porción de émbolo dentro del segundo volumen de reactivo. La porción de acoplamiento del segundo accionador circunda al menos en parte la porción de acoplamiento del primer accionador.

65 En algunos aspectos, un recipiente incluye un alojamiento, un miembro de distribución y un accionador. El alojamiento, que se puede acoplar de manera remota con una cámara de reacción (por ejemplo, que contiene una

célula diana), define un volumen de reactivo. El miembro de distribución se acopla con el alojamiento y define una ruta entre el volumen de reactivo y la cámara de reacción cuando el alojamiento se acopla con la cámara de reacción. Una primera porción de extremo del miembro de distribución se coloca dentro del volumen de reactivo y una segunda porción de extremo del miembro de distribución se coloca fuera del volumen de reactivo. El accionador tiene una porción de émbolo colocada dentro del volumen de reactivo que se puede mover dentro del volumen de reactivo a lo largo de un eje longitudinal del alojamiento para producir un flujo de reactivo a partir del volumen de reactivo por medio de la ruta. El miembro de distribución se configura para dirigir el flujo del reactivo que sale de la segunda porción de extremo del miembro de distribución en una dirección de salida no paralela al eje longitudinal del alojamiento.

En algunos aspectos, un recipiente incluye un alojamiento, un miembro de distribución y un accionador. El alojamiento define un volumen de reactivo y se puede acoplar de manera amovible con una cámara de reacción. El miembro de distribución se acopla con el alojamiento y define una ruta entre el volumen de reactivo y la cámara de reacción cuando el alojamiento se acopla con la cámara de reacción. Una primera porción de extremo del miembro de distribución se coloca dentro del volumen de reactivo y define una primera porción de la ruta. Una segunda porción de extremo del miembro de distribución se coloca fuera del alojamiento y define una segunda porción de la ruta. Una línea central de la segunda porción de la ruta está descentrada en sentido angular con respecto a una línea central de la primera porción de la ruta. El accionador tiene una porción de émbolo colocada dentro del volumen de reactivo y se configura para que se mueva dentro de la cámara de reactivo a lo largo de un eje longitudinal del alojamiento para producir un flujo de un reactivo a partir del volumen de reactivo por medio de la ruta.

En algunos aspectos, un método para detectar una célula diana incluye colocar una cámara de reacción que contiene una muestra y una serie de moléculas indicadoras en comunicación operativa con un detector. Un reactivo se transporta hacia la cámara de reacción mediante un miembro de distribución de tal modo que el reactivo fluye a lo largo de una superficie de la cámara de reacción y a la muestra. Por lo tanto, se reduce al mínimo la aireación de la muestra y el reactivo y / o la producción de burbujas dentro de la muestra. El reactivo se formula para reaccionar con la serie de moléculas indicadoras para permitir y / o habilitar la producción de una señal asociada con una cantidad de la serie de moléculas indicadoras. La señal es recibida por un detector.

En algunos aspectos, un instrumento incluye un miembro de retención, un miembro de activación y un accionador. El miembro de retención se configura para hacer contacto con una primera porción de un recipiente de muestra, que define un volumen de reacción de un volumen de reactivo, para limitar el movimiento del recipiente de muestra. El miembro de activación se acopla con el miembro de retención y se configura para acoplarse con una segunda porción del recipiente de muestra para transportar un reactivo desde el volumen de reactivo al volumen de reacción. El accionador se configura para mover el miembro de activación en relación con el miembro de retención entre una primera posición, una segunda posición y una tercera posición. En la primera posición, el miembro de retención se configura para que esté separado de la primera posición del recipiente de muestra. En la segunda posición, el miembro de activación se configura para que esté separado de la segunda porción del recipiente de muestra y el miembro de retención se configura para encontrarse en contacto con la primera porción del recipiente de muestra. En la tercera posición, el miembro de activación se configura para que se acople con la segunda porción del recipiente de muestra para transportar el reactivo de tal modo que el miembro de retención se encuentra en contacto con la primera porción del recipiente de muestra.

En algunos aspectos, un instrumento incluye un montaje de retención, un montaje de activación y un accionador. El montaje de retención incluye un primer sujetador, un segundo sujetador y un miembro de desviación. El primer sujetador y el segundo sujetador se configuran para hacer contacto con una primera porción de un recipiente de muestra para limitar el movimiento del recipiente de muestra. El recipiente de muestra define un volumen de reacción y un volumen de reactivo. El miembro de activación se acopla de forma móvil con el montaje de retención y se configura para acoplarse con una segunda porción del recipiente de muestra para transportar un reactivo desde el volumen de reactivo al volumen de reacción. El accionador se configura para mover el miembro de activación en relación con el montaje de retención entre una primera posición y una segunda posición. En la primera posición, una superficie del miembro de activación se encuentra en contacto con una superficie del miembro de retención para mantener el primer sujetador y el segundo sujetador en una configuración abierta. En la segunda posición, la superficie del miembro de activación está separada de la superficie del montaje de retención de tal modo que el miembro de desviación empuja el primer sujetador y el segundo sujetador a una configuración cerrada. Una porción de émbolo del miembro de activación se configura para moverse dentro del volumen de reactivo cuando el miembro de activación se mueve hacia la segunda posición.

En algunos aspectos, un instrumento incluye un alojamiento y un obturador que tiene una porción colocada de forma móvil dentro del alojamiento entre una primera posición de obturador y una segunda posición de obturador. El alojamiento define un canal configurado para recibir un recipiente de muestra y define adicionalmente un volumen de detección que está configurado para detectar el canal en comunicación con un detector. El alojamiento que incluye una primera superficie de sello y una segunda superficie de sello. Una primera porción del recipiente de muestra y la primera superficie de sello se configuran para aislar el volumen de detección de un volumen fuera del alojamiento cuando una segunda porción (por ejemplo, una porción de extremo distal) del recipiente de muestra está colocada

dentro del volumen de detección. Una superficie de sello del obturador y la segunda superficie de sello del alojamiento se configuran para aislar el volumen de detección del canal del alojamiento cuando el obturador se encuentra en la posición de obturador. El canal del alojamiento se encuentra en comunicación con el volumen de detección cuando el obturador se encuentra en la segunda posición de obturador.

5 En algunos aspectos, un instrumento incluye un alojamiento y un obturador que tiene una porción colocada de forma móvil dentro del alojamiento entre una primera porción de obturador y una segunda posición de obturador. El alojamiento define un canal configurado para recibir un recipiente de muestra y también define un volumen de detección que está configurado para colocar el canal en comunicación con el detector. Una porción de accionamiento del obturador se configura para acoplarse con una porción de extremo distal del recipiente de muestra para mover el obturador desde la primera posición de obturador a la segunda posición de obturador cuando la porción de extremo distal del recipiente se mueve hacia el volumen de detección. Una superficie de sello del obturador y una superficie de sello del alojamiento se configuran para aislar el volumen de detección del canal del alojamiento cuando el obturador se encuentra en la primera posición de obturador. El canal del alojamiento se encuentra en comunicación con el volumen de detección cuando el obturador se encuentra en la segunda posición de obturador.

20 En algunos aspectos, un instrumento incluye un alojamiento y un obturador colocado dentro del alojamiento entre una primera posición de obturador y una segunda posición de obturador. El alojamiento define un canal configurado para recibir un recipiente de muestra, y también define un volumen de detección que está configurado para colocar el canal en comunicación con un detector. El obturador define un orificio de calibración que está configurado para recibir una fuente de luz de calibración, tal como, por ejemplo, un LED. Una superficie de sello del obturador y una superficie de sello correspondiente del alojamiento se configuran para aislar el volumen de detección del canal del alojamiento cuando el obturador se encuentra en la primera posición de obturador. El orificio de calibración se encuentra en comunicación con el volumen de detección cuando el obturador se encuentra en la primera posición de obturador. El canal del alojamiento se encuentra en comunicación con el volumen de detección y el orificio de calibración está aislado del volumen de detección cuando el obturador se encuentra en la segunda posición de obturador.

30 En algunos aspectos, un método para recibir una señal incluye recibir una primera señal asociada con una magnitud de la emisión de luz en un volumen de detección, en un primer momento. El volumen de detección está aislado ópticamente de un canal por un obturador móvil, que se encuentra en una primera posición. El método también incluye aplicar una fuerza a un recipiente de muestra colocado al menos en parte dentro de un canal de tal modo que una porción de extremo distal del recipiente de muestra mueve el obturador desde la primera posición a una segunda posición, y de tal modo que la porción de extremo distal del recipiente de muestra se coloca dentro del volumen de muestra. En esta configuración, el canal se encuentra en comunicación óptica con el volumen de detección. El método incluye además recibir una segunda señal asociada con una magnitud de emisión de luz en el volumen de detección en un segundo momento, cuando la porción de extremo distal del recipiente de muestra se encuentra en el volumen de detección.

40 Tal como se describe en el presente documento, los términos "gen", "ADN" y "nucleótido" significan la totalidad o una porción de la secuencia genética de la bacteria diana o el vector.

45 Tal como se describe en el presente documento, el término "plásmido" significa el gen, la secuencia y / o la molécula manipulada por ingeniería, contenida dentro del vector, que incluye elementos reguladores, secuencias de ácido nucleico homólogas a los genes diana y varias construcciones indicadoras para provocar la expresión de las moléculas indicadoras dentro de una célula viable y / o cuando está presente una molécula intracelular dentro de una célula diana.

50 Los sistemas, dispositivos y métodos para detectar e identificar células diana (por ejemplo, bacterias) pueden incluir una partícula de transducción que puede identificar y unirse a la célula diana y distribuir en la célula diana un nucleótido manipulado por ingeniería. Tal como se muestra en el diagrama de bloques de la figura 1, en algunos aspectos, un sistema 100 incluye una partícula de transducción 110, manipulada por ingeniería genética, un recipiente 120, un indicador 130, y un instrumento de detección 140. Tal como se describe en detalle en el presente documento, el sistema 100 se configura para manipular, manejar y / o accionar el recipiente 120 y / o el instrumento de detección 140 de tal modo que la partícula de transducción 110 puede, cuando se mezcla con una muestra S que contiene una diana particular, producir el indicador 130. Por lo tanto, se puede pensar que el sistema 100 y los métodos asociados con el mismo son un ensayo "conmutable", lo que significa que no está presente cantidad alguna del indicador 130 en la muestra hasta que las condiciones (por ejemplo, la presencia de la célula diana) son tales que se produzca el indicador 130.

65 La partícula de transducción 110 puede ser cualquier partícula adecuada capaz de distribuir mediante transducción ADN y / o ARN no viral en una célula diana. Por ejemplo, en algunos aspectos, la partícula de transducción se puede distribuir a partir de un bacteriófago, o puede ser un vector no biológicamente derivado que es capaz de introducir moléculas de ácido nucleico en la bacteria diana en la muestra S. La partícula de transducción 110 se manipula por ingeniería y / o configura adicionalmente para transportar una molécula manipulada por ingeniería, por ejemplo,

ADN, ARN, un nucleótido, un plásmido, una ribozima, un aptámero y / o una proteína recombinante. En algunos aspectos, la partícula de transducción 110 no contiene ADN alguno del vector viral (por ejemplo, bacteriófago) a partir del cual se derivó la misma. Expuesto de forma similar, en algunos aspectos, la partícula de transducción es un vector viral desprovisto de un ADN de tipo silvestre capaz de mostrar unas funciones virales de tipo silvestre asociadas con el virus a partir del cual se deriva el vector viral. En algunos aspectos, una partícula de transducción incluye cualquiera de las partículas de transducción que se describen en el presente documento.

En algunos aspectos, la partícula de transducción 110 es incapaz de replicarse mediante el ciclo o bien lítico o bien lisogénico. Al eliminar todas las formas de replicación de la partícula de transducción, se mantendrán las células diana (es decir, no se destruyen, ni se aniquilan ni se lisan) durante la producción de las moléculas indicadoras, mejorando de este modo la exactitud y la fiabilidad de los métodos usados con el presente documento. Por lo tanto, los ensayos que se describen en el presente documento reducen y / o eliminan la probabilidad de un falso negativo, haciendo a los métodos aplicables en un escenario clínico. En particular debido a que las funciones virales de tipo silvestre de las partículas virales pueden mostrar una replicación lisogénica y requerir la capacidad de replicación lítica, los intentos para suprimir las funciones replicativas (por ejemplo, el ciclo lítico) no pueden proporcionar una certidumbre suficiente de que el ciclo lítico no dará como resultado alguna población de ensayos. Para demostrar las ventajas del uso de una partícula de transducción en la cual se elimina la capacidad de replicación, la actividad lítica de dos fagos templados *S. aureus* en diez aislados clínicos de MRSA se examinó mediante ensayo en placa. Tal como se muestra en la Tabla 1, el fago phi 11 mostró una actividad lítica en cada uno de los diez aislados clínicos de MRSA, y el fago phi80alfa mostró una actividad lítica en seis de los diez aislados clínicos de MRSA. Tal como se muestra, se puede esperar que los ensayos que dependen del ciclo lisogénico natural de los fagos (por ejemplo, los fagos templados según se prueban) muestren una actividad lítica de manera esporádica. Por consiguiente, en algunos aspectos, la partícula de transducción 110, y otras partículas de transducción que se describen en el presente documento, se manipulan por ingeniería para que sean no replicativas o deficientes en replicación (es decir, incapaces de replicación).

Tabla 1

Aislado de MRSA	Tipo de PFFGE	phil 1	phi80alpha
1.	USA200	x	
2.	USA1000	x	
3.	USA800	x	x
4.	USA300	x	x
5.	USA300	x	x
6.	USA100	x	
7.	USA300	x	x
8.	USA100	x	
9.	USA300	x	x
10.	USA100	x	x

La partícula de transducción 110 se caracteriza por estar asociada con y / o ser específica de una o más células diana. Expuesto de forma similar, la partícula de transducción 110 se formula para unirse y distribuir una molécula de ácido nucleico en la célula diana. Por ejemplo, la partícula de transducción se puede seleccionar, manipular por ingeniería y / o producir para unirse a cualquier bacteria, por ejemplo, *Escherichia*, *Mycobacterium*, *Staphylococcus*, *Listeria*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Helicobacter*, *Rickettsia*, *Haemophilus*, *Xenorhabdus*, *Acinetobacter*, *Bordetella*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Actinobacillus*, *Pasteurella*, *Vibrio*, *Legionella*, *Bacillus*, *Calothrix*, *Methanococcus*, *Stenotrophomonas*, *Chlamydia*, *Neisseria*, *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter* y *Yersinia*.

En algunos aspectos, la partícula de transducción 110 no replicativa, así como cualquiera de las partículas de transducción no replicativas que se describen en el presente documento se puede desarrollar al encapsular ácido nucleico en los componentes estructurales de un virus y / o bacteriófago en donde el ácido nucleico encapsulado está desprovisto de mostrar unas funciones virales y / o de bacteriófago, nativas, que permiten que el virus y / o bacteriófago se repliquen si la replicación es mediante una ruta lítica o lisogénica.

En un aspecto, se puede desarrollar un sistema de encapsulado de plásmido en el cual el gen de terminasa pequeña que contiene el sitio pac de un profago de tipo pac se suprime y a continuación se complementa mediante un plásmido. Cuando se induce el ciclo lítico del profago lisogenizado, el sistema de encapsulado de bacteriófago encapsula el ADN de plásmido en los componentes estructurales del bacteriófago de progenie en lugar de encapsular el ADN del bacteriófago nativo. El sistema de encapsulado produce de esta manera unas partículas de transducción no replicativas que tienen el ADN del plásmido.

En otro aspecto, los sistemas de encapsulado de islas genómicas (GI, *genomic island*) se pueden aprovechar de tal modo que las secuencias exógenas de ácido nucleico se encapsulen por el bacteriófago. Esto se puede lograr al incorporar estas secuencias exógenas de ácido nucleico a las GI. Los sistemas de encapsulado de GI naturales dan como resultado tanto partículas de transducción no replicativas que contienen GI como fagos replicativos nativos, por lo tanto, con el fin de eliminar el fago nativo de este proceso, se suprime el gen de terminasa pequeña del profago. La secuencia del gen de terminasa pequeña contiene la secuencia del sitio pac del fago nativo y, por lo tanto, esta supresión tiene el efecto de impedir el encapsulado del ADN de fago nativo. Si, al mismo tiempo, una GI que se va a encapsular incluye su propio sitio pac y un gen de terminasa pequeña que expresa una proteína de terminasa pequeña adecuada, entonces sólo el ADN de la GI será tratable para su encapsulado en este sistema. Al incorporar un ADN exógeno en este sistema, se pueden producir unas partículas de transducción no replicativas que incorporan el ADN de la GI y el ADN exógeno.

La partícula de transducción 110 se puede producir y/o manipular por ingeniería adicionalmente para contener genes y/o una molécula de ácido nucleico para expresar un indicador 130 que se puede detectar (por ejemplo, por medio del instrumento 140). El indicador 130 puede ser cualquiera de una luciferasa bacteriana, una luciferasa eucariótica, una proteína fluorescente (por ejemplo, GFP, etc.), una enzima adecuada para la detección colorimétrica (por ejemplo, peroxidasa de rábano) una proteína adecuada para la inmunodetección (por ejemplo, proteína A, etc.), un péptido o una marca peptídica adecuada para la inmunodetección (por ejemplo, 3X FLAG, etc.) y/o un ácido nucleico que funciona como un aptámero o que muestra una actividad enzimática. De manera más particular, la partícula de transducción 110 no produce el indicador 130 de manera autónoma y/o no incluye el indicador 130. En su lugar, la partícula de transducción 110 se configura para comunicar una molécula de ácido nucleico manipulado por ingeniería contenida en la célula diana, es decir, bacteria, de tal modo que la molécula de ácido nucleico manipulado por ingeniería use las funciones naturales de transcripción y traducción del ADN bacteriano para producir el indicador 130. Por lo tanto, se puede pensar que el indicador 130 es un indicador "conmutable", lo que significa que no está presente cantidad alguna del indicador 130 en la muestra hasta que las condiciones (por ejemplo, la presencia de la célula diana) sean tales que se produzca el indicador 130. Por lo tanto, los métodos que se describen en el presente documento no incluyen el lavado del indicador 130 no unido, ni la sustracción de señal para dar cuenta de las cantidades iniciales del indicador o similares. Por lo tanto, el sistema 100 y los métodos asociados con el mismo permiten el desarrollo de un ensayo homogéneo. Adicionalmente, no se requiere la realización de ciclos de temperatura, y puede ser suficiente el calentamiento a una baja temperatura, por ejemplo 37 grados Celsius, durante un tiempo corto.

El sistema indicador formulado para que la expresión del indicador 130 y cualquiera de los sistemas indicadores que se describen en el presente documento se pueda desarrollar para indicar la presencia de células diana y/o bacterias viables por medio de la incorporación, en la partícula de transducción no replicativa 110 (o cualquiera de las otras partículas de transducción que se describen en el presente documento), de una molécula indicadora bajo el control de un promotor. Cuando esta partícula de transducción 110 introduce el sistema indicador en una célula dentro del intervalo de hospedadores de la partícula de transducción 110, el promotor es capaz de accionar la expresión de la molécula indicadora.

En un aspecto, se puede desarrollar y/o llevar a cabo un ensayo de indicador de MSSA / MRSA usando cualquier sistema y método adecuado tal como se describe en el presente documento (tal como, por ejemplo, el sistema 1000). En algunos aspectos, una partícula de transducción no replicativa (por ejemplo, la partícula de transducción 110, la partícula de transducción 160 o similares) se desarrolla a partir de un bacteriófago específico de *S. aureus* y se incorporan genes de luciferasa bacteriana luxAB bajo el control de un promotor constitutivo. Cuando está partícula de transducción introduce el sistema indicador en *S. aureus*, el promotor constitutivo puede expresar un luxAB adecuado para indicar la presencia de *S. aureus* viable. Si, además, también se adiciona el antibiótico cefoxitina, o un antibiótico similar antes de o de forma simultánea con el mezclado de las partículas de transducción con las células *S. aureus*, si las células no contienen ni expresan el gen mecA, no se expresará luxAB en el ensayo, indicando de esta manera que las células son MSSA (es decir, sensibles a la inhibición por cefoxitina). No obstante, si las células contienen y expresan el gen mecA, se expresará luxAB en el ensayo, indicando de esta manera que las células son MRSA (es decir, resistentes a la inhibición por cefoxitina).

A pesar de que se describe como que se desarrolla para indicar la presencia de bacterias viables, en otros aspectos, el indicador 130 y cualquiera de los sistemas indicadores aplicables (por ejemplo, el indicador 630) se pueden desarrollar para indicar la presencia de genes diana dentro de bacterias diana. En este sistema, un gen indicador sin promotor se coloca en la dirección 3' de una secuencia de ácido nucleico que es homóloga a una secuencia de gen diana y esta construcción indicadora se incorpora en una partícula de transducción no replicativa. Cuando la partícula de transducción introduce la construcción indicadora en una célula diana, el gen indicador no se expresará a menos que la célula diana contenga el gen diana y un evento de recombinación homóloga integre el gen indicador dentro de los locus del gen diana en la célula diana de tal modo que el gen indicador se llega a enlazar de forma operativa al promotor del gen diana dentro de la célula diana.

En el presente aspecto, se puede desarrollar un sistema indicador de MRSA al incorporar en una partícula de transducción no replicativa específica de *S. aureus* (por ejemplo, la partícula de transducción 110, la partícula de transducción 160 o similares) una construcción indicadora que consiste de una secuencia de ácido nucleico que es

homóloga al gen *mecA* en la dirección 5' de los genes de luciferasas bacteriana sin promotor, *luxAB*. Cuando la partícula de transducción introduce la construcción indicadora en una célula diana de *S. aureus*, el gen indicador no se expresará a menos que la célula diana contenga el gen diana *mecA* y un evento de recombinación homóloga integre los genes *luxAB* dentro de los locus del gen *mecA* en la célula diana de tal modo que el gen indicador se llegue a enlazar de forma operativa al promotor del gen *mecA* dentro de la célula diana.

En algunos aspectos, la partícula de transducción 110, la molécula de ácido nucleico que está contenida dentro de la partícula de transducción 110 y / o los sistemas indicadores asociados con la misma pueden incluir cualquiera de las porciones de los bacteriófagos recombinantes que se muestran y se describen en la publicación de patente de los Estados Unidos con n.º 2010/0112549, titulada "*Microorganism Detection Method and Apparatus*" (Método y Aparato de Detección de Microorganismos), presentada como una solicitud de patente internacional el 18 de abril de 2008, que se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad.

La muestra S puede ser cualquier muestra que contenga posiblemente la bacteria diana, por ejemplo, un hisopo nasal humano, sangre, orina, muestras veterinarias, muestras alimentarias y / o muestras ambientales. En algunos aspectos, la muestra S puede ser una muestra natural tal como se obtiene de la fuente, que no necesite preparación alguna, por ejemplo no se requiere preparación ni etapa de lavado alguna. Por lo tanto, el sistema 100 y los métodos asociados con el mismo son homogéneos. En algunos aspectos, la muestra S puede incluir una carga baja de célula diana (por ejemplo, un hisopo nasal para la detección de MRSA). Cuando se usa con estas muestras, el sistema 100 y los métodos asociados con el mismo pueden incluir un periodo de calentamiento y / o incubación para promover una replicación celular, lo que da como resultado una producción mayor de las moléculas indicadoras 130, por ejemplo, para generar una señal que es mayor que un umbral mínimo de señal.

En otros aspectos, la muestra S puede tener una carga mayor de células diana (por ejemplo, un cultivo sanguíneo bacteriano positivo). En estos casos, la replicación celular no se necesita para producir una señal positiva suficiente para identificar la célula diana. En algunos aspectos, la muestra se puede mantener en una condición específica, por ejemplo, mantenerse a una temperatura mayor de o igual a aproximadamente temperatura ambiente, 25 grados Celsius, o 37 grados Celsius durante un período previamente definido de tiempo, por ejemplo, menos de aproximadamente 4 horas. En estos aspectos, la temperatura y el período de tiempo durante el cual se mantiene la muestra S son de tal modo que la cantidad de moléculas indicadoras 130 producidas es suficiente para generar una señal mensurable, independiente de la replicación celular. En estos aspectos, la muestra se puede mantener a la temperatura previamente definida durante un período de tiempo más prolongado, por ejemplo, 6 horas, 8 horas, hasta 18 horas, o aún más tiempo.

En algunos aspectos, el recipiente 120 que puede contener un primer reactivo, por ejemplo, un nutriente bacteriano o un medio de crecimiento (por ejemplo, un medio esencial mínimo) y / o amortiguador adecuado (por ejemplo, Amies, PBS, TRIS, HEPES, etc.) para mantener la célula diana en un estado viable, que promueva el crecimiento de células bacteriana o similares. En algunos aspectos, también se puede incluir en el primer reactivo un antibiótico, por ejemplo, cefoxitina, por ejemplo, cuando se tiene por objeto un ensayo de células viable. Una muestra S que contiene la célula diana se puede adicionar al recipiente de muestra 120 seguido por la adición de la partícula de transducción 110 al recipiente de muestra 120 de acuerdo con cualquiera de los métodos y usando cualquiera de los instrumentos que se describen en el presente documento. Si las células diana se encuentran presentes, la partícula de transducción 110 transfiere la secuencia de ácido nucleico que está contenida en la célula diana de tal modo que el nucleótido contenido en la partícula de transducción 110 se integra con los genes de la célula diana, por ejemplo, la bacteria hospedadora. En algunos aspectos, el recipiente 120 se configura para aislar con respecto a fluidos la muestra S de una región fuera del recipiente 120. En estos aspectos, la partícula de transducción 110 se mantiene en aislamiento de fluidos con respecto a la muestra S antes de que se mezcle con la misma la partícula de transducción 110. En algunos aspectos, el mantenimiento puede incluir mantener la muestra S durante un período de tiempo de tal modo que la cantidad de la pluralidad de moléculas indicadoras 130 suficiente para producir la señal se produzca independientemente de la replicación de las células diana. Tal como se describe en el presente documento, el mezclado incluye colocar la partícula de transducción 110 en la muestra S en tanto que se mantiene el aislamiento entre la región y el recipiente 120.

En algunos aspectos, el recipiente 120 se puede configurar para incluir cualquier reactivo adicional que se formule para reaccionar con las moléculas indicadoras 130 para producir, catalizar y / o mejorar la producción de la señal. Por ejemplo, la molécula indicadora 130 puede ser luciferasa y el recipiente 120 se puede configurar para contener un reactivo de aldehído formulado para activar, iniciar y / o catalizar una reacción de luminiscencia que se puede detectar por medio de la producción de la señal. En algunos aspectos, el reactivo puede incluir un aldehído de 6 carbonos (hexanal), un aldehído de 13 carbonos (tridecanal) y / o un aldehído de 14 carbonos (tetradecanal), incluyendo todos los aldehídos de longitud de cadena variable de carbonos entre los mismos. En algunos aspectos, el recipiente 120 se puede configurar para mantener el reactivo adicional en aislamiento de fluidos con respecto a la muestra S antes de que se coloque en la muestra S. De esta manera, se puede controlar la sincronización de la distribución del reactivo adicional en la muestra S. En algunos aspectos, el sistema 100 puede incluir un mecanismo para adicionar el reactivo adicional en cualquier momento adecuado y / o de cualquiera manera adecuada para inducir la señal detectable. Por ejemplo, tal como se describe en más detalle en el presente documento, en algunos aspectos, el sistema 100 y / o el recipiente 120 pueden incluir un mecanismo para transportar un reactivo adicional a

la muestra S a una velocidad previamente determinada (o velocidad de flujo) para promover el nivel deseado de mezclado.

El instrumento 140 puede ser cualquier instrumento apropiado para detectar la molécula indicadora 130 y / o una reacción catalizada por la molécula indicadora 130. Por ejemplo, el instrumento 140 puede incluir unos medios de detección ópticos (por ejemplo, tubos fotomultiplicadores, fluorómetros, espectrómetros, detección colorimétrica en un ensayo de flujo lateral, detección a base de formación de imágenes, CCD, detectores de luminiscencia para detectar bioluminiscencia, microarreglos colorimétricos o fluorométricos) y / o eléctricos (por ejemplo, sensores electroquímicos, amperométricos, potenciométricos, conductométricos, impedométricos, y / o cualquier otro sensor electroquímico).

En algunos aspectos, el sistema 100 y / o los métodos asociados con el mismo se pueden configurar para ser una prueba rápida que no requiere amplificación alguna de las células diana. Usando el sistema 100 y los métodos que se describen en el presente documento, se pueden necesitar un tiempo sustancialmente pequeño, por ejemplo, de 1 hora, de 2 horas, de 3 horas o de 4 horas, de hasta 18 horas para que la célula diana que contiene la secuencia de ácido nucleico de la partícula de transducción 110 produzca una cantidad suficiente de moléculas indicadoras 130 que se pueden detectar. En algunos aspectos, el sistema 100 se puede configurar para ser un sistema cerrado después de la recolección de la muestra S y / o la adición de la partícula de transducción 110. Dicho de otro modo, en algunos aspectos, el recipiente se mantiene en aislamiento de fluidos del entorno externo después de la adición de la muestra S. Esto puede reducir, por ejemplo, las probabilidades de contaminación. Tal como se ha descrito en lo que antecede, debido a que el sistema 100 puede dar cabida a la muestra natural, el sistema 100 y los métodos asociados con el mismo no requieren etapa alguna de lavado ni de transferencia de fluido lejos de la muestra S. El sistema 100 por lo tanto puede ser fácil de operar, ser rápido, barato y fácil de automatizar. En algunos aspectos, el sistema 100 puede ser un sistema de plataforma que se puede configurar para operar en varios regímenes, por ejemplo, indicador de células viables, indicador génico, medición de resistencia bacteriana y / o susceptibilidad a antibióticos, y / o detección de toxinas bacterianas, etc. Se describen adicionalmente algunos ejemplos adicionales de los componentes y métodos asociados con y / o complementarios al sistema 100.

Las figuras 2 y 3 son unas ilustraciones esquemáticas de un sistema 1000 de acuerdo con un aspecto. El sistema 1000 se configura para que se acople comunicativamente con cualquier sistema de información de laboratorio (LIS, *laboratory information system*) 1900 adecuado, e incluye un instrumento 1100 que se configura para manipular y / o recibir un recipiente 1700. El sistema 1000 se puede usar para identificar células diana en un entorno clínico de acuerdo con cualquier método adecuado, tal como cualquiera de los métodos que se describen en el presente documento.

El recipiente 1700 puede ser cualquier recipiente adecuado que se pueda manipular y / o accionar por medio del instrumento 1100 o cualquier otro instrumento que se describe en el presente documento. El recipiente 1700 define un volumen interno dentro del cual se puede colocar una muestra S tal como se muestra por medio de la flecha AA. En algunos aspectos, el recipiente 1700 puede incluir una solución 1702 colocada en el volumen interno del recipiente 1700 para interactuar con la muestra S. La solución 1702 se puede colocar previamente en el volumen interno definido por el recipiente 1700 o adicionado después de que la muestra S se transporte al recipiente 1700. La solución 1702 puede incluir, por ejemplo, un nutriente bacteriano y / o un medio de crecimiento (por ejemplo, un medio indefinido, un medio definido, un medio diferencial, un medio mínimo, un medio selectivo, etc.) para permitir que las bacterias crezcan y se multipliquen, un amortiguador para mantener el pH (por ejemplo, Amies, PBS, HEPES, TRIS, TAPSO, Bicine, MES, MOPS, Tricine, PIPES, SSC, ácido succínico, etc.) y / o un agente tensoactivo (por ejemplo, Tween 20, Tween 80, Triton X, X-114, CHAPS, DOC, NP-40 CTAB, SDS, etc.) En algunos aspectos, la solución 1702 también puede incluir antibióticos (por ejemplo, ceftioxina, oxacilina, cefotetano, amoxicilina, penicilina, eritromicina, azitromicina, cefalosporinas, carbapenemas, aminoglicósidos, sulfonamidas, quinolonas, oxazolidinonas, etc.) La inclusión de antibióticos puede aniquilar o impedir de otro modo la expresión y / o generación de una señal de la molécula indicadora de todas las bacterias susceptibles a fármacos, por ejemplo, en un ensayo de viabilidad y / o susceptibilidad de células bacterianas de los tipos que se muestran y se describen en el presente documento.

En algunos aspectos, la solución 1702 se puede adaptar para mejorar el crecimiento, acortar la fase de retraso, para sostener y / o atacar una célula diana particular, por ejemplo, una bacteria. En algunos aspectos, se pueden emplear versiones específicas de la solución 1702 para células diana y / o muestras específicas. Por ejemplo, una primera preparación de la solución 1702 se puede adaptar para muestras de hisopo nasal que contienen MRSA, una segunda preparación de la solución 1702 se puede adaptar para muestras de orina que contienen E. coli, una tercera preparación de la solución 1702 se puede adaptar para muestras de heces que contienen C. difficile, y similares.

El recipiente 1700 se puede configurar para recibir un primer reactivo 1710 que contiene una partícula de transducción y / o un vector viral manipulado por ingeniería tal como se muestra por medio de la flecha BB (la figura 2). En algunos aspectos, el recipiente 1700 puede recibir adicionalmente cualquier otro reactivo en conexión con la implementación de cualquiera de los métodos que se describen en el presente documento. En algunos aspectos, la partícula de transducción 1710, y / o cualquier otro reactivo se puede colocar previamente en el recipiente 1700, de

tal modo que, por ejemplo, el vector 1710 o cualquier otro reactivo no necesite ser adicionado de manera separada al recipiente 1700 después de que se coloca en el mismo la muestra S. Por ejemplo, en algunos aspectos, la partícula de transducción 1710 se puede colocar en una tapa o porción separada (que no se muestra) del recipiente 1700 de tal modo que las soluciones respectivas (por ejemplo, la solución 1702, la muestra S y la partícula de transducción 1710) puedan permanecer aisladas una de otra durante el envío, el manejo inicial o similares. El recipiente 1700 se puede configurar adicionalmente para transportar las soluciones respectivas al volumen interior del recipiente 1700 en un momento adecuado. Por ejemplo, en algunos aspectos, la tapa puede tener porciones frágiles que se pueden ser rotas por el instrumento 1100 y/o el usuario en un momento deseado. Por ejemplo, las porciones frágiles se pueden romper usando émbolos, aplastamiento manual o cualquier otro mecanismo adecuado. En algunos aspectos, el recipiente 1700 puede ser un recipiente de múltiples porciones de tal modo que, por ejemplo, el recipiente 1700 puede tener porciones frágiles, conteniendo cada porción un fluido separado. El recipiente 1700 se puede configurar de tal modo que los fluidos se pueden colocar previamente en el recipiente 1700 y empujarse para mezclar en momentos específicos, el recipiente 1700 no contiene ruta de transferencia de fluido, mecanismo de transferencia de fluido (por ejemplo, transferencia electroforética, transferencia electrocinética, bomba, etc.), válvulas y/o esquema complejo de transporte de fluido alguno.

El recipiente 1700 puede ser cualquier recipiente adecuado para contener la muestra S de una manera que permite la supervisión, la identificación y/o la detección de una célula diana, por ejemplo, bacterias, dentro de la muestra S. En algunos aspectos, al menos una porción del recipiente 1700 puede ser sustancialmente transparente, por ejemplo, permitir la visión y/o la supervisión óptica de los contenidos, contenidos en el mismo. El recipiente 1700 puede ser de cualquier tamaño o forma adecuada, por ejemplo, cuadrado o cilíndrico, rectangular, elíptico, cónico, etc. El recipiente 1700 se puede construir de cualquier material adecuado, por ejemplo, vidrio, plástico, acrílico, etc. En algunos aspectos, el recipiente 1700 puede ser un recipiente disponible en el mercado, por ejemplo, un tubo de centrifuga, un tubo eppendorf®, un frasco de vidrio, un frasco/tubo de fondo plano, un frasco/tubo de fondo redondo o cualquier otro recipiente adecuado. En algunos aspectos, el recipiente 1700 también puede incluir componentes adicionales, por ejemplo, hisopos para recolectar muestras de los pacientes, una tapa para proteger el recipiente 1700 de la atmósfera y/o que contiene reactivos de ensayo, etiquetas para identificación, códigos de barra, etiquetas de RFID, etc.

Las muestra S y cualquier otra muestra que se describe en el presente documento puede ser cualquier muestra S adecuada que pueda contener de manera potencial la célula diana, por ejemplo, bacterias. Por ejemplo, la muestra S puede ser una muestra de humano (por ejemplo, un hisopo nasal, un hisopo mucoso, una muestra de saliva, una muestra de sangre, una muestra de orina, una muestra fecal, una biopsia de tejido, médula ósea y/o fluido cerebroespinal), una muestra veterinaria, una muestra de alimento, una muestra vegetal y/o una muestra ambiental. En algunos aspectos, la muestra S puede ser una muestra natural y sustancialmente no procesada. En estos aspectos, el sistema 1000 (incluyendo el recipiente 1700 y/o el instrumento 1100) se configura de tal modo que no se requiere modificación alguna a la muestra para ejecutar los métodos asociados, que se describen en conexión con el sistema 1000. No obstante, en otros aspectos, la muestra S puede experimentar un procesamiento menor, por ejemplo, una filtración, una sedimentación o cualquier otro proceso requerido para producir una muestra adecuada. Este procesamiento se puede llevar a cabo por medio de cualquier mecanismo adecuado del instrumento 1100.

La partícula de transducción y/o el vector viral 1710 manipulado por ingeniería y cualquiera de las partículas de transducción y/o vectores que se describen en el presente documento, pueden ser cualquier partícula adecuada de transducción que pueda identificar de manera específica y unirse a una célula diana, y llevar a cabo las funciones que se describen en el presente documento. En algunos aspectos, la partícula de transducción 1710 se puede derivar de un bacteriófago. Los ejemplos de partículas de transducción 1710 adecuadas pueden incluir vectores biológicamente derivados de, por ejemplo, T2, T4, T7, T12, R17, M13, MS2, G4, p1, fago P4 de enterobacteria, Phi X 174, N4, fago de pseudomonas, fago lambda, y/o cualquier otro vector. En algunos aspectos, la partícula de transducción 1710 incluye ADN modificado del fago a partir del cual se deriva el vector 1710. En algunos aspectos, la partícula de transducción 1710 biológicamente derivada no incluye ADN alguno asociado con el fago a partir del cual se derivó la misma. Dicho de otro modo, la partícula de transducción 1710, por ejemplo, un vector, está desprovista de un ADN de tipo silvestre capaz de mostrar unas funciones virales de tipo silvestre asociadas con un virus a partir del cual se deriva la partícula de transducción 1710. En algunos aspectos, la carencia de cualquier ADN de fago elimina la capacidad de la partícula de transducción 1710 para reproducirse, replicarse o propagarse. Dicho de otro modo, después de infectar la bacteria, ni el ciclo lítico ni el ciclo lisogénico de la partícula de transducción 1710 y/o la bacteria diana pueden provocar que la partícula de transducción 1710 se multiplique o amplifique. Expuesto de forma similar, en algunos aspectos, la partícula de transducción y/o el vector viral 1710 manipulado por ingeniería no es replicativo, es decir, no puede experimentar una replicación lítica o lisogénica.

En algunos aspectos, la partícula de transducción y/o el vector viral 1710 manipulado por ingeniería se puede formular, seleccionar y/o manipular por ingeniería para incluir y/o transportar una molécula manipulada por ingeniería, por ejemplo, ADN recombinante, ARN, secuencia de ácido nucleico, nucleótido, plásmido, ribosima, aptámero y/o proteína. En algunos aspectos, la partícula de transducción 1710 se puede configurar para identificar y detectar de manera específica la presencia de una bacteria diana viable, por ejemplo, Escherichia, Mycobacterium, Staphylococcus, Listeria, Clostridium, Enterococcus, Streptococcus, Helicobacter, Rickettsia, Haemophilus,

Xenorhabdus, Acinetobacter, Bordetella, Pseudomonas, Aeromonas, Actinobacillus, Pasteurella, Vibrio, Legionella, Bacillus, Calothrix, Methanococcus, Stenotrophomonas, Chlamydia, Neisseria, Salmonella, Shigella, Campylobacter y Yersinia. En algunos aspectos, la partícula de transducción 1710 se puede configurar para identificar de manera específica un genotipo bacteriano que incluye dianas genéticas específicas y otras dianas moleculares indicativas del genotipo y / o fenotipo de la bacteria, por ejemplo, Staphylococcus aureus resistente a meticilina (MRSA), E. coli, Salmonella, C. difficile, Enterococco resistentes a vancomicina (VRE, *vancomycin resistant Enterococci*), o cualquier otra bacteria. En el presente aspecto, el plásmido puede incluir una molécula de ácido nucleico que es homóloga para una secuencia génica específica asociada con el ADN de la bacteria diana. Por ejemplo, la partícula de transducción 1710 se puede manipular por ingeniería y / o configurar para incluir un plásmido que incorpora secuencias de ácido nucleico homólogas al gen mecA hallado en MRSA, por ejemplo, en un ensayo para la detección de MRSA (tal como se ha descrito en lo que antecede).

La partícula de transducción 1710 se puede configurar adicionalmente para contener genes y / o una molécula de ácido nucleico para expresar una molécula indicadora detectable 1730. La molécula indicadora 1730 puede ser cualquiera de una luciferasa bacteriana, una luciferasa eucariótica, una proteína fluorescente, una enzima adecuada para la detección colorimétrica, una proteína adecuada para la inmunodetección, un péptido adecuado para la inmunodetección o un ácido nucleico que funciona como un aptámero que muestra una actividad enzimática. En algunos aspectos, se puede reaccionar un reactivo (o un sustrato, que no se muestra en las figuras 2 y 3) a la solución 1702 para impulsar a la molécula indicadora 1730 a producir una señal detectable. Por ejemplo, en algunos aspectos, se puede adicionar tridecanal para permitir que la luciferasa catalice una reacción de luminiscencia que se puede detectar. En algunos aspectos, se pueden usar dos o más partículas de transducción 1710 específicas hacia dos células diana separadas conjuntamente en el mismo reactivo, por ejemplo, para detectar de manera simultánea múltiples bacterias.

El instrumento 1100 incluye el detector 1200, y se configura para recibir, manipular y / o manejar el recipiente 1700 para transportar, mezclar y / o adicionar la muestra S, la solución 1702 y / o las partículas de transducción 1710, y para detectar y / o identificar un constituyente dentro de la muestra S. En particular, el instrumento 1100 puede incluir cualquier sistema / mecanismo adecuado (que no se muestran en las figuras 2 y 3) para manejar / manipular el recipiente 1700. Por ejemplo, el instrumento 1100 puede incluir receptáculos, soportes, tenazas, mordazas, sujetadores o cualquier otro mecanismo adecuado para recibir de manera amovible el recipiente 1700. En algunos aspectos, el instrumento 1100 puede incluir mecanismos para manipular y / o cambiar la configuración del recipiente 1700. Por ejemplo el instrumento 1100 puede incluir émbolos, bandas transportadoras, motores de velocidad gradual (por ejemplo, para mover y colocar el recipiente 1700 en el plano X / Y / Z), rodillos, agitadores, abrazaderas, tablas móviles X / Y, codificadores o cualquier otra instrumentación para colocar o manipular el recipiente 1700 o una combinación de esto. Por ejemplo, el recipiente 1700 se puede colocar en un receptáculo que está incluido en el instrumento 1100 que puede transportar el recipiente 1700 mediante una banda transportadora a una ubicación en el instrumento 1100 (véase, por ejemplo, la figura 3) en donde el detector 1200 se puede interconectar con el recipiente 1700 y detectar la señal producida por la molécula indicadora 1730 que indica la presencia de la célula diana (por ejemplo, bacteria). En algunos aspectos, el instrumento 1100 puede incluir un sujetador y un mecanismo accionador, configurado de tal modo que el sujetador impide y / o limita el movimiento del recipiente 1700 cuando se está detectando la señal por el detector 1200. Por lo tanto, el instrumento 1100 puede reducir al mínimo el ruido de señal al retener y mantener el recipiente 1700 a una distancia previamente determinada del detector 1200. Además, este mecanismo puede asegurar que la posición del recipiente 1700 se mantenga cuando el accionador acciona el recipiente 1700, por ejemplo, para transportar fluido de una porción del recipiente 1700 a otra.

En algunos aspectos, el recipiente 1700 y / o el instrumento 1100 también pueden incluir mecanismo de sello a la luz, por ejemplo, obturadores para sellar a la luz el recipiente 1700. Por lo tanto, el instrumento puede limitar y / o impedir que la luz ambiente interfiera con la señal producida por el indicador 1730. Estos sistemas también pueden limitar impedir cualquier movimiento indeseado del recipiente 1700 durante la detección de la señal. En algunos aspectos, el recipiente 1700 y el instrumento 1100 se configuran de tal modo que el proceso completo que incluye la carga del recipiente 1700, el manejo / manipulación del recipiente 1700 por el instrumento 1100 y la detección de la señal por el detecto 1200 se produzca en un proceso cerrado. Dicho de otro modo, la detección de bacterias en el recipiente 1700 por el instrumento 1100 se puede llevar a cabo sin abrir el recipiente 1700, no se requieren manejadores de fluido ni ningún reactivo en el instrumento, y no se requiere manipulación alguna de la muestra.

A pesar de que solo se muestra en la figura 2 y la figura 3 un recipiente 1700, en otros aspectos el instrumento 1100 se puede configurar para recibir una serie de recipientes 1700. Por ejemplo, el instrumento 1100 puede incluir un soporte o depósito de recipiente, dentro del cual un usuario puede colocar de manera amovible múltiples recipientes 1700 que pueden contener múltiples muestras S para análisis. En algunos aspectos, los recipientes 1700 se pueden cargar en el instrumento 1100 en un proceso de lotes. En otros aspectos, los recipientes 1700 se pueden distribuir al instrumento 1100 en un proceso de "flujo de paso". Por ejemplo, el recipiente 1700 se puede colocar en una banda transportadora que puede distribuir una pluralidad de recipientes 1700 de forma secuencial al lector del instrumento 1100. En algunos aspectos, el instrumento 1100 se puede automatizar y se configura para el análisis "completamente automatizado". Por ejemplo, el usuario puede cargar una pluralidad de recipientes 1700 para

análisis, en el instrumento 1100 y marcharse. El instrumento 1100 puede llevar a cabo de forma automática la manipulación y detección de los recipientes 1700 en todos los recipientes 1700.

5 El detector 1200 puede ser cualquier detector adecuado que pueda detectar la señal producida por la molécula indicadora 1730. Por ejemplo, el detector 1200 puede ser un detector óptico tal como, por ejemplo, un detector de fluorescencia (por ejemplo, para detectar una molécula indicadora fluorescente, tal como GFP, etc.), un detector de luminiscencia (por ejemplo, para detectar la bioluminiscencia producida por una molécula indicadora tal como luciferasa), un detector de color (por ejemplo, para detectar un precipitante coloreado producido por una enzima indicadora tal como HRP), un espectrómetro y / o un dispositivo de captura de imágenes. En algunos aspectos, el
10 detector 1200 puede incluir además una fuente de luz asociada con el mecanismo para la detección. A pesar de que se describe como que se basa principalmente en detección óptica, en algunos aspectos, el detector 1200 puede ser un detector electroquímico. Por ejemplo, el detector 1200 puede incluir un detector amperométrico, un detector potenciométrico, un detector conductométrico y / o impedométrico, configurado para detectar una corriente, voltaje o conductancia, cambio de resistencia / impedancia producido por las moléculas indicadoras 1730. En algunos
15 aspectos que emplean la detección electroquímica, el detector 1200 se puede configurar para entrar en contacto físico con la solución de muestra 1706 (la figura 3) que contiene la muestra S, la solución 1702, la partícula de transducción 1710, la molécula indicadora 1730, y / o cualquier otro sustrato que pueda ser necesario para inducir una señal de la molécula indicadora.

20 En algunos aspectos, el detector 1200 puede usar otros métodos de detección, por ejemplo, onda acústica superficial, resonancia de plasmón superficial, espectroscopia Raman, sensores magnéticos, y / o cualquier otro método adecuado de detección conocido en la técnica. En algunos aspectos, el detector 1200 solo puede proporcionar una respuesta cualitativa, por ejemplo, una respuesta de SI / NO en la presencia de la célula diana. No obstante, en otros aspectos, el detector 1200 puede cuantificar la célula diana, por ejemplo, determinar la cfu / ml de
25 las bacterias diana en la muestra S de acuerdo con cualquiera de los métodos que se describen en el presente documento. En algunos aspectos, el detector 1200 puede incluir un sistema de lectura de extremo, por ejemplo, para permitir la colocación flexible de una etiqueta en el recipiente 1700. En algunos aspectos, el sistema de lectura de extremo incluye el contacto directo de un extremo transparente en el recipiente 1700 con el detector, por ejemplo, para reducir al mínimo la interferencia de la señal de fondo y / o instrumentos ópticos. En algunos aspectos, el
30 detector 1200 está desprovisto de una fuente de luz incidente, dicho de otro modo, no se necesita luz externa para la detección de la señal de las moléculas indicadoras 1730 producidas por la célula diana colocada en el recipiente 1700.

35 En algunos aspectos, los sistemas 100, 1000, o cualquier otro sistema que se describe en el presente documento se pueden usar para identificar y / o detectar una célula diana, tal como una bacteria. En particular, en algunos aspectos, el sistema 1000 se puede usar en conexión con una partícula de transducción deficiente en replicación para identificar y / o detectar una célula diana. Al emplear una partícula de transducción deficiente en replicación, se reduce al mínimo y / o se elimina la pluralidad de un falso negativo (por ejemplo, provocado por destrucción celular del ciclo lítico), produciendo de este modo un resultado que es adecuado en un escenario clínico. Estos métodos se
40 pueden usar, por ejemplo, como una herramienta de examen en hospitales. En particular, la figura 4 es un diagrama de flujo de un método 150 de acuerdo con un aspecto.

45 Tal como se muestra en la figura 4, el método 150 incluye mezclar con una muestra una sustancia que incluye partículas de transducción asociadas con una célula diana, 152. Expuesto de forma similar, las partículas de transducción se formulan para unirse a y distribuir una molécula de ácido nucleico en la célula diana. Las partículas de transducción se manipulan por ingeniería para incluir una molécula de ácido nucleico formulada para que la célula diana produzca una serie de moléculas indicadoras. La serie de partículas de transducción no son replicativas. Expuesto de forma similar, las partículas de transducción se pueden formular y / o manipular por ingeniería para ser incapaces de replicación lisogénica o lítica. Por lo tanto, las células diana se mantendrán (es decir, no se distribuirán, ni aniquilarán ni se lisarán) durante la producción de las moléculas indicadoras. De esta
50 maneja, el método 150 reduce y / o elimina la probabilidad de un falso negativo, que puede resultar cuando las células diana se lisan impidiendo y / o reduciendo de este modo la producción de las moléculas indicadoras.

55 Las partículas de transducción pueden ser cualquiera de las partículas de transducción adecuadas de los tipos que se muestran y se describen en el presente documento. Por ejemplo, en algunos aspectos, las partículas de transducción pueden ser un vector viral manipulado por ingeniería desprovisto de un ADN de tipo silvestre capaz de mostrar unas funciones virales de tipo silvestre asociadas con un virus a partir del cual se deriva el vector viral. En algunos aspectos, las partículas de transducción se pueden manipular por ingeniería para que se deriven de un bacteriófago. Por ejemplo, en algunos aspectos, las partículas de transducción se pueden desarrollar al encapsular
60 ácido nucleico en los componentes estructurales de un virus y / o bacteriófago en donde el ácido nucleico encapsulado está desprovisto de mostrar unas funciones de bacteriófago y / o virales nativas que permitan que el virus y / o bacteriófagos se replique si la replicación es mediante una ruta lítica o lisogénica.

65 En un aspecto, se puede desarrollar un sistema de encapsulado de plásmido en el cual el gen de terminasa pequeña que contiene el sitio pac de un bacteriófago tipo pac se suprime y entonces se complementa mediante un plásmido. Cuando se induce el ciclo lítico del profago lisogenizado, el sistema de encapsulado del bacteriófago

encapsula el ADN de plásmido en los componentes estructurales del bacteriófago de progenie en lugar de encapsular el ADN del bacteriófago nativo. El sistema de encapsulado produce de esta manera partículas de transducción no replicativas que tienen ADN de plásmido.

5 En otro aspecto, los sistemas de encapsulado de islas genómicas (GI, *genomic island*) se pueden aprovechar de tal modo que se encapsulen secuencias exógenas de ácido nucleico mediante el bacteriófago. Esto se puede lograr al incorporar estas secuencias exógenas de ácidos nucleicos en las GI. Los sistemas naturales de encapsulado de GI dan como resultado tanto partículas de transducción que contienen GI no replicativas como el fago replicativo nativo, con el fin de eliminar de esta manera el fago nativo de este proceso, se suprime el gen de terminasa pequeña del profago. La secuencia del gen de terminasa pequeña contiene la secuencia del sitio pac del fago nativo y de esta manera su supresión tiene el efecto de impedir el encapsulado del ADN del fago nativo. Si al mismo tiempo una GI que se va a encapsular incluye su propio sitio pac y un gen de terminasa pequeña que expresa una proteína adecuada de terminasa pequeña, entonces solo el ADN de la GI será tratable para su encapsulado en este sistema. Al incorporar un ADN exógeno en este sistema, se pueden producir partículas de transducción no replicativas que incorporen ADN de la GI y ADN exógeno.

En algunos aspectos, las partículas de transducción se pueden seleccionar, manipular por ingeniería y / o formular para unirse de manera específica a, y transferir la molécula de ácido nucleico que está contenida en la misma en las células viables. Por ejemplo, las partículas de transducción se pueden seleccionar, manipular por ingeniería y / o producir para unirse a y distribuir una molécula de ácido nucleico en cualquier bacteria, por ejemplo, *Escherichia*, *Mycobacterium*, *Staphylococcus*, *Listeria*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Helicobacter*, *Rickettsia*, *Haemophilus*, *Xenorhabdus*, *Acinetobacter*, *Bordetella*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Actinobacillus*, *Pasteurella*, *Vibrio*, *Legionella*, *Bacillus*, *Calothrix*, *Methanococcus*, *Stenotrophomonas*, *Chlamydia*, *Neisseria*, *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter* y *Yersinia*.

La muestra y la serie de partículas de transducción se mantienen de tal modo que la serie de las moléculas indicadoras se produce cuando la muestra incluye la célula diana, 154. Expuesto de forma similar, la muestra y la serie de partículas de transducción se mantienen para expresar la pluralidad de moléculas indicadoras cuando la célula diana está presente en la muestra. Por lo tanto, la producción de las moléculas indicadoras, y la detección de las mismas, indica que la célula diana está presente en la muestra. De manera más particular, las partículas de transducción no producen las moléculas indicadoras de manera autónoma y / o no incluyen la molécula indicadora. En su lugar, las partículas de transducción se manipulan por ingeniería, configuran y / o formulan para comunicar la molécula de ácido nucleico que está contenida en la misma (es decir, un plásmido manipulado por ingeniería) en la célula diana. Al ser distribuidas en la célula diana, las moléculas indicadoras se producen usando las funciones naturales de transcripción y traducción de la célula diana y mediante la expresión de un gen indicador que está enlazado de manera operativa a un promotor que se incluye en la molécula de ácido nucleico. Por lo tanto, el método 150 emplea un indicador "conmutable", lo que significa que no está presente cantidad alguna de las moléculas indicadoras en la muestra hasta que las condiciones (por ejemplo, la presencia de la célula diana) son tales que se producen las moléculas indicadoras. De manera notable, debido a que el método 150 emplea una molécula indicadora "conmutable", no son necesarios el lavado y / o retirada de las partículas de transducción y / u otros constituyentes dentro de la muestra. La molécula indicadora puede ser cualquiera de una luciferasa bacteriana, una luciferasa eucariótica, una proteína fluorescente, una enzima adecuada para la detección colorimétrica, una proteína adecuada para la inmunodetección, un péptido adecuado para la inmunodetección o un ácido nucleico que funciona como un aptámero o que muestra una actividad enzimática.

En algunos aspectos, el método 150 se puede usar como un ensayo de indicador de células viables. Cuando el método 150 se usa como un ensayo de indicador de células viables, en algunos aspectos, se pueden adicionar antibióticos (por ejemplo, cefoxitina) y / o mezclar con la muestra para aniquilar y / o eliminar todas las células diana (por ejemplo, en una bacteria) susceptibles al fármaco, permitiendo de este modo que el método 150 se use para identificar un fenotipo particular resistente al fármaco de la célula diana (por ejemplo, *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA), *Salmonella Enterococcus* resistentes a vancomicina (VRE, *vancomycin resistant Enterococci*)) dentro de la muestra.

Por ejemplo, en algunos aspectos, se puede desarrollar un ensayo de indicador de MSSA / MRSA de acuerdo con el método 150. En estos aspectos, una partícula de transducción no replicativa (por ejemplo, la partícula de transducción 110, la partícula de transducción 160 o similares) se desarrolla a partir de un bacteriófago específico de *S. aureus* y los genes luxAB de luciferasa bacteriana bajo el control de un promotor constitutivo, se incorporan. Cuando esta partícula de transducción se mezcla con la muestra (operación 152) introduciendo de esta manera el sistema indicador en *S. aureus*, el promotor constitutivo puede expresar un luxAB adecuado para indicar la presencia de un *S. aureus* viable, tal como se analiza en lo sucesivo con referencia a las operaciones 154 y 158. Si, además, también se adiciona el antibiótico cefoxitina antes de o de forma simultánea con el mezclado de las partículas de transducción con células de *S. aureus*, si las células no contienen o expresan el gen mecA, no se expresará luxAB en el ensayo, indicado de este modo que las células son MSSA. Si, no obstante, las células contienen y expresan el gen mecA, se expresará luxAB en el ensayo, indicando de esta manera que las células son MRSA.

En otros aspectos, la molécula de ácido nucleico se puede formular para hacer que la célula diana produzca la serie de moléculas indicadoras solo cuando la célula diana incluye un gen diana particular (por ejemplo, un gen resistente a fármaco, un gen de susceptibilidad a fármaco, una toxina o un gen específico de especie). Por ejemplo, en algunos aspectos, el método 150 se puede llevar a cabo en conexión con una partícula de transducción y/o sistema indicador en el cual un gen indicador sin promotor se coloca en la dirección 3' de una secuencia de ácido nucleico que es homóloga a una secuencia de gen diana y esta construcción indicadora se incorpora en una partícula de transducción no replicativa. Cuando la partícula de transducción introduce la construcción indicadora en una célula diana, el gen indicador no se expresará a menos que la célula diana contenga el gen diana y un evento de recombinación homóloga el gen indicador dentro del locus del gen diana en la célula diana de tal modo que el gen indicador se llegue a enlazar de manera operativa al promotor del gen diana dentro de la célula diana permitiendo la expresión de los genes indicadores accionados o impulsados por el promotor del gen diana.

En el presente aspecto, se puede desarrollar un sistema indicador de MRSA al incorporar en una partícula de transducción no replicativa específica de *S. aureus* (por ejemplo, la partícula de transducción 110, la partícula de transducción 160 o similares) una construcción indicadora que consiste de una secuencia de ácido nucleico que es homóloga al gen *mecA* en la dirección 5' de los genes *luxAB* de luciferasa bacteriana sin promotor. Cuando la partícula de transducción introduce la construcción indicadora en una célula diana de *S. aureus*, el gen indicador no se expresará al menos que la célula diana contenga el gen *mecA* diana y un evento de recombinación homóloga integre los genes *luxAB* dentro de los locus del gen *mecA* en la célula diana de tal modo que el gen indicador se llegue a enlazar de forma operativa al promotor del gen *mecA* dentro de la célula diana permitiendo la expresión de *luxAB* accionado por el promotor del gen *mecA*.

La muestra con las partículas de transducción mezcladas en la misma se puede mantener a cualquier temperatura adecuada y durante cualquier tiempo adecuado para promover la producción de las moléculas indicadoras y/o crecimiento de las células diana dentro de la muestra. Por ejemplo, en algunos aspectos, la muestra y las partículas de transducción se mantienen a una temperatura mayor de o igual a temperatura ambiente, 25 grados Celsius, o 37 grados Celsius, y durante un periodo previamente definido de tiempo de menos de 2 horas, 2 horas, 3 horas, 4 horas, 6, horas, hasta 18 horas o aún más, incluyendo cualquiera de los intervalos entre esto. Por lo tanto, el mantenimiento de la muestra a la temperatura previamente definida durante el periodo previamente definido de tiempo es suficiente para generar una cantidad de la serie de moléculas indicadoras suficiente para producir una señal mensurable. En algunos aspectos, la necesidad de mantenimiento solo será suficiente para promover la producción de las moléculas indicadoras en las células diana inicialmente presentes en la muestra. Dicho de otro modo, en algunos aspectos, las condiciones bajo las cuales se mantiene la muestra (por ejemplo, la temperatura y/o duración) antes de la operación de detección no necesita ser suficientes para promover la replicación repetible de la célula diana.

En algunos aspectos, el método incluye de manera opcional colocar una segunda sustancia en la muestra, 156. La segunda sustancia se puede formular para reaccionar con la serie de moléculas indicadoras para catalizar, mejorar la producción de y/o producir una señal mensurable, tal como, por ejemplo, una señal de luminiscencia, una señal de fluorescencia, una señal a base de color, una señal química o una señal electroquímica. Por ejemplo, en algunos aspectos, la molécula de ácido nucleico puede incluir las secuencias de *luxA* / *luxB* de tal modo que la molécula indicadora producida pueda ser luciferasa. En estos aspectos, la segunda sustancia (o reactivo) puede ser un reactivo de aldehído (por ejemplo, tridecanal). El tridecanal impulsa a la luciferasa a producir luminiscencia que se puede medir. En algunos aspectos, el reactivo puede incluir un aldehído de 6 carbonos (hexanal), un aldehído de 13 carbonos (tridecanal) y/o un aldehído de 14 carbonos (tetradecanal), incluyendo todos los aldehídos de longitud de cadena variable de carbonos entre los mismos. En algunos aspectos, la formulación de reactivo también puede incluir un medio de mantenimiento y/o amortiguador, tal como caldo TSB, amortiguador de citrato, etc., un agente tensoactivo, por ejemplo, Tween 20, y se ajuste a un pH previamente determinado, por ejemplo, pH 3.

La identificación de la célula diana se lleva a cabo al recibir una señal asociada con una cantidad de la serie de las moléculas indicadoras, 158. La señal se puede medir usando cualquier detector adecuado tal como se describe en el presente documento, (por ejemplo, el detector 1200 el instrumento 1100 que se ha descrito en lo que antecede, el detector 11200 el instrumento 11000 que se describe en lo sucesivo, o similares). En algunos aspectos, la magnitud de la señal es independiente de la cantidad de partículas de transducción mezclada con la muestra. De manera más particular, debido a que las partículas de transducción no están "marcadas" con la molécula indicadora (es decir, no incluyen la molécula indicadora), la fuerza de la señal es dependiente de la cantidad inicial de los indicadores de transducción, pero más bien la producción de las moléculas indicadoras por la célula diana. Por lo tanto, la señal es independiente de la cantidad de partícula de transducción (cuando la cantidad está por arriba de alguna cantidad de *minus* o umbral inferior).

Cualquiera de las etapas del método 150 se puede llevar a cabo usando cualquiera de los recipientes y/o instrumentos que se describen en el presente documento. Por ejemplo, el método 150 se puede llevar a cabo usando los recipientes 1700, 2700, 3700, 4700, etc., y el instrumento 1100, 11000 o similares. Por ejemplo, en algunos aspectos, la muestra se puede colocar dentro de una porción de un recipiente que está aislado con respecto a fluidos de una región fuera del recipiente. Por ejemplo, la muestra se puede colocar o mantener en una cámara de reacción (por ejemplo, la cámara e reacción 3732 o 4732 de los montajes de recipiente 3700 y 4700, de forma

respectiva) que se sella y / o cierra mediante un módulo de reactivo (por ejemplo, el módulo de reactivo 3740 o 4740). En algunos aspectos, las partículas de transducción también se pueden mantener en aislamiento de fluidos con respecto a la muestra antes del mezclado, por ejemplo, en un volumen interno del montaje de recipiente (por ejemplo, tal como el módulo de reactivo 3740 o 4740). En algunos aspectos, la mezcla incluye colocar las partículas de transducción en la muestra en tanto que se mantiene el aislamiento de fluidos entre el recipiente y una región exterior. Por lo tanto, el método se puede llevar a cabo en un sistema cerrado y / o en un ensayo homogéneo. En algunos aspectos, el reactivo también se puede mantener en aislamiento de fluidos con respecto a la muestra antes de la colocación, por ejemplo, almacenado en un volumen interno del recipiente. En algunos aspectos, el reactivo también se puede colocar en la muestra en tanto que se mantiene el aislamiento de fluidos entre el recipiente y la región exterior.

En algunos aspectos, el sistema 1000 y / o el método 150 (o cualquier otro sistema y método que se describe en el presente documento) se pueden usar para identificar y / o detectar una cepa de bacterias resistentes a fármaco. En algunos aspectos, un método de acuerdo con un aspecto puede usar la viabilidad bacteriana como el método de identificación, usando vectores virales y / o partículas de transducción asociada con una bacteria diana particular. De manera más particular, en algunos aspectos, las partículas de transducción pueden ser un vector viral biológicamente derivado, manipulado por ingeniería, seleccionado y / o formulado para llevar a cabo una función de detección. Por ejemplo, tal como se muestra en la figura 5, en algunos aspectos, una partícula de transducción 160 se puede derivar de un bacteriófago de acuerdo con cualquiera de los métodos y descripciones del presente documento. Expuesto de forma similar, la partícula de transducción 160 puede incluir las proteínas estructurales y / o envoltura de un bacteriófago. En particular, la partícula de transducción 160 se puede manipular por ingeniería para incluir una cápsida 162 de un fago manipulado por ingeniería para retener la capacidad para unirse a la bacteria diana (por ejemplo, mediante la funda 164, fibras de cola 166 y / o placa base 168). De esta manera la partícula de transducción 160 puede identificar de manera selectiva, unirse a y distribuir una molécula de ácido nucleico 170 en una bacteria diana deseada.

Tal como se muestra en la figura 5, la partícula de transducción 160 contiene una molécula de ácido nucleico 170 formulada para que la célula diana produzca una pluralidad de moléculas indicadoras. En algunos aspectos, la partícula de transducción 160 y / o la molécula de ácido nucleico 170 están desprovistas sustancialmente del ADN nativo del fago a partir del cual se deriva la partícula de transducción 160. Expuesto de forma similar, el ADN del fago del cual la partícula de transducción 160 se reemplaza por el plásmido manipulado por ingeniería o molécula de ácido nucleico 170. Dicho de otro modo, la partícula de transducción 160 está sustancialmente desprovista de un ADN de tipo silvestre capaz de mostrar unas funciones virales de tipo silvestre, tal como funciones de replicación, asociadas con un fago a partir del cual se deriva la partícula de transducción 160. Por lo tanto, en estos aspectos, la partícula de transducción 160 es "deficiente en replicación" o incapaz de reproducirse o replicarse por ningún medio (por ejemplo, por replicación lisogénica y / o lítica).

Tal como se muestra en la figura 5, la molécula de ácido nucleico 170 manipulada por ingeniería, en la partícula de transducción 160 contiene una secuencia indicadora 174 que proporciona instrucciones para que la bacteria diana exprese una molécula indicadora. Por ejemplo, la secuencia indicadora 174 puede incluir las secuencias luxA / luxB si promotor para expresar luciferasa, que no se puede expresar por la partícula de transducción 160 de manera autónoma. Más bien después de que las secuencias luxA / luxB se inserten en la bacteria diana por la partícula de transducción 160 y se acoplen de manera operativa con el ADN de la bacteria diana, la maquinaria natural de transcripción de la bacteria diana se usa para expresar la molécula indicadora, es decir, luciferasa. En otros aspectos, la secuencia indicadora 174 también puede incluir un promotor que está incluido dentro de las secuencias luxA / luxB. En estos aspectos, después de que las secuencias luxA / luxB acopladas con promotor se insertan en la bacteria diana mediante la partícula de transducción 160, las secuencias luxA / luxB acopladas con promotor pueden expresar luciferasa sin el acoplamiento con el ADN de la bacteria diana.

Tal como se describe en el presente documento, en algunos aspectos, la partícula de transducción 160 se puede manipular por ingeniería para indicar la presencia de la bacteria viable. En estos aspectos, la partícula de transducción 160 se manipula por ingeniería para identificar y / o reconocer una bacteria diana, para unirse a esta y comunicar el ácido nucleico 170 manipulado por ingeniería en la bacteria diana. Al ser transportado en la bacteria diana, el ácido nucleico 170 manipulado por ingeniería puede producir moléculas indicadoras debido a la incorporación de un promotor enlazado de forma operativa a los genes indicadores (por ejemplo, la secuencia indicadora luxA / luxB tal como se ha descrito en lo que antecede en el presente documento) dentro del ácido nucleico manipulado por ingeniería. El ácido nucleico 170 manipulado por ingeniería entonces hace que la bacteria diana produzca las moléculas indicadoras usando los sistemas naturales de transcripción y traducción de la bacteria diana. En estos aspectos el indicador de células viables, se puede lograr la especificidad adicional al eliminar todos los otros fenotipos. Por ejemplo, en algunos aspectos se puede identificar MRSA en un ensayo de viabilidad celular al aniquilar o suprimir de otro modo la generación de señales de todos los fenotipos no resistentes a fármaco dentro de la muestra al usar antibióticos.

Tal como se muestra de forma esquemática en la figura 6, la partícula de transducción 160 se puede usar para detectar la bacteria diana 180 en cualquier muestra S. En la primera operación (indicada por la ilustración esquemática 192), la partícula de transducción 160 se pone en contacto y / o mezcla con la muestra S que contiene

la célula diana 180. La partícula de transducción 160 se puede mezclar con y / o introducir en la muestra S usando cualquier método o mecanismo adecuado tal como se describe en el presente documento. La partícula de transducción 160 se selecciona, formula y / o manipula por ingeniería para identificar y unirse de manera específica a la pared celular de la bacteria diana 180, tal como se muestra por medio de la flecha A. En la operación 194, la partícula de transducción 160 comunica el ácido nucleico 170 manipulado por ingeniería contenido en la misma, en el citoplasma de la bacteria diana 180, tal como se muestra por medio de la flecha B. En algunos aspectos, cuando se lleva a cabo la indicación de células viables, el ácido nucleico 170 manipulado por ingeniería puede incluir la secuencia indicadora 174 (por ejemplo, *luxA* / *luxB*) acoplada con un promotor y configurada para provocar la producción de moléculas indicadoras en la célula diana 180, tal como se muestra en la operación 196.

La presencia de las moléculas indicadoras 130 indica que la bacteria diana 180 está presente en la muestra S. Por consiguiente, las moléculas indicadoras 130 son "conmutables" (es decir, solo se encuentran presentes bajo ciertas condiciones). Además, debido que en algunos aspectos la partícula de transducción 160 no es replicativa (es decir, es incapaz de replicación lítica o lisogénica), la bacteria diana 180 permanece viva o de otro modo no inhibida durante el ensayo. Por lo tanto, los sistemas y métodos que se describen en el presente documento se pueden usar para detectar bacterias vivas. Adicionalmente, en tanto que no se muestra en la figura 6, se puede adicionar un antibiótico (por ejemplo, cefoxitina) a la muestra S, por ejemplo, antes de adicionar la partícula de transducción 160. El antibiótico puede eliminar o inhibir de otro modo todas las bacterias no resistentes a antibióticos (por ejemplo, MSSA) de tal modo que solo permanezcan viables las cepas resistentes a antibióticos (por ejemplo, MRSA) en la muestra S. Por lo tanto, solo las bacterias resistentes a antibióticos, por ejemplo, la bacteria diana 180 son capaces de producir una señal detectable.

En algunos aspectos, la señal producida por las moléculas indicadoras 130 es independiente de la cantidad de las partículas de transducción 160 mezclada con la muestra (cuando la cantidad está por arriba de algún valor *de minimus* o cantidad previamente determinada). Esto se ilustra por las figuras 7A y 7B. La figura 7A muestra una vista esquemática de la muestra S que contiene las bacterias diana 180, y que se ha mezclado con una serie de partículas de transducción 160. Una porción de las partículas de transducción 160 se une a las células de las bacterias diana 180 en la muestra S, de tal modo que el ácido nucleico 170 manipulado por ingeniería se transporte en las células de bacterias diana 180, tal como se ha descrito en lo que antecede. El ácido nucleico 170 manipulado por ingeniería entonces puede mediar la producción de moléculas indicadoras (por ejemplo, o bien mediante los métodos de indicador de células viables o bien mediante los métodos de indicador génico). Después de un primer período de tiempo T_1 , una primera cantidad de moléculas indicadoras 130 se produce por las bacterias diana 180. Tal como se muestra en la figura 7B, después de un segundo período de tiempo T_2 mayor que el primer período de tiempo, el número de moléculas indicadoras 130 se incrementa a una segunda cantidad, mayor que la primera cantidad. Debido a que las moléculas indicadoras 130 no están marcadas por y / o contenidas dentro de las partículas de transducción 160, la cantidad de moléculas indicadoras es sustancialmente independiente de la cantidad de partículas de transducción 160 inicialmente mezcladas con la muestra S. Además, tal como se muestra en la figura 7B, las partículas de transducción 160 no son replicativas sino hay incremento en la cantidad de partículas de transducción 160 entre el primer período de tiempo T_1 y el segundo período de tiempo T_2 . Debido a que las partículas de transducción 160 son incapaces de replicación lítica, no hay disminución en la cantidad de las bacterias diana.

La figura 8 es un diagrama de flujo de un método 200 para identificar bacterias viables en muestras biológicas, de acuerdo con un aspecto. El método 200 se puede llevar a cabo usando cualquiera de los recipientes que se describen en el presente documento (por ejemplo, recipiente 1700, 2700, 3700, 4700, o similares), y cualquiera de los instrumentos (por ejemplo, instrumento 1100, 11000) y / o cualquiera de los componentes que se muestran y se describen en el presente documento. El método 200 también se puede llevar a cabo usando cualquiera de las partículas de transducción y / o vectores virales que se describen en el presente documento, tales como, por ejemplo, la partícula de transducción 160. De manera más particular, las operaciones del método 200 que se describen en lo sucesivo se pueden llevar a cabo en un recipiente, sin exponer las muestras, y / o reactivos a condiciones exteriores. Para los propósitos de la descripción, el método 200 se describe como que se lleva a cabo con el recipiente 1700 e instrumento 1100, que se ha mostrado y descrito en lo que antecede con referencia a las figuras 2 - 3.

El método 200 incluye comunicar una muestra recolectada que puede contener la bacteria diana, por ejemplo, un hisopo nasal de paciente, a un recipiente, 202. En algunos aspectos, esta operación puede ser opcional. Por ejemplo, en algunos aspectos, el recipiente se puede recibir por un usuario con la muestra previamente colocada en el mismo. El recipiente puede ser cualquier recipiente adecuado, tal como, por ejemplo, el recipiente 1700 o cualquier otro recipiente que se describe en el presente documento. El recipiente puede tener una solución colocada en una región interior del recipiente. La solución puede incluir, por ejemplo, un medio nutriente bacteriano, amortiguadores, agentes tensioactivos o cualquier otro componente para facilitar el crecimiento de la bacteria diana, la producción de moléculas indicadoras dentro de la bacteria diana, la detección de bacterias o similares. En algunos aspectos, la solución se puede adicionar después de que la muestra se transporta en el recipiente. En algunos aspectos, la solución se puede colocar previamente en el recipiente, aislar de la muestra, por ejemplo, en un compartimiento separado en el recipiente o la tapa del recipiente de tal modo que se puede comunicar a la muestra a petición y / o en un entorno de sistema cerrado.

El recipiente entonces se sella, 204, por ejemplo, con una tapa, módulo de reactivo, o similares. En algunos aspectos, el sello se puede formar por un módulo de reactivo (véase, por ejemplo, los módulos de reactivo 3740 y 4740 que se describen en lo sucesivo), que pueden incluir compartimientos, porciones frágiles, reactivos, accionadores y / o boquillas. En algunos aspectos, un antibiótico o una serie de antibióticos se adicionan de manera opcional a la muestra colocada en el recipiente, 206. Los antibióticos se pueden seleccionar y / o formular para aniquilar otras cepas bacterianas no tenidas como diana, por ejemplo, cepas no resistentes a fármacos, de tal modo que solo sobreviva la cepa resistente al fármaco. Por lo tanto, las moléculas indicadoras producidas se producen necesariamente por las restantes cepas bacterianas que se tienen como diana. En algunos aspectos, el antibiótico / serie de antibióticos se puede colocar previamente en el recipiente (por ejemplo, en la solución). En otros aspectos, el antibiótico / serie de antibióticos se puede colocar en un compartimiento separado (por ejemplo, en el cuerpo o tapa del montaje de recipiente), y se puede comunicar en la solución de muestra a petición o en un momento previamente determinado.

Un primer reactivo o sustancia que contiene las partículas de transducción se comunica en y / o mezcla con la muestra, 208. Las partículas de transducción pueden ser cualquiera de las partículas de transducción que se describen en el presente documento, tales como, por ejemplo, la partícula de transducción 160. En particular, las partículas de transducción incluyen una molécula de ácido nucleico que contiene una secuencia indicadora que proporciona instrucciones para que la bacteria diana exprese una molécula indicadora. En algunos aspectos, las partículas de transducción no se necesitan adicionar a la solución, sino que más bien se colocan previamente en la solución. En estos aspectos, las partículas de transducción se mezclan con la muestra para permitir la identificación de la bacteria diana por las partículas de transducción. En algunos aspectos, por ejemplo, las partículas de transducción se colocan en un compartimiento separado de la tapa del recipiente, y se liberan y / o mezclan con la muestra a petición o en un momento previamente determinado.

En algunos aspectos, la solución del recipiente se puede agitar de manera opcional, 210 para mezclar de manera eficiente las partículas de transducción y la solución para facilitar la interacción. Los métodos de mezclado pueden incluir, sometimiento a vórtice, agitación manual, agitación o similares, agitación automatizada (por ejemplo, mediante una mesa agitadora), o cualquier otro método adecuado de agitación. El recipiente entonces se coloca en el revestimiento o una porción de un instrumento, 212 y se mantiene durante un tiempo previamente definido y / o a una temperatura previamente determinada, 214. Estas condiciones pueden incluir, por ejemplo, mantener la muestra durante menos de 2 horas, aproximadamente 2 horas, 4 horas, 6 horas, 8 horas, hasta 18 horas, o aún más, a una temperatura, por ejemplo, menor de o igual a aproximadamente 37 grados Celsius. Las condiciones bajo las cuales se mantiene la muestra se definen para permitir que la partícula de transducción se una a la bacteria diana y comunique el ácido nucleico manipulado por ingeniería a la bacteria diana, y produzca la expresión de las moléculas indicadoras (por ejemplo, luciferasa). En el aspecto del indicador de células viables, el ácido nucleico manipulado por ingeniería se puede introducir a todas las bacterias diana a pesar de, por ejemplo, la presencia de un gen que imparte resistencia a fármacos en las bacterias. Se puede lograr, por ejemplo, especificidad adicional, al eliminar todos los otros fenotipos impartidos por los genotipos particulares, por ejemplo, al adicionar el antibiótico a la muestra como se ha descrito en lo que antecede con referencia a la operación 206, y al eliminar de este modo o impedir de este modo la generación de una señal de células que carecen de un gen de resistencia a fármaco y / o genotipo expresado de resistencia a fármaco.

En algunos aspectos, entonces se comunica un reactivo en la muestra para mejorar, catalizar y / o promover la producción de una señal de las moléculas indicadoras, 216. Por ejemplo, el reactivo puede ser un sustrato formulado para catalizar la producción de una señal de luz por las moléculas indicadoras. Estos sustratos pueden incluir un ingrediente activo, por ejemplo, tridecanal que puede interactuar con la molécula indicadora que puede producir una señal detectable, por ejemplo, luminiscencia. En algunos aspectos, el sustrato puede incluir un aldehído de 6 carbonos (hexanal), un aldehído de 13 carbonos (tridecanal) y / o un aldehído de 14 carbonos (tetradecanal), incluyendo todos los aldehídos de longitud de cadena variable de carbonos entre los mismos. En algunos aspectos, el reactivo se puede formular para incluir Tween 20 u otros agentes tensioactivos, tridecanal, u otros aldehídos, y ajustar a un pH particular. En algunos aspectos, el sustrato se puede almacenar en el recipiente, por ejemplo, en un compartimiento aislado en la tapa del recipiente, y se puede distribuir a la muestra a petición o en un momento previamente determinado.

La señal se detecta, 218, usando cualquier detector adecuado. El detector puede ser, por ejemplo, el detector 1200 colocado en el instrumento 1100 o el detector (PMT) 11200 que se muestra y que se describe en lo sucesivo. Si se detecta una señal mensurable, entonces las bacterias diana se encuentran presentes en la muestra, 220. Si no se detecta señal, entonces la muestra está libre de bacterias diana, 222.

A pesar de que el método 200 que se ha mostrado y descrito en lo que antecede se puede usar para la detección de bacterias viables y para la identificación (por ejemplo, al incluir, de forma opcional, antibióticos para eliminar cepas no tenidas como diana), en otros aspectos, los métodos pueden incluir partículas de transducción y / o vectores virales manipulados por ingeniería que pueden identificar y / o reconocer de manera selectiva una bacteria por el genotipo. Dicho de otro modo, las partículas de transducción pueden producir de manera condicional moléculas indicadoras solo después de reconocer y / o identificar una secuencia génica dentro de la bacteria diana, tal como se describe en lo sucesivo.

La partícula de transducción se puede manipular por ingeniería para encapsular y distribuir una molécula de ácido nucleico manipulado por ingeniería, tal como la molécula de ácido nucleico 170, en la bacteria diana. En algunos aspectos, la molécula de ácido nucleico se manipula por ingeniería y / o se formula para incluir una secuencia de ácido nucleico que es homóloga a un gen diana, a un gen indicador, y cualquier otro gen regulador adecuado. El gen de reconocimiento puede ser, por ejemplo, homólogo a una porción del gen de bacteria diana y configurado para sondear y reconocer la porción del gen bacteriano, y acoplarse de manera operativa por sí mismo con el gen bacteriano y dar como resultado la integración del gen indicador dentro del locus del gen diana, por ejemplo, usando recombinación homóloga. En algunos aspectos, el gen indicador puede ser un gen sin promotor y de esta manera solo se expresa si se llega a enlazar de manera operativa a un promotor de gen diana después de la inserción del gen indicador en un locus de gen diana.

En algunos aspectos, una molécula de ácido nucleico manipulado por ingeniería se puede formular y / o configurar para recombinarse de manera condicional en la presencia de un gen diana presente en y / o específico a genotipo particular de bacteria resistente a fármaco. Por ejemplo, la figura 9 es una ilustración esquemática de la formulación de una molécula de ácido nucleico manipulado por ingeniería 570 y / o plásmido específico para MRSA, de acuerdo con un aspecto. La secuencia de ácido nucleico 500 manipulada por ingeniería incluye elementos reguladores de plásmido 576 (por ejemplo, un origen de replicación, etc.) / un fragmento del gen mecA 572, un gen luxA 574a, un gen luxB 574b, y un marcador seleccionable (por ejemplo, un gen de resistencia a la tetraciclina, etc.) (que no se muestra). Los elementos reguladores de plásmido 576 pueden ser cualquier elemento regulador de plásmido tal como se conoce en la técnica. El fragmento del gen mecA 572 es homólogo a un segmento del gen mecA. Una vez dentro de la bacteria, el fragmento del gen mecA 572 puede sondear y / o identificar la secuencia mecA en el gen MRSA, y mediar la integración los genes indicadores en el locus del gen mecA mediante recombinación homóloga de una manera que enlaza de manera operativa el promotor del gen mecA a los genes luxAB. En algunos aspectos, el ácido nucleico manipulado por ingeniería 500 puede incluir cualquier otra secuencia de reconocimiento, por ejemplo, tcdB, vanA, etc., específica para cualquier secuencia de gen en cualquier otra bacteria, por ejemplo, E. coli, salmonella, C. difficile, VRE, etc. Los genes luxA 574a y luxB 574b, sirven conjuntamente como el gen indicador que se puede controlar por el ciclo natural de transcripción y traducción de la bacteria para expresar la molécula indicadora luciferasa. En algunos aspectos, se puede usar cualquier otro gen indicador, por ejemplo, un gen para expresar una enzima (por ejemplo, glucosa-oxidasa, peroxidasa de rábano) o una proteína fluorescente (por ejemplo, proteína fluorescente verde, etc.)

La figura 10 es un diagrama de flujo de un método 300 para la identificación genotípica de bacterias usando una partícula de transducción y / o un vector viral manipulado por ingeniería, por ejemplo, partícula de transducción 160 que contiene una molécula de ácido nucleico manipulado por ingeniería (por ejemplo, la molécula de ácido nucleico 570). El método 300 se puede llevar a cabo usando cualquiera de los recipientes que se describen en el presente documento, por ejemplo, el recipiente 1700, 2700, 3700, 4700 y similares, y cualquier instrumento y componentes de estos que se describen como en el presente documento, tales como, por ejemplo, los instrumentos 1100 y 11000.

El método 300 incluye adicionar una partícula de transducción a una muestra, por ejemplo, un hisopo nasal de paciente que puede contener el genotipo de bacteria diana, 302. La muestra se puede colocar en un recipiente, tal como, por ejemplo, el recipiente 1700, y puede incluir adicionalmente soluciones tal como, por ejemplo, medios nutrientes bacterianos, amortiguadores, y / o agentes tensioactivos. En algunos aspectos, la partícula de transducción se puede incluir en la solución y colocar en el recipiente antes de adicionar a la muestra. Las partículas de transducción y la solución se mantienen bajo condiciones de tal modo que las partículas de transducción identifican y se unen a la bacteria diana presente en la muestra, 304. La partícula de transducción entonces se inserta la molécula de ácido nucleico manipulado por ingeniería o plásmido manipulado por ingeniería en la bacteria diana, 306.

La porción del gen de reconocimiento de la molécula de ácido nucleico manipulado por ingeniería, por ejemplo, un fragmento del gen mecA, tal como se describe en el presente documento, entonces sondea el ADN bacteriano para una secuencia homóloga, 308. Si la secuencia homóloga esta presente, la molécula de ácido nucleico manipulado por ingeniería se inserta en y se acopla de forma operativa con las secuencias génicas indicadoras con un promotor endógeno del gen diana, 310. Por lo tanto, la bacteria diana expresa moléculas indicadoras, por ejemplo, luciferasa, a través de su proceso natural de transcripción / traducción, 312.

La muestra entonces se mantiene durante un periodo previamente definido y / o a una temperatura previamente determinada, 314. Estas condiciones pueden incluir, por ejemplo, el mantenimiento de la muestra durante menos de 2 horas, aproximadamente 2 horas, 4 horas, 6 horas, 8 horas, hasta 18 horas, o aún más, a una temperatura, por ejemplo, menos de o igual a aproximadamente 37 grados Celsius. Las condiciones bajo las cuales se mantiene la muestra se definen para permitir que la partícula de transducción se una a la bacteria diana y comunique el ácido nucleico manipulado por ingeniería a la bacteria diana, y promueva la expresión de las moléculas indicadoras (por ejemplo, luciferasa).

En algunos aspectos, entonces se comunica un reactivo en la muestra para mejorar, catalizar y / o promover la producción de una señal de las moléculas indicadoras, 316. Por ejemplo, el reactivo puede ser un sustrato formulado para activar la producción de una señal de luz por las moléculas indicadoras. Estos sustratos pueden ser cualquiera

de los sustratos adecuados de los tipos que se muestran y se describen en el presente documento. La señal se detecta, 318, con cualquier instrumento adecuado. Si la muestra contuvo cualquier otro genotipo bacteriano, la secuencia génica homóloga al gen de reconocimiento no estará presente en el ADN bacteriano. Por consiguiente, no habrá recombinación homóloga de ADN de la partícula de transducción con el ADN de la bacteria y no se producirá la molécula indicadora. Por lo tanto, la adición del sustrato a la solución de muestra 316 no producirá ninguna señal detectable que indique que la muestra no contiene el genotipo de la bacteria diana.

La figura 11 muestra una ilustración esquemática de las porciones del método 300 para la identificación genotípica y detección de una bacteria diana. Tal como se muestra en la figura 11, una partícula de transducción 660 adicionada a y/o mezclada con una muestra S para detectar un genotipo particular de una bacteria diana 680 que está presente en la muestra S. En la primera operación (indicada por la ilustración esquemática 692), la partícula de transducción 660 se pone en contacto con la muestra S que contiene la bacteria diana 680. La partícula de transducción 660 puede identificar de manera específica y unirse a la pared celular de la bacteria diana 680 tal como se muestra por medio de la flecha C. La partícula de transducción 660 entonces comunica a un ácido nucleico o plásmido manipulado por ingeniería 670 contenido en la misma, en el citoplasma de la bacteria diana 680, tal como se muestra por medio de la flecha D (véase la operación 694).

El ácido nucleico manipulado por ingeniería 670 puede ser cualquiera de las moléculas de ácido nucleico manipulado por ingeniería que se describen en el presente documento, tales como, por ejemplo, la molécula de ácido nucleico 570. En particular, la molécula de ácido nucleico 670 manipulado por ingeniería incluye una secuencia de reconocimiento 672, manipulada por ingeniería y/o formulada, para reconocer un gen diana 684 en el ADN 682 de la bacteria diana 680. El ácido nucleico también incluye una secuencia de gen indicador 674 (por ejemplo, la secuencia indicadora luxA / luxB). Si la secuencia diana 680 contiene el gen diana 684 el ácido nucleico manipulado por ingeniería 670 reconocerá el gen diana 684 e inserta la secuencia de gen indicador 674 en el locus del gen diana de una manera que enlaza de forma operativa la secuencia del gen indicador 674 con un promotor del gen diana 682 (véase la operación 696). Por ejemplo, el ácido nucleico manipulado por ingeniería 670 puede incluir una secuencia de reconocimiento 672 específica para la secuencia mecA en el ADN de RMSA. En la operación final (véase la vista esquemática 698), la maquinaria de transcripción y traducción de la bacteria diana 680 lee los genes que codifican para la secuencia indicadora 674 y produce las moléculas indicadoras 630. Si no está presente el gen diana 684, no toma lugar la recombinación y no se expresa las moléculas indicadoras 630. Por lo tanto, la presencia de las moléculas indicadoras 630 indica que el gen diana está presente en las bacterias viables 680 en la muestra S. Puesto que la partícula de transducción 660 no es replicativa y es incapaz de replicación lítica o lisogénica, la bacteria diana 680 permanece viva durante el ensayo. Por lo tanto, los sistemas y métodos que se describen en el presente documento se pueden usar para detectar genes dentro de las bacterias vivas.

En algunos aspectos, un sistema 1000 y/o cualquiera de los métodos que se describen en el presente documento pueden incluir y/o se llevan a cabo con un recipiente configurado para facilitar la comunicación de una solución (por ejemplo, un medio nutriente, amortiguadores, agentes tensioactivos), partículas de transducción, vectores biológicos, tal como, vector viral manipulado por ingeniería, vectores abiológicos que consisten de polímeros, liposomas, o partículas tipo virus, y/o reactivo (por ejemplo, sustrato, antibióticos, etc.) en la muestra. Por ejemplo, las figuras 12 - 14 muestran un montaje de recipiente 1700 de acuerdo con un aspecto, en una primera configuración, una segunda configuración y una tercera configuración, de forma respectiva. Uno o más montajes de recipiente 1700 se puede colocar dentro de cualquier instrumento adecuado del tipo que se describe en el presente documento (véase, por ejemplo, instrumento 11000 que se describe en lo sucesivo) configurado para manipular, accionar y/o interaccionar con el montaje de recipiente 1700 para llevar a cabo los métodos asociados con la identificación de las células diana que se describe en el presente documento. El montaje de recipiente 1700 permite la prueba de diagnóstico eficiente y exacta de muestras a limitar la cantidad de manejo de muestra durante el ensayo. Además, el arreglo modular de los componentes del recipiente (por ejemplo, la cámara de reacción 1732 y el módulo de reactivo 1740) permiten que cualquier número de diferentes módulos de reactivos 1740, cada uno que contiene diferentes reactivos y/o formulaciones que se van a usar de manera indistinta, detecten un tipo diferente de célula diana. Este arreglo también permite que las partículas de transducción y los reactivos se almacenen de manera separada y se comuniquen a la muestra a solicitud, tal como se describe en lo sucesivo. El almacenamiento separado puede ser útil, por ejemplo, si los reactivos que están incluidos dentro del módulo de reactivo 1740 tienen diferentes requisitos de almacenamiento (por ejemplo, fechas de vencimiento, requisitos de liofilización, límites de temperatura de almacenamiento, etc.) que los reactivos, la solución y/o la muestra que están incluidos dentro de la cámara de reacción 1732.

Tal como se muestra, el montaje de recipiente incluye una cámara de reacción 1732 y un módulo de reactivo 1740. La cámara de reacción 1732 se puede acoplar con el módulo de reactivo 1740 para formar un montaje integrado. La cámara de reacción 1732 se puede formar de cualquier material adecuado, tal como, por ejemplo, materiales de peso ligero, rígido e inerte (por ejemplo, plásticos). Al menos una porción de la cámara de reacción 1732 puede ser al menos parcialmente transparente para permitir la visión y/o detección del volumen interno de la cámara de reacción 1732 (por ejemplo, para ver la luminiscencia en la cámara de reacción 1732). En algunos aspectos, la cámara de reacción 1732 se puede formar como un cilindro con un fondo redondeado, o base plana. En otros aspectos, la cámara de reacción 1732 puede tener cualquier otra forma adecuada, por ejemplo, cuadrada, rectangular, ovalada, poligonal, etc. En algunos aspectos, la cámara de reacción 1732 puede tener un diámetro de

12 mm y una altura de 75 mm. En algunos aspectos, el diámetro de la cámara de reacción 1732 se puede hacer del tamaño para corresponder a manera óptima a la sección transversal de un detector (por ejemplo, el detector 1200 o 11212 que está incluido en el instrumento 11000, o cualquier otro detector). En algunos aspectos, el montaje del recipiente 1700 se puede proporcionar con una o más soluciones y / o reactivos de los tipos que se muestran y se describen en el presente documento (por ejemplo, solución de nutriente bacteriana, amortiguadores, agentes tensioactivos, partículas de transducción, y / o antibióticos), colocados previamente dentro de la cámara de reacción 1732.

El módulo de reactivo 1740 del recipiente 1700 incluye un alojamiento 1741, un primer accionador 1750 y un segundo accionador 1760. El alojamiento 1741 se configura para que se acople de manera amovible a la cámara de reacción 1732 por medio de cualquier mecanismo adecuado. Por ejemplo, en algunos aspectos, el alojamiento 1741 se puede acoplar con la cámara de reacción 1732 por un acoplamiento roscado, un ajuste de interferencia, un ajuste a presión, o similares. En algunos aspectos, el alojamiento 1741 y la cámara de reacción 1732 definen un sello sustancialmente hermético a fluido.

El alojamiento 1741 define un primer volumen de reactivo 1742 y un segundo volumen de reactivo 1744. El primer volumen de reactivo 1742 y el segundo volumen de reactivo 1744 se pueden separar por una pared lateral 1746. En algunos aspectos, el primer volumen de reactivo 1742 contiene vectores biológicos o abiológicos, partículas de transducción y / o un vector viral (por ejemplo, una partícula de transducción 110, 160 o cualquiera de las otras partículas de transducción que se describen en el presente documento), que incluye una molécula de ácido nucleico manipulado por ingeniería (por ejemplo, el ácido nucleico manipulado por ingeniería 170) formulada para hacer que la célula diana (por ejemplo, la bacteria) produzca una serie de moléculas indicadoras (por ejemplo, luciferasa). En algunos aspectos la partícula de transducción se formula para que no sea replicativa (es decir, incapaz de replicación), tal como se describe en el presente documento. En algunos aspectos, el segundo volumen de reactivo 1744 puede contener un reactivo formulado para interactuar con la molécula indicadora para catalizar, mejorar la producción de y / o producir una señal mensurable, tal como, por ejemplo, una señal óptica. En algunos aspectos, el reactivo en un sustrato de luciferasa de los tipos que se muestran y se describen en el presente documento, tal como, por ejemplo, una composición incluyendo tridecanal. A pesar de que las partículas de transducción y el reactivo se muestran como que están colocados directamente dentro del primer volumen de reactivo 1742 y el segundo volumen de reactivo 1744, de forma respectiva, en otros aspectos, las partículas de transducción y / o reactivos se pueden colocar dentro de los recipientes de reactivo (que no se muestran) formados y hechos de un tamaño para que se coloque sustancialmente dentro del primer volumen de reactivo 1742 y / o el segundo volumen de reactivo 1744.

En algunos aspectos, el alojamiento 1741 y / o cualquier recipiente de reactivo en el mismo (que no se muestra) puede incluir porciones frágiles configuradas para romperse cuando se accionan o comprimen (por ejemplo, por el primer accionador 1750 y / o el segundo accionador 1760). Por lo tanto, los reactivos y constituyentes se pueden almacenar en aislamiento y liberar en el accionamiento. En algunos aspectos, el alojamiento 1741, primer accionador 1750, segundo accionador 1760 y / o estos recipientes de reactivo pueden incluir características para facilitar la distribución repetible, por ejemplo, bordes curvados, fondo plano, redes abullonadas, o cualquier otra característica adecuada. En algunos aspectos, por ejemplo, el alojamiento 1741 puede incluir un perforador o una serie de perforadores (que no se muestran) colocados dentro del primer volumen de reactivo 1742, configurado para perforar una porción de un recipiente de reactivo cuando la porción de émbolo 1754 del primer accionador 1750 se mueve dentro del primer volumen de reactivo 1742. En algunos aspectos, también se puede colocar un perforador dentro del segundo volumen de reactivo 1744.

El primer volumen de reactivo 1742 y el segundo volumen de reactivo 1744 pueden tener cualquier forma, orientación y / o tamaño adecuado. En algunos aspectos, tal como se muestra las figuras 12 - 14, el primer volumen de reactivo 1742 y el segundo volumen de reactivo 1744 pueden estar concéntricos. En otros aspectos, el primer volumen de reactivo 1742 y el segundo volumen de reactivo 1744 pueden estar localizados paralelos entre sí. A pesar de que se muestra como que tiene un área en sección transversal sustancialmente constante, en algunos aspectos, una dimensión en sección transversal, por ejemplo, diámetro o área, del alojamiento 1741 y / o el primer volumen de reactivo 1742 y el segundo volumen de reactivo 1744 se puede variar para incrementar / disminuir un volumen del reactivo contenido en el mismo. Por lo tanto, el alojamiento 1741 se puede configurar para proporcionar la cantidad deseada y / o una velocidad de flujo de reactivo que se va a distribuir en la cámara de reacción 1732.

El alojamiento 1741 incluye una porción de distribución 1770 que, cuando el alojamiento 1741 se acopla con la cámara de reacción 1732, define una primera ruta de fluido 1772a entre el primer volumen de reactivo 1742 y la cámara de reacción 1732, y una segunda ruta de fluido 1772b entre el segundo volumen de reactivo 1744 y la cámara de reacción 1732. Tal como se muestra, la primera ruta de fluido 1772a y la segunda ruta de fluido 1772b están separadas una de otra. La primera ruta de fluido 1772a y la segunda ruta de fluido 1772b incluyen una primera salida 1774a y una segunda salida 1774b, de forma respectiva, que cada una se abre en la cámara de reacción 1732. La primera ruta de fluido 1772a y la segunda ruta de fluido 1772b proporciona una ruta para que las partículas de transducción y los reactivos colocados en el primer volumen de reactivo 1742 y / o el segundo volumen de reactivo 1744, de forma respectiva, se comuniquen en la cámara de reacción 1732.

- La porción de distribución 1770 se puede configurar para proporcionar cualquier ruta y/o mecanismo adecuado para distribuir las partículas de transducción y los reactivos colocados en el primer volumen de reactivo 1742 y/o el segundo volumen de reactivo 1744 en la cámara de reacción 1732. Por ejemplo, en algunos aspectos, la porción de distribución 1770 puede incluir una ruta individual de fluido para comunicar fluidos desde el primer volumen de reactivo 1742 y el segundo volumen de reactivo 1744 en la cámara de reacción 1732. En algunos aspectos, la porción de distribución 1770 se puede configurar para distribuir reactivos desde el primer volumen de reactivo 1742 y/o el segundo volumen de reactivo 1744 en la cámara de reacción 1732 de una manera que promueva el mezclado y/o que reduzca al mínimo la aeración, rociado excesivo y/o turbulencia indeseable. En algunos aspectos, la primera ruta de fluido 1772a y/o la segunda ruta de fluido 1772b pueden tener un área en sección transversal (o flujo) variable (por ejemplo, las rutas pueden asemejar boquillas) para producir una velocidad controlada de flujo de las sustancias que fluyen a través de las mismas. En algunos aspectos, la velocidad de flujo de las partículas de transducción y/o reactivos, puede ser 1 ml/s, 2 ml/s, 3 ml/s, 4 ml/s, 5 ml/s, o cualquier velocidad de flujo adecuada para mezclar de manera suficiente la sustancia y/o reducir al mínimo la aireación.
- El módulo de reactivo 1740 incluye el primer accionador 1750 colocado al menos en parte en el alojamiento 1741. El primer accionador 1750 incluye una porción de acoplamiento 1752 y una porción de émbolo 1754, que está colocada dentro del primer volumen de reactivo 1742. La porción de acoplamiento 1752 del primer accionador 1750 se configura para que se manipule (por ejemplo, por medio de cualquier instrumento que se muestra y se describe en el presente documento, tal como el instrumento 11000) para mover la porción de émbolo 1754 dentro del primer volumen de reactivo 1742. En algunos aspectos, la porción de émbolo 1754 del primer accionador 1750 y una porción del alojamiento 1741 definen y/o incluyen un sello para aislar con respecto a fluidos del primer volumen de reactivo 1742 de un volumen fuera del alojamiento 1741. En algunos aspectos, el sello puede ser, por ejemplo, una junta, un anillo tórico, un sello de caucho o cualquier sello adecuado. Tal como se muestra, la porción de acoplamiento 1752 y la porción de émbolo 1754 del primer accionador 1750 pueden tener diferentes dimensiones en sección transversal (por ejemplo, diámetro). En otros aspectos, no obstante, la porción de acoplamiento 1752 y la porción de émbolo 1754 del primer accionador 1750 pueden tener la misma dimensión en sección transversal (por ejemplo, diámetro). En algunos aspectos, la porción de acoplamiento 1752 puede estar descentrada con respecto a (por ejemplo, no es coaxial con) la porción de émbolo 1754.
- El módulo de reactivo 1740 incluye el segundo accionador 1760 colocado al menos en parte en el alojamiento 1741. El segundo accionador 1760 incluye una porción de acoplamiento 1762 y una porción de émbolo 1764, que se coloca de forma móvil dentro del segundo volumen de reactivo 1744. La porción de acoplamiento 1762 del segundo accionador 1760 se configura para que se manipule (por ejemplo, por ejemplo, por medio de cualquier instrumento que se muestra y se describe en el presente documento, tal como el instrumento 11000) para mover la porción de émbolo 1764 del segundo accionador 1760 dentro del segundo volumen de reactivo 1744. En algunos aspectos, la porción de émbolo 1764 del segundo accionador 1760 y una porción del alojamiento 1741 definen y/o incluyen un sello para aislar con respecto a fluidos el segundo volumen de reactivo 1742 de un volumen fuera del alojamiento 1741. En algunos aspectos, el sello puede ser, por ejemplo, una junta, un anillo tórico, un sello de caucho o cualquier sello adecuado, y puede ser sustancialmente similar al sello del primer accionador 1750. Tal como se muestra, la porción de acoplamiento 1762 y la porción de émbolo 1764 del segundo accionador 1760 puede tener diferentes dimensiones en sección transversal (por ejemplo, diámetro). En otros aspectos, no obstante, la porción de acoplamiento 1762 y la porción de émbolo 1764 del segundo accionador 1760 pueden tener la misma dimensión en sección transversal (por ejemplo, diámetro). En algunos aspectos, la porción de acoplamiento 1762 puede estar descentrada con respecto a (por ejemplo, no es coaxial con) la porción de émbolo 1764.
- Tal como se muestra, la porción de acoplamiento 1762 del segundo accionador 1760 circunda al menos en parte la porción de acoplamiento 1752 del primer accionador 1750. Expuesto de forma similar, al menos una porción del primer accionador 1750 y una porción del segundo accionador 1760 están colocados de manera concéntrica en el alojamiento 1741. Por lo tanto, el módulo de reactivo 1740 es puede acoplar con la cámara de reacción 1732 y/o colocar en un instrumento en cualquier orientación angular alrededor del eje longitudinal del montaje de recipiente 1700. Este arreglo permite que un montaje de accionador individual manipule tanto el primer accionador 1750 como el segundo accionador 1760.
- De manera más particular, el segundo accionador 1760 define un canal 1766 dentro del cual la porción de acoplamiento 1752 del primer accionador 1750 se puede mover cuando el primer accionador 1750 se manipula para mover la porción de émbolo 1754. En algunos aspectos la porción de acoplamiento 1762 del segundo accionador 1760 puede definir una abertura dentro de la cual se puede colocar de manera sustancial la porción de acoplamiento 1752 del primer accionador 1750. A pesar de que un eje longitudinal de la porción de émbolo 1754 del primer accionador 1750 se muestra como que está concéntrico a un eje longitudinal de la porción de émbolo 1764 del segundo accionador 1760, en otros aspectos, el eje longitudinal de la porción de émbolo 1754 puede estar descentrado con respecto a y/o no ser concéntrico con el eje longitudinal de la porción de émbolo 1764. En algunos aspectos, por ejemplo, el primer accionador 1750 y el segundo accionador 1760 se pueden colocar adyacentes pero no concéntricos entre sí. En algunos aspectos, el primer accionador 1750 y el segundo accionador 1760 se pueden colocar paralelos entre sí. En algunos aspectos las porciones de acoplamiento 1752 y/o la porción de acoplamiento 1762 pueden estar ahuecadas en el alojamiento 1741, por ejemplo, para impedir el accionamiento accidental.

El primer accionador 1750 y el segundo accionador 1760 se pueden mover de cualquier manera adecuada para llevar a cabo las funciones que se describen en el presente documento. Por ejemplo, en algunos aspectos, la porción de émbolo 1754 del primer accionador 1750 se puede mover de manera independiente del movimiento de la porción de émbolo 1764 del segundo accionador 1760. En algunos aspectos, el primer accionador 1750 y segundo accionador 1760 pueden tener la misma longitud de carrera. En otros aspectos, el primer accionador 1750 y el segundo accionador 1760 pueden tener diferentes longitudes de carrera. Por lo tanto, diferentes volúmenes (y / o diferentes velocidades de flujo) de las partículas de transducción o reactivos se pueden transportar en la cámara de reacción 1732.

En el uso, el montaje de recipiente 1700 se configura para que se manipule para llevar a cabo los métodos y / o que se describen en el presente documento en tanto que se mantiene el aislamiento de fluidos de la cámara de reacción 1732. Expuesto de forma similar, la cámara de reacción 1732 y el módulo de reactivo 1740 del montaje de recipiente 1700 pueden definir de forma colectiva un sistema cerrado dentro del cual se puede llevar a cabo la identificación de la célula diana (es decir, sin desacoplar el módulo de reactivo 1740 de la cámara de reacción 1732). En particular, el montaje de recipiente 1700 se puede distribuir al usuario en una primera configuración (la figura 12), en la cual el primer accionador 1750 y el segundo accionador 1760 están cada uno en sus respectivas primeras posiciones. A pesar de que el módulo de reactivo 1740 se muestra como que está acoplado con la cámara de reacción 1732 en la figura 12, el módulo de reactivo 1740 se puede desacoplar inicialmente de la cámara de reacción 1732 para permitir que una muestra que contiene la célula diana (por ejemplo, bacteria) se coloque en el volumen interno definido por cámara de reacción 1732. El módulo de reactivo 1740 se puede acoplar con la cámara de reacción 1732 para definir un sello hermético fluido.

Para mover el montaje de recipiente 1700 y / o el módulo de reactivo 1740 a la segunda configuración (la figura 13), la porción de acoplamiento 1752 del primer accionador se manipula para moverse dentro del canal 1766. Por lo tanto, la porción de émbolo 1754 del primer accionador 1750 se mueve dentro del primer volumen de reactivo 1742 para transportar y / o expulsar el reactivo (por ejemplo, partículas de transducción) del primer volumen de reactivo 1742 a través de la primera ruta de fluido 1742a y la primera salida 1744a, y en la cámara de reacción 1732 tal como se muestra por medio de la flecha EE. En algunos aspectos, el reactivo incluye partículas de transducción que interactúan con la célula diana contenida en la muestra de tal modo que las células diana produzcan una serie de moléculas indicadoras de acuerdo con cualquiera de los métodos que se describen en el presente documento. La manipulación y / o mantenimiento del montaje de recipiente 1700 (y la muestra contenido en la misma) canse puede llevar a cabo por los instrumentos 1100 y / o 11000 tal como se describe en el presente documento y / o cualquier otro instrumento o componentes que se describen en el presente documento.

Para mover el montaje de recipiente 1700 y / o el módulo de reactivo 1740 a la tercera configuración (la figura 14), la porción de acoplamiento de 1762 del segundo accionador 1760 se manipula para moverse al menos en parte alrededor del primer accionador 1750. El movimiento de la porción de acoplamiento 1762 mueve la porción de émbolo 1764 del segundo accionador 1760 de la primera posición a una segunda posición dentro del segundo volumen de reactivo 1744. El desplazamiento de la porción de émbolo 1764 transporta y / o expulsa el reactivo (por ejemplo, un sustrato tal como tridecanal) desde dentro del segundo volumen de reactivo 1744 a través de la segunda ruta de fluido 1772b y la segunda salida 1774b en la cámara de reacción 1732, tal como se muestra la flecha FF. En algunos aspectos, el reactivo es un sustrato que puede interactuar con las moléculas indicadoras producidas para empujar, catalizar y / o mejorar las moléculas indicadoras para producir una señal, por ejemplo, mediante una reacción de luminiscencia.

En algunos aspectos, un montaje de recipiente puede incluir un mecanismo para recolectar una muestra y / o colocar una muestra en el montaje de recipiente. Por ejemplo, en algunos aspectos, se puede recolectar una muestra usando un hisopo, que entonces se coloca en la cámara de reacción del recipiente. Las figuras 15 - 17 muestran un montaje de recipiente 2700 en una primera configuración, una segunda configuración, y una tercera configuración, de forma respectiva. El montaje de recipiente 2700 incluye una cámara de reacción 2732 y una tapa temporal 2739. La cámara de reacción 2732 del montaje de recipiente 2700 se puede acoplar con cualquier módulo de reactivo, al como, por ejemplo, el módulo de reactivo 1740 tal como se ha descrito en lo que antecede, o cualquier otro módulo de reactivo que se describe en el presente documento.

La muestra S que contiene la célula diana se puede recolectar en un hisopo 2734, que puede ser un hisopo nasal, un hisopo de saliva, un hisopo ambiental o similares. En algunos aspectos, después de recolectar la muestra S, el hisopo nasal 2734 se rompe en una posición previamente definida y / o longitud del hisopo 2734 tal como se muestra por la línea GG (la figura 15). La cámara de reacción 2732 puede contener una solución 2702, por ejemplo, un medio nutriente, amortiguadores, agentes tensoactivos y / o cualquier otro reactivo formulado para mantener las células diana, promover la producción de las moléculas indicadoras o similares. El hisopo 2734 se inserta en la cámara de reacción 2732, tal como se muestra por medio de la flecha HH, hasta que se sumerge en la solución 2702.

La tapa temporal 2736 entonces se puede acoplar con la cámara de reacción 2732 para colocar el montaje de recipiente 2700 en la segunda configuración (la figura 16). En algunos aspectos, la tapa temporal 2736 puede definir un sello sustancialmente hermético a fluido cuando se acopla la cámara de reacción 2732. Por lo tanto, el montaje

de recipiente 2700 se puede agitar, por ejemplo, someter a vórtice o agitar, para permitir que una porción significativa de la muestra S que contiene las células diana se comunique en la solución 2702 desde el hisopo 2734. En algunos aspectos, el hisopo 2734 y el protocolo de recolección de muestra se pueden definir de tal modo que tanto como un 50 %, un 60 % y hasta un 70 %, y cualquier cantidad entre los mismos o aún mayor, de las células diana recolectadas se transfiera a la solución 2702.

En algunos aspectos, el hisopo 2734 se puede retirar para la prueba. La retirada del hisopo, en ciertas situaciones, puede limitar la interferencia con las mediciones de la muestra. Por consiguiente, en algunos aspectos, la tapa temporal 2736 puede incluir un mecanismo de sujeción, por ejemplo, muescas, ranuras, manguitos, o cualquier otra característica para sujetar el hisopo 2734. En estos aspectos, cuando la tapa temporal 2736 se retira de la cámara de reacción 2732 tal como se muestra en la tercera configuración por medio de la flecha II (la figura 17), el hisopo 2734 también se retira con la misma. En algunos aspectos, la cámara de reacción 2732 puede incluir una o más etiquetas o marcas 2738 colocadas en una superficie exterior de la cámara de reacción 2732. Las etiquetas 2738 pueden incluir información asociada con el montaje de recipiente 2700, por ejemplo, célula diana, número de serie, número de lote, fecha de vencimiento y/o información de advertencia. En algunos aspectos, el recipiente 2700 también puede incluir un mecanismo de seguimiento 2739, por ejemplo, códigos de barras en etiquetas y/o etiquetas de RFID.

Las figuras 18 - 25 muestran un montaje de recipiente 3700 de acuerdo con un aspecto que incluye una cámara de reacción 3732 y un módulo de reactivo 3740 que se puede acoplar con la cámara de reacción. El montaje de recipiente 3700 se puede usar con y manipular por cualquiera de los instrumentos que se describen en el presente documento, por ejemplo, el instrumento 11000, y/o cualquiera de los componentes que se describen en el presente documento. El montaje de recipiente 3700 también se puede usar para llevar a cabo cualquiera de los métodos que se describen en el presente documento, por ejemplo, tales como los métodos 150, 200 y 300 que se han descrito en lo que antecede.

La cámara de reacción 3732 se configura para contener una muestra y/u otros reactivos y se puede formar de un material rígido, inerte y de peso ligero. Al menos una porción de la cámara de reacción 3732 (por ejemplo, la porción de extremo distal) puede ser al menos parcialmente transparente para permitir la visión, acceso óptico y/o detección del volumen interno de la cámara de reacción 3732. A pesar de que se muestra como que está formado como un cilindro con un fondo redondo, en otros aspectos, de la cámara de reacción 3732 puede tener cualquier otra forma adecuada, por ejemplo, cuadrada, rectangular, ovalada, poligonal, etc. En algunos aspectos, de la cámara de reacción 3732 puede tener un diámetro de 12 mm y una altura de 75 mm. En algunos aspectos, el montaje de recipiente 3700 se puede proporcionar con una o más soluciones/reactivos (por ejemplo, solución nutriente bacteriana, amortiguadores, agentes tensoactivos, partícula de transducción, y/o antibióticos), colocados previamente dentro de la cámara de reacción 3732.

El módulo de reactivo 3740 incluye un alojamiento 3741, un primer accionador 3750, un segundo accionador 3760, una porción de distribución 3770, un primer recipiente de reactivo 3780a y un segundo recipiente de reactivo 3780b. Tal como se muestra en la figura 18, el alojamiento 3741 se configura para que se acople de manera amovible a la cámara de reacción 3732 por medio de cualquier mecanismo adecuado. Por ejemplo, en algunos aspectos, el alojamiento 3741 se puede acoplar con la cámara de reacción 3732 por un acoplamiento roscado, un ajuste de interferencia o similares. En algunos aspectos, el alojamiento 3741 y la cámara de reacción 3732 definen un sello sustancialmente hermético a fluidos.

La figura 20 muestra una vista superior del alojamiento 3741. El alojamiento 3740 define un primer volumen de reactivo 3742 y un segundo volumen de reactivo 3744 que puede estar parado por una pared lateral 3746. El alojamiento 3741 se puede formar de un material rígido y de peso ligero, tal como, por ejemplo, plástico moldeado por inyección. En algunos aspectos, el alojamiento 3741 puede tener un diámetro de aproximadamente 24 mm. En algunos aspectos, el diámetro del alojamiento 3741 se puede variar para incrementar o disminuir la capacidad del primer volumen de reactivo 3742 y el segundo volumen de reactivo 3744. En algunos aspectos, el diámetro del primer volumen de reactivo 3742 y/o el segundo volumen de reactivo 3744 se puede variar (es decir, no son iguales entre sí).

Tal como se muestra en la vista superior del alojamiento 3741 en la figura 20 y la vista de fondo inclinada del alojamiento 3741 que se muestra en la figura 21, el alojamiento 3741 incluye una porción de distribución 3770 que, cuando el alojamiento 3741 se acopla con la cámara de reacción 3732, define una primera ruta de fluido 3772a entre el primer volumen de reactivo 3742 y la cámara de reacción 3732, y una segunda ruta de fluido 3772b entre el segundo volumen de reactivo 3744, y la cámara de reacción 3732. La primera ruta de fluido 3772a y la segunda ruta de fluido 3772b incluyen una primera salida 3774a y una segunda salida 3774b, de forma respectiva, que se abre en la cámara de reacción 3732, cuando la cámara de reacción 3732 se acopla con el alojamiento 3741. La primera ruta de fluido 3772a (y la salida 3774a) y la segunda ruta de fluido 3772b (y la salida 3774b) proporcionan una ruta para que los reactivos colocados en el primer volumen de reactivo 3742 y el segundo volumen de reactivo 3744 se comuniquen a la cámara de reacción 3732. A pesar de que la primera ruta de fluido 3772a y la segunda ruta de fluido 3772b se muestran como que están separadas una de otra, en otros aspectos, la primera ruta de fluido 3772a

y la segunda ruta de fluido 3772b pueden incluir un límite común y / o encontrarse en comunicación de fluidos entre sí.

5 La porción de distribución 3770 se configura para proporcionar cualquier ruta adecuada y / o mecanismo para distribuir las partículas de transducción y reactivos colocados en el primer volumen de reactivo 3742 y / o el segundo volumen de reactivo 3744 en la cámara de reacción 3732. Por ejemplo, en algunos aspectos, la primera ruta de fluido 3772a y la segunda ruta de fluido 3772b se puede configurar para distribuir reactivos desde el primer volumen de reacción 3742 y el segundo volumen de reacción 3744, de forma respectiva, a la cámara de reacción 3732 en una manera de tal modo que promueve el mezclado y / o reduce al mínimo la aeración, rociado en exceso y / o turbulencia indeseable. La primera ruta de fluido 3772a y la segunda ruta de fluido 3772b pueden dar cabida a cualquier velocidad de flujo adecuada, por ejemplo, 1 ml / s, 2 ml / s, 3 ml / s, 4 ml / s, 5 ml / s. En algunos aspectos, al menos una porción de la porción de distribución 3770, se puede colocar dentro de la cámara de reacción 3732 cuando el alojamiento 3741 se acopla con la cámara de reacción 3732.

15 Tal como se muestra en la figura 19 y la sección transversal lateral del recipiente que se muestra en la figura 23 el módulo de reactivo 3740 incluye el primer accionador 3750 colocado en el alojamiento 3741. El primer accionador 3740 incluye una porción de acoplamiento 3752 y una porción de émbolo 3754, que se puede colocar de forma móvil dentro del primer volumen de reactivo 3742. Cuando se acciona, la porción de acoplamiento 3752 del primer accionador 3750 mueve la porción de émbolo 3754 dentro del primer volumen de reactivo 3742. Tal como se muestra, la porción de émbolo 3754 del primer accionador 3750 incluye un sello 3769a para aislar con respecto a fluidos del primer volumen de reactivo 3742 de un volumen fuera del alojamiento 3741. En algunos aspectos, el sello 3769a puede ser, por ejemplo, una junta, un anillo tórico, un sello de caucho, o cualquier sello adecuado.

25 El módulo de reactivo 3740 incluye el segundo accionador 3760. El segundo accionador 3760 incluye una porción de acoplamiento 3762 y una porción de émbolo 3764 que se coloca de forma móvil dentro del segundo volumen de reactivo 3744. Cuando se acciona, la porción de acoplamiento 3762 del segundo accionador 3760 mueve la porción de émbolo 3764 del segundo accionador 3760 dentro del segundo volumen de reactivo 3744. La porción de émbolo 3764 del segundo accionador 3760 incluye un sello 3769b para aislar con respecto a fluidos y / o impedir la fuga de cualquier reactivo contenido en el segundo volumen de reactivo 3744.

30 El primer accionador 3750 y el segundo accionador 3760 se pueden colocar en una configuración anidada en el alojamiento 3741. Dicho de otro modo, el primer accionador 3750 y el segundo accionador 3760 se pueden colocar de manera concéntrica, de tal modo que el primer accionador 3750 se anide dentro del segundo accionador 3760. Por lo tanto, el módulo de reactivo 3740 se puede acoplar con la cámara de reacción 3732 y / o colocar en un instrumento en cualquier orientación angular alrededor del eje longitudinal del montaje de recipiente 3700. De manera más particular, el segundo accionador 3760 define un canal 3766 dentro del cual la porción de acoplamiento 3752 del primer accionador 3750 se puede mover cuando el primer accionador 3750 se manipula para mover la porción de émbolo 3754. Adicionalmente, la porción de acoplamiento 3762 del segundo accionador 3760 define una abertura 3767 dentro de la cual se coloca de manera sustancial la porción de acoplamiento 3752 del primer accionador 3750 (cuando el módulo de reactivo 3740 se encuentra en la primera configuración o la tercera configuración). Un eje longitudinal de la porción de émbolo 3754 del primer accionador 3750 está descentrado con respecto a (es decir, no es coaxial con) un eje longitudinal de la porción de émbolo 3764 del segundo accionador 3760. La porción de émbolo 3754 del primer accionador 3750 se puede mover de manera independiente del movimiento de la porción de émbolo 3764 del segundo accionador 3760. Adicionalmente, el primer accionador 3750 y el segundo accionador 3760 se puede ahuecar dentro del el alojamiento, por ejemplo, para impedir el accionamiento accidental del primer accionador 3750 y el segundo accionador 3760.

50 El primer volumen de reactivo 3742 puede incluir el primer recipiente de reactivo 3780a y el segundo volumen de reactivo 3744 para contener el segundo recipiente de reactivo 3780b. Tal como se muestra en la figura 22 (que solo muestra el primer recipiente de reactivo 3780a por claridad), el primer recipiente de reactivo 3780a (y el segundo recipiente de reactivo 3780b) incluye una pared lateral 3782a y un miembro frágil 3784a, que definen conjuntamente un volumen interno 3786a. En algunos aspectos, la pared lateral 3782a también puede ser frágil. El volumen interno 3786a puede estar completamente o parcialmente relleno con un reactivo. Por ejemplo, en algunos aspectos, el primer recipiente de reactivo 3780a puede contener partículas de transducción (por ejemplo, partículas de transducción 110, 160 o cualquier otra partícula de transducción que se describe en el presente documento) que incluye un ácido nucleico manipulado por ingeniería (por ejemplo, el ácido nucleico manipulado por ingeniería 170) formulado para que la célula diana (por ejemplo, bacteria) produzca una pluralidad de moléculas indicadoras. El segundo recipiente de reactivo 3780b puede contener un segundo reactivo formulado para reaccionar con las moléculas indicadoras para mejorar la producción de una señal. Por ejemplo, en algunos aspectos, el reactivo es un sustrato, tal como tridecanal, que puede interactuar con la molécula indicadora (por ejemplo, luciferasa), para producir una señal mensurable, por ejemplo, mediante una reacción de luminiscencia.

65 Los recipientes de reactivo se pueden formar y hacer de un tamaño para que se coloquen sustancialmente dentro del primer volumen de reactivo 3742 y el segundo volumen de reactivo 3744. El alojamiento 3741 incluye un primer perforador 3792a y un segundo perforador 3792b colocado dentro del primer volumen de reactivo 3742 t el segundo volumen de reactivo 3744, de forma respectiva. Los perforadores se configuran para romper las porciones frágiles

respectivas de los primeros recipientes de reactivo 3780a y el segundo recipiente de reactivo 3780b cuando la porción de émbolo 3754 y la porción de émbolo 3764 se desplazan dentro del primer volumen de reactivo 3742 y el segundo volumen de reactivo 3744, de forma respectiva. En algunos aspectos, los recipientes de reactivo pueden incluir bordes curvados (véase, por ejemplo, el borde curvado 3789a) y una porción de fondo (véase, por ejemplo, la porción de fondo 3788a) que puede ser sustancialmente plana. La porción de fondo plana y los bordes curvados pueden permitir extender la fuerza compresiva aplicada por el primer accionador 3750 y el segundo accionador 3760 en el primer recipiente de reactivo 3780a y el segundo recipiente de reactivo 3780b, de forma respectiva, para asegurar la distribución repetible.

Los recipientes de reactivo se pueden construir de materiales que son sustancialmente impermeables a y/o sustancialmente inerte de manera química de la sustancia contenida en los mismos, por ejemplo, partícula de transducción, sustrato, antibióticos, amortiguadores, agentes tensoactivos o cualquier otro reactivo que se pueda requerir para el ensayo de detección. Por lo tanto, los reactivos se pueden almacenar en los recipientes de reactivo durante períodos prolongados de tiempo. Por ejemplo, la pared lateral 3782a del recipiente de reactivo 3780a se puede formar de un material flexible inerte, por ejemplo, plástico de blíster, hoja de aluminio, laminado de aluminio o cualquier otro material adecuado. Además, en algunos aspectos, el miembro frágil 3784a se puede construir de un material que tiene ciertas características de temperatura de tal modo que las propiedades deseadas y la integridad del miembro frágil 3784a se mantenga sobre una cierta temperatura. Por ejemplo, en algunos aspectos, puede ser deseable almacenar el recipiente de reactivo 3780a que contiene el reactivo o sustrato en una condición refrigerada. En algunos aspectos, el miembro frágil 3784a se puede construir de una película de polímero, tal como cualquier forma de polipropileno. En algunos aspectos, el miembro frágil 3784a se puede construir de polipropileno biaxialmente orientado (BOP, *biaxially oriented polypropylene*). En algunos aspectos, el miembro frágil 3784a se puede construir de aluminio.

La cámara de reacción 3732 y el módulo de reactivo 3740 del montaje de recipiente 3700 puede definir de forma colectiva un sistema cerrado dentro del cual se puede llevar a cabo la identificación de la célula diana (es decir, sin desacollar el módulo de reactivo 3740 de la cámara de reacción 3732). El montaje de recipiente 3700 y/o el módulo de reactivo 3740 se puede mover entre múltiples configuraciones diferentes para transferir reactivos y/o sustancias desde la primera cámara de reactivo 3742 y la segunda cámara de reactivo 3744. En particular, las figuras 23 - 25 muestran el módulo de reactivo 3740 en una primera configuración, una segunda configuración y una tercera configuración, de forma respectiva. La cámara de reacción 3732 no se muestra por claridad.

El montaje de recipiente 3700 se puede distribuir al usuario en la primera configuración (la figura 23), en donde el primer accionador 3750 se encuentra en una primera posición y el segundo accionador 3760 se encuentra en una primera posición. El primer volumen de reactivo 3742 incluye el recipiente de reactivo 3780a que contiene el reactivo (por ejemplo, partículas de transducción), y el segundo volumen de reactivo 3744 contiene el segundo recipiente de reactivo 3780b que incluye un reactivo (por ejemplo, tridecanal, formulado para reaccionar con las moléculas indicadoras).

Para mover el montaje de recipiente 3700 a la segunda configuración (la figura 24), la porción de acoplamiento 3752 del primer accionador 3750 se manipula para desplazar la porción de émbolo 3754 del primer accionador 3750 dentro del primer volumen de reactivo 3742 desde la primera posición a la segunda posición. Expuesto de forma similar, la porción de acoplamiento 3752 se mueve de manera distal dentro del canal 3766 y/o la abertura 3767 del segundo accionador 3760. Por lo tanto, la porción de émbolo 3754 del primer accionador 3750 aplica una fuerza en la porción de fondo 3788a del primer recipiente de reactivo 3780a. Esto empuja la porción frágil 3784a del primer recipiente de reactivo 3780a contra el perforador 3769a, hasta que la porción frágil 3784a se rompe, liberando el reactivo contenido en la misma, por ejemplo, la partícula de transducción, en el primer volumen de reactivo 3742. El desplazamiento adicional de la porción de émbolo 3754 del primer accionador 3750 hacia la segunda posición disminuye el volumen interno 3786a del recipiente de reactivo 3780a y el primer volumen de reactivo 3742. Esto comunica al reactivo por ejemplo, la partícula de transducción desde el primer volumen de reactivo 3742 a través de la primera ruta de fluido 3772a y la primera salida 3774a de la porción de distribución 3770, y a la cámara de reacción 3732. Tal como se muestra, el primer accionador 3750 incluye una depresión 3758 configura para recibir una porción del perforador 3792a para impedir que el perforador dañe el primer accionador 3750 y/o limita el desplazamiento del primer accionador 3750 hacia la segunda posición. En algunos aspectos, el reactivo, por ejemplo, la partícula de transducción puede interactuar con la célula diana contenida en la muestra e impulsar a la célula diana a producir la molécula indicadora tal como se describe en el presente documento.

Para mover el montaje de recipiente 3700 a la tercera configuración (la figura 25), la porción de acoplamiento de 3762 del segundo accionador 3760 se manipula para desplazar la porción de émbolo 3764 del segundo accionador 3760 desde la primera posición a una segunda posición dentro del segundo volumen de reactivo 3744. Similar a la segunda configuración, el desplazamiento del segundo accionador 3760 hace que el perforador 3792b rompa la porción frágil 3784b del segundo recipiente de reactivo 3780b y comunica el sustrato contenido en la misma (por ejemplo, tridecanal) a través de la segunda ruta de fluido 3772b y la segunda salida 3774b en la cámara de reacción 3732. El sustrato puede interactuar con las moléculas no indicadoras e impulsar, mejorar y/o catalizar la molécula indicadora para producir una señal, por ejemplo, mediante una reacción de luminiscencia. Tal como se muestra, el segundo accionador 3760 incluye una depresión 3768 configurada para recibir una porción del perforador 3792b

para impedir que el perforador dañe el segundo accionador 3760 y/o limite el desplazamiento del segundo accionador 3760 hacia la segunda posición. En algunos aspectos, el reactivo, por ejemplo, las partículas de transducción, puede interactuar con la célula diana contenida en la muestra e impulsar a la célula diana a producir la molécula indicadora tal como se describe en el presente documento.

A pesar de que las porciones de salida de la primera ruta de fluido 3772a y la segunda ruta de fluido 3772b se muestran como que son sustancialmente lineales y que tienen un área de flujo sustancialmente constante, en otros aspectos, una porción de distribución puede definir cualquier ruta de flujo adecuada a través de la cual se pueden distribuir los reactivos, sustancias, partículas de transducción y similares. Por ejemplo, en algunos aspectos, una porción de distribución se puede configurar para distribuir uno o más reactivos en una cámara de reacción en una manera que promueve el mezclado, que reduce el mínimo la aeración, rociado excesivo y/o turbulencia indeseable.

Por ejemplo, en algunos aspectos, un módulo de reactivo se puede configurar para distribuir una sustancia que contiene partículas de transducción de los tipos que se muestran y se describen en el presente documento en una cámara de reacción de una manera que mezcla de manera eficiente las partículas de transducción con la muestra. Por ejemplo, en aquellos aspectos en los que se retiene un hisopo (tal como el hisopo 2734) dentro de la cámara de reacción, un módulo de reactivo puede incluir una boquilla de distribución u otro mecanismo para distribuir partículas de transducción que mejora la retirada de porciones de la muestra del hisopo. Por lo tanto, el mecanismo de distribución puede mejorar el comportamiento del ensayo por medio de la mejora de la mezcla de la muestra y las partículas de transducción. Estos mecanismos pueden incluir, por ejemplo, boquillas de inyección de alta presión, boquillas en ángulo, múltiples rutas de flujo desde una cámara de reactivo individual en una cámara de reacción, o similares.

En otros aspectos, un módulo de reactivo se puede configurar para distribuir un reactivo formulado para mejorar, catalizar o accionar la producción de una señal de luz (por ejemplo, un sustrato de los tipos que se muestran y se describen en el presente documento) en una cámara de reacción de una manera que mejora la medición de la señal de luz. Por ejemplo, en algunos aspectos, un método para detectar las moléculas indicadoras incluye detectar la intensidad (o fuerza) de una reacción de luminiscencia accionada por la adición de un sustrato en la muestra en la cual se han expresado las moléculas indicadoras. De manera más particular, en algunos aspectos, las moléculas indicadoras expresadas del sustrato se formulan de manera colectiva para producir una reacción instantánea en respuesta a la adición del sustrato a la muestra. Las reacciones instantáneas son reacciones de luminiscencia e las cuales se presenta una distinta intensidad pico muy rápidamente después de la adición del sustrato (por ejemplo, de manera sustancialmente instantánea, en un periodo de varios segundos y/o menos de un minuto). A pesar de que las reacciones instantáneas pueden producir resultados muy sensibles (que son benéficos para la detección de pequeñas cantidades, etc.), la medición exacta de estas reacciones transitorias puede suponer un desafío. En contraste, las reacciones de brillo son reacciones de luminiscencia de mayor duración caracterizadas por una señal estable que se puede mantener durante hasta una hora o más. A pesar de que son menos sensibles que las reacciones instantáneas, las reacciones de brillo pueden permitir tiempo para que las operaciones adicionales de la muestra (por ejemplo, mezclado, transporte o similares) se completen antes de que se detecte la señal.

En algunos aspectos, un módulo de reactivo se puede configurar para distribuir un sustrato en una cámara de reacción de una manera que mejora la medición de la señal de luz. De manera más particular, en algunos aspectos, un módulo de reactivo se puede configurar para distribuir un sustrato de una manera que permite que el sustrato se mezcle de manera suficiente con la muestra, en tanto que también reduzca el mínimo la aireación de la muestra, la producción de burbujas, salpicado excesivo o similares todo lo cual puede ser perjudicial a la detección óptica que se va a completar en un período de segundos después de la distribución del sustrato. Por ejemplo, en algunos aspectos, un módulo de reactivo puede definir una ruta de fluido que se pone en ángulo con respecto a un eje longitudinal de la cámara de reacción, de tal modo que el reactivo y/o sustrato se distribuye a una pared lateral de la cámara de reacción, y a continuación en la solución de muestra. En otros aspectos, un módulo de reactivo puede definir una ruta de fluido que está sustancialmente paralela con un eje longitudinal de la cámara de reacción, pero que incluye una abertura de salida colocada de tal modo que el reactivo y/o sustrato se distribuya a una pared lateral de la cámara de reacción. En aún otros aspectos, un módulo de reactivo puede definir una ruta de fluido que tiene una forma curvada, arqueada y/o helicoidal. En aún otros aspectos, un módulo de reactivo puede definir una ruta de fluido que incluye ranuras, costillas, ranuras o cualquier otro rasgo de ajuste de flujo, para aumentar al máximo el mezclado y/o reducir el mínimo la aeración.

Como otro ejemplo, las figuras 26 - 28 muestran un montaje de recipiente 4700 que incluye una cámara de reacción 4732 y un módulo de reactivo 4740. El montaje de recipiente 4700 se puede usar y/o manipular por medio de cualquier instrumento que se describe en el presente documento, por ejemplo, el instrumento 1100, 11000, y/o cualquiera de los componentes que se describen en el presente documento. El montaje de recipiente 4700 también se puede usar para llevar a cabo cualquiera de los métodos que se describen en el presente documento, por ejemplo, los métodos 200 y/o 300.

El módulo de reactivo 4740 incluye un alojamiento 4741, un primer accionador 4750, un segundo accionador 4760, un primer miembro de distribución 4772a y un segundo miembro de distribución 4772b. Tal como se muestra en la vista lateral en sección transversal de la figura 28, el alojamiento 4741 define un primer volumen de reactivo 4742 y

un segundo volumen de reactivo 4744. El alojamiento 4741 también puede incluir una porción de distribución 4770. El primer volumen de reactivo 4742 puede incluir un primer recipiente de reactivo 4780a que contiene un primer reactivo (por ejemplo, partícula de transducción). El segundo volumen de reactivo 4744 puede incluir un segundo recipiente de reactivo 4780b que contiene un segundo reactivo (por ejemplo, sustrato). El alojamiento 4741 del montaje de recipiente 4700 puede ser sustancialmente similar al alojamiento 3741 del montaje de recipiente 3700 que se ha descrito en lo que antecede y, por lo tanto, no se describe adicionalmente en detalle en el presente documento. El primer recipiente de reactivo 4780a y el segundo recipiente de reactivo 4780b también son sustancialmente similares al primer recipiente de reactivo 3780a y el segundo recipiente de reactivo 3780b, de forma respectiva, del montaje de recipiente 3700 y, por lo tanto, no se describen en detalla adicional en el presente documento.

El primer accionador 4750 incluye una porción de acoplamiento 4752 y una porción de émbolo 4754. El segundo accionador 4760 incluye una porción de acoplamiento 4762 y una porción de émbolo 4764. El primer accionador 4750 y el segundo accionador 4760 son sustancialmente similares al primer accionador 3750 y al segundo accionador 3760, de forma respectiva, del montaje de recipiente 3700 tal como se ha descrito en lo que antecede en estructura y función y, por lo tanto, no se describen en detalle adicional en el presente documento.

Tal como se muestra en la vista de fondo del módulo de reactivo 4740 en la figura 27 y la sección transversal lateral del montaje de recipiente 4700 en la figura 28, la porción de distribución 4770 del alojamiento 4741 incluye un primer miembro de distribución 4772a que proporciona un conducto para la comunicación de fluidos de un reactivo, por ejemplo, partícula de transducción, desde el primer volumen del reactivo 4742 a la cámara de reacción 4732 a través de una primera salida 4774a. La porción de distribución 4770 del alojamiento 4741 incluye un segundo miembro de distribución 4772b que proporciona un conducto para la comunicación de fluidos de un reactivo, por ejemplo, un sustrato, desde el segundo volumen del reactivo 4742 a la cámara de reacción 4732 a través de una segunda salida 4774a.

Tal como se muestra en la figura 28, el primer miembro de distribución 4772a incluye una primera porción 4775a y una segunda porción 4776a. La primera porción 4775a está colocada al menos en parte dentro del primer volumen de reactivo 4742. La segunda porción 4776a está colocada al menos en parte dentro de la cámara de reacción 4732. La primera porción 4775a define un eje longitudinal que esta sustancialmente paralelo a un eje longitudinal definido por el módulo de reactivo 4740 y / o la cámara de reacción 4732. La segunda porción 4776a esta descentrada en sentido angular con respecto a una línea central de la primera porción 4775a de tal modo que la salida 4774a apunta hacia una pared lateral de la cámara de reacción 4732. Expuesto de forma similar, la segunda porción 4776a no está paralela a un eje longitudinal definido por el módulo de reactivo 4740 y / o la cámara de reacción 4732. En algunos aspectos, el ángulo puede estar entre un eje longitudinal y la segunda porción 4776a puede ser aproximadamente 15 - 45 grados, incluyendo todos los ángulos entre los mismos. En estos aspectos, el reactivo y / o partículas de transducción transportadas desde el primer volumen de reactivo 4742 en la cámara de reacción 4732 no golpea directamente en una superficie de la muestra, sino que, en su lugar, se impulsa sobre o a lo largo de la pared lateral de la cámara de reacción, de tal modo que puede fluir a una velocidad controlada en la solución de muestra.

Tal como se muestra en la figura 28, el segundo miembro de distribución 4772b incluye una primera porción 4775b y una segunda porción 4776b. La primera porción 4775b está colocada al menos en parte dentro del segundo volumen de reactivo 4744. La segunda porción 4776b está colocada al menos en parte dentro de la cámara de reacción 4732. La primera porción 4775b define un eje longitudinal que esta sustancialmente paralelo a un eje longitudinal definido por el módulo de reactivo 4740 y / o la cámara de reacción 4732. La segunda porción 4776b esta descentrada en sentido angular con respecto a una línea central de la primera porción 4775b, de tal modo que la salida 4774b apunte hacia una pared lateral de la cámara de reacción 4732. Expuesto de forma similar, la segunda porción 4776b no está paralela a un eje longitudinal definido por el módulo de reactivo 4740 y / o la cámara de reacción 4732. En algunos aspectos, el ángulo puede estar entre el eje longitudinal y la segunda porción 4776b puede ser aproximadamente 15 - 45 grados, incluyendo todos los ángulos entre los mismos. En estos aspectos, el reactivo y / o sustrato transportado desde el segundo volumen de reactivo 4744 en la cámara de reacción 4732 no golpea directamente en una superficie de la muestra, sino que, en su lugar, se impulsa sobre o a lo largo de la pared lateral de la cámara de reacción, en donde puede fluir a una velocidad controlada en la solución de muestra.

La primera porción 4775a, 4775b de cada uno de los miembros de distribución 4772a, 4772b incluye un perforador 4792a, 4792b (de forma respectiva) en una porción de extremo de la misma. Por lo tanto, el perforador 4792a sobresale en el primer volumen de reactivo 4742, y el perforador 4792b sobresale en el segundo volumen de reactivo 4744. En particular, el extremo de los miembros de distribución de las rutas de fluido se puede ahusar o achaflanar para producir un borde agudo que sirve como los perforadores. El perforador 4792a y el perforador 4792b se pueden usar para perforar la porción frágil 4784a y la porción frágil 4784b, de forma respectiva, de los recipientes del reactivo para liberar los reactivos, partículas de transducción u otras sustancias contenidas en la misma. A pesar de que el miembro de distribución 4772a y el miembro de distribución 4772b se muestran como que están contruidos de manera separada del alojamiento 4741, en algunos aspectos, se puede formar de manera integral un miembro de distribución con la porción de distribución 4770, por ejemplo, fabricado en una sola etapa de fabricación. En algunos aspectos, el miembro de distribución 4772a y / o el miembro de distribución 4772b se pueden fabricar de

manera separada, y a continuación colocarse en la cavidad 4778a y en la cavidad 4778b, de forma respectiva, de la porción de distribución 4770.

5 En algunos aspectos, el módulo de reactivo del recipiente puede incluir o definir rutas de fluido configuradas para comunicar los reactivos directamente en la solución de muestra, que tiene un punto de salida a cualquier distancia dentro del recipiente. Por ejemplo, la figura 29 muestra una vista en sección transversal lateral de un montaje de recipiente 5700 de acuerdo con un aspecto. El montaje del recipiente 5700 incluye una cámara de reacción 5732 y un módulo de reactivo 5740. El módulo de reactivo incluye un alojamiento 5741 que define un primer volumen de reactivo 5742 y un segundo volumen de reactivo 5744. El alojamiento 5741 contiene un primer accionador 5750 y un segundo accionador 5760. El alojamiento 5741 también incluye una porción de distribución 5770. El montaje de distribución 5700 se puede usar y / o manipular por medio de cualquier instrumento que se describe en el presente documento, por ejemplo, el instrumento 1100 o 11000 y / o cualquiera de los componentes que se describen en el presente documento. El montaje del recipiente 5700 también se puede usar para llevar a cabo cualquiera de los métodos que se describen en el presente documento, por ejemplo, los métodos 200 y / o 300.

15 El primer volumen de reactivo 5742 incluye un primer recipiente de reactivo 5780a que puede contener un primer reactivo (por ejemplo, partícula de transducción de los tipos que se muestran y se describen en el presente documento). El segundo volumen de reactivo 5744 incluye un segundo recipiente del reactivo 5780b que puede contener un segundo reactivo (por ejemplo, sustrato de los tipos que se muestran y se describen en el presente documento). El alojamiento 5741 del montaje del recipiente 5700 puede ser sustancialmente similar al alojamiento 3741 del montaje del recipiente 3700 y, por lo tanto, no se describe adicionalmente en detalle. Los recipientes del reactivo 5780a, 5780b son sustancialmente similares a los recipientes del reactivo 3780, 3780b del montaje de recipiente 3700 y, por lo tanto, no se describen en detalle en el presente documento. El primer accionador 5750 incluye una porción de acoplamiento y una porción de émbolo. El segundo accionador 5760 incluye una porción de acoplamiento y una porción de émbolo. El primer accionador 5750 y el segundo accionador 5760 son sustancialmente similares al primer accionador 3750 y segundo accionador 3760 del montaje del recipiente 3700 y, por lo tanto, no se describe adicionalmente en el presente documento.

20 La porción de distribución 5770 del alojamiento 5741 define una primera ruta de fluido 5772a que proporciona un conducto para la comunicación de fluidos de un primer reactivo, por ejemplo, partículas de transducción, desde el primer volumen de reactivo 5742 a la cámara de reacción 5732 a través de una primera salida 5774a. La porción de distribución 5770 del alojamiento 5741 también incluye una segunda ruta de fluido 5772b que proporciona un conducto para la comunicación de fluidos de un segundo reactivo, por ejemplo, sustrato, del segundo volumen de reactivo 5744 a la cámara de reacción 5732 a través de una segunda salida 5774b.

30 Tal como se muestra, las rutas de fluido 5772a, 5772b definen un eje longitudinal que está paralelo al eje longitudinal definido por la cámara de reacción 5732. Este arreglo puede permitir que los reactivos fluyan desde el primer volumen de reactivo 5742 y el segundo volumen de reactivo 5744 a través de la salida 5774a y la salida 577b, de forma respectiva, y recto en una solución de muestra colocada en la cámara de reacción 5732. En algunos aspectos, un diámetro de la ruta de fluido 5772a y / o la ruta de fluido 5772b en la salida respectiva 5774a y 5774b, puede ser más pequeño que un diámetro en la superficie de contacto de la ruta de fluido 5772a y / o la ruta de fluido 5772b y el primer volumen de reactivo 5742 y el segundo volumen de reactivo 5744, de forma respectiva. Por lo tanto, las rutas de fluido 5772a, 5772b se comportan sustancialmente como boquillas para acelerar el flujo de las partículas de transducción, los reactivos o similares. En algunos aspectos, las secciones transversales se pueden configurar de tal modo que los reactivos se expulsen de la salida 5774a y / o las salidas 5774b a una velocidad previamente definida de flujo, por ejemplo, 1 ml / s, 2 ml / s, 3 ml / s, 4 ml / s, 5 ml / s, o cualquier otra velocidad adecuada de flujo, por ejemplo, para asegurar un mezclado rápido y completo y reducir al mínimo la aeración. En algunos aspectos, la ruta de fluido 5772a y / o la ruta de fluido 5772b se pueden configurar de tal modo que las salidas 5774a y / o la salida 5774b se coloquen por debajo de una superficie de la muestra dentro de la cámara de reacción 5732.

40 En algunos aspectos, el alojamiento 5741 puede incluir una serie de perforadores 5792a, 5792b colocados en una base del primer volumen de reactivo 5742 y el segundo volumen de reactivo 5744, de forma respectiva. La serie de perforadores se puede configurar para romper la porción frágil 5784a, 5784b del recipiente del reactivo 5780a, 5780b en múltiples ubicaciones, por ejemplo, para asegurar, la expulsión eficiente de los reactivos contenidos en el mismo.

50 En algunos aspectos, un módulo de reactivo de un recipiente puede incluir un accionador individual y un volumen del reactivo individual. Las figuras 30 - 32 muestran una vista en sección trasversal lateral de un montaje de recipiente 6700 de acuerdo con un aspecto, en una primera configuración, una segunda configuración y una tercera configuración, de forma respectiva. El montaje del recipiente 6700 incluye una cámara de reacción 6732 acoplable de manera reversible con un módulo de reactivo 6740. El módulo de reactivo 6740 incluye un alojamiento 6741, que define un volumen de reactivo 6742 que contiene un primer recipiente de reactivo 6780a y un segundo recipiente de reactivo 6780b. El alojamiento también incluye un accionador 6750 colocado en el volumen del reactivo 6742, y una porción de distribución 6770. El montaje del recipiente 6700 se puede usar y / o manipular por medio de cualquier instrumento que se describe en el presente documento, por ejemplo, el instrumento 1100, 11000 y / o cualquiera de

los componentes que se describen en el presente documento. El montaje de recipiente 6700 también se puede usar para llevar a cabo cualquiera de los métodos que se describen en el presente documento, por ejemplo, los métodos 200 y / o 300.

5 En algunos aspectos, el accionador 6750 puede incluir una porción de acoplamiento 6752 y una porción de émbolo 6754. La porción de acoplamiento 6752 del accionador 6750 se puede configurar para mover la porción de émbolo 6754 dentro del volumen de reactivo 6742. En algunos aspectos, la porción de émbolo 6754 del accionador 6750 incluye un sello hermético a fluidos 6769 para aislar con respecto a fluidos el volumen de reactivo 6742 de un volumen fuera del alojamiento 6741. En algunos aspectos, el sello 6769 puede ser, por ejemplo, una junta, un anillo tórico, un sello de caucho, o cualquier sello adecuado.

10 En algunos aspectos, los recipientes del reactivo 6780a, 6780b se pueden colocar en el volumen de reactivo 6742, de tal modo que el primer recipiente de reactivo 6780a este próximo a la porción de distribución 6770 del alojamiento 6741. En particular, el primer recipiente del reactivo 6780a se coloca entre la porción de distribución 6770 y el segundo recipiente del reactivo 6780b. El primer recipiente del reactivo puede contener un primer reactivo, por ejemplo, la partícula de transducción. El segundo recipiente del reactivo 6780b se puede colocar en la parte superior del primer recipiente de reactivo 6780a, de tal modo que la porción frágil 6784b del segundo recipiente del reactivo 6780b se una a tope a la porción de fondo 6788a del primer recipiente de reactivo 6780a, y la porción de fondo 6788b del segundo recipiente del reactivo 6780b se une a tope a la porción de émbolo 6754 del accionador 6750. El segundo recipiente del reactivo 6780b puede contener un segundo reactivo, por ejemplo, un sustrato tal como tridecanal. El volumen de reactivo 6742 también puede incluir una serie de perforadores 6792 colocados en el volumen del reactivo 6742, que se configuran para perforar la porción frágil 6784a del recipiente del reactivo 6780a, y la porción frágil 6784b del recipiente del reactivo 6780b.

25 La porción de distribución 6770 define una ruta de fluido 6772 que puede definir un eje longitudinal que está paralelo a un eje longitudinal definido por la cámara de reacción 6732. En algunos aspectos, un diámetro de la ruta de fluido 6772 en la salida 6774 puede ser más pequeño que un diámetro de la ruta de fluido 6772 en la superficie de contacto del volumen de reactivo 6742, de tal modo que la ruta de fluido 6772 se asemeje sustancialmente y / o se comporte como una boquilla. En algunos aspectos, las rutas de fluido se pueden configurar de tal modo que los reactivos se expulsan de la salida 6774 a una velocidad previamente definida de flujo, por ejemplo, 1 ml / s, 2 ml / s, 30 3 ml / s, 4 ml / s, 5 ml / s, o cualquier otra velocidad adecuada de flujo, por ejemplo, para asegurar un rápido y completo mezclado y / o reducir al mínimo la aeración.

35 En la operación, cualquier instrumento adecuado puede manipular la porción de acoplamiento 6752 del accionador 6750, de tal modo que la porción de émbolo 6754 se desplaza desde una primera posición tal como se muestra en la primera configuración (la figura 30) a una segunda posición tal como se muestra en la segunda configuración (la figura 31) dentro del volumen de reactivo 6742. La porción de émbolo 6754 aplica una fuerza en la porción de fondo 6788b del segundo recipiente del reactivo 6780b, desplazando al segundo recipiente de reactivo 6780b desde una primera posición a una segunda posición. El segundo recipiente de reactivo 6780b comunica la presión aplicada por la porción de émbolo 6754 a la porción de fondo 6788a del primer recipiente de reactivo 6780a, a través de la porción frágil 6784b. La fuerza provoca que la porción frágil 6784a del primer recipiente de reactivo 6780a presione contra la serie de perforadores 6792, de tal modo que la porción frágil 6784a rompa y el reactivo contenido en la misma se comunique a través de la salida 6774 de las rutas de fluido 6772 en la cámara de reacción 6732.

45 En la tercera configuración (la figura 31), la porción de acoplamiento 6752 del accionador se manipula adicionalmente de tal modo que la porción de émbolo 6754 se desplaza desde la segunda posición a una tercera posición dentro del volumen de reactivo 6742. El desplazamiento de la porción de émbolo 6754 a la tercera posición también desplaza el segundo recipiente de reactivo 6780b desde la segunda posición a una tercera posición. En esta configuración, el primer recipiente de reactivo 6780a se vacía de los contenidos que están contenidos en el mismo y se encuentra en un estado colapsado de tal modo que el perforador 6792 penetra a través de la porción de fondo 6788a del primer recipiente de reactivo 6780a y rompe la porción frágil 6784b del segundo recipiente de reactivo 6780b. El segundo recipiente de reactivo 6780b por lo tanto se coloca en comunicación de fluidos con la ruta de fluido 6772 y comunica el recipiente de reactivos en el mismo, por ejemplo, el sustrato, a través de la salida 6774 y en la cámara de reacción 6732.

55 En algunos aspectos, un recipiente puede incluir un accionador individual con accionamiento por etapas para la distribución de un primer reactivo (por ejemplo, vectores biológicos o abiológicos, partículas de transducción y / o vector viral manipulado por ingeniería) y un segundo reactivo (por ejemplo, un sustrato) en diferentes etapas de accionamiento. La figura 33 muestra una vista en despiece ordenado de un montaje de recipiente 7700 que incluye una cámara de reacción 7732 y un módulo de reactivo 7740. Las figuras 34 - 36 muestran el montaje de recipiente 7700 en una primera configuración, una segunda configuración y una tercera configuración, de forma respectiva. La cámara de reacción 7732 se puede acoplar de manera amovible con el módulo de reactivo 7740. El montaje de recipiente 7700 se puede usar con y / o manipular por cualquiera de los instrumentos que se describen en el presente documento, por ejemplo, el instrumento 1100, 11000 y / o cualquiera de los componentes que se describen en el presente documento. El montaje del recipiente 7700 también se puede usar para llevar a cabo cualquiera de los métodos que se describen en el presente documento, por ejemplo, los métodos 200 y 300.

La cámara de reacción 7732 se puede formar de un material rígido, inerte y de peso ligero, por ejemplo, plástico. Al menos una porción de la cámara de reacción 7732 puede ser parcialmente transparente, por ejemplo, para permitir la detección y / o visión del volumen interno de la cámara de reacción 7732, por ejemplo, para detectar una reacción de luminiscencia que se presenta en la misma. En algunos aspectos, la cámara de reacción 7732 se puede formar como un cilindro con un fondo redondeado o una base plana. En algunos aspectos, la cámara de reacción 7732 puede tener cualquier otra forma adecuada, por ejemplo, cuadrada, rectangular, ovalada, poligonal, etc. En algunos aspectos, la cámara de reacción 7732 puede tener un diámetro de 12 m y una altura de 75 mm. En algunos aspectos, el montaje de recipiente 7700 puede incluir una o más soluciones / reactivos (por ejemplo, solución nutriente bacteriana, amortiguadores, agentes tensioactivos, partícula de transducción y / o antibióticos), colocado previamente dentro de la cámara de reacción 7732. La cámara de reacción 7732 puede incluir rosca 7745 para el acoplamiento amovible con un módulo de reactivo 7740. En algunos aspectos, la cámara de reacción 7732 se puede acoplar de manera amovible con el módulo de reactivo 7740 mediante un ajuste a presión, ajuste por fricción o cualquier otro mecanismo adecuado.

Tal como se muestra en la figura 33, el módulo de reactivo 7740 puede incluir un alojamiento 7741. El alojamiento 7741 se puede formar de un material rígido y de peso ligero, por ejemplo, plástico moldeado por inyección. El alojamiento 7741 incluye un primer soporté de compresión 7748a y un segundo soporte de compresión 7748b. Los soportes de compresión 7748a, 7748b se configuran para montar de manera fija o amovible un primer recipiente del reactivo 7780a y un segundo recipiente de reactivo 7780b, de forma respectiva, y para proporcionar un soporte rígido durante la compresión al primer recipiente de reactivo 7780a y el segundo recipiente de reactivo 7780b, tal como se describe adicionalmente en lo sucesivo. Los soportes de compresión 7748a, 7748b pueden incluir características para montar los recipientes del reactivo 7780a, 7780b a los mismos. Estas características de montaje pueden incluir, por ejemplo, muescas, ranuras, retenes, mellas, ranuras y / o una superficie adhesiva. Una superficie de cada uno de los soportes de compresión 7748a, 7748b en las cuales se montan los respectivos recipientes de reactivo 7780a, 7780b se encuentra en ángulo con respecto a un eje longitudinal definido por el alojamiento 7741 y / o la cámara de reacción 7732. La superficie en ángulo puede ser benéfica, por ejemplo, para permitir el flujo suave (por ejemplo, uniforme y / o controlados) del reactivo y / o sustrato y con poco volumen muerto, de los recipientes de reactivo 7780a, 7780b en la cámara de reacción 7732.

El módulo de reactivo 7740 incluye un accionador 7750, que se configura para deslizarse dentro de un volumen interno definido por el alojamiento 7741. El accionador 7750 se configura de tal modo que una pared lateral del accionador 7750 y una pared lateral del alojamiento 7741 formen un sello hermético con respecto a fluidos. Por lo tanto, en el uso, el accionador 7750 se puede desplazar dentro del alojamiento 7741 en tanto que mantiene un sello sustancialmente hermético en fluidos. Tal como se muestra en la figura 34, el alojamiento 7741 y el accionador 7750 se pueden configurar para configurar un primer volumen de reactivo 7742 y un segundo volumen de reactivo 7744 que están separados al menos en parte por una pared lateral 7746 (las figuras 34 - 36), y al menos en parte por una pared lateral de los soportes de compresión 7748a, 7748b. El accionador incluye una porción de acoplamiento 7752 configurada para que se manipule por un instrumento, por ejemplo, el instrumento 1100 o cualquier otro instrumento que se muestra y se describe en el presente documento.

El accionador 7750 incluye un primer miembro de compresión 7754 que se puede formar para asemejar, por ejemplo, una pinza en ángulo. El primer miembro de compresión 7754 puede ser un componente separado que se puede formar de un material rígido, por ejemplo, aluminio, acero, acero inoxidable, o plástico. El primer miembro de compresión 7754 tiene una porción de acoplamiento 7755 y una porción de compresión 7756, que esta inclinada en un ángulo lejos del eje longitudinal definido por el alojamiento 7741. En particular, el ángulo es sustancialmente similar al ángulo definido por la superficie en ángulo del primer soporte de compresión 7748a. El primer miembro de compresión 7754 también incluye una porción deslizante 7757 que se une a tope a la pared lateral 7746 del accionador 7750 y se configura para deslizarse en un espacio 7747 entre la pared lateral 7746 y el primer soporte de compresión 7748a tal como se describe adicionalmente en lo sucesivo. La porción de acoplamiento 7755 del primer miembro de compresión 7754 puede incluir un resorte de acoplamiento 7758 acoplado con la porción de acoplamiento 7755. El resorte de acoplamiento 7758 puede ser un resorte de compresión, por ejemplo, un resorte helicoidal, un resorte en espiral, un resorte Belleville, un resorte ahusado y puede incluir arandelas (que no se muestran) para el montaje en la porción de acoplamiento 7755. En el extremo del resorte de acoplamiento 7758 distal con respecto al primer miembro de compresión 7754 se puede acoplar con el accionador 7750, por ejemplo, montado en una espiga, mandril o similares, adicionalmente configurado de tal modo que el acoplamiento del accionador 7750, acopla el resorte de acoplamiento 7758 y el primer miembro de compresión 7754.

El accionador 7750 también puede incluir un segundo miembro de compresión 7760 que puede ser una parte integral del accionador 7750, por ejemplo, formado en el mismo proceso de moldeo por inyección. El segundo miembro de compresión 7760 se puede formar para asemejarse a un plano inclinado que se encuentra en ángulo lejos del eje longitudinal definido por el alojamiento 7741. El ángulo puede ser sustancialmente similar al ángulo definido por la superficie inclinada del segundo soporte de compresión 7748b. En algunos aspectos, el primer miembro de compresión 7754 y / o el segundo miembro de compresión 7760 puede incluir uno o una serie de perforadores, por ejemplo, espigas, púas, espigas, o cualquier otro miembro perforador adecuado para perforar una porción frágil de los recipientes de reactivo 7780a, 7780b, tal como se describe en el presente documento.

El alojamiento 7741 también puede incluir una primera salida de fluido 7774a y una segunda salida de fluido 7774b para comunicar los reactivos del primer volumen de reactivo 7742, por ejemplo, los vectores biológicos o abiológicos, partículas de transducción y / o vector viral manipulado por ingeniería y el segundo volumen de reactivo 7744, por ejemplo, sustrato, en la cámara de reacción 7732. Las salidas de fluido 7774a, 7774b pueden ser una
 5 abertura y / o espacio entre los soportes de compresión 7748a, 7748b y una pared lateral del alojamiento 7741. En algunos aspectos, el alojamiento 7741 puede incluir rutas de fluido, por ejemplo, boquillas, boquillas en ángulo, tubos, y / o cualquier otro conducto de fluido adecuado, por ejemplo, para facilitar el rápido mezclado y / o reducir al mínimo la aeración, tal como se describe en el presente documento.

El primer recipiente de reactivo 7780a y el segundo recipiente de reactivo 7780b se pueden colocar en el primer soporte de compresión 7748a y el segundo soporte de compresión 7748b, de forma respectiva, tal como se ha descrito en lo que antecede. Los recipientes de reactivo 7780a, 7780b pueden incluir cada uno una pared lateral 7782a, 7782b y un miembro frágil 7784a, 7784b que definen de forma colectiva un volumen interno. El volumen interno de los recipientes de reactivo se puede rellenar completamente o de manera parcial con un reactivo, por
 10 ejemplo, el primer recipiente de reactivo 7780a puede contener partículas de transducción (por ejemplo, partícula de transducción 160 o cualquier otra partícula de transducción que se describe en el presente documento), que puede incluir un ácido nucleico manipulado por ingeniería (por ejemplo, el ácido nucleico manipulado por ingeniería 170) formulado para hacer que la célula diana (por ejemplo, bacteria) produzca una pluralidad de moléculas indicadoras (por ejemplo, luciferasa). El segundo recipiente de reactivo 7780b puede contener un sustrato, por ejemplo, tridecanal, que puede interactuar con la molécula indicadora, por ejemplo, luciferasa, para activar, catalizar, producir y / o mejorar la producción de una señal mensurable, por ejemplo, mediante una reacción de luminiscencia.

Los recipientes de reactivo 7780a / b se pueden construir de materiales que son sustancialmente impermeables a / o sustancialmente inertes químicamente de la sustancia contenida en los mismos, por ejemplo, partícula de transducción, sustrato, antibióticos, amortiguadores, agentes tensioactivos, o cualquier otro reactivo que se pueda requerir para el ensayo de detección. Por lo tanto, los reactivos se pueden almacenar en los recipientes del reactivo 7780a / b durante periodos prolongados de tiempo. Por ejemplo, la pared lateral 7782a / b de los recipientes de reactivo 7784a / b se puede formar de un material flexible e inerte, por ejemplo, plástico de blíster, hoja de aluminio, o cualquier otro material adecuado. Además, en algunos aspectos, el miembro frágil 7784a / b se puede construir de un material que tiene ciertas características de temperatura de tal modo que las propiedades deseadas y la integridad del miembro frágil 7780a / b se mantengan sobre una cierta temperatura. Por ejemplo, en algunos aspectos, puede ser deseable almacenar en el recipiente de reactivo 7780a / b que contiene el reactivo o sustrato en una condición refrigerada o puede ser deseable fabricar el recipiente de reactivo 7784a / b a laminar de manera
 25 térmica el miembro frágil 7784a / b. En estos aspectos, el miembro frágil, 7784a / b se pueden seleccionar de tal modo que la condición de refrigeración y / o condición de laminación térmica no degrade sustancialmente las propiedades deseadas y la integridad del miembro frágil 7784a / b para la aplicación propuesta. En algunos aspectos, el miembro frágil 7784a / b se puede construir de una película de polímero, tal como cualquier forma de polipropileno. En algunos aspectos, el miembro frágil 7784a / b se puede construir de polipropileno de biaxialmente orientado (BOP, *biaxially oriented polypropylene*). En algunos aspectos, el miembro frágil 7784a / b se puede construir de aluminio. Las porciones frágiles 7784a / b de los recipientes de reactivos se pueden configurar para romperse cuando se comprimen, por ejemplo, por los miembros de compresión 7754 / 7760 del accionador 7750 tal como se describe adicionalmente en lo sucesivo, y liberar el reactivo contenido en las mismas.

Tal como se muestra en la figura 34 el montaje de recipiente 7700 se puede mantener inicialmente en una primera configuración, en la cual el módulo de reactivo 7740 se acopla con la cámara de reacción 7732, y el accionador 7750 se encuentra en una primera posición. El primer miembro de compresión 7754 se encuentra en una primera posición, en la cual la porción de acoplamiento 7756 se encuentra en contacto con la porción frágil 7784a del primer recipiente de reactivo 7780a pero que no aplican ninguna fuerza de compresión y el resorte de acoplamiento 7758 está completamente sin comprimir. El segundo miembro de compresión 7760 también se encuentra en una primera posición en donde el segundo miembro de compresión no se encuentra en contacto con la porción frágil 7784b del segundo recipiente de reactivo 7780b.

En la segunda configuración (la figura 35), la porción de acoplamiento 7752 del primer accionador 7750 se manipula para desplazar el accionador 7750 dentro del alojamiento 7741 de la primera posición, o una segunda posición. El desplazamiento del accionador 7750 empuja el resorte de acoplamiento 7758 para comprimir y ejercer una fuerza en el primer miembro de compresión 7754. La fuerza desplaza el primer miembro de compresión 7754, desde la primera posición a una segunda posición tal como se muestra en la figura 35, en donde la porción deslizante 7757 del primer miembro de compresión 7754 se desliza con la pared lateral 7746 en la abertura 7747 entre el primero y segundo soportes de compresión 7748a, 7748b. La porción de acoplamiento 7756 del primer miembro de compresión 7754 ejerce una fuerza compresiva en la porción frágil 7784a del primer recipiente de reactivos 7780a, de tal modo que la porción frágil 7784a se rompe liberando sus contenidos (por ejemplo, partículas de transducción) en el primer volumen de reactivo 7742. El reactivo entonces fluye a través de la primera salida 7774a y en una solución en la cámara de reacción 7732, por ejemplo, una muestra de paciente que contiene la célula diana. El segundo miembro de compresión 7760 también se desplaza desde la primera posición a una segunda posición, en donde está cerca la porción frágil 7784b del segundo recipiente de reactivo 7780b y / o hace contacto con la porción frágil 7784b sin romperla.

En la tercera configuración (la figura 36), la porción de acoplamiento 7752 del accionador 7750 se manipula para desplazarse dentro del alojamiento 7741 desde la segunda posición a una tercera posición. El desplazamiento del accionador 7750 impulsa adicionalmente al resorte de acoplamiento 7758 para comprimir y ejercer una fuerza en el primer miembro de compresión 7754. En esta posición, el desplazamiento adicional del primer miembro de compresión 7754 se impide por el primer soporte de compresión 7748a y el resorte de acoplamiento 7758 se comprime de manera sustancial. El segundo miembro de compresión 7760 también se desplaza desde una segunda posición a una tercera posición, en donde el segundo miembro de compresión 7760 ejerce una fuerza compresiva en la porción frágil 7784b del segundo recipiente de reactivo 7780b. Esto hace que la porción frágil 7784b se rompa y libere sus contenidos, por ejemplo, sustrato en el segundo volumen de reactivo 7744. El reactivo entonces fluye a través de la segunda salida 7774b y en una solución en la cámara de reacción 7732, por ejemplo, una muestra que contiene la célula diana y moléculas indicadoras producidas por las células diana.

Tal como se ha descrito en lo que antecede, en algunos aspectos, una porción de distribución se puede configurar para distribuir uno o más reactivos en una cámara de reacción de una manera que promueve el mezclado, que reduce al mínimo la aeración, rociado excesivo y / o turbulencia indeseable. Por ejemplo, en algunos aspectos, un módulo de reactivo de un recipiente puede incluir una porción de distribución que está inclinada y / o descentrada en sentido angular con respecto a un eje longitudinal del módulo de reactivo y / o la cámara de reacción. Este arreglo, puede dirigir un flujo de reactivo (por ejemplo, partículas de transducción, sustrato o similares) de una manera que mejora el mezclado, detección o similares. En particular, las figuras 37 - 38 muestran una vista esquemática lateral en sección transversal de un montaje de recipiente 8700 de acuerdo con un aspecto, en una primera configuración y una segunda configuración, de forma respectiva. El montaje de recipiente 8700 se puede usar con y / o manipular por cualquiera de los instrumentos que se describen en el presente documento, por ejemplo, el instrumento 1100, 11000 y / o cualquiera de los componentes que se describen en el presente documento. El montaje del recipiente 8700 también se puede usar para llevar a cabo cualquiera de los métodos que se describen en el presente documento, por ejemplo, los métodos 150, 200 y 300.

El montaje de recipiente 8700 incluye una cámara de reacción 8732 que se puede acoplar de manera reversible con un módulo de reactivo 8740. La cámara de reacción 8732 puede tener una muestra S colocada en la misma, por ejemplo, una solución de muestra, que incluye una muestra de paciente, célula diana, partículas de transducción, y / o moléculas indicadoras. En el uso, el montaje del recipiente 8700 se puede acoplar de manera operativa con un detector 1200 de tal modo que la cámara de reacción 8732 este en comunicación (por ejemplo, comunicación óptica) con el detector 1200. A pesar de que los aspectos que se describen en el presente documento se han mostrado como que están acopladas de forma óptica con el detector 1200, se puede usar cualquier otro detector que se describe en el presente documento.

El módulo de reactivo 8740 incluye un alojamiento 8741, un miembro de distribución 8770 y un accionador 8750. El alojamiento 8741 define un volumen de reactivo 8742, que puede contener un reactivo colocado en el mismo. El reactivo puede ser cualquier reactivo adecuado, tal como cualquiera de los sustratos que se describen en el presente documento.

El accionador 8750 incluye una porción de émbolo 8754 configurada para encontrarse en comunicación de fluidos con el reactivo colocado en el volumen de reactivo 8742. El accionador 8750 se puede configurar para transportar el reactivo desde el volumen de reactivo 8742 a la cámara de reacción 8732 a través del miembro de distribución 8770 (por ejemplo, mediante una ruta de fluido 8772). El miembro de distribución 8770 incluye una primera porción 8774 que está colocada sustancialmente dentro del volumen de reactivo 8742 y próxima al émbolo. El miembro de distribución 8770 incluye también una segunda porción 8776 colocada sustancialmente dentro de la cámara de reacción 8732, cuando la cámara de reacción 8732 se acopla con el módulo de reactivo 8740.

El miembro de distribución 8770 esta descentrado en sentido angular con respecto a un eje longitudinal del módulo de reactivo 8740 y / o la cámara de reacción 8732. De manera más particular, tal como se muestra en la figura 37, la línea central de la ruta de fluido que define el eje del miembro de distribución 8770 está orientada en un ángulo θ lejos del eje longitudinal. En algunos aspectos, el ángulo θ puede ser de aproximadamente 30 grados. En algunos aspectos, el ángulo θ puede estar entre aproximadamente 15 - 45 grados.

En la operación, el accionador 8750 se puede manipular al aplicar una fuerza en el accionador 8750 tal como se muestra por medio de la flecha AA en la figura 38, por ejemplo, usando un mecanismo de manipulación del instrumento 1100. Esto impulsa a la porción de émbolo 8754 a desplazarse dentro del volumen de reactivo 8742 desde una primera posición, tal como se muestra en la primera configuración (la figura 37), a una segunda posición como muestra en la segunda configuración (la figura 38). La porción de émbolo 8754 transporta y / o expulsa el reactivo (por ejemplo, sustrato) contenido en el volumen de reactivo 8742 a través de la ruta de fluido 8772. Expuesto de forma similar, la porción de émbolo 8754 se mueve dentro del volumen del reactivo a lo largo del eje longitudinal para producir un flujo de un reactivo a partir del volumen de reactivo por medio de la ruta de fluido 8772.

Tal como se muestra en la figura 38, la orientación inclinada de la porción de distribución 8770 provoca que el reactivo expulsado siga una ruta inclinada tal como se muestra por medio de la flecha BB (la figura 38), de tal modo que la corriente de reactivo golpea en una pared lateral de la cámara de reacción 8732. La corriente de reactivo

entonces fluye hacia abajo de la pared lateral de la cámara de reacción 8732 como muestra por medio de la flecha CC (la figura 38) y se mezcla con la muestra S a una menor velocidad de fluido, reduciendo de este modo al mínimo y/o eliminando la aeración y/o la producción de burbujas dentro de la muestra. La reducción al mínimo de la aeración, puede permitir el mezclado del reactivo con la muestra S e incrementar la calidad de la señal que se detecta por medio del detector 1200. Por ejemplo, en algunos aspectos, el montaje del recipiente 8700 se puede usar en conexión con un sistema de indicador y reactivo (por ejemplo, sustrato) que se formulan para producir de forma colectiva una reacción instantánea en respuesta a la adición del sustrato a la muestra dentro de la cual se han expresado las moléculas indicadoras. En estos aspectos, el arreglo del miembro de distribución 8770 puede permitir que el sustrato se mezcle de manera suficiente con la muestra, en tanto que también reduce al mínimo la aeración de la muestra, la producción de burbujas, el salpicado excesivo o similares, todo lo cual puede ser perjudicial para que la detección óptica se complete en un periodo corto de tiempo (por ejemplo, en un periodo de segundos) después de la distribución del sustrato.

A pesar de que el módulo de reactivo 8740 se ha mostrado y descrito en lo que antecede como que incluye un miembro individual de distribución que dirige el flujo de un reactivo a lo largo de una porción de una pared lateral de la cámara de reacción 8732, en otros aspectos, un módulo de reactivo 8740 puede incluir múltiples miembros diferentes de distribución y/o un miembro de distribución con múltiples puntos de salida para facilitar la distribución rápida del reactivo en el mismo, en tanto que también reduce al mínimo la aeración, la producción de burbujas o similares. En algunos aspectos, un módulo de reactivo de un recipiente puede incluir un miembro de distribución que está configurado para producir un flujo anular de un reactivo colocado en el módulo de reactivo, de tal modo que el reactivo fluye de manera sustancialmente circunferencial alrededor de la pared lateral de la cámara de reacción. Por ejemplo, las figuras 39 - 40 muestran una vista lateral en sección transversal de un montaje de recipiente 9700 de acuerdo con un aspecto, en una primera configuración y una segunda configuración. El montaje del recipiente 9700 incluye una cámara de reacción 9732 que se puede acoplar de manera reversible con un módulo de reactivo 9740. El montaje de recipiente 9700 se acopla con un detector 1200 de tal modo que la cámara de reacción 9732 se encuentra en comunicación óptica con el detector 1200. El montaje de recipiente 9700 se puede usar y/o manipular por medio de cualquier instrumento que se describe en el presente documento, por ejemplo, un instrumento 1100, 11000 y/o cualquiera de los componentes que se describen en el presente documento. El montaje de recipiente 9700 también se puede usar para llevar a cabo los métodos que se describen en el presente documento, por ejemplo, los métodos 150, 200 y/o 300. En algunos aspectos, el montaje de recipiente 9700 se puede usar para detectar una señal producida por una reacción de luminiscencia instantánea. En tanto que los aspectos que se describen en el presente documento se han mostrado acopladas ópticamente con el detector 1200, se puede usar cualquier otro detector que se describe en el presente documento.

La cámara de reacción 9732 puede tener una muestra S colocada en la misma, por ejemplo, una solución de muestra que incluye una muestra del paciente, célula diana, partículas de transducción y/o moléculas indicadoras. La cámara de reacción 9732 puede ser similar a cualquiera de las cámaras de reacción aspectos que se describen en el presente documento por lo tanto no se describe en detalle.

El módulo de reactivo 9740 incluye un alojamiento 9741 que define un volumen de reactivo 9742, que puede tener un reactivo colocado en el mismo, por ejemplo, un sustrato. El alojamiento 9741 también incluye un accionador 9750 colocado en el volumen de reactivo 9742. El volumen de reactivo 9740 incluye una porción frágil 9784 y un miembro de distribución 9770.

El accionador 9750 incluye una porción de émbolo 9754 en comunicación de fluidos con el reactivo colocado en el volumen de reactivo 9742. La porción de émbolo 9754 se configura para moverse dentro del alojamiento 9741 para transportar el reactivo desde el volumen de reactivo 9742 a la cámara de reacción 9732 a través de la porción frágil 9784.

El miembro de distribución 9770 se configura para definir una porción perforadora 9772 y una pared lateral redondeada y/o curvada 9774. En algunos aspectos, las paredes laterales 9774 pueden estar ahusadas, contorneadas y/o incluir graduaciones. A pesar de que la porción de distribución 9770 se muestra como que está colocada sustancialmente dentro de la cámara de reacción 9732, en otros aspectos, se puede colocar una porción sustancial del miembro de distribución 9770 dentro de y/o acoplada con el módulo de reactivo 9740. El miembro de distribución 9770 puede ser una parte integral o bien de la cámara de reacción 9732 o bien del módulo de reactivo 9740.

Tal como se muestra, cuando el módulo de reactivo 9740 se encuentra en la primera configuración (la figura 39), la porción perforadora 9772 se encuentra en contacto con la porción frágil 9784 pero no está aplicando ninguna fuerza perforadora en el miembro frágil 9784. Por consiguiente, el reactivo dentro del volumen de reactivo 9742 se mantiene en aislamiento de fluidos de la cámara de reacción 9732. Cuando el módulo de reactivo 9740 se mueve a la segunda configuración (la figura 40), se aplica una fuerza en el accionador 9750 en una dirección tal como se indica por medio de la flecha DD. Esto provoca que la porción de émbolo 9754 se desplace desde la primera posición a una segunda posición. El desplazamiento de la porción de émbolo 9754 ejerce una fuerza en el miembro frágil 9784 (mediante el reactivo). Esto provoca que el miembro frágil presione contra la porción perforadora 9772 de la porción de distribución y perfora (la figura 40), perforando de este modo la porción frágil 9784. El contorno y/o

forma del miembro de distribución 9770 produce un flujo anular del reactivo alrededor de la pared lateral completa 9774 de la cámara de reacción 9732, tal como se muestra por medio de la flecha EE. La corriente de reactivo entonces puede fluir hacia abajo a lo largo de una pared lateral de la cámara de reacción 9732, reduciendo de este modo al mínimo y / o eliminando la aeración, la producción de burbujas o similares.

5 En algunos aspectos, un módulo de reactivo de un recipiente puede incluir una porción de distribución o miembro de distribución que esta curvado. La figura 41 muestra una sección transversal lateral de un montaje de recipiente 10700 de acuerdo con un aspecto. El montaje de recipiente 10700 incluye una cámara de reacción 10732 acoplable de manera reversible con un módulo de reactivo 10740. El módulo de reactivo 10740 incluye un alojamiento 10741 que define un volumen de reactivo 10742, que puede tener un reactivo colocado en el mismo, por ejemplo, un sustrato. El alojamiento también incluye un accionador 10750 colocado en el volumen de reactivo 10742. El montaje de recipiente 10700 incluye un miembro de distribución 10770. El montaje de recipiente 10700 se puede usar y / o manipular por medio de cualquier instrumento que se describe en el presente documento, por ejemplo, el instrumento 1100, 11000 y / o cualquiera de los componentes que se describen en el presente documento. El montaje de recipiente 10700 también se puede usar para llevar a cabo los métodos aspectos que se describen en el presente documento, por ejemplo, los métodos 150, 200 y / o 300. En algunos aspectos, el montaje de recipiente 10700 se puede usar para detectar una señal producida por una reacción de luminiscencia instantánea.

20 El accionador 10750 incluye una porción de émbolo en comunicación de fluidos con el reactivo, por ejemplo, un sustrato, colocada en el volumen de reactivo 10742. La porción de émbolo 10754 se configura para desplazarse dentro del volumen de reactivo 10742 para transportar el reactivo de desde el volumen de reactivo 10742 a la cámara de reacción 10732 a través de la porción de distribución 10770.

25 El miembro de distribución 10770 se forma de tal modo que define una ruta curvada de fluido 10772. La ruta curvada de fluido 10772 se configura de tal modo que el reactivo se dispensa desde la ruta de fluido en un movimiento oscilante. El movimiento oscilante puede crear, por ejemplo, turbulencia en el flujo del reactivo que puede mejorar, por ejemplo, el mezclado del reactivo con una muestra contenida en la cámara de reacción 10732. En algunos aspectos, las rutas curvadas de fluido 10772 pueden provocar que el reactivo golpee en una pared lateral de la cámara de reacción. El reactivo entonces puede fluir a lo largo de la pared lateral del recipiente para alcanzar la muestra a una menor velocidad, por ejemplo, para reducir el mínimo la aeración.

35 El montaje del recipiente 4700 o cualquiera de los montajes de recipiente aspectos que se describen en el presente documento, se puede acoplar de manera operativa con un detector de cualquier tipo adecuado para detectar una señal producida y / o mejorada por la interacción de una molécula indicadora (por ejemplo, luciferasa) con un sustrato (por ejemplo, tridecanal). Tal como se ha descrito en lo que antecede, en algunos aspectos, los métodos de detección pueden incluir detección de una señal producida por una reacción de luminiscencia instantánea. Estos métodos pueden incluir, por ejemplo, dirigir un flujo de un reactivo (por ejemplo, sustrato) de una manera para mejorar la exactitud con la cual se lee la señal. Expuesto de forma similar, estos métodos pueden incluir, por ejemplo dirigir el flujo de un reactivo (por ejemplo, sustrato) de una manera para reducir al mínimo la turbulencia indeseable, aeración, la producción de burbujas, o similares. Por ejemplo, la figura 42 muestra un método 400 para detectar células diana usando un montaje de recipiente y un detector. El método 400 se puede usar con cualquiera de los montajes de recipiente aspectos que se describen en el presente documento. El detector puede ser el detector 1200, el montaje del detector 11200, o cualquier otro detector que se describe en el presente documento. Una cámara de reacción del montaje del recipiente puede incluir una muestra colocada en la misma. La muestra puede ser por ejemplo, una solución de muestra que contiene una célula diana de la muestra del paciente (por ejemplo, un hisopo nasal que potencialmente contiene MRSA), vector biológico o abiológico, tal como una partícula de transducción (por ejemplo, cualquiera de las partículas de transducción aspectos que se describen en el presente documento), y una serie de moléculas indicadoras producidas de acuerdo con cualquiera de los sistemas indicadores aspectos que se describen en el presente documento.

50 El método incluye acoplar de manera operativa la cámara de reacción del recipiente con un detector, 402. Entonces se comunica a un reactivo en la cámara de reacción usando un miembro de distribución, 404. En algunos aspectos, el reactivo puede ser cualquier sustrato adecuado. En algunos aspectos, el reactivo puede incluir un aldehído de 6 carbonos (hexanal), un aldehído de 13 carbonos (tridecanal) y / o un aldehído de 14 carbonos (tetradecanal), incluyendo todos los aldehídos de longitud de cadena variable de carbono entre los mismos. En algunos aspectos, el reactivo se puede formular para incluir Tween 20 o cualquier otro agente tensioactivo, tridecanal u otros aldehídos y ajustar a un pH particular. El reactivo se puede colocar en un módulo de reactivo del recipiente, por ejemplo, un módulo de reactivo 4740 del montaje del recipiente 4700, o cualquier otro módulo de reactivo tal como se describe en el presente documento.

60 El miembro de distribución puede ser, por ejemplo, la porción de distribución 3770, el miembro de distribución 4770, o cualquier otra estructura y / o mecanismo que defina una ruta de flujo a través de la cual se puede transportar el reactivo. El reactivo se transporta de una manera que fluya a lo largo de una superficie de la cámara de reacción y a la muestra 406. Por lo tanto, tal como se describe en el presente documento, la distribución del reactivo de la muestra, se puede llevar a cabo de una manera que mejore la exactitud con la cual se lee la señal. En algunos aspectos, el transporte puede incluir transportar el reactivo en una dirección no-perpendicular a una superficie de la

muestra. En algunos aspectos, el reactivo se transporta a una velocidad de flujo de al menos un mililitro por segundo. En algunos aspectos, el transporté incluye mover un émbolo en una dirección dentro de un volumen de reactivo, una primera porción de extremo del miembro de distribución colocada dentro del volumen de reactivo y una segunda porción de extremo del miembro de distribución colocada dentro de la cámara de reacción. En algunos aspectos, el movimiento del miembro de distribución transporta el miembro en una dirección de salida no paralela a la dirección, por ejemplo, la porción de distribución 4770.

Al alcanzar la muestra, el reactivo reacciona con la serie de moléculas indicadoras y produce una señal 408. La producción de las moléculas indicadoras puede estar de acuerdo con cualquiera de los sistemas, composiciones, y métodos aspectos que se describen en el presente documento. La señal se recibe por medio del detector, 410. La señal se puede usar, por ejemplo, para determinar una célula viable y / o para indicar un gen presente dentro de una célula diana en la muestra. En algunos aspectos, la recepción de la señal se lleva a cabo durante menos de 60 segundos después del transporte del reactivo.

Cualquiera de los montajes de recipiente que se describen en el presente documento se puede manipular, manejar y / o accionar por medio de cualquier instrumento adecuado para llevar a cabo un proceso de identificación y / o detección en una muestra contenida dentro del montaje de recipiente de acuerdo con cualquiera de los métodos que se describen en el presente documento. Por ejemplo, en algunos aspectos, cualquiera de los montajes que se describen en el presente documento se pueden manipular y / o accionar por medio de un instrumento para llevar a cabo la notificación de células viables y / o las notificaciones de genes de una célula diana dentro de una muestra usando vectores biológicos o abiológicos, tal como, las partículas de transducción, métodos y / o sistemas indicadores de los tipos que se muestran y se describen en el presente documento. Por lo tanto, un sistema (por ejemplo, el recipiente o una serie de recipientes, las partículas de transducción, reactivos y otras composiciones, y un instrumento) se pueden usar para muchos ensayos diferentes, tal como, por ejemplo, la detección rápida y / o automatizada de MRSA, C. difficile, Enterococco resistente a vancomicina, etc. En algunos aspectos, también se puede configurar un instrumento para facilitar, producir, soportar y / o promover una reacción en una muestra contenida en un recipiente y / o serie de recipientes de los tipos que se muestran y se describen en el presente documento. Estas reacciones pueden incluir, por ejemplo, interacción y / o mezclado de las partículas de transducción (por ejemplo, cualquiera de las partículas de transducción que se describen en el presente documento) con una muestra, interacción y / o mezclado de una molécula indicadora (por ejemplo, luciferasa) con un sustrato (por ejemplo, tridecanal). Estas reacciones pueden, producir, de acuerdo con los métodos que se describen en el presente documento, una señal, por ejemplo, mediante una reacción de luminiscencia, que se puede detectar por medio de los componentes que están incluidos en los métodos que se describen en el presente documento.

En algunos aspectos, un sistema puede incluir un instrumento que incluye varios submontajes y se configura para manipular un recipiente, para accionar un mecanismo de accionamiento de un recipiente para mantener un recipiente y / o detectar una señal producida en el recipiente. Por ejemplo, las figuras 43 - 45 muestran una porción del instrumento 1100 en una primera configuración, una segunda configuración y una tercera configuración, de forma respectiva. El instrumento 1100 se configura para recibir un recipiente, por ejemplo, el recipiente 11700, que puede incluir una muestra colocada en el mismo y puede ser configurado adicionalmente para manipular el recipiente 11700 y detectar una señal producida en el mismo, por ejemplo, mediante una reacción de luminiscencia. El recipiente 11732 define un volumen de reactivo 11742 y un volumen de reacción 11732. El instrumento 1100 incluye un alojamiento 1110 que define un volumen interno que contiene y / o soporta un detector 1212, un miembro de retención 1610, un miembro de activación 1636 y un accionador 1652. En tanto que se muestra como que recibe el recipiente 11700, el instrumento 1100 se puede configurar para recibir cualquier montaje del recipiente que se describe en el presente documento, y se puede usar para llevar a cabo cualquiera de los métodos que se describen en el presente documento, por ejemplo, los métodos 150, 200, 300 o 400.

Tal como se muestra, el miembro de retención 1610 se configura para hacer contacto con una primera porción 11733 de un recipiente de muestra 11700 colocado en el instrumento 1100 para limitar el movimiento del recipiente 11700. Expuesto de forma similar, el miembro de retención 1610 se configura para hacer contacto con el recipiente de muestra 11700 para limitar el movimiento lateral y / o la rotación del recipiente de muestra 11700 en relación con las porciones del instrumento 1100 (por ejemplo, el detector 1212). En algunos aspectos, el miembro de retención 1610 se puede configurar para limitar el movimiento periódico (por ejemplo, vibración) del recipiente de muestra 11700.

El miembro de activación 1636 se acopla con el accionador 1652 y también se acopla de forma móvil con el miembro de retención 1610. El miembro de activación 1636 se configura para acoplarse con una segunda porción 11752 del recipiente 11700 para transportar un reactivo, por ejemplo, sustrato (por ejemplo, tridecanal) desde el volumen de reactivo 11742 en el volumen de reacción 11732. El accionador 1652 se configura para mover el miembro de activación 1636 entre una primera posición (la figura 43), y una segunda posición (la figura 44) y una tercera posición (la figura 45). Expuesto de forma similar, el accionador 1652 se configura para mover el miembro de activación 1636 en relación con el instrumento 1100 y el miembro de retención 1610.

Cuando el miembro de activación 1636 se encuentra en la primera posición, el miembro de retención 1610 se separa de la primera porción 11733 del recipiente 11700 y el miembro de activación 1636 se separa de la segunda porción

11752 del recipiente 11700. Por lo tanto, el recipiente 11700 se puede mover en relación con el detector 1212 (por ejemplo, para colocar el recipiente o similares). Cuando el miembro de activación 1636 se encuentra en una segunda posición (la figura 44), el miembro de retención 1610 se configura para hacer contacto con la primera porción 11733 del recipiente 11700. Por lo tanto, el movimiento del recipiente de muestra 11700 en relación con las porciones del instrumento 1100, tal como el detector, se limita. Adicionalmente, el miembro de activación 1636 permanece separado de la segunda porción 11752 del recipiente 11700 en la segunda configuración. Tal como se muestra en la figura 45, cuando el montaje se mueve a la segunda configuración, una superficie de acoplamiento 1620 del miembro de retención 1610 se encuentra en contacto con una superficie correspondiente 1644 que está incluida en el miembro de activación 1636. La superficie 1644 se forma y / o configura para impulsar a la superficie de acoplamiento 1612 del miembro de retención 1610 para hacer contacto con la primera porción 11733 del recipiente 11700.

De manera más particular, tal como se muestra en la figura 44, cuando el montaje se mueve a la segunda configuración, el accionador 1652 mueve el miembro de activación 1636 en una primera dirección (que se muestra por medio de la flecha AA) definida por el eje longitudinal A_L del recipiente 11700. El acoplamiento de la superficie de acoplamiento 1620 del miembro de retención 1610 y la correspondiente superficie 1644 del miembro de activación 1636 provoca que el miembro de retención 1610 se mueva en una segunda dirección, tal como se muestra por medio de la flecha BB en la figura 44. Expuesto de forma similar, el miembro de activación 1636 se acopla con el miembro de retención 1610 para mover el miembro de retención 1610 en una dirección perpendicular al eje longitudinal A_L y hacia el recipiente 11700.

Tal como se muestra en la figura 44, en la segunda configuración (cuando el miembro de activación 1636 se encuentra en la segunda posición), el recipiente 11700 está colocado en el alojamiento 1110 y / o en contacto con una porción del alojamiento 1110 de tal modo que el recipiente 11700 este separado del detector 1212 por la distancia d . La distancia d define la longitud de la ruta de señal (por ejemplo, la longitud de la ruta óptica) que se va a mantener durante la detección. Además, el miembro de retención 1610 mantiene el recipiente 11700 en contacto con una porción del alojamiento 1110 de tal modo que el movimiento lateral, el bamboleo del lado o el movimiento vertical del recipiente 11700 se limita y / o elimina (véase, por ejemplo, la flecha CC). El mantenimiento de una longitud consistente y repetible de la ruta de la señal puede dar como resultado una medición repetible y de alta calidad de la señal producida en el volumen de reacción del recipiente 11700. En algunos aspectos, el instrumento 1100 se puede usar en conexión con cualquiera de los métodos que se describen en el presente documento para detectar una señal producida por una reacción de luminiscencia instantánea.

Cuando el miembro de activación 1636 se encuentra en la tercera posición (que corresponde a una tercera configuración), el miembro de activación 1636 se acopla con la segunda porción 11752 del recipiente 11700 para transportar el reactivo de volumen 11742 al volumen de reacción 11732, tal como se muestra por medio de la flecha DD en la figura 45. En algunos aspectos, el miembro de activación 1636 puede incluir una porción de émbolo configurada para acoplar con el recipiente 11700 y moverse dentro el volumen de reactivo 11742 del recipiente 11700, cuando el miembro de activación 1636 se mueve desde la primera posición a la segunda posición. De manera más particular, cuando se mueve a la tercera configuración (la figura 45), el accionador 1652 mueve el miembro de activación 1636 adicionalmente a lo largo de la dirección que se muestra por medio de la flecha AD, de tal modo que una porción de émbolo de activación 1636 hace contacto con una porción de acoplamiento 11752 del recipiente 11700 y entonces se mueve en el volumen de reactivo 11743. A medida que el miembro de activación 1636 se mueve desde su segunda posición a su tercera posición (es decir, dentro del volumen de reactivo 11742), transporta el reactivo contenido en el mismo, por ejemplo, el sustrato, tal como, tridecanal en el volumen de reacción 11732. El reactivo fluye en la muestra S e interacciona con la muestra S para producir una señal que se puede detectar por medio del detector 1212. Por ejemplo, el reactivo puede ser tridecanal que interacciona con la molécula indicadora luciferasa presente en la solución de muestra. La interacción produce luminiscencia que se detecta por medio del detector 1212 que puede ser, por ejemplo, un fotodetector.

Cuando el montaje se mueve desde la segunda configuración a la tercera configuración, el miembro de retención 1610 permanece en contacto con la primera porción 11733 del recipiente 11700 en la tercera configuración. Por lo tanto, el reactivo, que puede ser, por ejemplo, un sustrato, se puede adicionar a la muestra cuando el recipiente se encuentra en una posición fija en relación con el detector 1212. Tal como se ha analizado en lo que antecede, el arreglo facilita la medición repetible de la señal.

En algunos aspectos, el instrumento 1100 también puede incluir un segundo miembro de activación (que no se muestra) que se puede configurar para acoplarse con una tercera porción del recipiente de muestra 11700, por ejemplo, para transportar un segundo reactivo, por ejemplo, una partícula de transducción, desde el segundo volumen de reactivo al volumen de reacción. El segundo miembro de activación se puede acoplar de forma móvil con el primer miembro de activación 1636, y se puede configurar para hacer contacto con la tercera porción del recipiente 11700 cuando el miembro de activación 1636 se encuentra en la primera posición (es decir, el montaje se encuentra en la primera configuración). Por lo tanto, en estos aspectos, cuando el montaje se encuentra en la primera configuración, el segundo miembro de activación se puede mover (por ejemplo, por un segundo accionador) para transportar un segundo reactivo.

En algunos aspectos, al menos una porción del segundo miembro de activación se puede colocar de forma móvil dentro del primer miembro de activación 1636. En algunos aspectos, el miembro de retención 1610 también se puede configurar para girar cuando el miembro de activación 1636 se desplaza desde la primera posición a la segunda posición.

5 En algunos aspectos, una porción de un instrumento 2100 puede incluir un montaje de retención que puede incluir una serie de sujetadores para manipular y/o accionar un recipiente de los tipos que se muestran y se describen en el presente documento. Por ejemplo, con referencia ahora a las figuras 46 - 48, un instrumento 2100 incluye un detector 2212, un montaje de retención 2610, un instrumento 2100, un miembro de activación 2636 y un accionador 2652. El instrumento 2100 incluye el montaje de recipiente 11700, que se describe en el presente documento con referencia a las figuras 43 - 45. El instrumento 2100, se puede usar, no obstante, para recibir y/o manipular cualquier otro recipiente que se describe en el presente documento, y se puede usar para llevar a cabo cualquiera de los métodos que se describen en el presente documento, por ejemplo, los métodos 150, 200, 300 o 400.

15 Tal como se muestra en las figuras 43 - 45, el montaje de retención 2610 incluye un primer sujetador 2612a y un segundo sujetador 2612b cada uno configurado para hacer contacto con una primera porción 11733 del recipiente 11700 para limitar el movimiento del recipiente 11700. Por lo tanto, el montaje de retención entre otras funciones, puede facilitar la detección repetible tal como se ha descrito en lo que antecede con referencia a las figuras 43 - 45. Cada sujetador se acopla con un miembro de desviación 2622, por ejemplo, un resorte, configurado para ejercer una fuerza en los correspondientes sujetadores 2612a, 2612b para impulsar los sujetadores hacia una configuración cerrada.

25 El miembro de activación 2636 se acopla de forma móvil con el montaje de retención 2610, y se acopla de manera operativa con el accionador 2652. El accionador 2652 se configura para mover el miembro de activación 2636 en relación con el montaje de retención 2610 y/o el recipiente 11700 entre una primera posición y una segunda posición. El miembro de activación incluye una primera superficie 2642 configurada para hacer contacto con una superficie del montaje de retención 2610 para mantener el primer sujetador 2612a y el segundo sujetador 2612b en una configuración abierta cuando el miembro de activación 2636 se encuentra en la primera posición. Por ejemplo, la figura 46 muestra el instrumento 2100 en la primera configuración de tal modo que el miembro de activación 2636 se encuentra en la primera posición y superficie 2642 del miembro de activación 2636 se encuentra en contacto con el montaje de retención 2610, manteniendo de este modo los sujetadores 2612a, 2612b en la configuración abierta.

35 En la segunda posición, una segunda superficie 2644 del miembro de activación 2636 se configura para hacer contacto con la superficie del montaje de retención 2610 de tal modo que el miembro de desviación 2622 empuja el primer sujetador 2612a y el segundo sujetador 2612b a una configuración cerrada. De manera más particular, cuando se mueve hacia la segunda configuración (la figura 47), el accionador 2652 mueve el miembro de activación 2636 desde su primera posición hasta su segunda posición a lo largo de un eje longitudinal B_L del recipiente 11700 en la dirección que se muestra por medio de la flecha FF. Este movimiento del miembro de activación 2636 provoca que el miembro de retención 2610 este en contacto con la segunda superficie 2644 del miembro de activación 2636. En esta posición, los miembros de desviación 2622 empujan los sujetadores 2612a, 2612b a moverse en una segunda dirección tal como se muestra por medio de la flecha EE de tal modo que los sujetadores 2612a, 2612b hacen contacto con la primera porción 11733 del recipiente 11700. En algunos aspectos, el movimiento del miembro de activación 2636 desde la primera posición a la segunda posición también puede hacer que los sujetadores giren hacia el recipiente 11700.

45 El miembro de activación 2636 se configura para acoplarse con una segunda porción 11752 del recipiente 11700 y transportar un reactivo, por ejemplo, sustrato tal como tridecanal, desde el volumen de reactivo 11742 en la cámara de reacción 11732. De manera más particular, cuando se mueve hacia la tercera configuración, tal como se muestra en la figura 48, el accionador 2652 puede continuar moviendo el miembro de activación 2636 en la dirección que se muestra por medio de la flecha FF, hasta que la porción de émbolo 2638 del miembro de activación 2636 hace contacto con una segunda porción 11752 del recipiente 11700, y se mueve desde una primera posición a una segunda posición dentro del volumen de reactivo 11742 del recipiente 11700. La porción de émbolo 2638 por lo tanto, puede comunicar el reactivo colocado en el volumen de reactivo, por ejemplo, el sustrato tal como tridecanal, en el volumen de reacción 11732. El sustrato puede reaccionar con las moléculas indicadoras, por ejemplo, luciferasa, que están incluidas en la muestra S colocadas en el volumen de reacción 11732 para producir una señal, por ejemplo, luminiscencia que se puede detectar por medio del detector 2212.

60 Tal como se muestra, los sujetadores 2612a, 2612b permanecen en contacto con y de otro modo se acoplan con, se sujetan a, aseguran o sujetan el recipiente 11700 en la tercera configuración. Esto impide el movimiento lateral, bamboleo de lado o movimiento vertical del recipiente 11700 tal como se muestra por medio de la flecha GG, y mantiene una longitud d consistente de la ruta de señal del detector 2212, tal como se ha descrito en lo que antecede. Tal como se muestra, la retención y el accionamiento (por ejemplo, el accionamiento con émbolo) del montaje de recipiente 11700 se logra usando un accionador individual, y con el montaje de retención 2610 y el miembro de activación 2636 configurados de forma cooperativa de tal modo que el reactivo no se puede transportar en el recipiente de muestra 11700 a menos que el recipiente de muestra 11700 esté en la posición deseada para la operación de detección.

En algunos aspectos, un instrumento puede incluir un montaje de detector que puede incluir un alojamiento para recibir un recipiente de muestra y un obturador configurado para reducir al mínimo la luz de fondo, para facilitar la calibración de la detección de la señal o similares. Por ejemplo, tal como se muestra en las figuras 49 - 50, un instrumento puede incluir el montaje de detector 3200. El montaje de detector de 3200 incluye un alojamiento 3202, un detector 3212 y un obturador 3230. El montaje de detector 3200 se configura para recibir un recipiente 12700 para analizar una señal producida en el mismo. Estas señales se pueden producir por cualquiera de los métodos que se describen en el presente documento, tal como, por ejemplo, que resultan de la interacción de un sustrato y una molécula indicadora. En algunos aspectos, la señal se puede producir por una reacción de luminiscencia instantánea. El montaje de detector 3200 se puede configurar para recibir cualquier otro recipiente, por ejemplo, el recipiente 1700 o cualquier otro recipiente que se describe en el presente documento, y se puede usar para llevar a cabo cualquier método que se describe en el presente documento, por ejemplo, el método 150, 200, 300 o 400.

Tal como se muestra, el alojamiento 3202 define un canal 3209 y un volumen de detección 3234. El canal 3209 se configura para recibir el recipiente 12700, o cualquier otro recipiente. El volumen de detección 3234 se configura para colocar el canal 3209 en comunicación con el detector 3212. El alojamiento 3202 incluye además una primera superficie de sello 3206 y una segunda superficie de sello 3207. En el uso, una primera porción 12733 del recipiente 12700 y la primera superficie de sello 12733 aíslan el volumen de detección 3234 de un volumen fuera del alojamiento 3202 cuando se coloca una segunda porción 12732 recipiente 12700 dentro del volumen de detección 3234 (véase, por ejemplo, figura 50). Por lo tanto, la primera porción 12733 del recipiente 12700 y la primera superficie de sello 12733 pueden eliminar y / o limitar la cantidad de ruido de fondo (por ejemplo, luz ambiente) dentro del volumen de detección 3234 cuando el recipiente 12700 se coloca dentro del canal 3209 para la detección de la muestra contenida en el mismo.

El obturador 3230 se coloca dentro del alojamiento 3209. El obturador 3230 se puede mover entre una primera posición de obturador (la figura 49) y una segunda posición de obturador (la figura 50). Cuando el obturador se encuentra en la posición primera de obturador (es decir, una primera configuración del montaje), el obturador 3230 se encuentra en la primera posición de tal modo que la segunda superficie de sello 3207 del alojamiento 3202 y una superficie de sello 3231 del obturador se encuentran en contacto y aíslan el volumen de detección 3234 del canal 3209. En algunos aspectos, la primera superficie de sello 3206 puede ser una junta. Por lo tanto, cuando se encuentra en la primera configuración, ninguna señal de fondo, es decir, nada de luz, puede entrar al volumen de detección 3232. Por lo tanto, cuando se encuentra en la primera configuración, el detector 3212 se puede calibrar y / o se pueden detectar señales de fondo para uso posterior en el procesamiento de los datos de la señal.

Tal como se muestra en la figura 50, el obturador 3230 se puede mover a una segunda posición de obturador de tal modo que el canal 3209 del alojamiento 3202 se encuentra en comunicación con el volumen de detección 3234. Cuando el obturador se encuentra en la segunda posición de obturador, el canal 3209 del alojamiento 3202 se encuentra en comunicación con el volumen de detección 3234. De manera más particular, en algunos aspectos, el obturador 3230 incluye una superficie de activación configurada para que se acople por la segunda porción 12735 del recipiente 12700 de tal modo que el obturador 3230 se puede mover desde la primera posición a la segunda posición (la figura 50) cuando el recipiente 12700 se mueve dentro del canal 3209. Por lo tanto, cuando la segunda porción 12735 recipiente 12700 se coloca en comunicación con el volumen de detección 3234, el obturador 3230 se mueve. Dicho de otro modo, en algunos aspectos, el obturador 3230 puede encontrarse en la primera posición de obturador cuando la segunda porción de extremo 12735 del recipiente 12700 está dentro del canal 3209 fuera del volumen de detección 3234, y el obturador 3230 puede encontrarse en la segunda posición de obturador, cuando la segunda porción de extremo 12735 del recipiente 12700 está colocada dentro del volumen de detección 3234.

Tal como se muestra en la figura 49, el recipiente 12700 se puede mover desde la primera posición hacia abajo (o de manera distal) en el canal 3209 de tal modo que la segunda porción de extremo 12735 del recipiente 12700 hace contacto con el obturador 3230 para impulsar el obturador 3230 desde la primera posición de obturador a la segunda posición de obturador, tal como se muestra por medio de la flecha GG. En algunos aspectos, el obturador 3230 puede incluir una rampa configurada para acoplarse con la segunda porción 12735 del recipiente 12700 cuando la segunda porción 12735 del recipiente 12700 se mueve dentro del canal 3209 hacia el volumen de detección 3234 para mover el obturador 3230 hacia la segunda posición de obturador.

En algunos aspectos, el obturador 3230 se puede configurar para trasladarse dentro del alojamiento 3202 en una dirección decentada de un eje longitudinal del canal 3209. En algunos aspectos, el montaje de detector 2200 también puede incluir un miembro de desviación configurado para empujar el obturador 3230 hacia la primera posición de obturador.

En algunos aspectos, el obturador 3230 puede definir un orificio de calibración (que no se muestra). Cuando el obturador 3230 se encuentra en la primera posición, el orificio de calibración puede estar alineado y / o configurado para colocar una fuente de luz de calibración en comunicación con el volumen de detección 3234, por ejemplo, para calibrar el detector 3212. Cuando el obturador 3230 se encuentra en la segunda posición, el orificio de calibración puede estar aislado del volumen de detección 3234, impidiendo de este modo cualquier fuga de señal del volumen de detección y / o que la luz ambiente entre en el volumen de detección.

En algunos aspectos, un montaje de detector, por ejemplo, el montaje de detector 3200 o cualquier otro montaje de detector que se describe en el presente documento, puede incluir un alojamiento que define un canal configurado para recibir un recipiente de muestra. El alojamiento también puede definir una superficie de sello y volumen de detección que está configurado para colocar el canal en comunicación con un detector. El montaje de detector puede incluir además un obturador, por ejemplo, el obturador 3230 o cualquier otro obturador que se describe en el presente documento, que tiene una porción colocada de forma móvil dentro del alojamiento entre una primera posición de obturador y una segunda posición de obturador. El obturador puede incluir una superficie de sello y una porción de accionamiento que se configura para acoplarse con una porción de extremo distal del recipiente de muestra para mover el obturador desde la primera posición de obturador a la segunda posición de obturador cuando la porción de extremo distal del recipiente se mueve hacia el volumen de detección. La superficie de sello del obturador y la superficie de sello del alojamiento se configuran para aislar el volumen de detección desde el canal del alojamiento cuando el obturador se encuentra en la primera posición de obturador, en tanto que el canal del alojamiento puede encontrarse en comunicación con el volumen de detección cuando el obturador se encuentra en la segunda posición de obturador.

En algunos aspectos, un montaje de detector, por ejemplo, el montaje de detector 3200 o cualquier otro montaje de detector que se describe en el presente documento, puede incluir un alojamiento que define un canal configurado para recibir un recipiente de muestra. El alojamiento también define un volumen de detección que está configurado para colocar el canal en comunicación con un detector, y además incluye una superficie de sello. El montaje de detector también puede incluir un obturador, por ejemplo, el obturador 3230 o cualquier otro obturador que se describe en el presente documento, obturador que define un orificio de calibración que está configurado para recibir una fuente de luz de calibración. El obturador se puede colocar de forma móvil dentro del alojamiento entre la primera posición de obturador y la segunda posición de obturador de tal modo que una superficie de sello del obturador y una superficie de sello del alojamiento se configuren para aislar el volumen de detección del canal del alojamiento cuando el obturador se encuentra en la primera posición de obturador. Adicionalmente, en la primera posición de obturador, el orificio de calibración puede encontrarse en comunicación con el volumen de detección. El obturador se puede configurar de tal modo que el canal del alojamiento puede encontrarse en comunicación con el volumen de detección cuando el obturador se encuentra en la segunda posición de obturador y el orificio de calibración puede estar aislado del volumen de detección.

Con referencia ahora a las figuras 51 - 95, un instrumento 11000 puede incluir un alojamiento 11100, un montaje de calentador 11400, un montaje accionador 11500, un montaje manipulador 11600, y un montaje de detector 11200. El alojamiento 11100, se configura para alojar, contener y / o proporcionar montaje para cada uno de los componentes y / o montajes del instrumento 11000, tal como se describe en el presente documento. El montaje de calentador 11400 se configura para recibir un recipiente, por ejemplo, un montaje de recipiente 3700, tal como se describe en el presente documento, y calentar una muestra contenida en el mismo. Expuesto de forma similar, el montaje de calentador 11400 se configura para mantener una muestra que contiene la célula diana, a una temperatura previamente determinada y durante un periodo de tiempo deseado (por ejemplo, en o por arriba de la temperatura ambiente, 25 grados Celsius, o 37 grados Celsius, durante aproximadamente 2 horas o 4 horas, tal como se describe en el presente documento). El montaje de accionamiento 11500 se configura para accionar, transferir y / o mover el montaje manipulador 11600 (y el montaje de recipiente 3700 acoplado con este) en un espacio tridimensional dentro del alojamiento 11100. Dicho de otro modo, el montaje de accionamiento 11500 puede mover el montaje manipulador 11600 en una dirección X, Y y / o Z dentro del alojamiento 11100. El montaje manipulador 11600 se configura para manipular, sujetar y / o accionar un recipiente (por ejemplo, el montaje de recipiente 3700) dentro del alojamiento 11100. Por ejemplo, el montaje manipulador 11600 se configura para acoplarse de manera liberable con, acoplarse con, retener, asegurar y / o sujetar el montaje de recipiente 3700 para transferir el recipiente desde de una primera ubicación dentro del alojamiento 11100 a una segunda ubicación. Expuesto de forma similar, el montaje manipulador 11600 y el montaje manipulador 11600 se configuran de forma colectiva para transferir el montaje de recipiente 3700 entre un primer submontaje y otro submontaje, y / o accionar un mecanismo de accionamiento del montaje de recipiente 3700, para transferir los reactivos y / o soluciones desde una porción del montaje de recipiente 3700 a otra. El montaje de detector 11200 se configura para detectar una señal, por ejemplo, luminiscencia, desde dentro de al menos una porción del montaje de recipiente 3700. La señal detectada se puede producir por una reacción química que se presenta dentro de una cámara de reacción del recipiente, por ejemplo, la interacción de una molécula indicadora (por ejemplo, luciferasa), con un sustrato (por ejemplo, tridecanal). Cada uno de estos montajes se describe adicionalmente en lo sucesivo en detalle, seguido por una descripción de los varios métodos que se pueden llevar a cabo por el instrumento 11000. A pesar de que el instrumento 11000 se muestra y se describe como que manipula y / o acciona el montaje de recipiente 3700, el instrumento 11000 puede recibir, manipular y / o accionar cualquiera de los montajes de recipiente que se describen en el presente documento.

Tal como se muestra en las figuras 51 - 54, el alojamiento 11100 define un volumen interno para alojar, contener y / o montar los submontajes del instrumento 11000. El alojamiento 11100 se puede formar de cualquier material, rígido, tosco y de peso ligero adecuado. Los materiales de ejemplo incluyen politetrafluoroetileno, polietileno de alta densidad, policarbonato, otros plásticos, acrílico, metal laminado tal como aluminio, cualquier otro material adecuado o una combinación de estos. El alojamiento puede ser sustancialmente liso y estar libre de bordes agudos. El alojamiento incluye las paredes laterales 11102, una tapa 11104 y un panel frontal 11106. La tapa 11104 se monta sobre pivote en las paredes laterales 11102, y puede girar alrededor de su montaje de pivote desde una primera

posición en donde el alojamiento 11100 está cerrado, a una segunda posición en donde el alojamiento 11100 está abierto, por ejemplo, para permitir el acceso de los submontajes colocados dentro del alojamiento 11100. El panel frontal 11106 define una primera abertura 11108 y una segunda abertura 11110. La primera abertura 11108 y la segunda abertura 11110 se configuran para recibir de manera amovible una serie de cartuchos 11300 (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, o aún más; véase la figura 52) tal como se describe en el presente documento. Cada cartucho 11300 puede contener y/o retener una serie de montajes de recipiente, por ejemplo, montaje de recipiente 3700. La primera abertura 11108 se puede configurar para ser una zona de carga, es decir, configurada para recibir de manera amovible serie de cartuchos 11300 que tienen una serie de montajes de recipiente 3700 colocados en la misma. La serie de recipiente puede incluir muestras para el análisis de acuerdo con cualquiera de los métodos que se muestran y se describen en el presente documento. En particular, los recipientes pueden incluir muestras para las cuales se examina la presencia de una célula diana (por ejemplo, MRSA). La segunda abertura 11110 se configura para hacer una zona de descarga, es decir, configurada para recibir de manera amovible una serie de cartuchos 11300 que tienen recipientes colocados en los mismos, los recipientes que alojan muestras que se han analizado por el instrumento, por ejemplo, analizado para la presencia de bacterias usando cualquiera de los submontajes del instrumento 11000, y los métodos que se describen en el presente documento, por ejemplo, el método 400.

El alojamiento 11100 incluye una interfaz 11112 localizada en un lado posterior del alojamiento 11100. La interfaz 11112 incluye un enchufe eléctrico 11122, por ejemplo, para comunicar la energía eléctrica al instrumento 11000. La interfaz 11112 también incluye una interfaz de comunicación 11124, para ejemplo, para permitir la comunicación con un dispositivo externo, por ejemplo, un ordenador local, un ordenador remoto, y/o un sistema de información de laboratorio 1900, mediante una red de área local (LAN, *local area network*), una red de área amplia (WAN, *wide area network*) y/o Internet. La interfaz de comunicación 11124 puede ser una interfaz alámbrica, por ejemplo, DSL y/o RJ45. El alojamiento también incluye desfogues 11110 en la pared posterior 11114 que se configuran para permitir aire, por ejemplo, el aire calentado debido al calor generado por la operación de los submontajes del instrumento 11000, salga. En algunos aspectos, los desfogues 11114 pueden incluir ventiladores para producir un flujo del aire de escape del instrumento 11000 con velocidad incrementada, por ejemplo, para permitir el rápido enfriamiento del instrumento. El alojamiento 11100 también incluye una serie de amortiguadores (por ejemplo, cuatro, cinco o seis) en una superficie de fondo configurados para proporcionar un asiento acojinado del instrumento 11000 en una superficie. Los amortiguadores se pueden hacer de un material de alta fricción y absorbente de vibración, por ejemplo, caucho, y se pueden configurar para absorber cualquier vibración del instrumento 11000, por ejemplo, provocado por un movimiento del montaje de accionamiento 11500, y/o para impedir que el instrumento 11000 se deslice en la superficie en la cual se coloca.

Las figuras 55 - 57 muestran unas vistas en perspectiva del instrumento 11000 desde varios ángulos con el alojamiento 11100 retirado, para mostrar más claramente los componentes internos y los submontajes. El instrumento 11000 incluye una placa base 11118 configurada para proporcionar montajes para acoplarse con los componentes y los submontajes del instrumento 11000. Con referencia ahora también a la figura 58, el instrumento incluye una fuente de alimentación 11120 montada en la placa base 11118. La fuente de alimentación 11120 puede ser cualquier fuente de alimentación disponible en el mercado tal como se conoce comúnmente en la técnica. La fuente de alimentación 11120 se configura para recibir energía eléctrica del enchufe eléctrico 11122, por ejemplo, 110 V a 60 Hz o 220 V a 50 Hz, y convertirla en una energía eléctrica utilizable por los submontajes del instrumento, por ejemplo, reducir el voltaje, reducir el voltaje, controlar la corriente, etcétera.

Con referencia ahora también a la figura 59, el instrumento 1100 incluye un procesador 11126 acoplado con un armazón 11127, por ejemplo, mediante bandas de sujeción, y se colocan en la placa de base 11118 mediante el armazón 11127. El procesador 11126 se puede configurar para controlar la operación de los varios submontajes que están incluidos en el instrumento 11000. Por ejemplo, el procesador 11126 puede ser un ordenador, un circuito lógico programable (PLC, *programmable logic chip*), un microprocesador, un chip ASIC, un chip ARM, y/o una combinación de estos. En algunos aspectos, el procesador 11126 puede incluir algoritmos o software que pueden incluir instrucciones para operar el instrumento 11000, submontajes, por ejemplo, montaje de calentador 11400, montaje de accionamiento 11500, montaje manipulador 11600, montaje de detector 11200, y/o cualquier otro componente que esté incluido en el instrumento 11000. En algunos aspectos, el procesador 11126 también puede ser programable, por ejemplo, configurado para aceptar instrucciones de un usuario, tal como parámetros de operación del instrumento 11000. En algunos aspectos, el procesador 11126 también puede incluir una memoria, por ejemplo, para almacenar el estado y/o cualquier otra información (por ejemplo, recipientes analizados, muestras positivas, muestras negativas) o instrucciones.

Con referencia también ahora a la figura 60, el instrumento 11000 también incluye un módulo de comunicación 11128 acoplado con el montaje 11129, por ejemplo, mediante bandas de sujeción y colocado en la placa base 11118. El módulo de comunicación 11128 se configura para comunicar información a un dispositivo externo, por ejemplo, un sistema de información de laboratorio (LIS), un ordenador remoto, una aplicación de teléfono inteligente y/o servidor remoto del procesador 11126. En algunos aspectos, el módulo de comunicaciones 11128 también se puede configurar para recibir instrucciones para facilitar la puesta en práctica de los métodos que se describen en el presente documento. El módulo de comunicaciones 11128 puede emplear y/o ser compatible con protocolos normales de comunicación, por ejemplo, USB, FireWire, ZigBee, Bluetooth®, Bluetooth® de baja potencia, y/o cualquier otro equipo de comunicación.

Tal como se muestra en las figuras 61 - 63 el instrumento 11000 incluye una serie de receptores de cartucho 11350 montados en la placa base 11118. Cada uno de los receptores de cartucho 11350 se configura para recibir de manera amovible un cartucho 11300. Las figuras 55 - 57 muestran la serie de cartuchos 11300 en una primera configuración, de tal modo que la serie de cartuchos 11300 se acoplen a la serie de receptores de cartucho 11350, y se coloque sustancialmente dentro del alojamiento 11100 del instrumento 11000. La figura 61 muestra la serie de cartuchos 11300 en una segunda configuración, en donde la serie de cartuchos 11300 se desacoplan del correspondiente receptor de cartucho 11350, y se colocan sustancialmente fuera del alojamiento 11100 del instrumento 11000. A pesar de que la serie de cartuchos 11300 puede incluir cartuchos tanto de "carga" como de "descarga" 11300, tal como se muestra, los cartuchos 11300 son sustancialmente similares entre sí y se pueden usar de manera indistinta. En otros aspectos, un instrumento puede incluir diferentes cartuchos para la carga (por ejemplo, entrada) de los montajes de recipiente y la descarga (por ejemplo, salida) de los montajes de recipiente. Cada cartucho 11300 incluye un extremo proximal 11302 y un extremo distal 11301. El extremo distal 11301 se configura para acoplarse con y acoplarse de manera reversible con el receptor cartucho 11350. El extremo proximal 11302 se configura para permitir que un usuario manipule el cartucho 11300, por ejemplo, carga o descarga el cartucho 11300, tal como se describe en el presente documento.

La figura 62 muestra una vista en perspectiva de un cartucho 11300. El cartucho 11300 se puede formar de un material rígido y de peso ligero por ejemplo, plástico, y puede tener una superficie que es lisa y está sustancialmente libre de bordes agudos. El cartucho 11300 define una serie de receptáculos 11304 configurados para recibir de manera amovible al menos una porción de un recipiente, por ejemplo, cámara de reacción 3732 del montaje de recipiente 3700, o cualquier otro recipiente que se describe en el presente documento. Tal como se muestra en el presente documento, el cartucho 11300 incluye doce receptáculos 11304. En otros aspectos, no obstante, el cartucho 11300 puede incluir 1, 2, 4, 6, 8, 10, 14, 16 o aun mayor número de recipientes 11304. Cada una de la serie de receptáculos 11304 se puede formar y hacer de un tamaño para recibir una cámara de reacción de un recipiente, por ejemplo, la cámara de reacción 3732 del montaje de recipiente 3700 o cualquier otro recipiente que se describe en el presente documento, con una tolerancia estrecha. Por lo tanto, el cartucho 11300 y los receptáculos 11304 pueden restringir el movimiento lateral del recipiente. Adicionalmente, el receptáculo 11304 de la serie de recipientes puede tener una profundidad de tal modo que un módulo de reactivo, por ejemplo, el módulo de reactivo 3740 del montaje de recipiente 3700 o cualquier otro recipiente que se describe en el presente documento, se coloque sustancialmente fuera del receptáculo 11304. Por lo tanto, al menos una porción del montaje de recipiente se puede exponer y / o estar accesible para que se manipule por el montaje de manipulador 11600.

Cada uno de la serie de receptáculos 11304 también incluye una ranura 11306 a lo largo de al menos una porción de la pared lateral del receptáculo 11306. En algunos aspectos, la ranura 11306 se puede configurar para permitir que un usuario tenga acceso a una pared lateral de una cámara de reacción, por ejemplo, la cámara de reacción 3732, de un recipiente colocado dentro del receptáculo 11304, por ejemplo, para facilitar la retirada del recipiente del receptáculo 11304. En otros aspectos, la ranura 11306 se puede configurar para permitir la supervisión óptica y / o la identificación (por ejemplo, mediante una etiqueta) del montaje de recipiente dentro del receptáculo 11304.

El extremo proximal 11302 del cartucho incluye un brazo 11300 configurado para que se acople por un usuario, por ejemplo, para facilitar la carga / descarga del cartucho 11300 desde el instrumento 11000. El brazo 11308 puede tener una forma ergonómica, por ejemplo, para reducir al mínimo el estrés físico en un usuario que manipule el cartucho 11300.

El cartucho 11300 incluye una depresión 11310 que discurre desde el extremo proximal 11302 al extremo distal 11301 a lo largo de la longitud completa del cartucho. La depresión se puede configurar y hacer de un tamaño para que se puede recibir de manera deslizante por un riel guía 11352 del receptor de cartucho 11350, tal como se describe en el presente documento. El extremo distal 11301 del cartucho 11300 también incluye una lengüeta 11312. La lengüeta 11312 se configura para sobresalir desde el extremo proximal 11312 e interconectarse con un sensor 11362 del receptor de cartucho 11350, tal como se describe en el presente documento.

La figura 63 muestra una vista en perspectiva de un receptor de cartucho 11350 que está incluido en el instrumento 11000. El receptor de cartucho 11350 se puede montar de manera segura en la placa base 11118, por ejemplo, mediante tornillos, pernos, remaches, o similares. El receptor de cartucho se puede formar de un material de peso ligero, rígido y resistente a desgaste, por ejemplo, metales tal como aluminio. El receptor de cartucho 11350 incluye un riel guía 11352 configurado para deslizarse en la depresión 11310 del cartucho 11300, de tal modo que el cartucho 11300 se puede recibir de manera deslizante por y / o acoplado con el receptor de cartucho 11350. El receptor de cartucho 11350 incluye un pestillo 11354 que se puede colocar al menos en parte en una abertura en el riel de protección 11352. El pestillo 11354 incluye una primera porción 11355 configurada para acoplarse con una muesca 11314 (la figura 64) que está incluida en la depresión 11310 del cartucho para retener, sostener y / o asegurar el cartucho 11300 al receptor de cartucho de 11350. El pestillo 11354 incluye una segunda porción 11356 que se monta en un árbol 11361 de un accionador 11360 que está incluido en el receptor de cartucho 11350. También se monta un resorte 11358 en el árbol 11361. El resorte 11358 se acopla con el pestillo 11354 y es operativo para impulsar al pestillo 11354 para asegurar y / o acoplarse con el cartucho 11300, tal como se describe en el presente documento. El resorte 11358 puede ser, por ejemplo, un resorte de tensión, tal como, por ejemplo, un resorte de tensión helicoidal. El receptor de cartucho 11350 incluye el sensor 11362. El sensor 11362 puede ser

cualquier sensor adecuado, tal como un sensor de movimiento, un sensor de posición, un sensor óptico, un sensor piezoeléctrico, o cualquier otro sensor adecuado. Tal como se ha descrito en lo que antecede, el sensor 11362 se configura para interconectarse con la lengüeta 11312 del cartucho 11300 para determinar y / o validar una posición del cartucho 11300, por ejemplo, para asegurarse que el cartucho 11300 esté completamente en la segunda configuración, y esté completamente acoplado con el receptor de cartucho 11350.

La figura 64 muestra una sección transversal lateral de un cartucho 11300 en la segunda configuración, de tal modo que el cartucho 11300 se acopla de forma completa con el receptor de cartucho 11350. En la segunda configuración, el riel guía 11352 del receptor de cartucho 11350 se coloca sustancialmente en la depresión 11310, y la primera porción 11355 del pestillo 11354 se inserta en la muesca 11314 que está incluida en la depresión 11310 del cartucho 11300. El pestillo 11354 se monta sobre pivote en una espiga 11364, de tal modo que el pestillo 11354 puede girar alrededor de la espiga 11364 desde una primera posición a una segunda posición. En la primera posición, al menos una porción de la primera porción 11355 del pestillo 11354 está dentro de la muesca 11314. En la segunda posición, la primera porción 11355 está fuera de la muesca 11314. El resorte 11358 se acopla con la segunda porción 11356 del pestillo 11354, y es operativo para impulsar el pestillo 11354 en la primera posición.

En el uso, el cartucho 11300 se puede cargar en el instrumento 11000 al deslizar el cartucho a lo largo del riel de guiado 11352 hasta que el extremo proximal 11301 del cartucho 11300 hace contacto con la primera porción 11355 del pestillo 11354. La primera porción 11355 del pestillo 11354 tiene una superficie ahusada, de tal modo que un borde (por ejemplo, un borde achaflanado o ahusado) de la porción próxima 11301 del cartucho 11300 se desliza a lo largo de la superficie ahusada de la primera porción 11355 del pestillo 11354, impulsando al pestillo 11354 a girar desde la primera posición a la segunda posición. A medida que el cartucho 11300 se mueve adicionalmente a lo largo del riel de guiado 11352 hacia la segunda configuración, la primera porción 11355 del pestillo 11354 encuentra la muesca 11314. El resorte 11358 ahora empuja el pestillo 11354 para girar alrededor de la espiga 11364 y moverse de regreso a la primera posición de tal modo que la primera porción 11355 del pestillo 11354 está dentro de la muesca 11314 y el cartucho 11300 está asegurado a la segunda configuración.

En la segunda configuración, la lengüeta 11312 se acopla con el sensor 11362, tal como se ha descrito en lo que antecede. En algunos aspectos, el sensor 11362 produce una señal que indica que el cartucho 11300 se acopla completamente con el receptor de cartucho 11350. El sensor 11362 puede comunicar la información que valida la posición del cartucho 11300 al procesador 11126 y / o el usuario, por ejemplo, usando alertas de audio (por ejemplo, bips), alertas visuales (por ejemplo, luces indicadoras) y / o alertas táctiles. El accionador 11360 se configura para impulsar al pestillo 11354 desde la primera posición a la segunda posición para liberar el cartucho 11300 para la retirada del instrumento. Por ejemplo, un usuario puede accionar el accionador 11360 y / o el accionador 11360 se puede configurar para accionarse después de un periodo dado de tiempo, de tal modo que el árbol 11361 se extiende hacia el extremo proximal 11302 del cartucho 11300. Esto hace que el pestillo 11354 gire alrededor de la espiga 11364 desde la primera posición a la segunda posición, de tal modo que el cartucho 11300 no esté asegurado por más tiempo por el pestillo 11354 y se pueda retirar de manera deslizable del receptor de cartucho 11350.

Tal como se muestra en las figuras 55 - 57, el instrumento 11000 incluye un montaje de calentador 11400, configurado para recibir una serie de recipientes, por ejemplo, el montaje de recipiente 3700 y / o cualquier otro recipiente que se describe en el presente documento. El montaje de calentador 11400 se configura para calentar y / o mantener una temperatura de los montajes de recipiente en el mismo de acuerdo con cualquiera de los métodos que se describen en el presente documento. Con referencia ahora también a las figuras 65 - 67, el montaje de calentador 11400 incluye un alojamiento 11410 configurado para alojar una serie de bloques calentadores 11420. El alojamiento 11410 se forma de un material rígido, y térmicamente aislante tal como acero inoxidable grueso, otros metales, polímeros. El alojamiento 11410 puede incluir un forro de un material resistente a calor, por ejemplo, mica, o cualquier otro medio de aislamiento térmico. El alojamiento 11410 define una serie de cavidades 11412, cada una que se hace de un tamaño y forma para recibir un bloque calentador 11420 con una tolerancia estrecha.

El bloque calentador 11420 se puede formar de un material térmicamente conductor, rígido y resistente al desgaste, por ejemplo, aluminio anodizado. El bloque calentador 11420 define una serie de receptáculos 11422, cada uno de los cuales se forma y hace de un tamaño para recibir al menos una porción de un recipiente, por ejemplo, la cámara de reacción 3732 del montaje de recipiente 3700, o cualquier otro recipiente que se describe en el presente documento. Por ejemplo, se puede colocar un recipiente en cualquiera de la serie de receptáculos 11422 de cualquiera de la serie de bloques calentadores 11420 por el montaje manipulador 11600, que se acciona y / o se coloca por el montaje de accionamiento 11500 tal como se describe en el presente documento.

Cada bloque calentador 11420 incluye elementos calentadores 11424 colocados en una superficie de fondo del bloque calentador 11420. En algunos aspectos, el elemento calentador 11424 puede ser un microcalentador, por ejemplo, un calentador de placa cerámica. En algunos aspectos, los elementos calentadores 11424 pueden ser alambres eléctricos que pasan una corriente a través del bloque calentador 11420 para calentar el bloque calentador 11420 usando energía eléctrica (es decir, calentamiento resistivo). Cada bloque calentador 11420 también incluye un sensor de temperatura 11426, por ejemplo, un termopar, colocado dentro de un cuerpo del bloque calentador 11420. El sensor de temperatura 11426 se encuentra en comunicación eléctrica con el elemento calentador 11420

directamente, o a través de una unidad de procesamiento (que no se muestra) del instrumento 11000. Por lo tanto, los elementos calentadores 11424 se pueden desactivar y/o controlar para limitar el calentamiento del bloque calentador 11420, por ejemplo, cuando la temperatura de los sensores excede un nivel previamente definido de temperatura. Por lo tanto, la temperatura del bloque calentador 11424, y las muestras colocadas en el mismo se pueden controlar de acuerdo con los métodos que se describen en el presente documento.

Tal como se muestra en las figuras 55 - 57, el instrumento 11000 incluye un montaje de accionamiento 11500 configurado para transportar un recipiente o montaje acoplado con el mismo, por ejemplo, por el montaje manipulador 11600, tal como se describe en el presente documento. Por ejemplo, el montaje manipulador 11600 se puede acoplar con un recipiente, y el montaje de accionamiento 11500 se puede configurar para permitir el transporte del recipiente desde una primera ubicación dentro del alojamiento 11100 a una segunda ubicación, por ejemplo, desde un cartucho de carga 11300 al montaje de calentador 11400, desde el montaje de calentador 11400 al detector 11200, desde el detector 11200 a un cartucho de descarga 11300, y/o cualquier otra ubicación dentro de estos.

Con referencia también ahora a las figuras 68 - 71, el montaje de accionamiento 11500 incluye un soporte 11502, por ejemplo, un armazón o un chasis, en el cual se montan los componentes del montaje de accionamiento 11500. El soporte 11502 se monta de manera segura en la placa base 11118, y se puede configurar para absorber cualquier vibración provocada por el movimiento del montaje de accionamiento 11500. El soporte incluye una primera sección 11503a que está orientada a lo largo de un eje X con respecto al eje X del instrumento 11000, tal como se muestra por medio de la flecha XX, y una segunda sección 11503b orientada a lo largo de un eje Y con respecto al instrumento 11000, tal como se muestra por medio de la flecha YY. La segunda sección 11503b se coloca de forma móvil en y/o se acopla con la primera sección 11503a a con el segundo bloque de guiado 11520. El montaje de accionamiento 11500 incluye un primer accionador 11504a colocado en la primera sección 11503a, un segundo accionador 11504b colocado en la segunda sección 11503b y un tercer accionador 11504c montado en el armazón 11512. El primer accionador 11504a y el segundo accionador 11504b se configuran para accionar el armazón 11512 y cualquier submontaje, por ejemplo, el montaje manipulador 11600, colocado en montaje 11514, en una dirección X e Y, de forma respectiva, tal como se describe en el presente documento. El tercer accionador 11504c se configura para accionar el montaje 11514 y cualquier submontaje montado en el mismo, por ejemplo, el montaje manipulador 11600, en una dirección Z con respecto al instrumento 11000, tal como se muestra por medio de la flecha ZZ. Los accionadores pueden ser sustancialmente similares entre sí y pueden incluir, por ejemplo, motores de velocidad gradual, configurados para accionar el armazón 11512 y/o el montaje 11514 una distancia fija con cada paso, por ejemplo, cada porción de una rotación de los accionadores 11504a, 11504b y/o 11504c.

El primer accionador 11504a y el segundo accionador 11504b incluyen un primer disco 11506 montado en cada uno de los accionadores 11504a, 11504b. Un segundo disco 11508 (la figura 70) se coloca en cada una de la primera sección 11503a y la segunda sección 11503b del soporte 11502. Una banda 11510 se enrolla alrededor del primer disco 11506 y el segundo disco 11508 de una manera tensa, de tal modo que una rotación del disco 11506 provocada por el accionador 11504a / b impulsa la banda 11510 para que se accione a lo largo de su longitud (o gire) sobre el segundo disco 11508. La banda 11510 puede ser, por ejemplo, una banda de caucho, una banda de plástico o una banda de polímero, y puede incluir ranuras en la superficie que hace contacto con los discos 11506 y 11508, por ejemplo, para proporcionar fricción y/o ningún traslado por deslizamiento de la banda. La banda 11510 acoplada con el primer accionador 11504a se acopla de manera operativa con un primer bloque de guiado 11516 que se montad en un primer riel de guiado 11518. La banda 11510 se configura de tal modo que el traslado de la banda 11510 provocado por el primer accionador 11504a impulsa el primer bloque de guiado 11516 y la segunda sección 11503b del soporte 11502 montado en la misma, para trasladarse de manera deslizable a lo largo del riel de guiado 11518 en la dirección X. De forma similar, el segundo accionador 11504b también incluye una banda 11510 colocado en el disco 11506 que se acopla con el segundo disco 11508 colocado en el armazón 11512. El armazón 11512 se acopla con el segundo bloque de guiado 11520. El segundo bloque de guiado 11520 se monta en un segundo riel de guiado 11522. El accionamiento de la banda 11510 por el segundo accionador 11504b, accionar el armazón 11512 y el segundo bloque de guiado 11520 de manera deslizable a lo largo del segundo riel de guiado 11522. Por lo tanto, una combinación de traslado de la segunda sección 11503 del soporte 11502 provocado por el accionamiento del primer accionador 11504a a lo largo del eje X, y el traslado del armazón 11512 a lo largo del eje Y provocado por el accionador 11504b, puede accionar el armazón a cualquier ubicación en un plano XY dentro del instrumento 11000.

El armazón 11512 se acopla con una primera cadena 11524a colocado de manera deslizable en una primera guía de cadena 11526a, que se coloca en y se acopla con la primera sección 11503a. Una segunda cadena 11524b también se acopla con el armazón 11512, y se coloca de manera deslizable en una segunda guía de cadena 11526b, que se coloca en y se acopla con la segunda sección 11503b. Las cadenas 11524a / b se configuran para deslizarse a lo largo de las guías de cadena 11526a/b con una tolerancia estrecha que corresponde a un desplazamiento X - Y del armazón 11512, de tal modo que las cadenas impiden cualquier movimiento lateral del armazón 11512, por ejemplo, para asegurar el desplazamiento exacto del armazón 11512.

Tal como se describe en el presente documento, el tercer accionador 11504c se coloca en el armazón 11512 e incluye un primer disco 11528a acoplado con el accionador 11504c. Se acopla una banda 11530 con el primer disco

11528, de tal modo que la banda 11530 se enrolla sobre el primer disco 11528a y un segundo disco 11528b. El segundo disco 11528b se acopla con un tornillo de avance 11532 que está incluido en el armazón 11512. La banda 11530 puede ser sustancialmente similar a la banda 11510. El tornillo de avance 11532 tiene una tuerca 11534 montada en las roscas del tornillo de avance 11532. La tuerca se acopla con el montaje 11514. El tercer accionador 11504c se configura para hacer girar el primer disco 11528a que impulsa la banda 11530 a trasladarse, haciendo girar de esta manera el segundo disco 11528b. La rotación del segundo disco 11528b hace girar el tornillo de avance 11532 que impulsa la tuerca 11534 a desplazarse a lo largo de la longitud del tornillo de avance 11532 desde una primera posición (la figura 70), a una segunda posición (la figura 71) en la dirección Z. El desplazamiento de la tuerca 11534 también hace que el montaje 11514 acoplado con la tuerca 11534, y cualquier submontaje montado en el mismo, por ejemplo, el montaje manipulador 11600, se mueva desde la primera posición a la segunda posición en la dirección Z. El montaje 11514 también se acopla con un tercer bloque de guiado 11536 montado de manera deslizable en un tercer riel guía 11538, de tal modo que el desplazamiento del montaje 11514 en la dirección Z se guía por el tercer bloque guía 11536 y el tercer riel guía 11538, por ejemplo, para impedir cualquier movimiento radial del montaje 11514 alrededor de un eje longitudinal definido por tornillo de avance 11512.

El montaje de accionamiento 11500 incluye sensores 11540 montados en cada una de la primera sección 11503a, la segunda sección 11503b, y el armazón 11512. Los sensores 11540 pueden ser sensores de posición, tal como, por ejemplo, sensores ópticos, sensores de movimiento, sensores piezoeléctricos, o cualquier sensor adecuado. Los sensores 11540 se pueden configurar para detectar una ubicación de la segunda sección 11503b y el armazón 11512, por ejemplo, para impedir un desplazamiento excesivo que puede dañar al montaje de accionamiento y/o provocar un desgaste incrementado. Tal como se muestra en la figura 57 y figura 72, el instrumento 11000, también incluye el conjunto de circuitos 11500 para controlar los accionadores 11504a / b / c. El conjunto de circuitos 11500 puede ser cualquier conjunto de circuitos disponible en el mercado usado para el control de los accionadores 11504a / b / c, por ejemplo, un conjunto de circuitos de controlador de motor de velocidad gradual.

Tal como se muestra en las figuras 55 - 57, el instrumento incluye un montaje manipulador 11600 colocado en el montaje 11514 que está incluido en el montaje de accionamiento 11500. El montaje manipulador 11600 se configura para sujetar, retener, asegurar, hacer contacto con, acoplarse con y/o asegurar de otro modo un recipiente, por ejemplo, el montaje de recipiente 3700 tal como se describe en el presente documento. Por ejemplo, el montaje manipulador 11600 se puede configurar para acoplarse con y/o sujetar de manera liberable el recipiente y/o acoplarse con uno o más accionadores que están incluidos en el recipiente, tal como, por ejemplo, el montaje de recipiente 3700.

Con referencia ahora a las figuras 73 - 84, el montaje manipulador 11600 incluye un submontaje de articulación 11610, un submontaje de émbolo 11630 y un submontaje de accionador 11650. El montaje de articulación 11610 se configura para hacer contacto con, sujetar o asegurar de manera liberable de otro modo un recipiente, por ejemplo, el montaje de recipiente 3700. Por ejemplo, el montaje de articulación 11610 se puede configurar para asegurar o sujetar un recipiente colocado en una primera ubicación, tal como el cartucho de carga 11300. El submontaje de articulación 11601 puede asegurar de manera continua el recipiente durante el transporte desde la primera ubicación a una segunda ubicación dentro del instrumento 11000 por el montaje de accionamiento 11500. Estos cambios en la posición pueden incluir mover el montaje de recipiente desde el cartucho de carga 11300 al montaje de calentador 11400, desde el montaje de calentador 11400 al montaje de detector 11200 y/o desde el montaje de detector 11200 al cartucho de descarga 11300. El submontaje de émbolo 11630 se configura para hacer contacto con, acoplarse con o manipular de otro modo uno o más accionadores en un recipiente, por ejemplo, el accionador 3750 y/o 3760 que está incluido en el montaje de recipiente 3700, para impulsar al accionador y/o accionadores a comunicar un reactivo (por ejemplo, vectores biológicos o abiológicos tal como partículas de transducción del tipo que se muestra y se describe en el presente documento) y/o un sustrato (por ejemplo, tridecanal) de un volumen de reactivo a una cámara de reacción del recipiente, tal como se describe en el presente documento. El submontaje de accionador 11650 se configura para acoplarse con o manipular el submontaje de émbolo 11630, por ejemplo, para manipular un émbolo interior 11632 y/o un émbolo exterior 11636 del montaje de émbolo 11630, tal como se describe en el presente documento. El submontaje de accionador 11650 también se puede configurar para acoplarse con o manipular el submontaje de articulación 11610, por ejemplo, para manipular o impulsar de otro modo al submontaje de articulación 11610 a asegurar o liberar un recipiente, por ejemplo, el montaje de recipiente 3700, tal como se describe en el presente documento. Expuesto de forma similar, el submontaje de accionador 11650, puede hacer que, con un accionador individual, que el montaje manipulador 11600 tanto sujete y/o como asegure un recipiente, y accione el recipiente.

Tal como se muestra en las figuras 74 - 75, el submontaje de articulación 11600 incluye un conjunto de sujetadores 11612, acoplados o montados en un conjunto de bases de sujetadores 11614. Tal como se muestra, dos sujetadores 11612 se acoplan con una base individual de sujetador 11614. En algunos aspectos, cada base sujetador 11614 puede incluir más de dos sujetadores 11612, por ejemplo, tres o cuatro. Los sujetadores 11612 se configuran para que sean miembros alargados, y por espiga que se pueden formar de un material fuerte y rígido, por ejemplo, metales tal como acero inoxidable. En algunos aspectos, los sujetadores 11612 pueden incluir una superficie que puede tener una alta fricción para hacer contacto con, sujetar o asegurar de otro modo un recipiente, por ejemplo, el montaje de recipiente 3700. Por ejemplo, la superficie de los sujetadores 11612 puede incluir ranuras, abrasiones, revestimiento de caucho, plástico blando y/o cartón con caucho. Cada base de sujetador

11614 define una ranura (o canal) 11615 configurada para permitir que una porción de émbolo 11637 del émbolo exterior 11636 que está incluido en el submontaje de émbolo 11630, se mueva dentro de una región entre las ranuras 11615, sin hacer contacto una pared lateral que define las ranuras 11615.

5 Cada base de sujetador 11614 se acopla con una placa lateral 11616 por medio de cualquier mecanismo adecuado. Las placas laterales 11616 se acoplan sobre pivote con un montaje de accionador 11654 que está incluido en el montaje de accionador 11650, tal como se describe en el presente documento. Las placas laterales se configuran para girar o articularse alrededor de sus monturas en relación con el montaje de émbolo 11630, para impulsar al montaje de articulación 11610 desde una primera configuración a una segunda configuración. En la primera configuración (o configuración cerrada) el conjunto de sujetadores 11612 se encuentran en una posición cerrada para acoplarse con, sujetar, asegurar selectivamente de otro modo un recipiente, por ejemplo, montaje de recipiente 3700. En la segunda configuración (o configuración abierta) el conjunto de sujetadores 11612 están distantes entre sí, por ejemplo, para desacoplarse de o liberar el recipiente. Se coloca un conjunto de ruedas de guiado 11620 en una pared lateral de cada una del conjunto de placas laterales 11616, por ejemplo, montadas en las espigas, pernos, tornillos o similares. Bajo ciertas condiciones, el conjunto de ruedas de guiado 11620 se configura para que esté próxima, pero no haga contacto con, o esté en contacto con una porción de una pared lateral de un conjunto de miembros de guiado 11640 que están incluidos en el montaje de émbolo 11630, tal como se describe en el presente documento. Los miembros de guiado 11640 se configuran para impulsar a las placas laterales 11616 y de esta manera al montaje de articulación 11610 desde la primera configuración a la segunda configuración, tal como se describe en el presente documento.

Las placas laterales 11616 se acoplan con un montaje de placas de compresión 11618. Las placas de compresión 11618 se encuentran en contacto a presión con un conjunto de resortes 11622, que se montan al montaje de accionador 11654 mediante espigas. El conjunto de placas de compresión 11618 se configuran para desplazarse en sentido angular con el movimiento de pivote del conjunto de placas laterales 11616, de tal modo que el conjunto de placas de compresión 11618 se acopla con el conjunto de resortes 11622, por ejemplo, comprima los resortes 11622, cuando el montaje de articulación 11610 se encuentra en la segunda configuración. Por lo tanto, las placas de compresión 11618 se configuran para impulsar al montaje de articulación 11610 en la primera configuración desde la segunda configuración, por ejemplo, para sujetar o asegurar un recipiente, por ejemplo, el montaje de recipiente 3700 o cualquier otro recipiente que se describe en el presente documento. Los resortes 11622 se configuran para controlar la cantidad de fuerza ejercida por los sujetadores 11612 en el recipiente, por ejemplo, para impedir el aplastamiento del recipiente. Al menos una del conjunto de placas laterales 11616 se puede configurar para acoplarse con un sensor de posición 11662a, por ejemplo, un sensor óptico, un sensor de movimiento, un sensor piezoeléctrico, o cualquier otro sensor adecuado. El sensor 11662a se acopla con un montaje de sensor 11664, que se monta a una superficie del montaje de accionador 11654. El sensor 11662a se puede configurar para informar a un sistema de control y / o usuario acerca de la posición del montaje de articulación 11610, por ejemplo, el montaje de articulación en la primera configuración (es decir, asegurar, acoplarse con o sujetar un recipiente) o una segunda configuración (es decir, desacoplarse de o liberar un recipiente). En algunos aspectos, el sensor 11662a puede ser un sensor de búsqueda de posición inicial, configurada para identificar una posición inicial del montaje de articulación 11610.

El submontaje de émbolo 11630 incluye un émbolo interior 11632 y un émbolo exterior 11636. Tal como se muestra, el émbolo interior 11632 también es un tornillo de avance del accionador 11652. Por consiguiente, el émbolo interior 11632 puede girar alrededor de un eje longitudinal del montaje de émbolo 11630. El émbolo interior 11632 se puede configurar para acoplarse con o manipular un primer accionador de un recipiente, por ejemplo, el accionador 3750 del montaje de recipiente 3700, tal como se describe en el presente documento. La superficie exterior del émbolo interior 11632 se enrosca y se puede colocar por rosca dentro de un collar 11634. El collar 11634 se configura para moverse a lo largo de las roscas del émbolo interior 11632 durante la rotación del émbolo interior 11632. El collar 11634 se acopla adicionalmente con una porción de acoplamiento 11637 del émbolo exterior 11636, de tal modo que una rotación del émbolo interior 11632 da como resultado un desplazamiento longitudinal del émbolo exterior 11636. Por ejemplo, esto puede permitir el control de la velocidad del émbolo exterior 11636, que se puede usar para controlar la distribución de un sustrato en una cámara de reacción de un recipiente, tal como se describe en el presente documento. El émbolo exterior 11636 incluye una porción de acoplamiento 11638 que se puede configurar para acoplarse con o manipular un segundo accionador en un recipiente, por ejemplo, el accionador 3760 del montaje de recipiente 3700, tal como se describe en el presente documento. El émbolo exterior 11636 también incluye un canal 11639 definido a través del mismo a lo largo de un eje longitudinal del émbolo exterior 11636. Al menos una porción del émbolo interior 11632 se puede colocar en el canal 11639.

Se colocan un conjunto de miembros de guiado 11640 en una pared lateral del émbolo exterior 11636. Cada uno del conjunto de miembros de guiado 11640 incluye una primera sección 11642 que tiene un primer ancho, una segunda sección 11644 que tiene un segundo ancho mayor que el primer ancho, y una tercera sección 11643 que se encuentra en ángulo con respecto a un eje longitudinal del miembro de guiado 11640 y hace contacto con la primera sección 11642 a la segunda sección 11644. Al menos una porción del montaje de émbolo 11630 por ejemplo, el collar 11634, el émbolo exterior 11636 y los miembros de guiado 11640, se configuran para moverse a lo largo de un eje longitudinal definido por el émbolo interior 11632. Adicionalmente, el montaje de émbolo 11630 se configura para acoplarse con y o manipular un recipiente, por ejemplo, montaje de recipiente 3700, que se acopla con, se asegura o

se sujeta de otro modo por el montaje de articulación 11610, tal como se describe en el presente documento. El montaje de émbolo 11630 también se configura para manipular el montaje de articulación 11610, por ejemplo, para impulsar al montaje de articulación 11610 desde la primera configuración, en la cual el montaje de articulación 11610 se está acoplando con, está sujetando o asegurando de otro modo un recipiente, hacia la segunda configuración, en la cual el montaje de articulación se desacopla de o libera el recipiente, tal como se describe en lo sucesivo. También se coloca una pinza 11646 en uno de los miembros de guiado 11640 (la figura 75). El clip 11646 se configura para acoplarse de manera selectiva con un sensor 11662b para validar y / o determinar una posición del montaje de émbolo 11630. El sensor 11662b puede ser cualquier sensor adecuado, por ejemplo, un sensor de posición, un sensor de movimiento, un sensor óptico, un sensor piezoeléctrico o cualquier otro sensor adecuado, colocado en el montaje de accionador 11654. El sensor 11662b se puede usar para determinar una posición del montaje de émbolo 11630, por ejemplo, para impedir el desplazamiento excesivo del montaje de émbolo 11630.

El submontaje de accionador 11650 incluye un accionador 11652, por ejemplo, un motor de velocidad gradual, que se coloca en el montaje de accionador 11654. El montaje de accionador 11652 define las correspondientes depresiones 11656a y 11656b. La depresión 11656a proporciona un asiento de montaje para al menos una porción del accionador 11652. La ranura 11656b define una abertura a través de la cual se puede mover al menos una porción del montaje de émbolo 11630, por ejemplo, el émbolo interior 11632, el collar 11634 y el émbolo exterior 11636. El montaje de accionador 11654 incluye además un conjunto espigas de alineación 11658 colocadas en una superficie de fondo del montaje de accionador 11654. Las espigas de alineación 11658 están sustancialmente paralelas al eje longitudinal definido por el montaje de émbolo 11630. Al menos una porción de cada espiga de alineación 11658 se coloca en un canal correspondiente 11659 que está incluido en el collar 11634 y la porción de acoplamiento 11637 del émbolo exterior 11636. Por lo tanto, el desplazamiento del submontaje de émbolo 11630 a lo largo del eje longitudinal definido por el submontaje émbolo 11630, por ejemplo, provocado por una rotación del émbolo interior 11632, se guía por las espigas de alineación 11658, por ejemplo, para impedir cualquier rotación o movimiento lateral del montaje de émbolo 11630.

Tal como se describe en el presente documento, el montaje manipulador 11600 se configura para hacer contacto con, acoplarse con o asegurar de manera liberable de otro modo un recipiente. La figura 75 muestra una vista lateral del montaje manipulador 11600 en una primera configuración, en la cual el alojamiento 3741 del montaje de recipiente 3700 no está puesto en contacto con, ni sujetado ni asegurado de otro modo por el montaje manipulador 11600. La figura 75 muestra una vista lateral del montaje manipulador 11600 en una segunda configuración, en la cual el montaje manipulador 11600 está asegurando o sujetando el montaje de recipiente 3700. El montaje manipulador 11600 se configura de tal modo que los sujetadores 11612 aseguran el montaje de recipiente 3700 solo desde la porción superior, es decir, el módulo de reactivo 3740. Esto puede permitir una lectura de fondo del montaje de recipiente 3700 por el detector 11200 o cualquier otro detector que se describe en el presente documento.

Tal como se muestra en la figura 75, cuando se encuentra en la primera configuración, el accionador 11652 ha girado el émbolo interior 11632 para mover el collar 11634 acoplado con el émbolo interior 11632 a lo largo de la longitud del émbolo interior 11632 en una dirección hacia el accionador 11652. Por lo tanto, cuando se encuentra en la primera configuración, el accionador 11652, al menos una porción del collar 11634 y / o el émbolo exterior 11636 acoplado con el collar 11634, están dentro de la abertura definida por la depresión 11656b del montaje de accionador 11654. Además, la posición del montaje de émbolo 11630 en relación con el montaje de accionador 11650 (es decir, en una posición hacia arriba) es de tal modo que los miembros guía 11640 se acoplan con el montaje de articulación 11610. Tal como se muestra en la primera configuración ilustrada en la figura 75, el desplazamiento del miembro de guiado 11640 hacia el accionador 11652 coloca las ruedas de guiado 11620 en contacto con la segunda sección 11644. En esta configuración, el conjunto de placas laterales 11616 gira o articula alrededor de sus montajes de pivote en relación con el eje longitudinal del montaje de émbolo 11630, de tal modo que las bases de sujetador 11614 y el conjunto de sujetadores 11612 se encuentran en ángulo con respecto al eje longitudinal del montaje de émbolo 11630. Un extremo de los correspondientes sujetadores 11612 está separado a una primera distancia, de tal modo que la primera distancia es mayor que un diámetro del alojamiento 3741 del montaje de recipiente 3700.

En la primera configuración (o de "sujeción abierta"), el montaje manipulador 11600 se configura para desacoplarse de o liberar el montaje de recipiente 3700 y / o está listo para recibir el montaje de recipiente 3700. Por ejemplo, en algunos aspectos, el montaje de recipiente 3700 se puede colocar en un cartucho 11300. El montaje manipulador 11600 se puede accionar por medio del montaje de accionamiento 11500 a la ubicación en donde se coloca el montaje de recipiente 3700 y a continuación se impulsa a la primera configuración. El montaje manipulador 11600 entonces se puede desplazar a lo largo de un eje longitudinal definido por el montaje manipulador 11600 hacia el montaje de recipiente 3700, hasta que los sujetadores 11612 están adyacentes al alojamiento 3741, y una porción de fondo del émbolo interior 11632 se encuentra en las proximidades inmediatas de, pero no en contacto con, una porción de acoplamiento 6752 de un émbolo interior 6750 (que no se muestra en las figuras 75 - 76) colocado en el alojamiento 3741 del montaje de recipiente 3700.

Tal como se muestra en la figura 76, el montaje de articulación 11610 se puede mover a la segunda configuración para acoplarse con, sujetar, agarrar o asegurar de otro modo el montaje de recipiente 3700. Por ejemplo, para mover el montaje de articulación a la segunda configuración, el émbolo interior 11632 se hace girar por el accionador

11652. Esto impulsa al collar 11634 a moverse a lo largo de la longitud del émbolo interior 11632 en una dirección lejos del accionador 11652 (por ejemplo, hacia abajo tal como se muestra en la figura 76). El desplazamiento del collar 11634 también impulsa al émbolo exterior 11636 y el conjunto de miembros de guiado 11640 acoplados con este, a moverse a lo largo de un eje longitudinal definido por el montaje de émbolo 11630 lejos del accionador 11650. Esto provoca que las ruedas de guiado 11620 se monten a largo de una pared lateral de la segunda sección 11644 del miembro de guiado 11640 sobre la sección inclinada 11643 más estrecha. En esta configuración, el conjunto de resortes 11622 que se encuentran en contacto a presión con el conjunto de placas de compresión 11618, impulsan al conjunto de placas de compresión y, por lo tanto, el conjunto de placas laterales 11616 gira en relación con el eje longitudinal definido por el montaje de émbolo 11630. Esto también provoca que las bases de sujetador 11614 y el conjunto de sujetadores 11612 acoplados con estas se desplace hacia el alojamiento 3741 del montaje de recipiente 3700, de tal modo que en la segunda configuración, el conjunto de sujetadores 11612 esté en contacto con, acoplándose con o asegurando de otro modo el montaje de recipiente 3700. El montaje manipulador 11600 se puede mantener en la segunda configuración para transportar el montaje de recipiente 3700 desde de una primera ubicación dentro del alojamiento 11100 del instrumento 11000 a una segunda ubicación tal como se muestra en la figura 77, mediante el montaje de accionamiento 11500.

Tal como se describe en el presente documento, el montaje manipulador también se puede usar para acoplarse con y/o manipular el montaje de recipiente 3700, por ejemplo, los accionadores 3750 y 3760 colocados en un alojamiento 3741 del montaje de recipiente 3700. Las figuras 78 y 79 muestran unas vistas laterales del montaje manipulador 11600 en la primera configuración (a la que también se hace referencia como "sujeción abierta") y la figura 80 muestra una sección transversal lateral del montaje manipulador 11600 que se muestra en la figura 78. En esta configuración, el montaje de émbolo 11630, el montaje de articulación 11610 y el montaje accionador 11650 se encuentran en las mismas posiciones relativas tal como se ha analizado en lo que antecede con respecto a la figura 75. La colocación del montaje manipulador 11600 en relación con el montaje de recipiente 3700, no obstante, es diferente. En particular, el émbolo interior 11612 se acopla con la porción de acoplamiento 3752 del accionador 3750 tal como se describe en lo sucesivo en el presente documento.

En esta configuración (la configuración de "accionamiento con émbolo interior"), el montaje de recipiente 3700 se puede colocar por ejemplo, en una depresión 11412 de un bloque calentador 11420 que está incluido en el montaje de calentador 11400 tal como se describe en el presente documento, de tal modo que el montaje de recipiente 3700 no se puede desplazar de manera lateral con respecto a un eje longitudinal del montaje manipulador 11600. Cuando el montaje de articulación 11610 se encuentra en la primera configuración (la "sujeción abierta" y el "accionamiento con émbolo interior"), al menos una porción del collar 11634 y el émbolo exterior 11636 está localizado dentro de la abertura definida por la depresión 11656b de tal modo que una porción de fondo del émbolo interior 11632 esté sobresaliendo desde el fondo del canal 11639 del émbolo exterior 11636. Además, tal como se ha descrito en lo que antecede, el conjunto de ruedas de guiado 11620 se encuentran en contacto con la superficie 11644 del conjunto de miembros de guiado 11640 y el conjunto de placas de compresión 11618 está comprimiendo el conjunto de resortes 11622 para mantener los sujetadores en su posición.

Para ejecutar la operación de "accionamiento con émbolo interior", tal como se muestra en las figuras 78 - 80, el montaje de accionamiento 11500 se acciona para desplazar el submontaje manipulador 11600 en una dirección hacia abajo definida por un eje longitudinal del montaje de émbolo 11630, tal como se muestra por medio de la flecha ZZ. El movimiento hacia abajo del montaje manipulador 11600 provoca que el émbolo interior 11632 se mueva hacia abajo, de tal modo que una porción de fondo del émbolo interior 11632 hace contacto con la porción de acoplamiento 3752 del accionador 3750, impulsando a la porción de émbolo 3754 del accionador 3750 dentro del volumen interno 3742 definido por el alojamiento 3741. La porción de émbolo 3754 se puede mover desde una primera posición a una segunda posición, de tal modo que la porción de émbolo 3754 comunique un reactivo colocado en el volumen interior 3742 en el montaje de recipiente 3700, tal como se ha descrito en lo que antecede. El reactivo puede ser cualquier reactivo o sustancia que se describe en el presente documento, tal como un vector biológico o abiológico o partícula de transducción de los tipos que se describen en el presente documento. Después del accionamiento del primer accionador 3750 por el montaje manipulador 11600, el montaje de recipiente 3700 puede permanecer colocado en el montaje de calentador 11400 durante un período previamente definido de tiempo y a una temperatura previamente determinada. Tal como se ha descrito en lo que antecede, en algunos aspectos, el mantenimiento del montaje de recipiente permitirá que una célula diana dentro de la muestra exprese una cantidad suficiente de moléculas indicadoras tal como, por ejemplo, luciferasa o cualquier otra molécula indicadora que se describe en el presente documento.

La figura 81 muestra una sección transversal lateral del montaje manipulador 11600 en la segunda configuración (a la que también se hace referencia como "sujeción cerrada"). En la segunda configuración, el montaje manipulador 11600 se encuentra en contacto con, acoplado con, sujetado o asegurado de otro modo al montaje de recipiente 3700, tal como se describe en el presente documento con referencia a las figuras 76 y 77. En la configuración de sujeción cerrada, el émbolo interior 11632 se coloca sustancialmente dentro del émbolo exterior 11636, de tal modo que la porción de fondo del émbolo interior 11632 está próxima a, pero no en contacto con la porción de acoplamiento 3752 del primer accionador 3750 colocado en el alojamiento 3741 del montaje de recipiente 3700, tal como se describe en el presente documento. Adicionalmente, el conjunto de ruedas de guiado 11620 se encuentra en contacto con la tercera sección 11643 del conjunto de miembros de guiado 11640. La configuración de sujeción

cerrada se puede usar para transportar el montaje de recipiente 3700, por ejemplo, desde el montaje de calentador 11400 al montaje de detector 11200. El montaje de articulación 11650 también se configura para impedir el desplazamiento excesivo. Por ejemplo, si se encuentra en la configuración de sujeción cerrada, el conjunto de ruedas de guiado hace contacto con la segunda superficie 11644 del conjunto de miembros de guiado 11640, esto indica que el émbolo exterior 11636 tiene un desplazamiento en exceso. En esta situación, una espiga (que no se muestra) montada en una del conjunto de placas laterales 11616 acciona el sensor de posición 11662a, que puede enviar una señal de desplazamiento excesivo, por ejemplo, una alarma, al procesador 11126 o un usuario.

Con referencia ahora a las figuras 82 - 84, las figuras 82 y 83 muestran una vista lateral del montaje manipulador 11600 y la figura 84 muestra una sección transversal lateral de la vista que se muestra en la figura 82, en una tercera configuración (a la que también se hace referencia como "accionamiento con émbolo de sustrato"). En la configuración de accionamiento con émbolo de sustrato, el émbolo exterior se acopla con la porción de acoplamiento 3762 del accionador 3760 tal como se describe en lo sucesivo. En esta configuración, el montaje de recipiente 3700 se puede colocar, por ejemplo, en el montaje de detector 11200 tal como se describe en el presente documento, de tal modo que el montaje de recipiente 3700 no se puede desplazar en sentido lateral con respecto al eje longitudinal del montaje manipulador 11600. Por ejemplo, en esta configuración, la cámara de reacción 3732 del montaje de recipiente 3700 se puede colocar en una ranura 11234 de un obturador 11230 que está incluido en el montaje de detector 11200, tal como se describe adicionalmente en lo sucesivo en el presente documento. Adicionalmente, cuando se mueve a la tercera configuración, el montaje de articulación 11610 se puede mantener en una configuración acoplada, sujeta, agarrada o asegurada de otro modo. Por lo tanto, el montaje de recipiente 3700 puede permanecer asegurado por el montaje de articulación 11610 durante el accionamiento con émbolo de sustrato. Esto puede asegurar, por ejemplo, que toda la fuerza del accionamiento con émbolo exterior se transfiera solo al segundo accionador 3760 del montaje de recipiente 3700 y / o mantenga el montaje de recipiente 3700 al ras con una junta 11206 que está incluida en el montaje de detector 11200 para impedir que cualquier ruido ambiente (por ejemplo, luz) entre al montaje de detector 11200, tal como se describe en el presente documento.

Para moverse desde la segunda configuración a la tercera configuración (de "accionamiento con émbolo de sustrato"), el émbolo interior 11632 gira en una dirección opuesta a la configuración de sujeción abierta, por ejemplo, tal como se muestra por medio de la flecha RRR en la figura 82, de tal modo que el collar 11634 se desplaza a lo largo del eje longitudinal definido por el émbolo interior 11632 en una dirección lejos del accionador 11652. El desplazamiento del émbolo también desplaza el émbolo exterior 11636 y el conjunto de miembros de guiado 11640 unidos a este, en la misma dirección. El desplazamiento del émbolo exterior 11636 afectado por la rotación del émbolo interior 11632 se continúa de tal modo que una porción de fondo del émbolo exterior 11636 se acopla con la porción de acoplamiento 3762 del segundo accionador 3760 impulsando a la porción de émbolo 3764 del accionador 3760 a desplazarse dentro del volumen interno 3744 definido por el alojamiento 3741 del montaje de recipiente 3700. La porción de émbolo 3764 se puede mover desde una primera posición a una segunda posición, de tal modo que la porción de émbolo 3764 comunica un reactivo colocado en el volumen interno 3742 a través de la porción de distribución 3770 en la cámara de reacción 3732 que está incluida en el montaje de recipiente 3700. Por ejemplo, el reactivo puede ser un sustrato, por ejemplo, tridecanal o cualquier otro sustrato que se describe en el presente documento, que se puede formular para reaccionar con las moléculas indicadoras presentes en la cámara de reacción 3732, por ejemplo, luciferasa o cualquier otra molécula indicadora, tal como se ha descrito en lo que antecede. La reacción del sustrato con las moléculas indicadoras puede producir una señal, por ejemplo, luminiscencia o cualquier otra señal que se describe en el presente documento, que se puede detectar por medio del montaje de detector 11200, tal como se describe adicionalmente en lo sucesivo en el presente documento. El desplazamiento longitudinal del émbolo exterior 11636 afectado por un movimiento giratorio del émbolo interior 11632 puede permitir, por ejemplo, un mejor control sobre el desplazamiento del émbolo exterior 11636 y, por lo tanto, un mejor control sobre la comunicación de un sustrato desde el volumen interno 3744 a la cámara de reacción 3732 del montaje de recipiente 3700.

Se va a señalar que se emplea un accionador individual 11652 por el montaje manipulador 11600 para llevar a cabo una serie de funciones, que incluyen: i) manipular el émbolo exterior 11636 al accionar el émbolo interior 11632 para provocar el accionamiento con émbolo de sustrato y; ii) manipular los miembros de guiado 11640 acoplados con el émbolo exterior 11636 para impulsar al montaje de articulación 11610 desde la configuración de sujeción abierta a la de sujeción cerrada. Un segundo accionador, por ejemplo, el accionador 11504c que está incluido en el submontaje de accionamiento 11500 tal como se describe en el presente documento, se puede usar para desplazar el montaje manipulador 11600 en la dirección Z. En algún aspecto, la funcionalidad de accionamiento con émbolo de reactivo se puede incluir en el accionador 11652, por ejemplo, el accionador 11652 también puede ser capaz de desplazar en sentido lineal el émbolo interior 11632.

Tal como se muestra en las figuras 55 - 57, el instrumento incluye un montaje de detector 11200. El montaje de detector 11200 se configura para detectar una señal, por ejemplo, luminiscencia, producida por una reacción química, por ejemplo, interacción de una molécula indicadora (por ejemplo, luciferasa) con un sustrato (por ejemplo, tridecanal) de acuerdo con cualquiera de los métodos que se describen en el presente documento. El montaje de detector 11200 se configura para recibir un montaje de recipiente 3700, y detectar una señal producida en el mismo. El montaje de detector 11200 puede incluir cualquier detector adecuado que pueda detectar la señal producida por una molécula indicadora, por ejemplo, luciferasa. Por ejemplo, tal como se muestra, el detector es un detector

5 óptico. En algunos aspectos un detector puede ser un detector de fluorescencia (por ejemplo, para detectar una molécula indicadora fluorescente tal como GFP, etcétera), un detector de luminiscencia (por ejemplo, para detectar la bioluminiscencia producida por una molécula indicadora tal como luciferasa), un detector de color (por ejemplo, para detectar un precipitante coloreado producido por una enzima indicadora tal como HRP), un espectrómetro, y / o un dispositivo de captura de imágenes. En algunos aspectos, el detector puede incluir adicionalmente una fuente de luz. A pesar de que se describe como que se basa principalmente en la detección óptica, en algunos aspectos, el detector puede ser un detector electroquímico. Por ejemplo, el detector puede incluir un detector amperométrico, un detector potenciométrico conductométrico, y / o un detector impedométrico, configurado para detectar una corriente, voltaje, o conductancia, cambio de resistencia / impedancia de producido por el indicador, por ejemplo, luciferasa. En algunos aspectos que emplean la detección electroquímica, el detector se puede configurar para encontrarse en contacto físico con la solución de muestra que puede contener una muestra. En algunos aspectos, el detector 11200 puede usar otros métodos de detección, por ejemplo, onda acústica superficial, resonancia de plasmón superficial, espectroscopia de Raman, sensores magnéticos, y / o cualquier otro método adecuado de detección conocido en la técnica.

15 En algunos aspectos, el montaje de detector 11200 solo puede proporcionar una respuesta cualitativa, por ejemplo, una respuesta de SI / NO en la presencia de la célula diana. En algunos aspectos, el detector 11200 puede cuantificar la célula diana, por ejemplo, determinar los cfu / ml de la bacteria diana en la muestra de acuerdo con cualquiera de los métodos que se describen en el presente documento, por ejemplo, el método 400. En algunos aspectos, el montaje de detector 11200 puede incluir un sistema de lectura de extremo, por ejemplo, para permitir la colocación flexible de una etiqueta en el recipiente, por ejemplo, el montaje de recipiente 3700. En algunos aspectos, el sistema de lectura de extremo incluye el contacto directo y / o colocación próxima de un extremo transparente en un recipiente, por ejemplo, montaje de recipiente 3700 con el detector 11200, por ejemplo, para reducir al mínimo la interferencia de la señal de fondo y / o instrumentos ópticos. En algunos aspectos, el montaje de detector 11200 está desprovisto de una fuente de luz incidente. Dicho de otro modo, no se necesita luz externa para la detección de la señal de las moléculas indicadoras, por ejemplo, luciferasa, producida por una célula diana, por ejemplo, bacteria, colocado en el recipiente, por ejemplo, el montaje de recipiente 3700.

30 Con referencia ahora también a las figuras 85 - 94, el montaje de detector 11200 incluye un detector 11212 y un obturador 11230 colocado en un alojamiento 11202. El montaje de detector 11200 se configura para recibir de manera amovible un recipiente, por ejemplo, el montaje de recipiente 3700, y detectar una señal producida en el mismo, por ejemplo, una señal de luminiscencia que resulta de una interacción química de una molécula indicadora (por ejemplo, luciferasa) con un sustrato (por ejemplo, tridecanal).

35 El alojamiento 11202 se puede formar de un material fuerte, rígido y sustancialmente opaco, por ejemplo, metales. En algunos aspectos, el alojamiento se puede pintar de un color oscuro, por ejemplo, negro, para reducir al mínimo las reflexiones internas y / o las refracciones debidas a la reacción de luminiscencia producida en un recipiente colocado en el montaje de detector, por ejemplo, el montaje de recipiente 3700. El alojamiento 11202 también se configura para impedir que la luz externa entre al montaje de detector 11200, por ejemplo, para reducir el ruido de fondo y / o la calidad de la señal. El alojamiento 11202 incluye una ranura 11203. Un receptáculo 11204 se coloca en la ranura 11203 que define una abertura 11207 hecha de un tamaño y forma para recibir de manera amovible un recipiente, por ejemplo, montaje de recipiente 3700. El receptáculo 11204 se puede acoplar de manera fija o amovible con el alojamiento 11202, por ejemplo, mediante tornillos, pernos, remaches, pegamentos, soldadura térmica, o ajuste a presión en la ranura 11203 del alojamiento 11212. Tal como se muestra en la figura 86, el receptáculo 11204 incluye una junta 11206 colocada de manera fija en el receptáculo 11204. La junta 11206 se puede formar de un material rígido y resistente al estrujamiento y / o desgaste, por ejemplo, neopreno de alta densidad. La junta 11206 se configura de tal modo que, cuando el montaje de recipiente 3700 se coloca en el receptáculo 11204, la junta 11206 y una porción del módulo de reactivo 3740 forman un sello hermético a luz para impedir que cualquier luz externa entre dentro del alojamiento 11202. En algunos aspectos, la altura del receptáculo 11204 se puede variar, por ejemplo, para dar cabida a recipientes de varias longitudes. Esto puede asegurar que algunas variaciones en la longitud del recipiente, por ejemplo, debido a las variaciones en el proceso de fabricación y / o preferencia del usuario, no cambia la distancia de un extremo de fondo del recipiente, por ejemplo, una base de recipiente, desde el detector 11212 por ejemplo, para mejorar la calidad y / o repetitibilidad de la señal. El alojamiento 11202 define adicionalmente un canal 11209 configurado para recibir al menos una porción del recipiente, por ejemplo, una cámara de reacción 3732 del montaje de recipiente 3700. El alojamiento 11202 también incluye un volumen interno 11210 configurado para alojar el obturador 11230, de tal modo que el obturador 11230 esté libre para que se manipule y / o desplace desde una primera posición a una segunda posición dentro del volumen interno 11210. El alojamiento 11202 incluye además el conjunto de circuitos 11208 colocado en una pared lateral del alojamiento 11202. El conjunto de circuitos se configura para controlar la operación de una fuente de luz 11246, tal como se describe en lo sucesivo en el presente documento.

65 La figura 87 muestra los componentes internos del montaje de detector 11200 con el alojamiento 11202 retirado y la figura 88 muestra una vista en despiece ordenado de los componentes del montaje de detector 11200. Tal como se muestra en el presente documento, el montaje de detector 11200 incluye una placa base 11211 configurada para montar el montaje de detector 11200 en la placa base 11118 del instrumento 11000. La placa base 11211 también

se configura para proporcionar una base para montar los componentes del montaje de detector 11200 y el alojamiento 11202.

El montaje de detector 11200 incluye un detector 11212 colocado en un encierro de detector 11214. El detector 11212 puede ser un detector óptico, por ejemplo, un tubo fotomultiplicador (PMT, *photomultiplier tube*), un luminómetro, un espectrofotómetro, un detector de fluorescencia, y o cualquier otro detector óptico adecuado. El detector 11212 se configura para detectar una señal óptica, por ejemplo, luminiscencia, producida debido a una reacción química en un recipiente, por ejemplo, el montaje de recipiente 3700, tal como se describe en el presente documento. En algunos aspectos, el detector 11212 puede incluir un detector amperométrico, un detector potenciométrico, un detector conductométrico y / o impedométrico, configurado para detectar una corriente, voltaje o conductancia, cambio de resistencia y / o impedancia producido por la molécula indicadora, por ejemplo, luciferasa. Una superficie de fondo del encierro de detector 11214 se acopla con un montaje 11216 que está colocado en la placa base 11211. El montaje 11216 se puede hacer de un material rígido pero blando, por ejemplo, almohadilla de caucho o espuma, para proporcionar un soporte acojinado al encierro de detector 11214. Una superficie superior del encierro de detector 11214 se acopla con un separador 11218, por ejemplo, se atornilla, sujeta con perno, y / o remacha al separador 11218. El separador 11218 se puede producir de un material fuerte, rígido y de baja fricción, por ejemplo, una placa metálica pulida (por ejemplo, aluminio, acero inoxidable, etcétera). El separador 11218 se configura para proporcionar una capa de separación entre el encierro de detector 11214 y el obturador 11230, por ejemplo, para impedir el desgaste del encierro de detector 11214 debido a un desplazamiento del obturador 11230, tal como se describe en el presente documento. El separador 11218 incluye una abertura 11219 que se configura de tal modo que, cuando el separador 11218 se acopla con el detector 11212, la abertura 11219 está localizada directamente por arriba del detector 11212 y proporciona acceso óptico no impedido al detector 11212. La abertura 11219 también incluye una ventana 11220, por ejemplo, una pieza de plástico transparente o vidrio circular, colocada en la misma. La ventana 11220 se configura para proteger el detector 11212, por ejemplo, de partículas de polvo y / o daño físico debido al contacto accidental por un extremo de un recipiente, por ejemplo, montaje de recipiente 3700. También se coloca un asiento 11222 en la abertura 11219, configurada para asentar de manera segura la ventana 11220 en la abertura 11219. El asiento 11222 también se puede configurar para hacer contacto con una superficie superior del encierro de detector 11214 y encerrar del detector 11212, por ejemplo, para sellar a la luz el detector 11212 de la luz ambiente. En algunos aspectos, el sello 11214 se puede formar de caucho, plástico y / o polímeros y puede ser un anillo tórico. Un sello 11224, por ejemplo, un sello de caucho, también se coloca en el separador 11224. El sello 11224 se puede configurar para sellar a la luz el volumen interno 11210 del alojamiento 11202, por ejemplo, el volumen interno 11210 que aloja el obturador 11230 de la luz ambiente, por ejemplo, para reducir el ruido de fondo, incrementar la calidad y / o la repetibilidad de la señal.

El montaje de detector 11200 también incluye un obturador 11230 colocado de manera deslizable en el separador 11218 y configurado para moverse desde una primera posición de obturador en donde el obturador 11230 está cerrado y el detector 11212 está desacoplado ópticamente de un recipiente, por ejemplo, el montaje de recipiente 3700 colocado en el montaje de detector 11200, a una segunda posición de obturador en donde el obturador 11230 está abierto y el detector 11212 está acoplado ópticamente con el recipiente. Tal como se muestra en las figuras 89 - 90, el obturador 11230 incluye una depresión 11232, que incluye una ranura 11234 y una superficie 11236. La ranura 11234 se hace de una forma y tamaño para recibir una porción de extremo de un recipiente, por ejemplo, el montaje de recipiente 3700. La superficie 11236 está contorneada, por ejemplo, curvada para ajustarse a un contorno de un extremo de fondo del recipiente. La superficie 11236 se inclina a un ángulo que conduce desde una superficie superior 11236 del obturador 11230 a un borde superior de la ranura 11234. En algunos aspectos, la superficie 11236 se puede inclinar a un ángulo de 30 grados, de 40 grados, de 45 grados, de 50 grados o de 60 grados con respecto a una superficie horizontal superior del obturador 11230. La superficie 11230 se configura para que se acople desde un extremo de fondo del recipiente, por ejemplo, el montaje de recipiente 3700, para manipular el obturador 11230 desde la primera posición a la segunda posición, tal como se describe en el presente documento. El obturador 11230 incluye un manguito 11238 que tiene un resorte 11240 colocado en el mismo. Un segundo extremo del resorte 11240 se coloca en una muesca 11202 en el alojamiento 11241 (la figura 85) montado en una espiga 11242. El resorte 11240 se configura para impulsar el obturador 11230 desde la segunda posición de obturador a la primera posición de obturador, y / o asegurar, retener y / o impedir el movimiento lateral de un recipiente, por ejemplo, el montaje de recipiente 3700 colocado en la ranura 11234, tal como se describe en el presente documento.

El obturador 11230 incluye adicionalmente un canal 11244 configurado para definir una ruta óptica para una radiación electromagnética, por ejemplo, luminiscencia emitida por una fuente de luz 11246. El canal 11244 se configura de tal modo que el canal 11244 acopla ópticamente la fuente de luz 11246 con el detector 11212 solo cuando el obturador se encuentra en la primera posición. En algunos aspectos, la fuente de luz 11246 puede incluir un diodo emisor de luz (LED, *light emitting diode*) o un láser, y puede incluir, además, una guía de luz, por ejemplo, un cable de fibra óptica. La fuente de luz 11246 se puede configurar para emitir una señal de luminiscencia de referencia, por ejemplo, una señal de calibración para calibrar el detector 11212.

Tal como se describe en el presente documento, el obturador 11230 se configura para desplazarse desde una primera posición dentro del volumen interno 11210, en donde el obturador 11230 se cierra, a una segunda posición en donde se abre el obturador 11230. Las figuras 91 - 94 muestran una sección transversal lateral del montaje de

5 detector 11200 en una primera configuración, una segunda configuración, una tercera configuración y una cuarta configuración. En la primera configuración (la figura 72), no se coloca recipiente en el montaje de detector 11200. El resorte 11240 aplica una fuerza en el obturador 11230 a lo largo de un eje horizontal H_A del obturador en una dirección que se muestra por medio de la flecha AA para manipular y mantener el obturador 11230 en la primera posición de obturador, de tal modo que la ranura 11234 del obturador 11230 no está alineada con la abertura 11219 y el detector 11212, de tal modo que ninguna luz ambiente sea incidente en el detector 11212. El canal 11244 se alinea con el detector 11212, de tal modo que la fuente de luz 11246 se acopla ópticamente con el detector 11212. Por lo tanto, en la primera configuración, la fuente de luz 11246 se puede usar para enviar una señal de referencia al detector 11212, por ejemplo, para calibrar el detector 11212.

10 En la segunda configuración (la figura 92), un montaje de recipiente 3700, tal como se ha descrito en lo que antecede en el presente documento, se coloca en el montaje de detector 11200 en una primera posición. El montaje de recipiente 3700 incluye una cámara de reacción 3732 y un módulo de reactivo 3740 tal como se ha descrito en lo que antecede en el presente documento. El montaje de recipiente 3700 se puede colocar en el montaje de detector 15 11200, por ejemplo, por el montaje manipulador 11600. La cámara de reacción 3732 del montaje de recipiente 3700 está colocada de manera sustancial en el canal 11209 en tanto que al menos una porción del módulo de reactivo 3740 está colocada en el receptáculo 11204. Una porción de extremo 3733 de la cámara de reacción 3732 se encuentra en contacto con la superficie 11236. Se aplica una fuerza hacia abajo en el montaje de recipiente 3700, por ejemplo, por el montaje manipulador 11600 tal como se describe en el presente documento, a lo largo de un eje vertical V_A del montaje de detector 11200 tal como se muestra por medio de la flecha F que se comunica a la superficie 11236 del obturador 11230 por la porción de extremo 3733 de la cámara de reacción 3732 que está incluida en el montaje de recipiente 3700. Debido a que la superficie 11236 está inclinada, por ejemplo, a 45 grados con respecto a un eje horizontal del obturador 11230, la porción de extremo 3733 del montaje de recipiente 3700 ejerce una fuerza angular F_{xy} en la superficie 11236 tal como se muestra. La fuerza F_{xy} tiene una componente horizontal F_x y una componente vertical F_y tal como se muestra en la figura 92. La componente horizontal F_x impulsa al montaje de obturador 11230 a desplazarse en sentido horizontal a lo largo del eje horizontal H_A en la dirección indicada por medio de la flecha F_x de tal modo que la ranura 11234 del obturador 11230 se desplaza hacia el detector 11212 tal como se muestra en la tercera configuración (la figura 93). El resorte 11240 se puede configurar para ejercer una fuerza reactiva en la cámara de reacción 3732, pero no suficientemente grande para evitar que la cámara de reacción 3732 manipule el obturador 11230. El canal 11209 del alojamiento 11202 puede encontrarse con una tolerancia estrecha o solo ligeramente mayor que el diámetro de la cámara de reacción 3732, por ejemplo, para impedir cualquier movimiento lateral del montaje de recipiente 3700 por la fuerza reactiva ejercida por el resorte 11240.

35 La fuerza hacia abajo F en el montaje de recipiente 3700 se puede mantener hasta que esté en la tercera configuración, el obturador 11230 se desplaza a una segunda posición de tal modo que la ranura 11234 se alinea con el detector 11232 y la porción de extremo 3733 de la cámara de reacción 3732 se coloca en la ranura 11234, tal como se muestra en la figura 94. La porción de extremo 3733 de la cámara de reacción 3732 puede estar próxima, pero no en contacto con la ventana 11220, por ejemplo, para impedir el rayado y / o el desgaste de la ventana. En esta configuración, el resorte 11240 aplica una fuerza en el obturador 11230 que empuja el obturador 11230 hacia la primera posición de obturador. Esta fuerza se comunica a una pared lateral de la porción de extremo 3733 de la cámara de reacción 3732 a través de una pared lateral de la ranura 11234 que está incluida en el obturador 11230, que impide que el obturador 11230 se deslice desde la primera posición de obturador. En algunos aspectos, la ranura 11234 puede definir un volumen de detección que está configurado para restringir cualquier señal producida en la cámara de reacción 3732, por ejemplo, la luminiscencia producida por la interacción de una molécula indicadora, por ejemplo, luciferasa, con un sustrato, por ejemplo, tridecanal, por ejemplo, para incrementar la calidad, sensibilidad, repetibilidad de la señal y / o para reducir el ruido de fondo. Adicionalmente, una superficie de fondo 3735 del módulo de reactivo 3740 que está incluido en el montaje de recipiente 3700 descansa en y está al ras con la junta 11206 de tal modo que no puede entrar nada de luz ambiente 11202 del montaje de detector 11200. En algunos aspectos, el montaje manipulador 11600 puede mantener la fuerza hacia abajo F en el montaje de recipiente 3700 en la cuarta configuración, por ejemplo, para mantener un contacto fuerte entre la superficie de fondo 3735 del módulo de reactivo 3740 que está incluido en el montaje de recipiente 3700, y la junta 11206.

55 La figura 95 muestra el conjunto de circuitos de detector 11270 que se puede usar para controlar el montaje de detector 11200, de acuerdo con un aspecto. El conjunto de circuitos 11270 se coloca en el alojamiento 11202 del instrumento 11200, montada en la placa base 11118. En algunos aspectos, el conjunto de circuitos 11270 puede incluir un detector de fotones y / o cualquier otro conjunto de circuitos para procesar señales optoelectrónicas, tal como se conoce comúnmente en la técnica.

60 En algunos aspectos, un reactivo, por ejemplo, un sustrato se puede comunicar en la cámara de reacción 3732 en la cuarta configuración de tal modo que una reacción química produce una señal en la cámara de reacción 3732 que se puede detectar por medio del detector 11212. Por ejemplo, el segundo émbolo 11636 que está incluido en el montaje manipulador 11600 se puede acoplar con el accionador 3760 que está incluido en el módulo de reactivo 3740 del montaje de recipiente 3700 para comunicar un sustrato, por ejemplo, tridecanal o cualquier otro sustrato que se describe en el presente documento, en la cámara de reacción 3732. El sustrato puede interaccionar con una molécula indicadora presente en una solución de muestra colocada en el recipiente, por ejemplo, molécula

5 indicadora luciferasa o cualquier otra molécula indicadora que se describe en el presente documento producida por la interacción de un vector biológico o abiológico tal como una partícula de transducción (por ejemplo, partículas de transducción 160 o cualquier otra partícula de transducción que se describe en el presente documento) con una célula diana, por ejemplo, bacteria tal como MRSA. La interacción del sustrato y la molécula indicadora pueden producir una señal, por ejemplo, luminiscencia que se puede detectar por medio del detector 11212. En algunos aspectos, la reacción entre el sustrato y la molécula indicadora puede ser una reacción instantánea, por ejemplo, rápida, de tal modo que se produzca una señal instantáneamente después de la comunicación del sustrato en la solución de muestra que incluye las moléculas indicadoras. La detección de la señal indica que la muestra colocada en la cámara de reacción 3732 contiene la célula diana.

10 Tal como se describe en el presente documento, el detector 11212 o cualquier otro detector que se describe en el presente documento se puede calibrar antes de producir una medición de señal. La figura 96 ilustra un diagrama de flujo de un método para calibrar y producir una medición con un detector, por ejemplo, el detector 11212 que está incluido en un instrumento, por ejemplo, el instrumento 11000. El método incluye recibir una primera señal asociada con una magnitud de la emisión de luz en un volumen de detección, 702, en un primer momento de tal modo que el volumen de detección esté ópticamente aislado de un canal por un obturador móvil, por ejemplo, el obturador 11230, que está colocado en una primera posición de obturador. En algunos aspectos, se puede transmitir una emisión de luz, por ejemplo, una señal de calibración, en el volumen de detección mediante un canal de luz definido por el obturador cuando el obturador esté en la primera posición. Se aplica una fuerza al recipiente de muestra para mover el obturador a la segunda posición, 704. El recipiente puede estar inicialmente colocado al menos en parte dentro del canal de tal modo que la aplicación de una fuerza en el recipiente, permite que una porción de extremo distal del recipiente mueva el obturador desde la primera posición de obturador a la segunda posición de obturador. Esto permite que la porción de extremo distal del recipiente se mueva al volumen de detección, 706, de tal modo que el canal ahora se encuentra en comunicación óptica con el volumen de detección. En esta posición se puede recibir una segunda señal asociada con una emisión de luz en el volumen de detección, 708. En algunos aspectos, antes de recibir la segunda señal, un reactivo, por ejemplo, un sustrato se puede transportar en la porción de extremo distal del recipiente. El sustrato, por ejemplo, tridecanal se puede configurar para reaccionar con, por ejemplo, moléculas indicadoras presentes en la muestra para producir una emisión de luz. En algunos aspectos, el detector 11212, o cualquier otro detector que se describe en el presente documento, puede incluir controles internos de calibración, por ejemplo, algoritmos de software, de tal modo que no se requiera una fuente externa de luz de calibración.

35 Tal como se describe en el presente documento, el instrumento 11000 o cualquier otro instrumento que se describe en el presente documento se puede usar para manipular un recipiente (por ejemplo, montaje de recipiente 3700 o cualquier otro recipiente que se describe en el presente documento), por ejemplo, para transportar un recipiente, comunicar reactivos en un volumen de reacción del recipiente y / o detectar una señal, por ejemplo, luminiscencia producida dentro del recipiente. La figura 97 ilustra un diagrama de flujo de un método para manipular un recipiente dentro de un instrumento. Un recipiente que puede tener una muestra colocada en el mismo que contiene células diana, por ejemplo, bacterias, se puede cargar en una zona de carga del instrumento 802, por ejemplo, el cartucho de carga 11300. El recipiente se transporta a un calentador que está incluido en el instrumento 804, por ejemplo, por el montaje manipulador 11600 mediante el montaje de accionamiento 11500 al montaje de calentador 11400. Un vector biológico o abiológico tal como una partícula de transducción se comunica en un volumen de reacción del recipiente 806, por ejemplo, por una manipulación del émbolo interior 11632 del montaje manipulador 11600. El recipiente se mantiene a una temperatura previamente determinada durante un tiempo previamente determinado 808, por ejemplo, a 37 grados Celsius durante 4 horas por el montaje de calentador 11400. Las partículas de transducción interactúan con las células diana que están incluidas en la muestra, de tal modo que las células diana producen una serie de moléculas indicadoras 810. En algunos aspectos, el montaje de calentador 11400 se puede configurar para mantener el recipiente (por ejemplo, el montaje de recipiente 3700 o cualquier otro recipiente que se describe en el presente documento) a una serie de temperaturas, durante tiempos previamente determinados. Por ejemplo, el recipiente y la muestra colocada en el mismo se pueden mantener a 37 grados Celsius durante un primer momento, por ejemplo, 4 horas. La temperatura del recipiente entonces se puede disminuir a una segunda temperatura por debajo de la primera temperatura (por ejemplo, 30 grados Celsius), por ejemplo, al transferir un bloque calentador 11422 a la segunda temperatura. El recipiente se puede mantener, por ejemplo, a la segunda temperatura hasta la detección. Entonces, el recipiente se transporta a un detector que está incluido en el instrumento 812, por ejemplo, el montaje de detector 11200. Por ejemplo, el montaje manipulador 11600 se puede usar para transportar el recipiente mediante el montaje de accionamiento 11500. Un sustrato entonces se comunica al recipiente 814, por ejemplo, mediante una manipulación del émbolo exterior 11636 del montaje manipulador 11600. El sustrato interacciona con las moléculas indicadoras para producir una señal 816 que se detecta usando el detector 818. El recipiente analizado entonces se transporta a una zona de descarga del instrumento 820, por ejemplo, un cartucho de descarga 11300, y se puede retirar del recipiente 822.

65 En algunos aspectos, un instrumento, por ejemplo, el instrumento 11000 o cualquier otro instrumento que se describe en el presente documento, puede encontrarse en comunicación con un sistema de información de laboratorio (LIS), por ejemplo, el LIS 1900 tal como se muestra en las figuras 2 - 3.

En tanto que se han descrito en lo que antecede varios aspectos, se debe entender que se han presentado solo a manera de ejemplo, y no de limitación. En donde los métodos y / o vistas esquemáticas que se han descrito en lo que antecede indican ciertos eventos y / o patrones de flujo que se presentan en cierto orden, se puede modificar el orden de ciertos eventos y / o patrones de flujo. Adicionalmente ciertos eventos se pueden llevar a cabo de manera concurrente en procesos paralelos cuando es posible, así como llevar a cabo de manera secuencial. En tanto que se han mostrado y descrito de manera particular los aspectos, será evidente que se pueden hacer varios cambios en forma y detalles.

En algunos aspectos, las rutas de fluido definidos por cualquiera de los módulos de reactivo (por ejemplo, 1740) pueden incluir válvulas o cualquier otro mecanismo de control de flujo. Estos mecanismos incluyen una válvula de mariposa, válvula de membrana, válvula de boca plana, válvula de sombrilla, septo, o cualquier otro mecanismo adecuado de valvulaje para permitir que los reactivos fluyan en una dirección. En algunos aspectos, las válvulas pueden ser sensibles a la presión de tal modo que permitan la comunicación de fluidos solo por arriba de un umbral previamente determinado de presión, por ejemplo, para impedir la comunicación accidental de reactivos.

En algunos aspectos, cualquiera de los sistemas y métodos que se describen en la presente invención incluyen un sistema indicador que notifica la presencia de moléculas inductoras dentro de las células diana que se pueden desarrollar al incorporar en una partícula de transducción no replicativa, de los tipos que se muestran y se describen en el presente documento, un gen indicador que está enlazado de manera operativa a un promotor inducible que controla la expresión de un gen diana dentro de una célula diana. Cuando el vector indicador se introduce en la célula diana que expresa el inductor del promotor del gen diana, la expresión del gen indicador es posible mediante la inducción del promotor del gen diana en el vector indicador.

En un aspecto, un sistema indicador VanR se puede desarrollar para el propósito de detectar enterococos resistentes a vancomicina (VRE, *vancomycin resistant Enterococci*). El transposón Tn1546 que se puede encontrar presente en *E. faecium* puede contener el gen inductor vanR y el gen diana vanA. Se puede desarrollar un sistema indicador VRE al desarrollar una partícula de transducción no replicativa que tiene como objetivo *E. faecium* que incorpora un gen indicador enlazado de forma operativa al promotor P_H que controla la expresión del operón vanHAX que incluye el gen vanA. Cuando la partícula de transducción distribuye el gen indicador controlado por P_H en la célula de *E. faecium*, el gen indicador se expresará mediante la inducción del promotor P_H por el producto de VanR.

En otro aspecto, un sistema indicador para detectar TcdD, el inductor de los promotores de los genes de las toxinas A y B (*tcdA* y *tcdB*, de forma respectiva) de *C. difficile* se puede desarrollar al desarrollar una partícula de transducción no replicativa que tenga como objetivo *C. difficile* y que incorpore el gen indicador que está enlazado de forma operativa al promotor de gen *tcdA*. El transposón PaLoc en *C. difficile* puede contener el gen TcdD y el gen diana *tcdA*. En la célula nativa, cuando el gen TcdD se expresa y produce la proteína TcdD, TcdD es capaz de inducir PtcdA en el transposón PaLoc provocando de este modo la expresión del gen *tcdA* y de esta manera produciendo la proteína de la toxina A. Al introducir un gen indicador que está enlazado de forma operativa al promotor del gen *tcdA* (PtcdA) en una célula diana, entonces también TcdD es capaz de inducir PtcdA que controla el gen indicador, provocando de este modo la expresión de una molécula indicadora.

Se puede desarrollar un sistema indicador para informar de la presencia de una enzima intracelular diana al desarrollar un indicador de células viable a base de partículas de transducción no replicativa que emplea un indicador que requiere un sustrato para la generación de la señal y al capturar el sustrato de tal modo que no sea capaz de activar una señal mediante el indicador a menos que el sustrato se libera mediante la interacción con la enzima diana. Una célula diana se expone a la partícula de transducción de tal modo que el indicador se exprese dentro de la célula diana y se aplique el sustrato capturado. Si la célula diana contiene una enzima diana, la interacción entre la enzima diana y el sustrato capturado libera el sustrato, permitiendo que el sustrato liberado active una señal de las moléculas indicadoras expresadas.

En un aspecto, la molécula indicadora que se va a expresar puede ser luciferasa de Renilla y el sustrato capturado puede ser luciferina de Renilla que se captura de tal modo que una enzima de β -lactamasa que es endógena a la célula diana es capaz de escindir el compuesto de capturada de la luciferina capturada y liberar la luciferina no capturada. Al incorporar estos componentes en una partícula de transducción de no replicativa que tiene como diana una célula que puede contener una enzima de β -lactamasa, se puede desarrollar un sistema indicador de enzima de β -lactamasa específico de la célula diana.

Se puede desarrollar un sistema indicador de molécula intracelular al incorporar en una partícula de transducción no replicativa una molécula indicadora conmutable que no emite una señal a menos que interacciona con una molécula diana intracelular.

En un aspecto, una partícula de transducción no replicativa se puede diseñar para incorporar un gen que exprese el aptámero conmutable diseñado para experimentar un cambio conformacional en su unión a una molécula diana intracelular. El cambio conformacional permite que el aptámero entonces se una a un fluoróforo que muestra fluorescencia mejorada cuando se une por el aptámero.

Un sistema indicador a base de ARN antisentido para detectar transcritos diana dentro de células viables al provocar la expresión de una molécula indicadora si un transcrito diana está presente dentro de una célula se puede desarrollar. En el aspecto general, una partícula de transducción no replicativa incorpora una secuencia de ADN que codifica para un mensaje antisentido que es complementario a una región de un transcrito diana (diana), y una secuencia que codifica para una versión mutada del transcrito diana (diana*) fusionado a un gen indicador (indicador) se usa. La mutación del transcrito diana es de tal modo que el transcrito antisentido se une al transcrito diana mutada con una menor afinidad que aquella de su unión al transcrito diana nativo. La secuencia antisentido se controla por una secuencia promotora (P), y la secuencia diana mutada enlazada al gen indicador se controla por una secuencia promotora idéntica (P). Cuando el sistema indicador se introduce en una célula que no contiene un transcrito diana endógeno, el transcrito antisentido expresado inhibe la traducción del gen indicador y el transcrito antisentido y el transcrito indicador se consumen en el proceso. No obstante, cuando el vector se inserta en una célula que contiene un transcrito diana endógeno, el transcrito antisentido expresado se une de manera preferente al transcrito diana nativo y el transcrito antisentido y el transcrito diana se consume en el proceso, dejando al gen indicador para que se traduzca produciendo de esta manera una proteína indicadora que se puede detectar. Por lo tanto, este vector provoca la expresión de una señal detectable cuando se introduce en una célula diana que contiene el transcrito diana.

En algunos aspectos, las partículas de transducción no replicativas que tienen como objetivo células de *S. aureus* se diseñan para indicar la presencia de transcritos *mecA* dando como resultado de este modo un sistema de detección de MRSA. Las partículas de transducción distribuyen secuencias de ADN que codifican para un mensaje antisentido que es complementario a una región del transcrito *mecA* (*mecA*), y una secuencia que codifica para una versión mutada del transcrito *mecA* (*mecA**) fusionado a los genes de luciferasa bacteriana *luxA* y *luxB* (*luxAB*). La mutación del transcrito *mecA** es de tal modo que el transcrito antisentido se une a su transcrito con una menor afinidad que aquella de su unión al transcrito *mecA* nativo. La fusión *mecA** - *luxAB* y el fragmento del gen *mecA* antisentido se enlazan cada uno de forma operativa a los promotores constitutivamente expresados. Cuando la construcción indicadora se introduce en células de MRSA por la partícula de transducción, si la célula no produce un transcrito *mecA* endógeno, entonces el fragmento de secuencia antisentido del gen *mecA* solo se puede unir a la secuencia *mecA* del transcrito del fragmento modificado del gen *mecA* fusionado a los genes *luxAB*. Este evento de unión entonces, impide la traducción de los genes *luxAB* impidiendo de este modo la producción de luciferasa dentro de esta célula. Si, por otra parte, la célula contiene un transcrito *mecA* endógena, entonces, el transcrito del fragmento de secuencia antisentido del gen *mecA* se unirá de manera preferente al transcrito *mecA* endógena sobre el transcrito del fragmento modificado del gen *mecA* fusionado a los genes *luxAB* dejando de esta manera este transcrito disponible para traducción de los genes *luxAB* produciendo de este modo luciferasa. Por lo tanto, el vector del indicador de transcrito *mecA* puede indicar la presencia de los transcritos *mecA* endógenos dentro de una célula.

REIVINDICACIONES

1. Un aparato (11000), que comprende un montaje de detector (3200, 11200), comprendiendo dicho montaje de detector un alojamiento (3202, 11202), un detector óptico (3212, 11212) y un obturador (3230, 11230),
 5 definiendo dicho alojamiento (3202, 11202) un canal (3209, 11209) que está configurado para recibir un recipiente de muestra (12700, 3700) y definiendo un volumen de detección (3234, 11210) que está configurado para colocar el canal (3209, 11209) en comunicación con el detector (3212, 11212);
 incluyendo dicho alojamiento (3202, 11202) una primera superficie de sello (3206, 11206) y una segunda superficie de sello (3207), en donde una primera porción (12733, 3733) del recipiente de muestra (12700, 3700) y la primera
 10 superficie de sello (3206, 11206) están configuradas para aislar el volumen de detección (3234, 11210) con respecto a un volumen en el exterior del alojamiento cuando una segunda porción (12732, 3732) del recipiente de muestra (12700, 3700) está dispuesta dentro del volumen de detección (3234, 11210);
 teniendo dicho obturador (3230, 11230) una porción que está dispuesta de forma móvil dentro del alojamiento (3209, 11209) y que se puede mover entre una primera posición de obturador y una segunda posición de obturador, en
 15 donde una superficie de sello (3231) del obturador y la segunda superficie de sello (3207) del alojamiento están configuradas para aislar el volumen de detección (3234, 11210) con respecto al canal (3209, 11209) del alojamiento cuando dicho obturador (3230, 11230) se encuentra en la primera posición de obturador, y en donde el canal (3209, 11209) del alojamiento se encuentra en comunicación con el volumen de detección (3234, 11210) cuando el obturador se encuentra en la segunda posición de obturador;
 20 caracterizado por que el obturador define un orificio de calibración (11244) que incluye una fuente de luz de calibración (11246), en donde el orificio de calibración (11244) se encuentra en comunicación con el volumen de detección (3234, 11210) y coloca la fuente de luz de calibración (11246) en comunicación con el detector (3212, 11212) cuando el obturador se encuentra en la primera posición de obturador y en donde el orificio de calibración está aislado del volumen de
 25 detección (3234, 11210) cuando el obturador se encuentra en la segunda posición de obturador.
2. El aparato de la reivindicación 1, en donde la primera superficie de sello (3206, 11206) incluye una junta.
3. El aparato de una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, en donde el obturador (3230, 11230) se encuentra en
 30 la primera posición de obturador cuando la segunda porción (12732, 3732) del recipiente de muestra (12700, 3700) dentro del canal (3209, 11209) se encuentra en el exterior del volumen de detección (3234, 11210), y el obturador (3230, 11230) se encuentra en la segunda posición de obturador cuando la segunda porción (12732, 3732) del recipiente de muestra (12700, 3700) se encuentra dentro del volumen de detección (3234, 11210).
- 35 4. El aparato de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el obturador (3230, 11230) incluye una superficie de accionamiento (11236) que está configurada para acoplarse con la segunda porción (12732, 3732) del recipiente de muestra (12700, 3700) para mover el obturador (3230, 11230) desde la primera posición de obturador a la segunda posición de obturador.
- 40 5. El aparato de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el obturador (3230, 11230) incluye una rampa (11236) que está configurada para acoplarse con la segunda porción (12732, 3732) del recipiente de muestra (12700, 3700) cuando la segunda porción (12732, 3732) del recipiente de muestra (12700, 3700) se mueve dentro del canal (3209, 11209) hacia el volumen de detección (3234, 11210) para mover el obturador (3230, 11230) hacia la
 45 segunda posición de obturador.
6. El aparato de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el obturador (3230, 11230) está configurado para trasladarse dentro del alojamiento en una dirección que está descentrada con respecto a un eje longitudinal del canal (3209, 11209).
- 50 7. El aparato de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que comprende adicionalmente: un miembro de desviación (11240) que está configurado para empujar el obturador (3230, 11230) hacia la primera posición de obturador.
8. El aparato de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde la fuente de luz (11246) incluye un diodo
 55 emisor de luz (LED) o un láser e incluye adicionalmente una guía de luz.
9. Un aparato (11000), que comprende un montaje de detector (3200, 11200), comprendiendo dicho montaje de detector un alojamiento (3202, 11202), un detector óptico (3212, 11212) y un obturador (3230, 11230),
 60 definiendo dicho alojamiento (3202, 11202) un canal (3209, 11209) que está configurado para recibir un recipiente de muestra (12700, 3700) y definiendo un volumen de detección (3234, 11210) que está configurado para colocar el canal (3209, 11209) en comunicación con el detector (3212, 11212) e incluyendo una superficie de sello (3206, 11206);
 teniendo dicho obturador (3230, 11230) una porción que está dispuesta de forma móvil dentro del alojamiento (3209, 11209) y que se puede mover entre una primera posición de obturador y una segunda posición de obturador, en
 65 donde el obturador (3230, 11230) incluye una superficie de sello (3231) y una porción de accionamiento,

- en donde la porción de accionamiento está configurada para acoplarse con una porción de extremo distal (12732, 3732) de un recipiente de muestra (12700, 3700) para trasladar el obturador (3230, 11230) en una dirección que está descentrada con respecto a un eje longitudinal del canal (3209, 11209) desde la primera posición de obturador a la segunda posición de obturador cuando la porción de extremo distal (12732, 3732) del recipiente de muestra
- 5 (12700, 3700) es movida hacia el volumen de detección (3234, 11210), y en donde la superficie de sello (3231) del obturador y la superficie de sello (3206, 11206) del alojamiento está configurada para aislar el volumen de detección (3234, 11210) con respecto al canal (3209, 11209) del alojamiento cuando el obturador (3230, 11230) se encuentra en la primera posición de obturador, y en donde el canal (3209, 11209) del alojamiento se encuentra en comunicación con el volumen de detección (3234, 11210) cuando el
- 10 obturador (3230, 11230) se encuentra en la segunda posición de obturador; caracterizado por que el obturador define un orificio de calibración (11244) que incluye una fuente de luz de calibración (11246), en donde el orificio de calibración (11244) se encuentra en comunicación con el volumen de detección (3234, 11210) y coloca la fuente de luz de calibración (11246) en comunicación con el detector (3212, 11212) cuando el obturador se
- 15 encuentra en la primera posición de obturador y en donde el orificio de calibración está aislado del volumen de detección (3234, 11210) cuando el obturador se encuentra en la segunda posición de obturador.
10. El aparato de la reivindicación 9, en donde la superficie de sello (3206, 11206) del alojamiento es una superficie de sello distal, definiendo el alojamiento (3202, 11202) una superficie de sello proximal; y una porción de extremo proximal (12733, 3733) del recipiente de muestra (12700, 3700) y la superficie de sello proximal del alojamiento están configuradas para aislar el volumen de detección (3234, 11210) con respecto a un volumen en el exterior del alojamiento cuando la porción de extremo distal (12732, 3732) del recipiente de muestra (12700, 3700) está dispuesta dentro del volumen de detección (3234, 11210).
- 20 11. El aparato de una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 10, que comprende adicionalmente un miembro de desviación (11240) que está configurado para empujar el obturador (3230, 11230) hacia la primera posición de obturador.
- 25 12. El aparato de una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, en donde la fuente de luz (11246) incluye un diodo emisor de luz (LED) o un láser e incluye adicionalmente una guía de luz.
- 30 13. Un método para calibrar y medir una señal usando un aparato (11000) de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, que comprende:
- 35 transmitir, en un primer momento, una primera señal de luz desde la fuente de luz de calibración (11246) al volumen de detección (3234, 11210), estando incluida dicha fuente de luz de calibración (11246) dentro del orificio de calibración (11244) del obturador (3230, 11230) y encontrándose el obturador (3230, 11230) en la primera posición de obturador con lo que el volumen de detección (3234, 11210) está ópticamente aislado del canal (3209, 11209) que se define en el alojamiento (3202, 11202);
- 40 detectar la primera señal de luz por medio del detector (3212, 11212); mover, en un segundo momento, el obturador (3230, 11230) desde la primera posición de obturador a la segunda posición de obturador mediante la aplicación de una fuerza al recipiente de muestra (12700, 3700), moviendo de ese modo la porción de extremo segunda o distal (12732, 3732) del recipiente de muestra (12000, 3700) al interior del volumen de detección (3234, 11210) y poniendo el canal (3209, 11209) del alojamiento
- 45 (3202, 11202) en comunicación óptica con el volumen de detección (3234, 11210); detectar una segunda señal de luz que se emite a partir del recipiente de muestra (12700, 3700) en el volumen de detección por medio del detector (3212, 11212).
14. El método de acuerdo con la reivindicación 13, que incluye adicionalmente:
- 50 calibrar el detector (3212, 11212) sobre la base de la primera señal de luz que se transmite a partir de la fuente de luz de calibración (11246).
15. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 14, que incluye adicionalmente, antes de detectar la segunda señal de luz:
- 55 transportar un sustrato a la porción de extremo segunda o distal (12732, 3732) del recipiente de muestra (12000, 3700) para hacer reaccionar dicho sustrato con unas moléculas indicadoras que se encuentran presentes en una muestra que está contenida en el recipiente de muestra (12000, 3700) para producir dicha segunda señal de luz.

Fig. 1

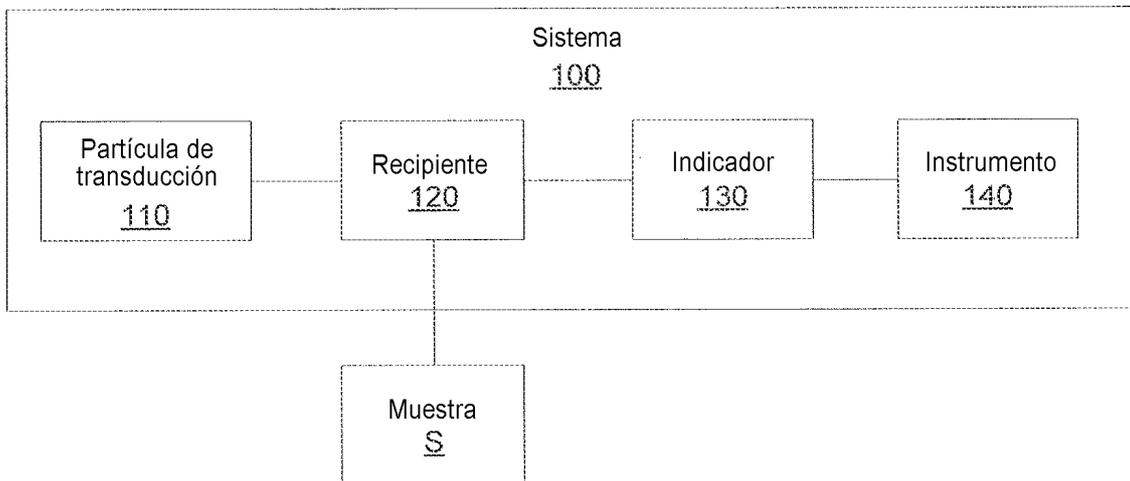


FIG. 2

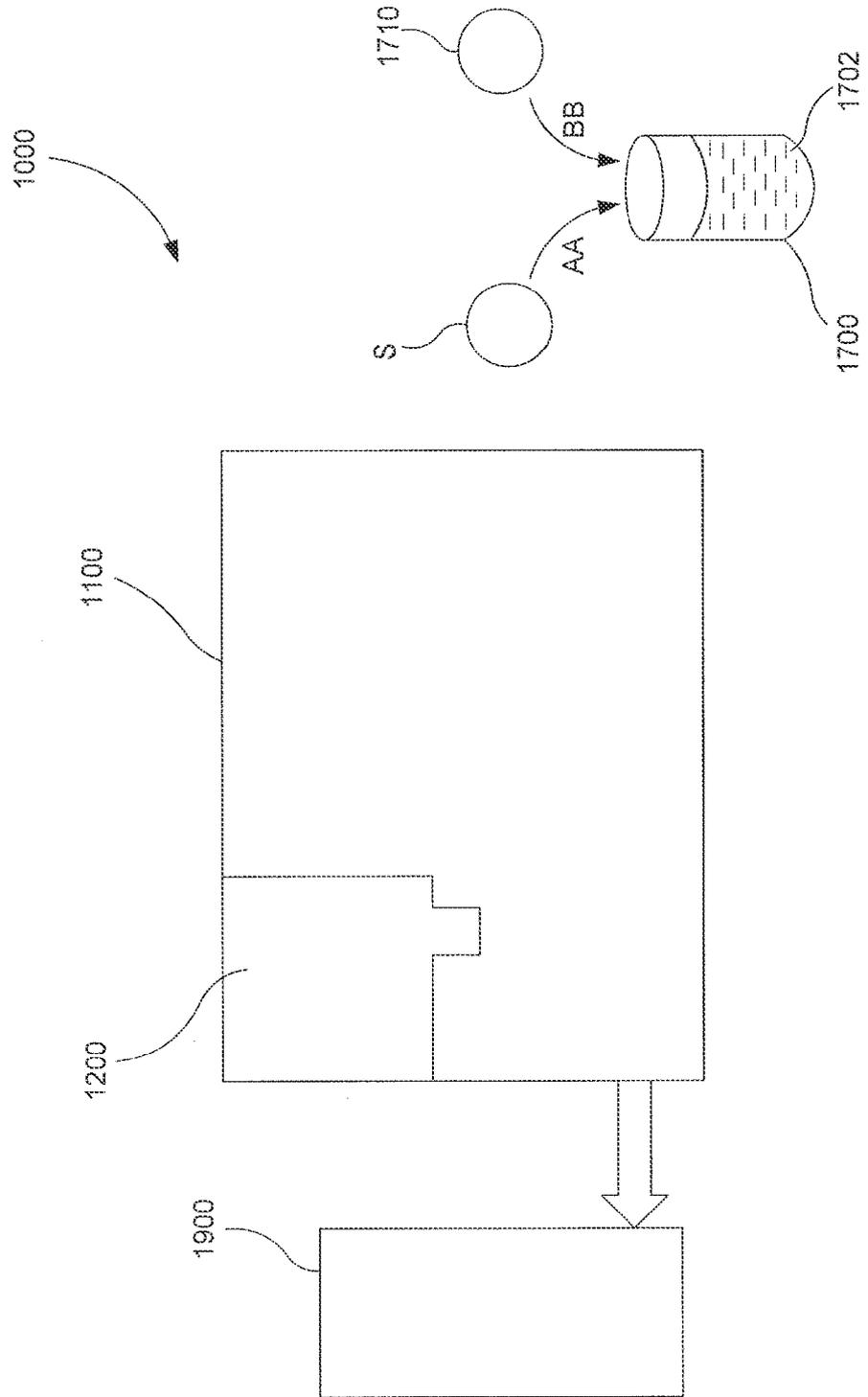


Fig. 3

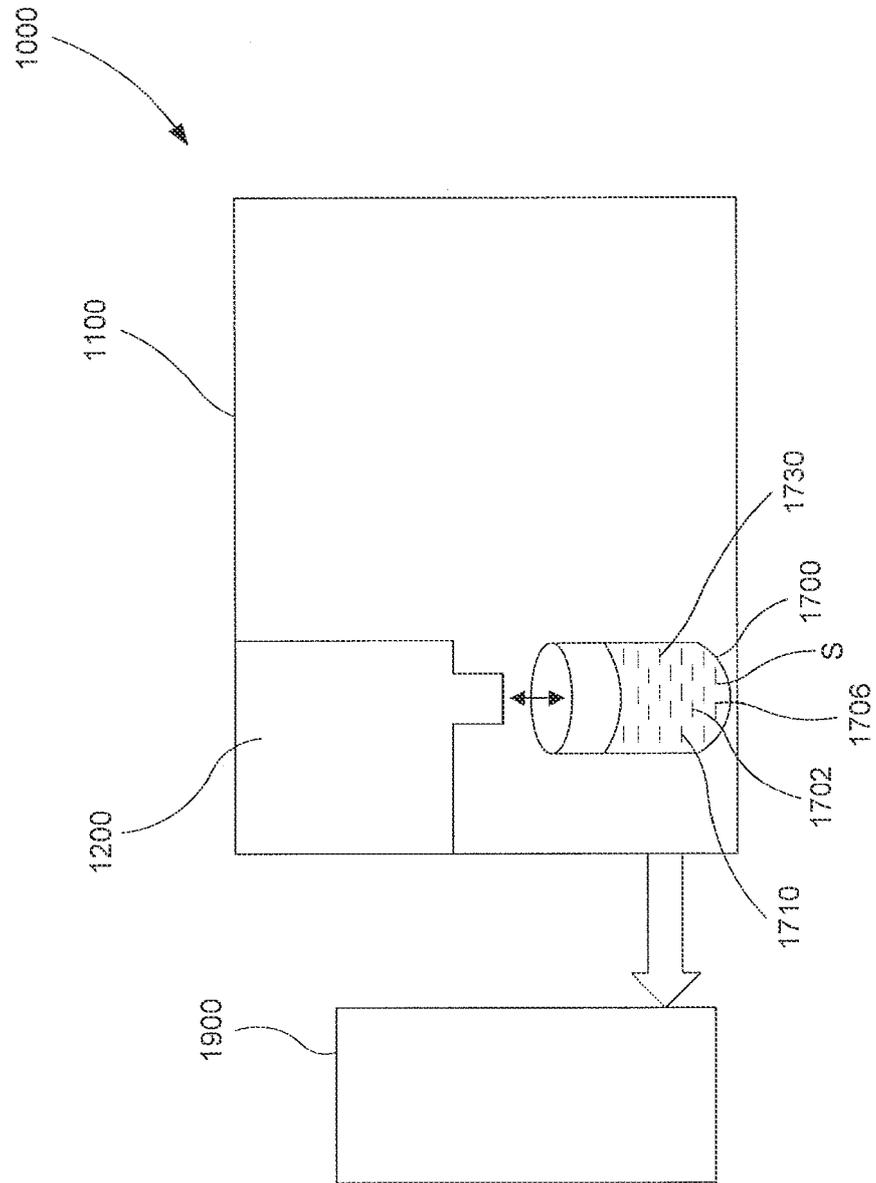


Fig. 4

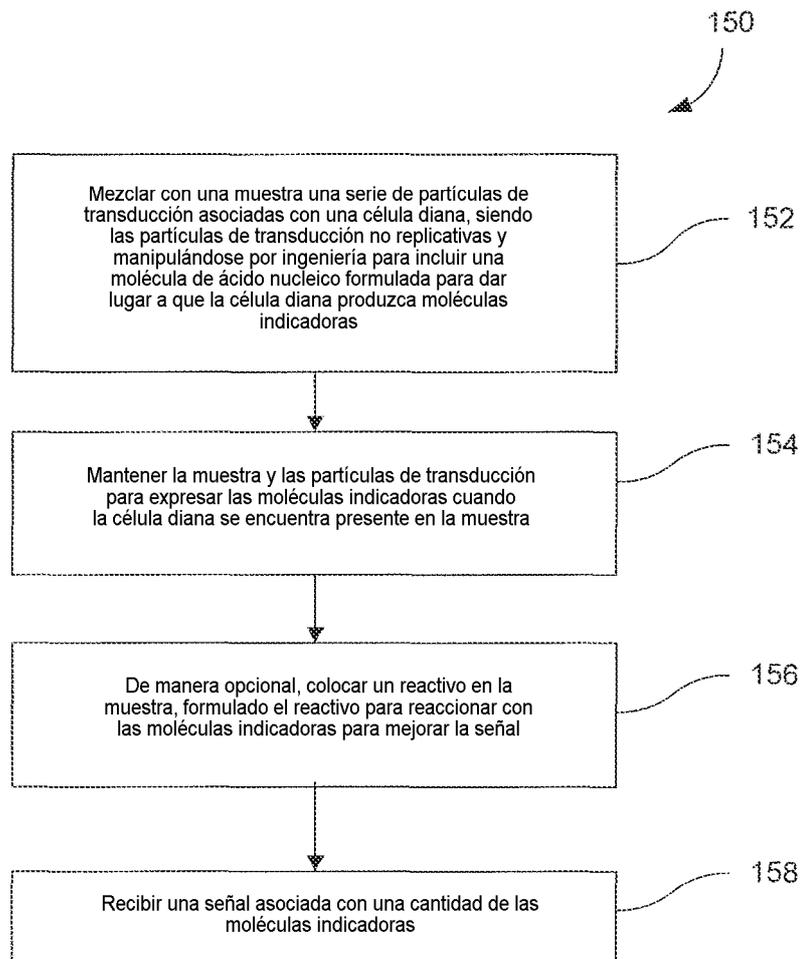


Fig. 5

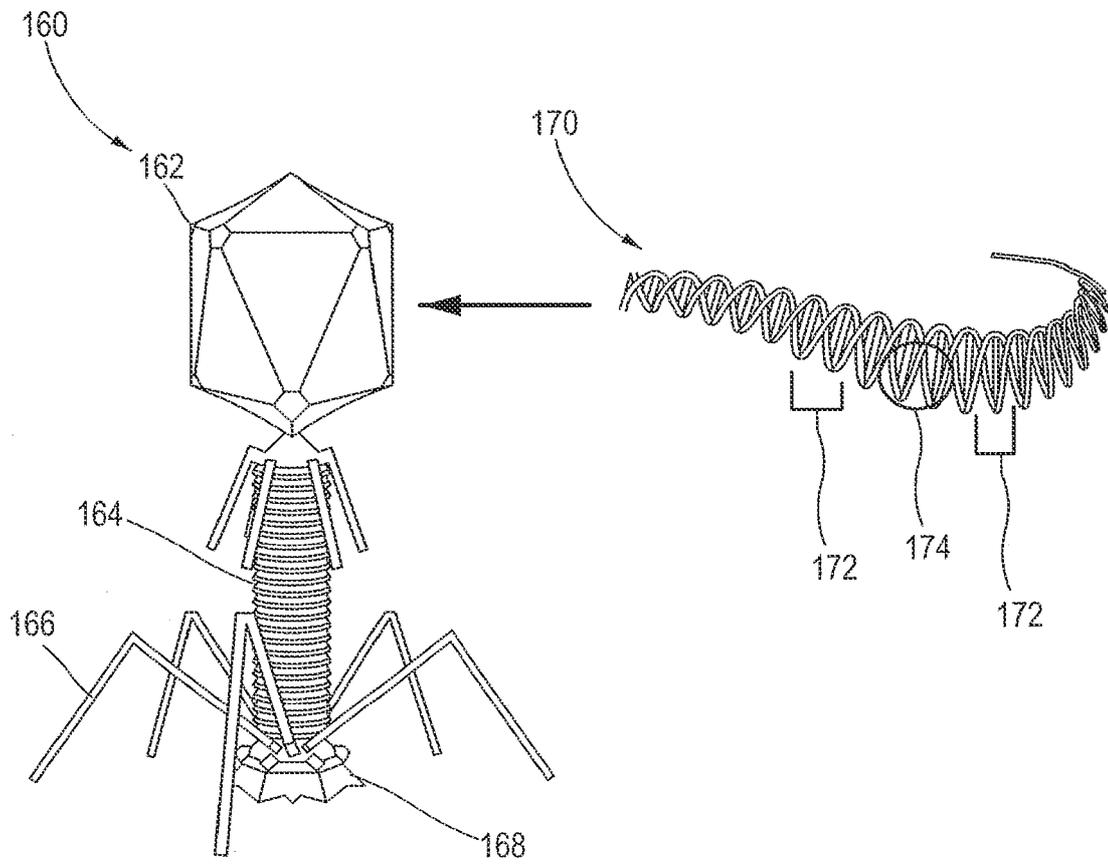


Fig. 6A

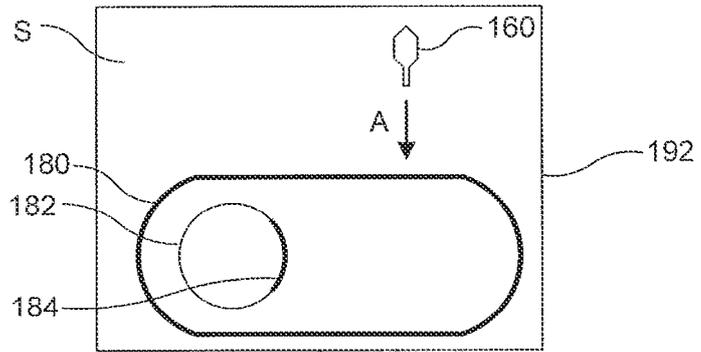


Fig. 6B

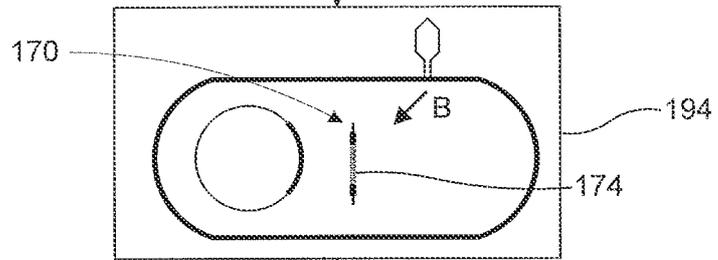


Fig. 6C

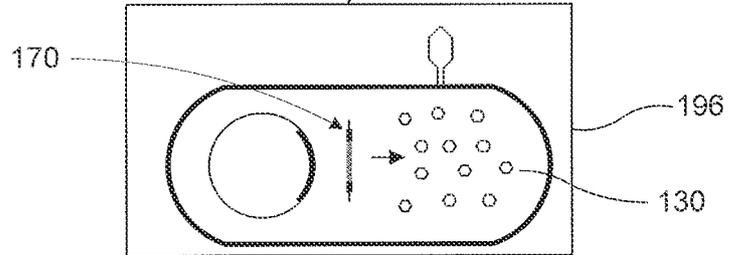


FIG. 7A

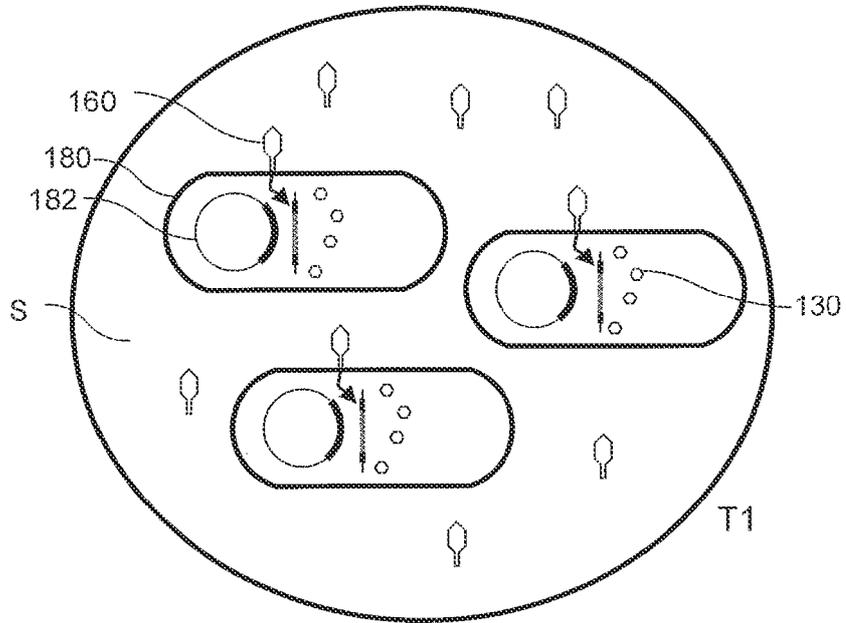


FIG. 7B

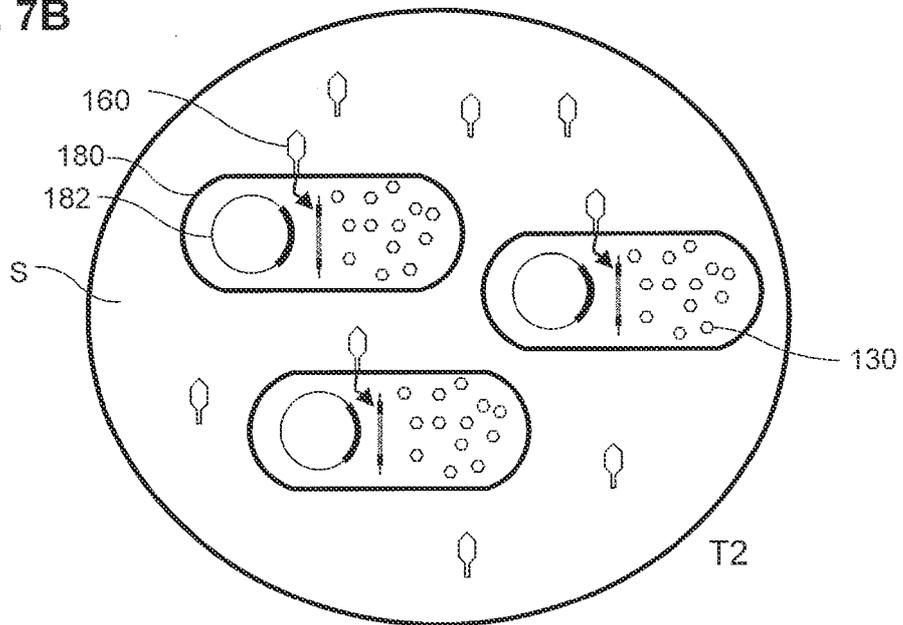


Fig. 8

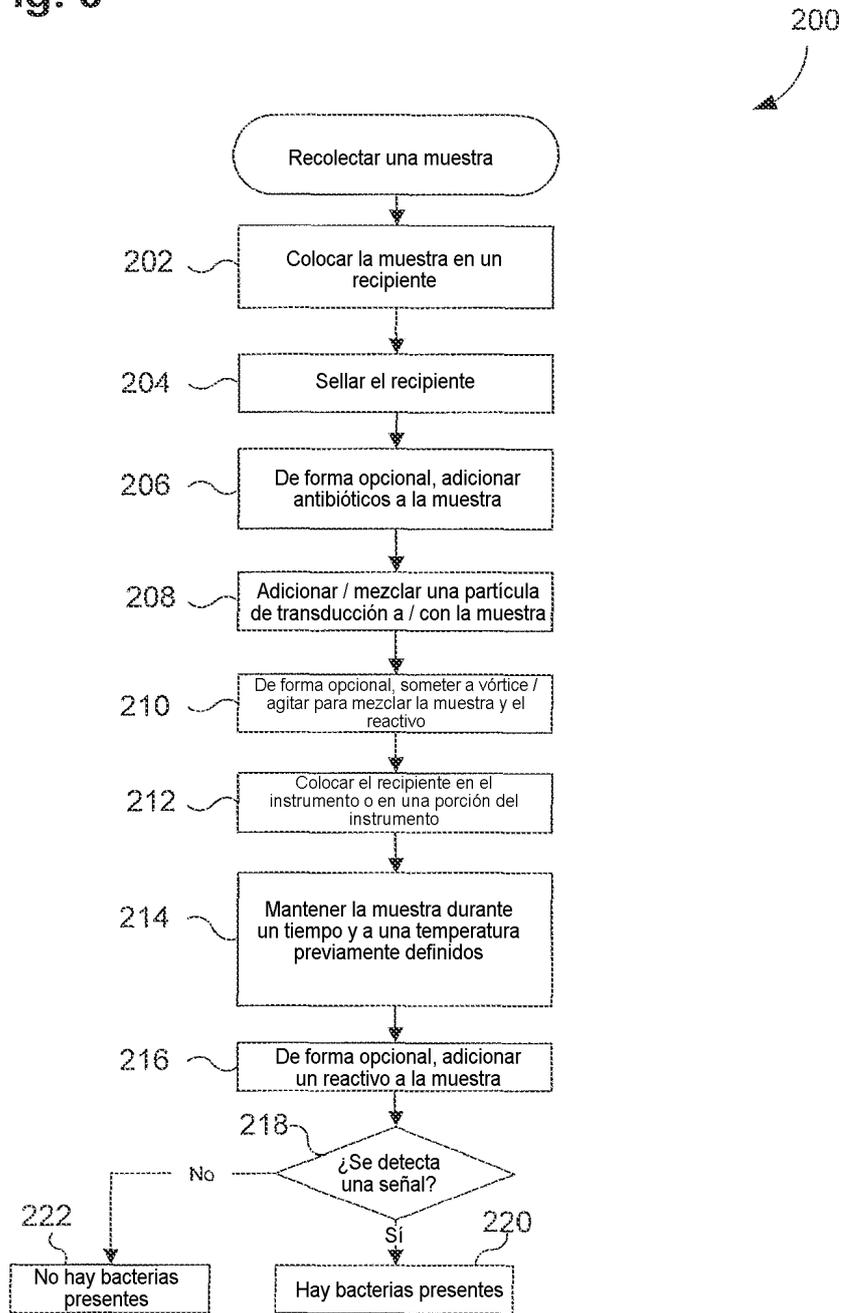


Fig. 9

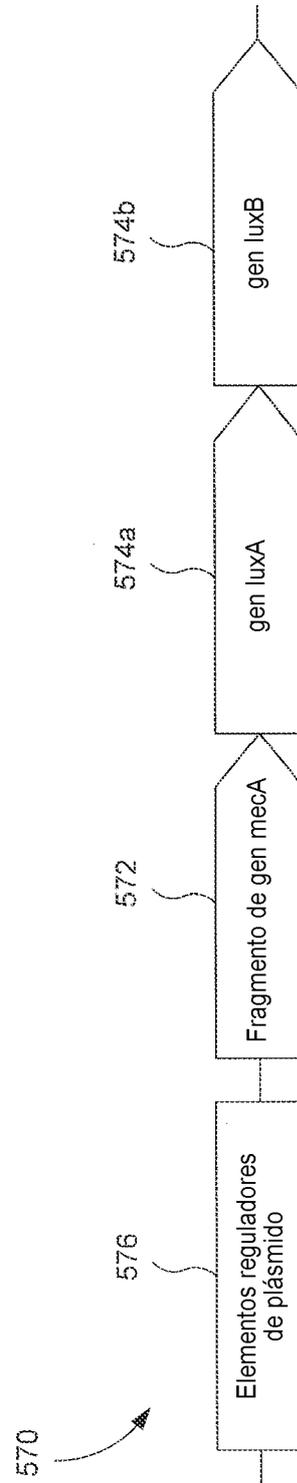


Fig. 10

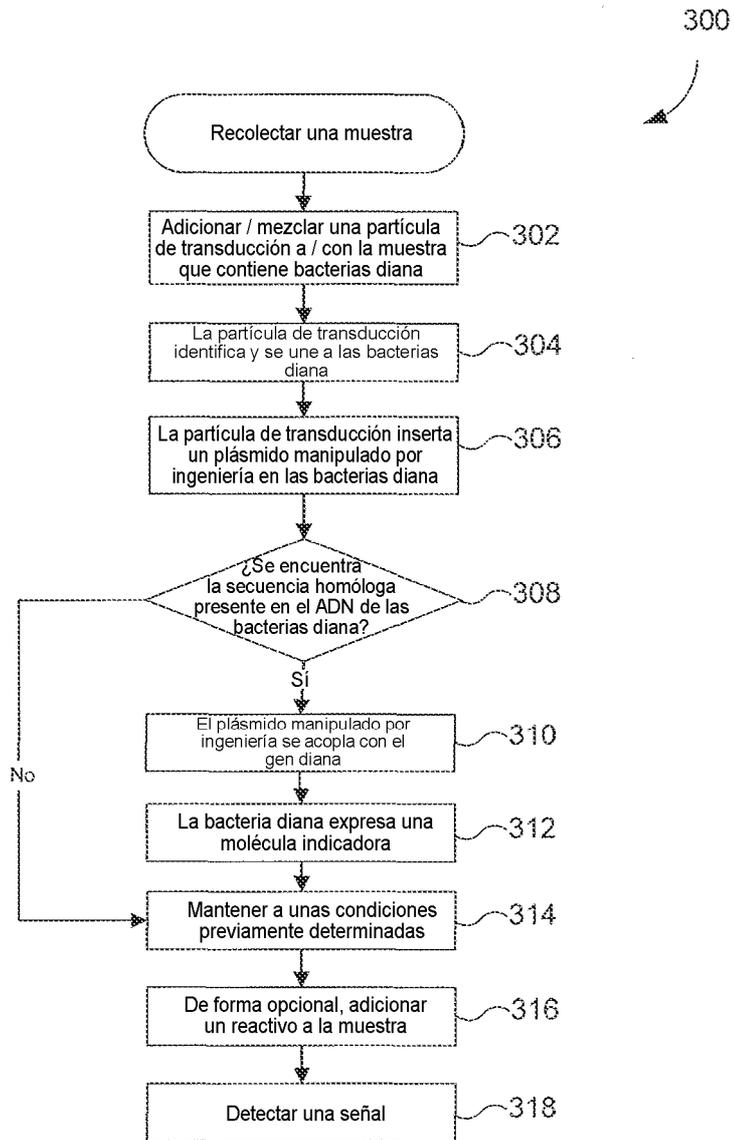


Fig. 11A

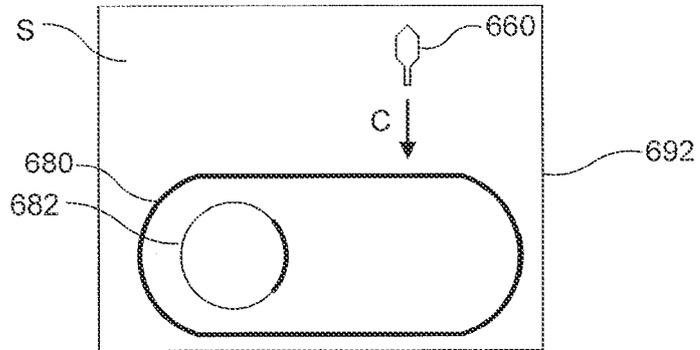


Fig. 11B

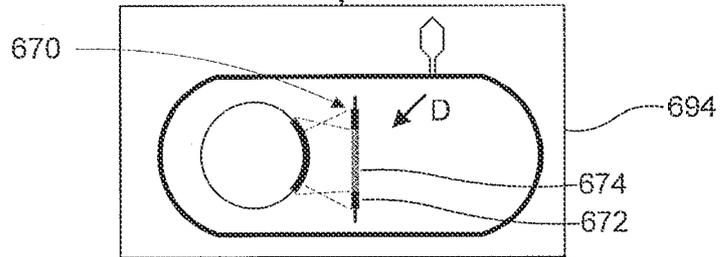


Fig. 11C

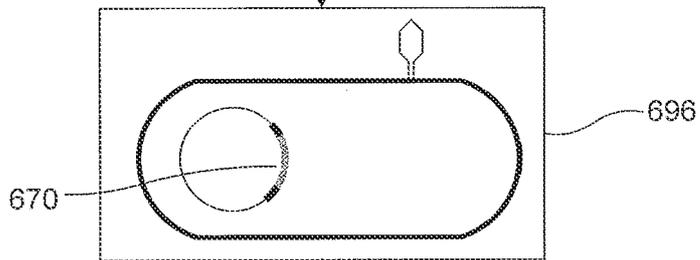


Fig. 11D

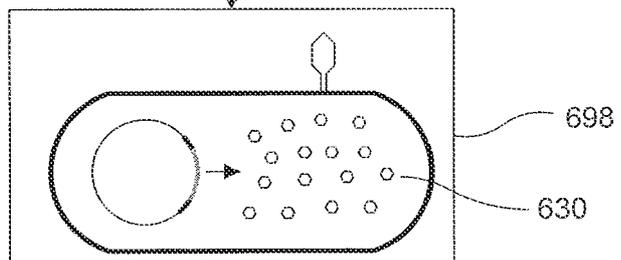


Fig. 12

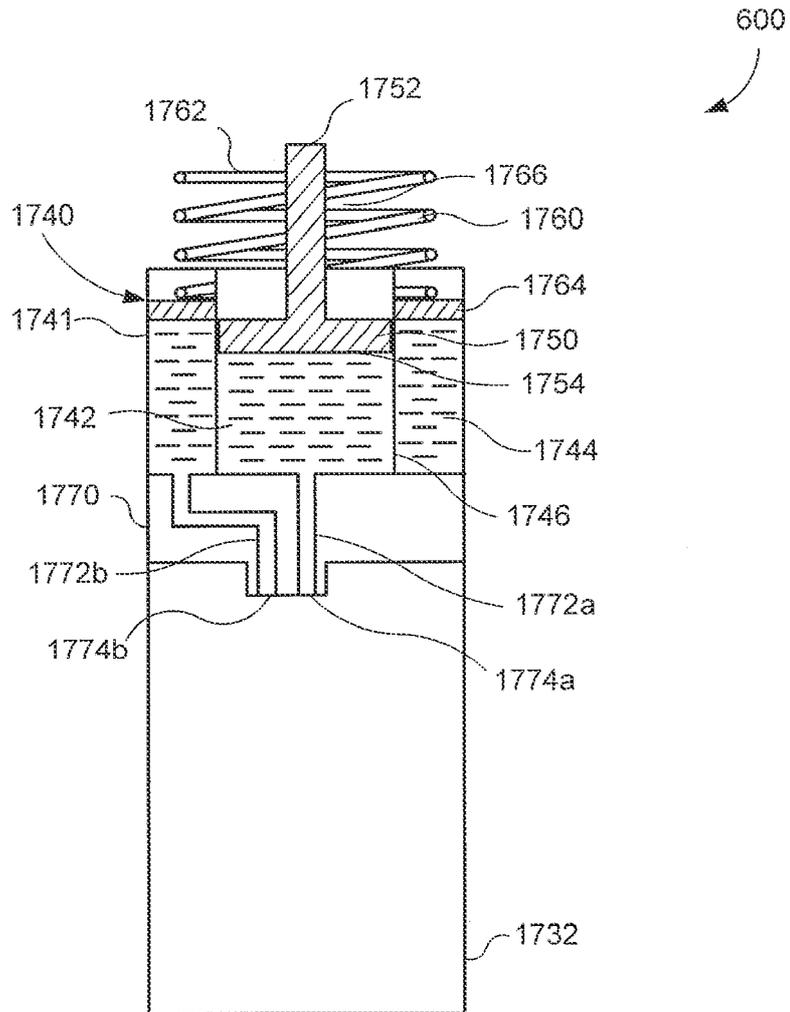


Fig. 13

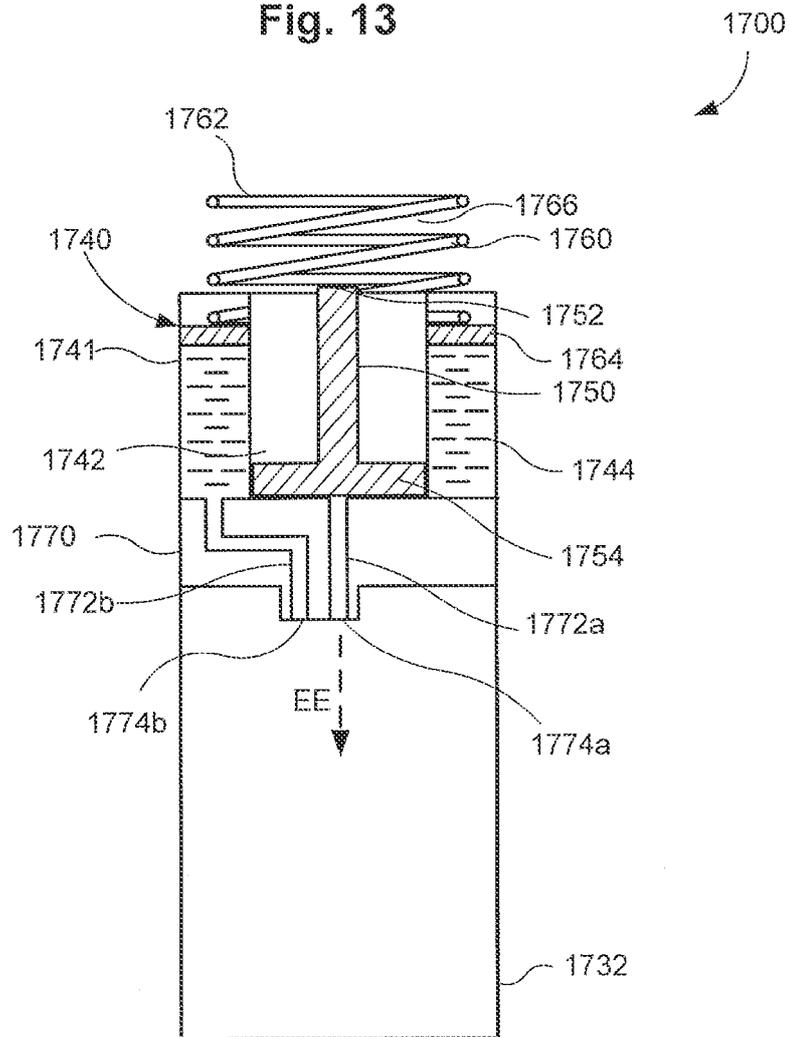


Fig. 14

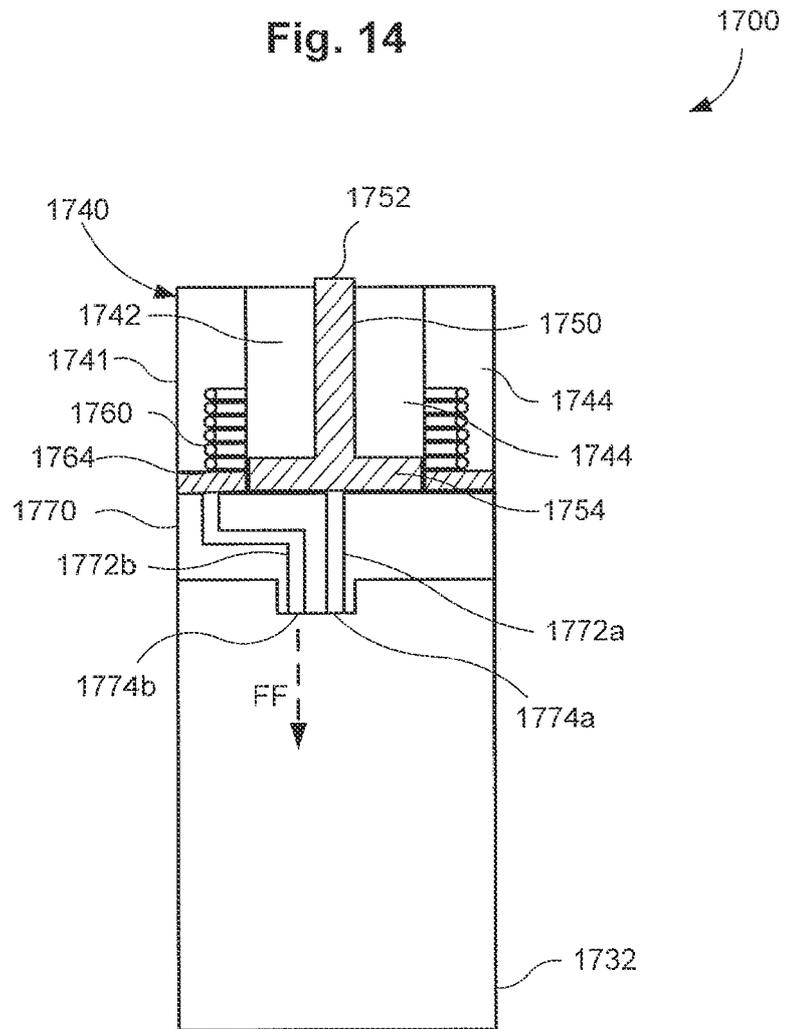


Fig. 15

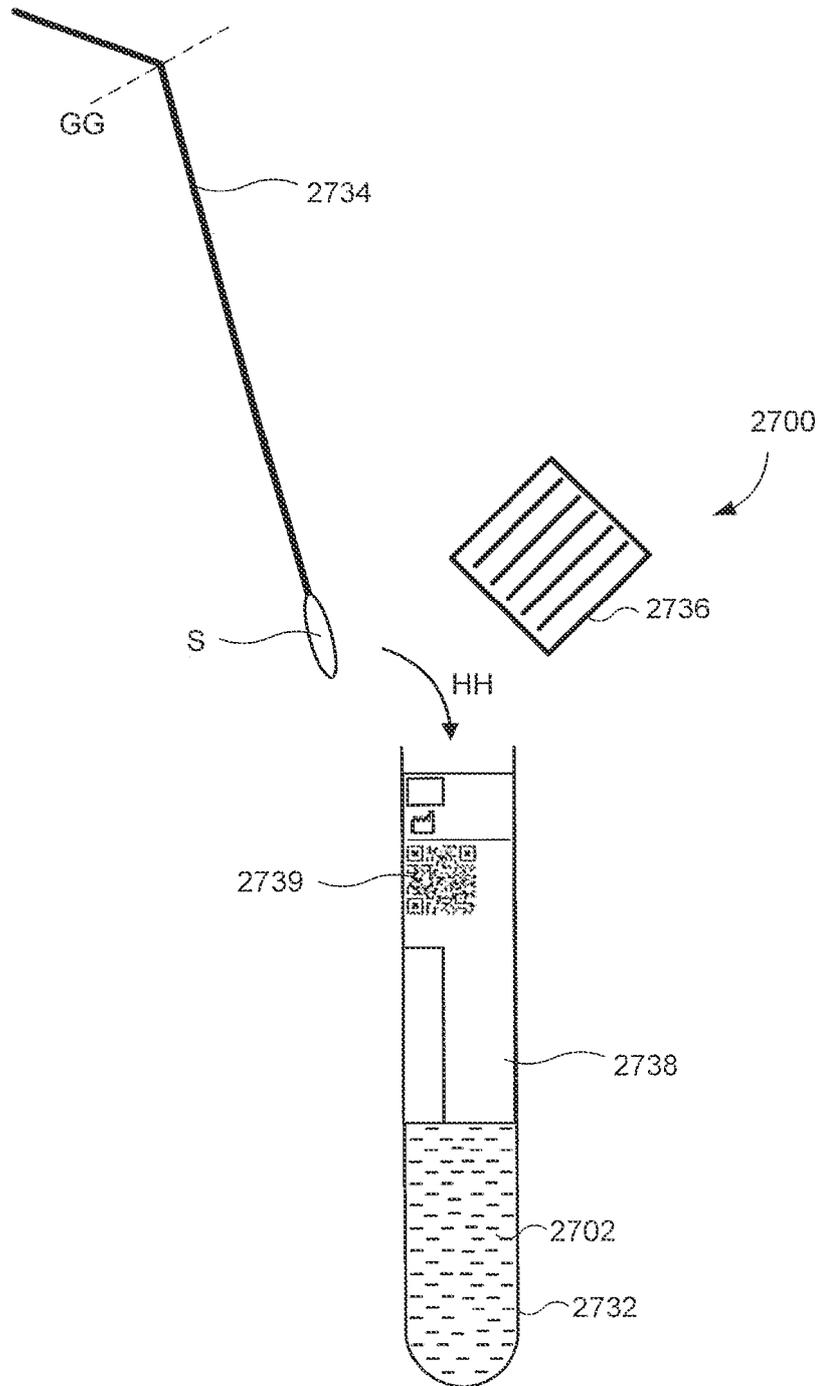


Fig. 16

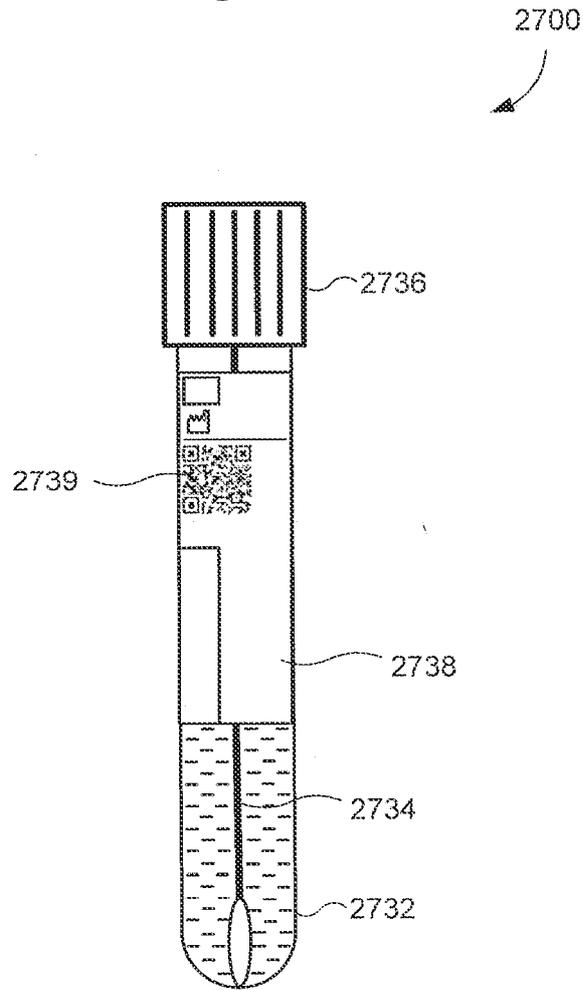


Fig. 17

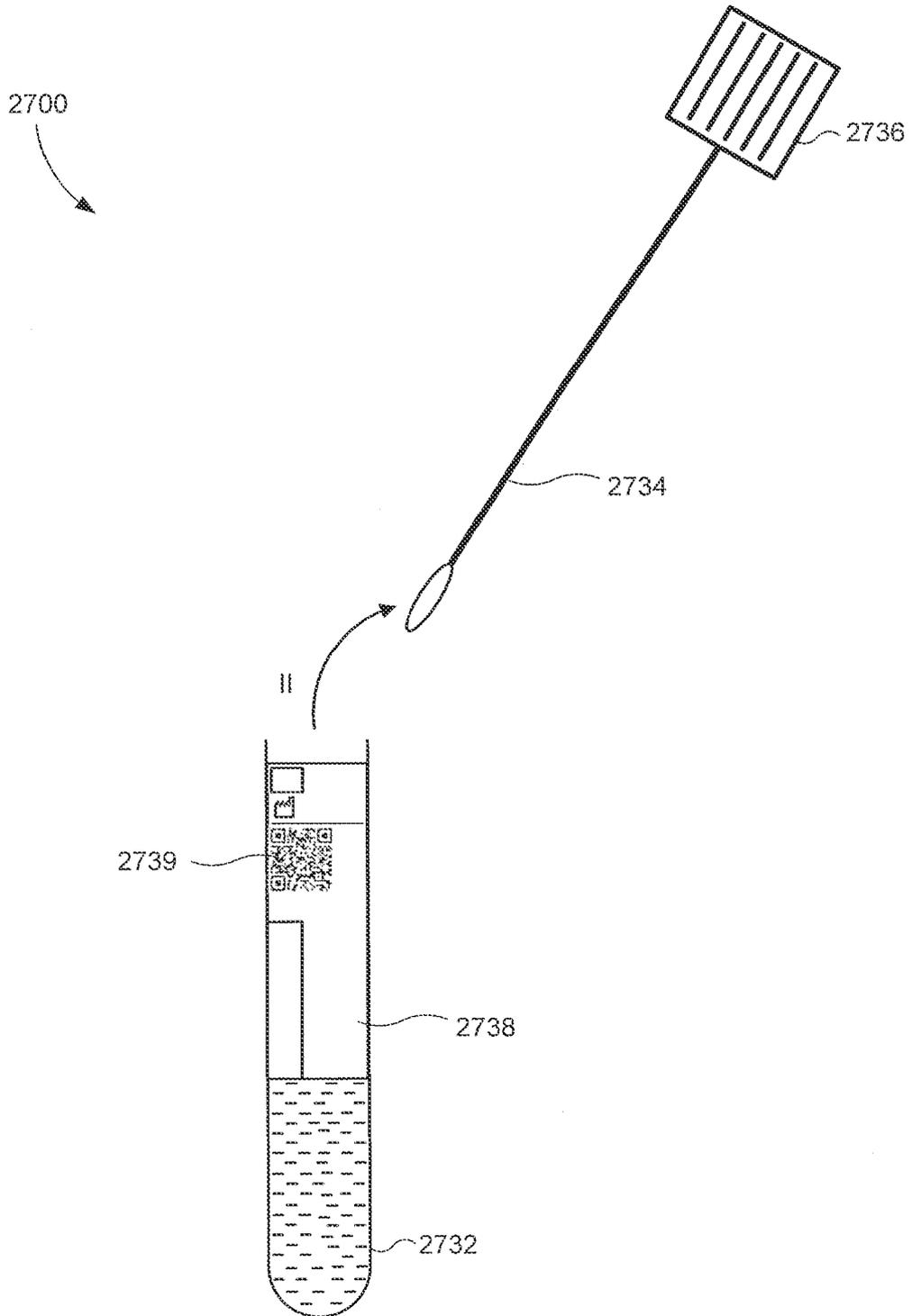


Fig. 18

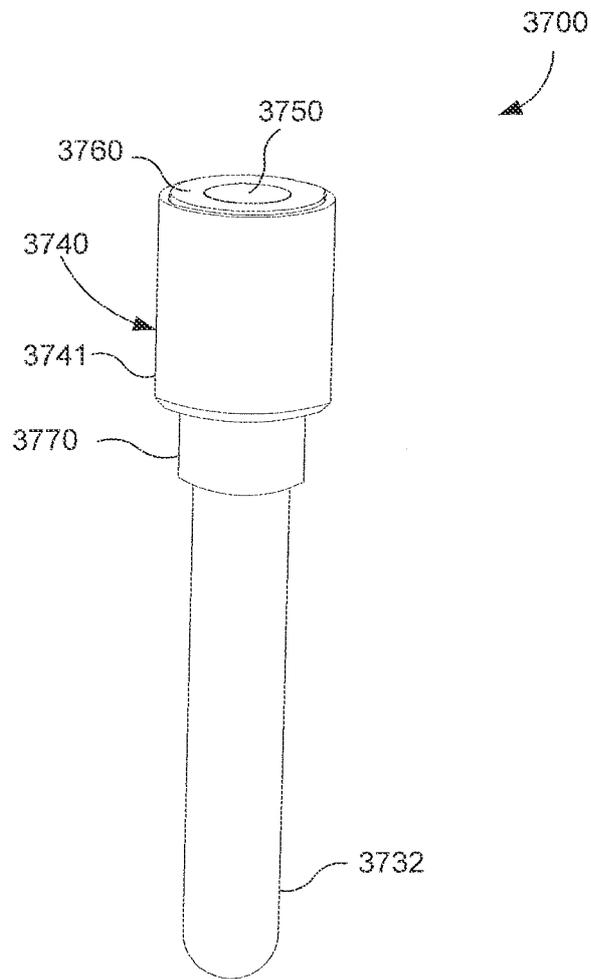


Fig. 19

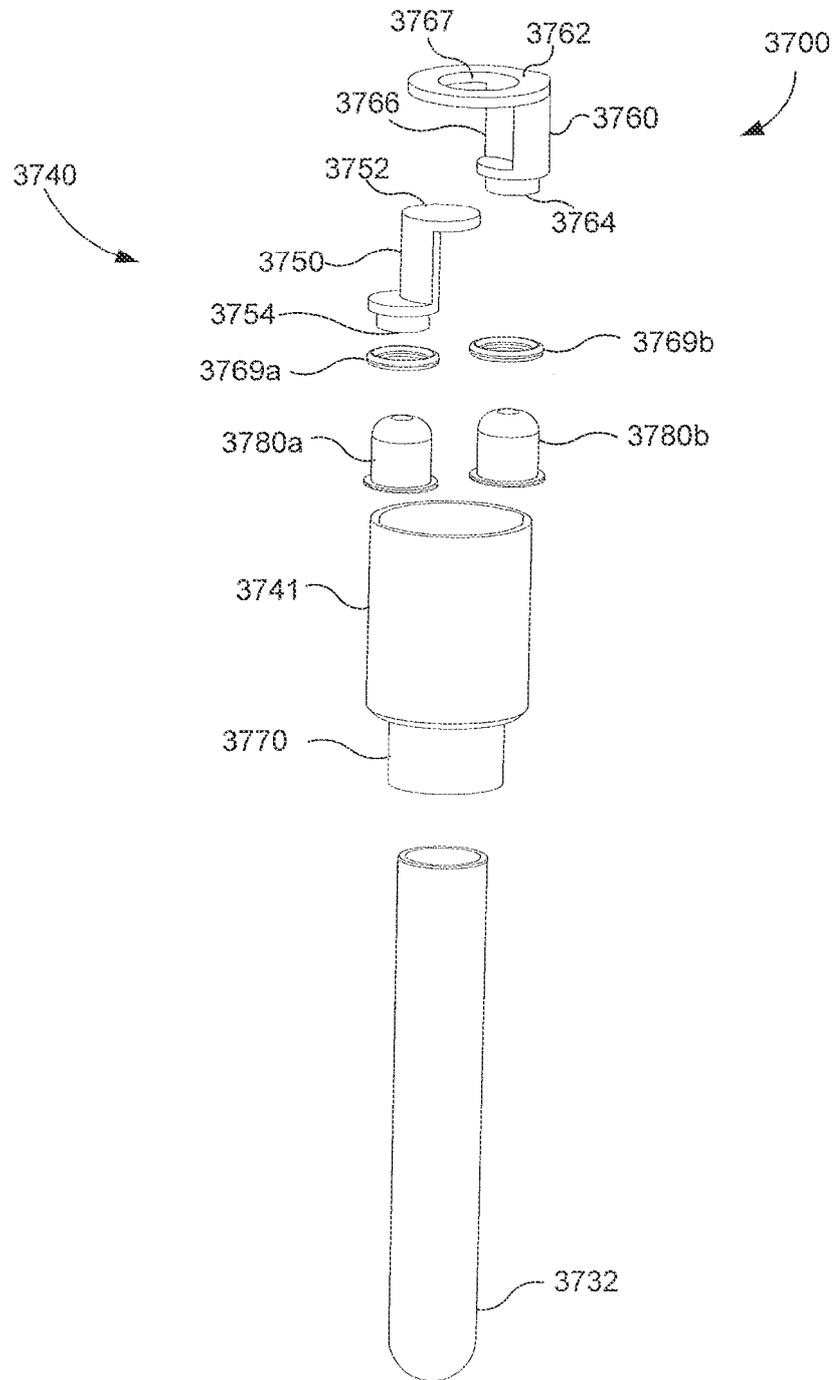


Fig. 20

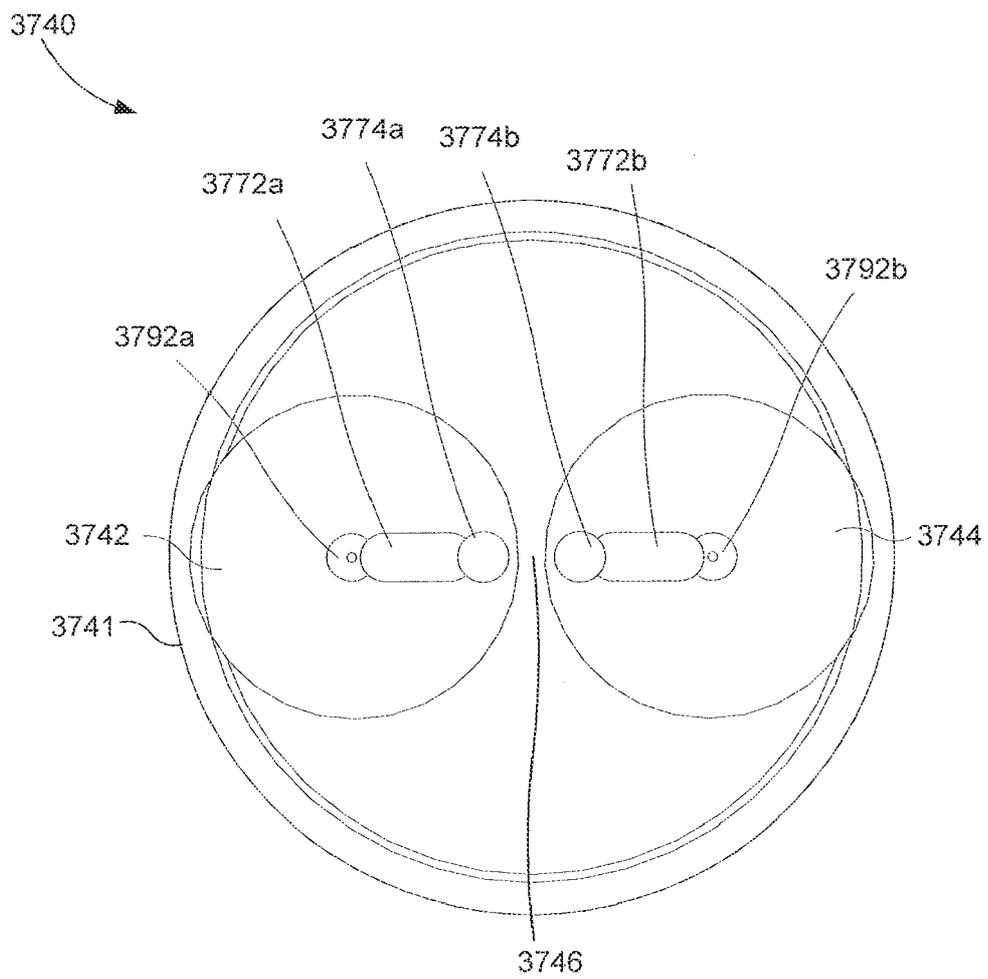


Fig. 21

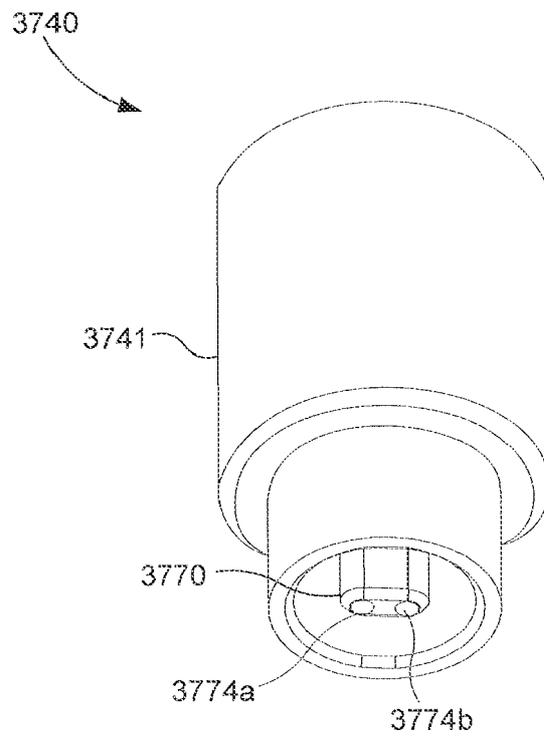


Fig. 22

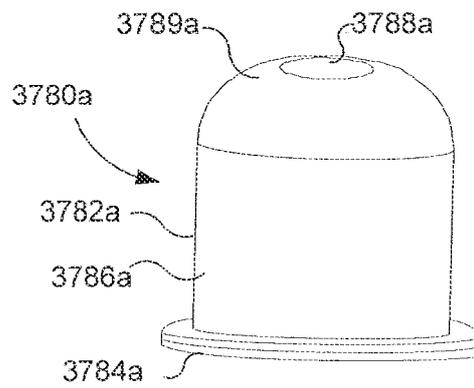


Fig. 23

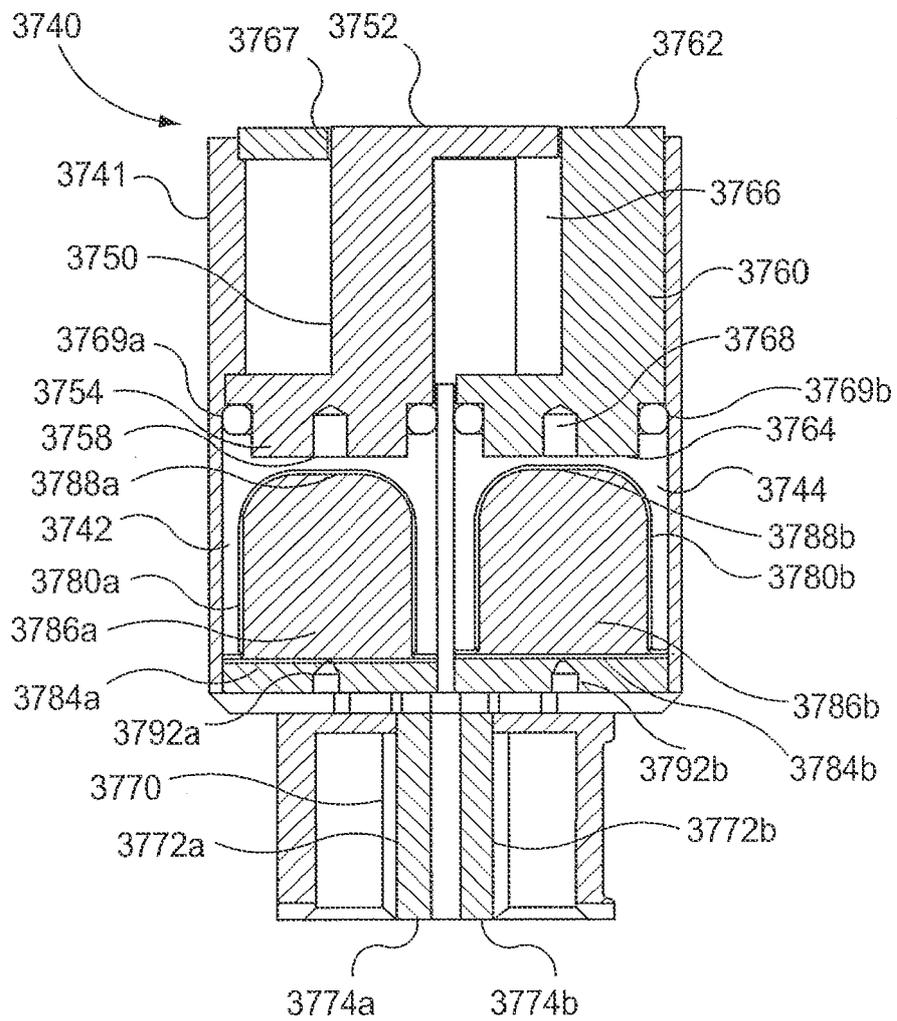


Fig. 24

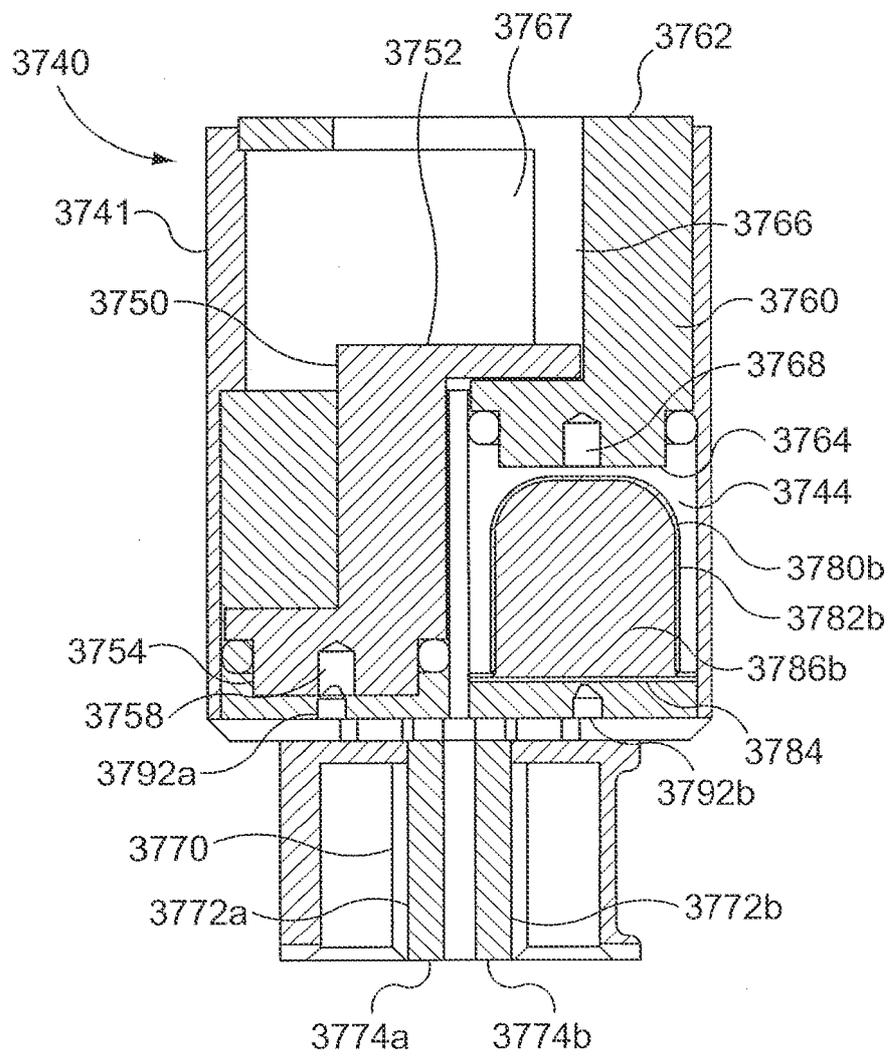


Fig. 25

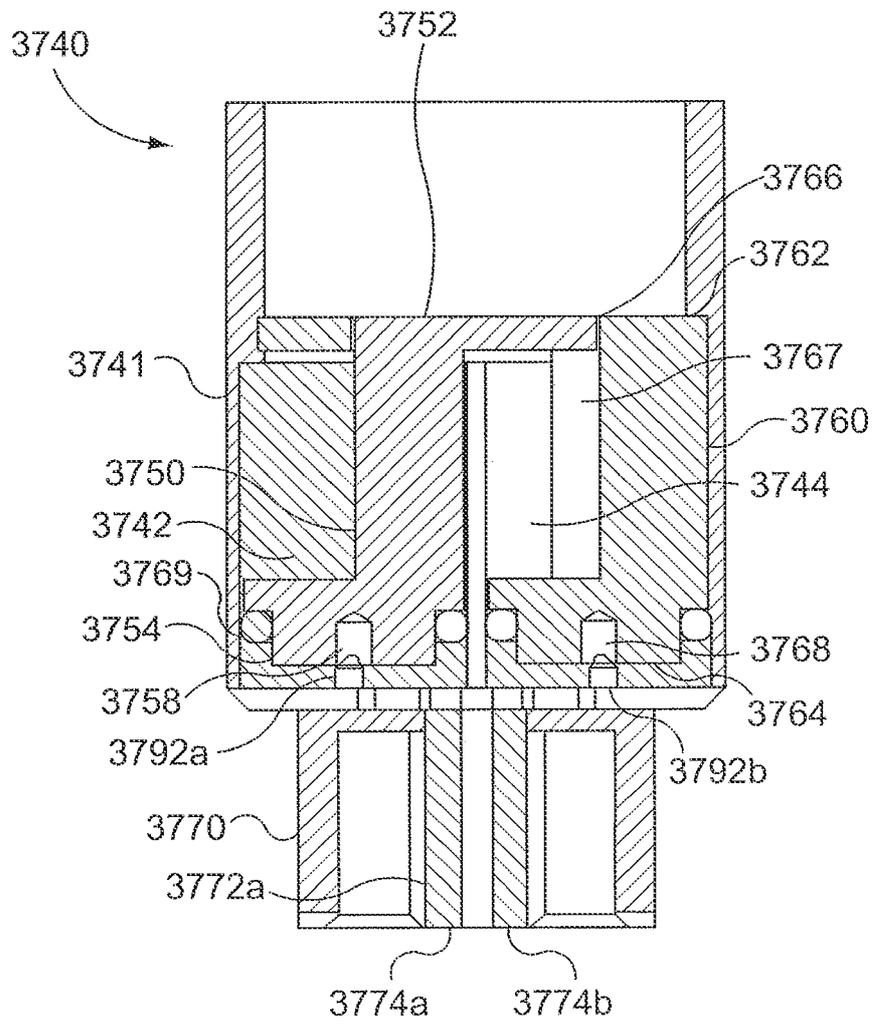


Fig. 26

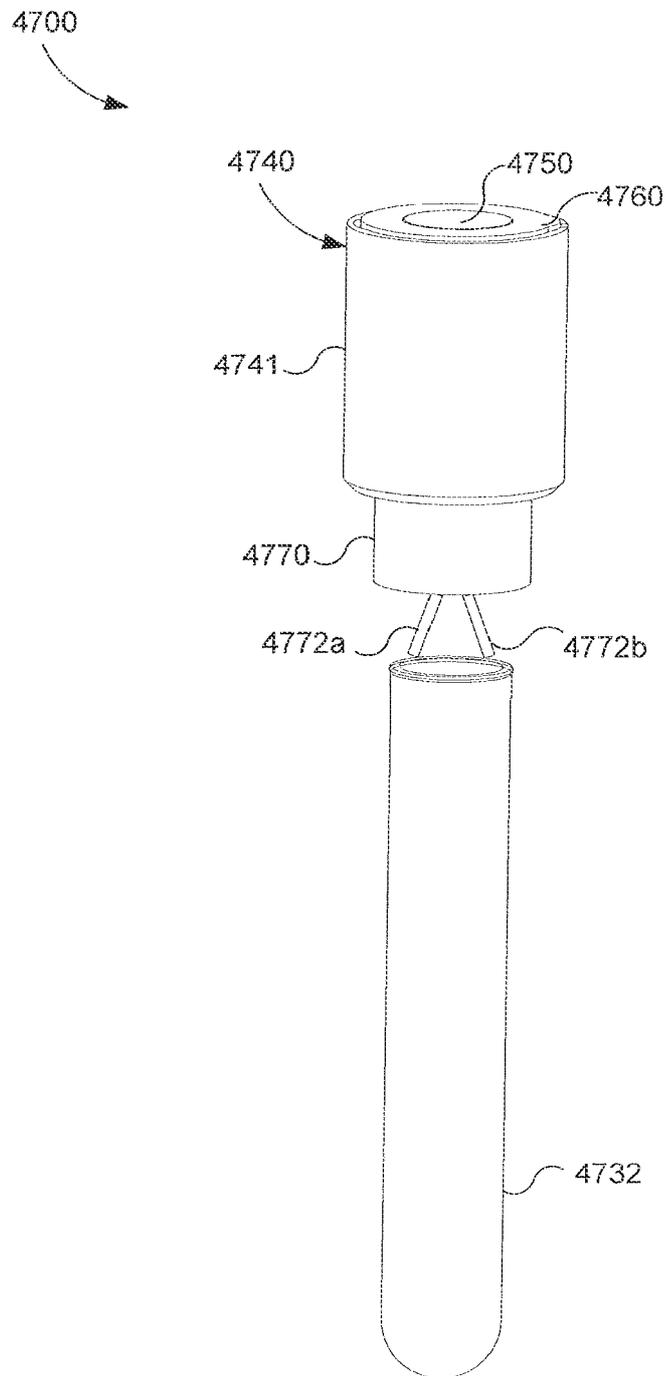


Fig. 27

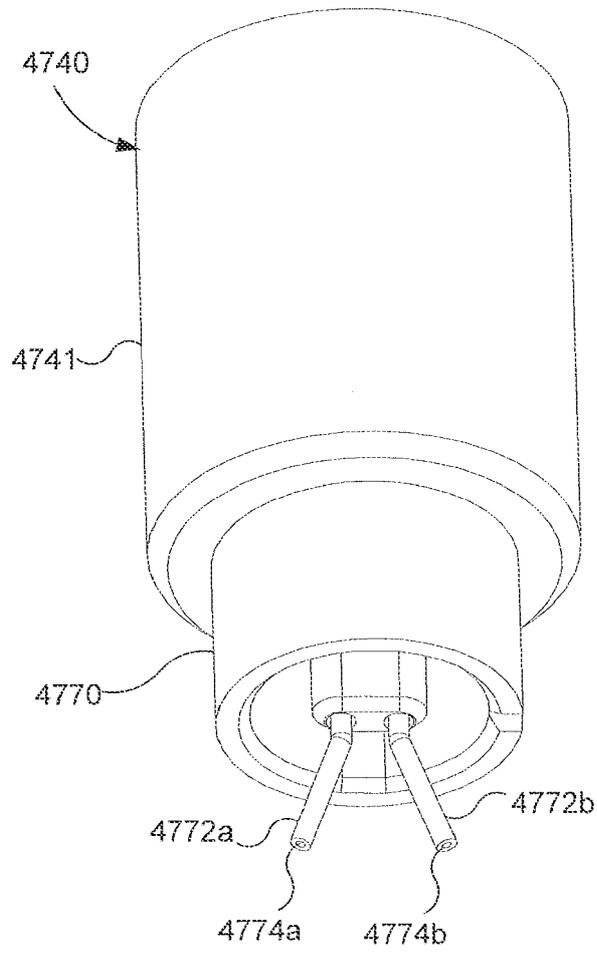


Fig. 28

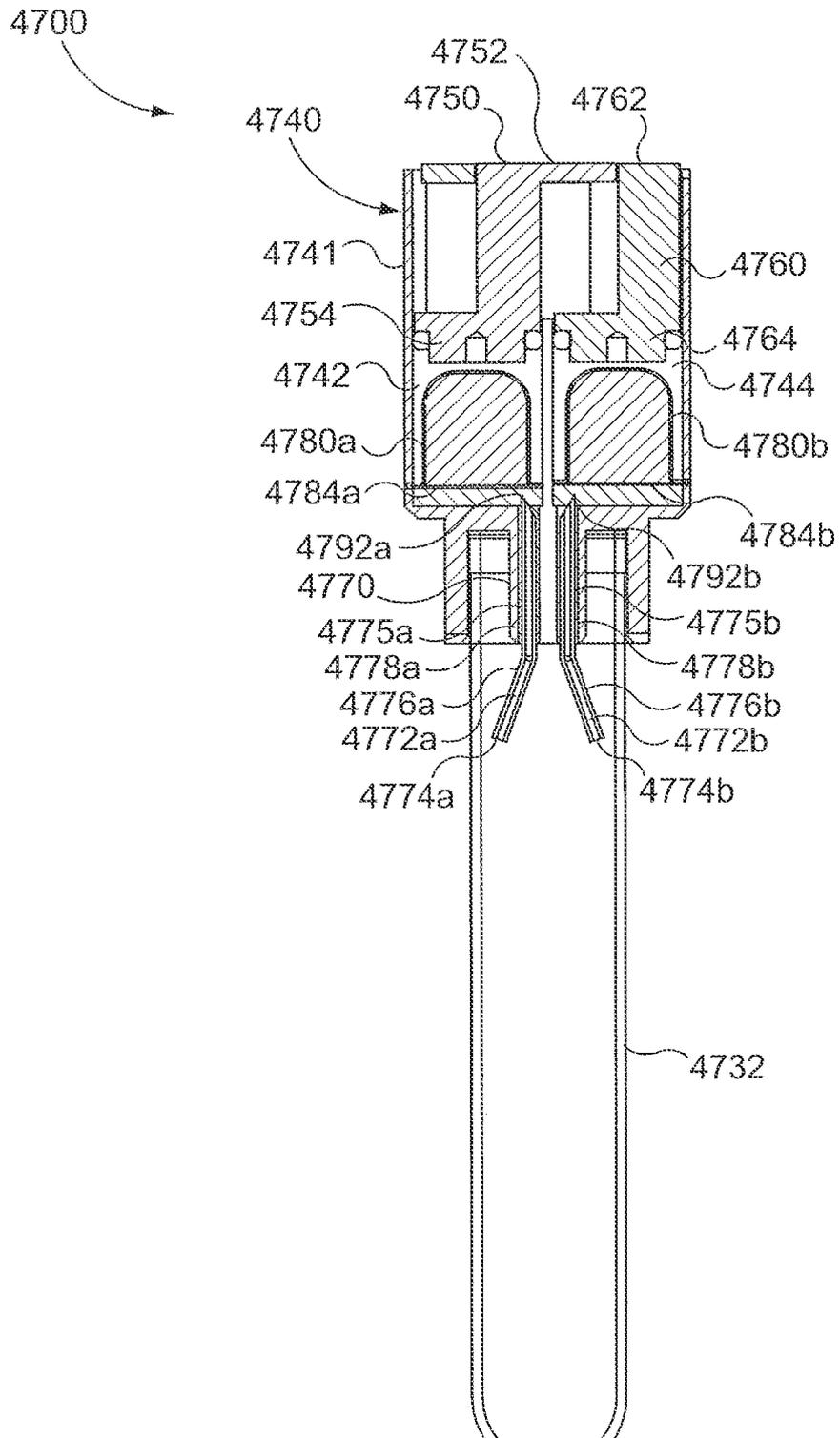


Fig. 29

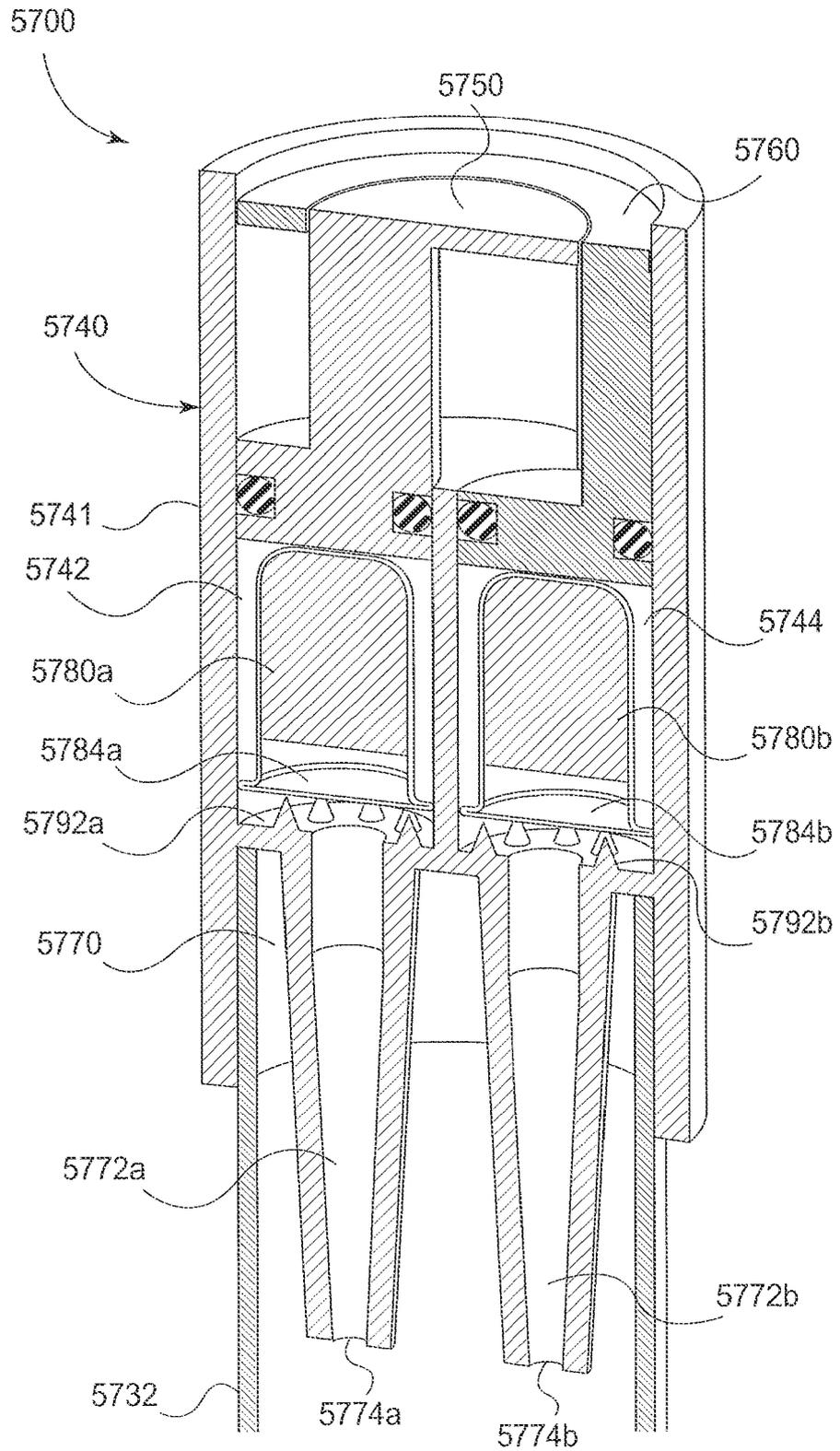


Fig. 30

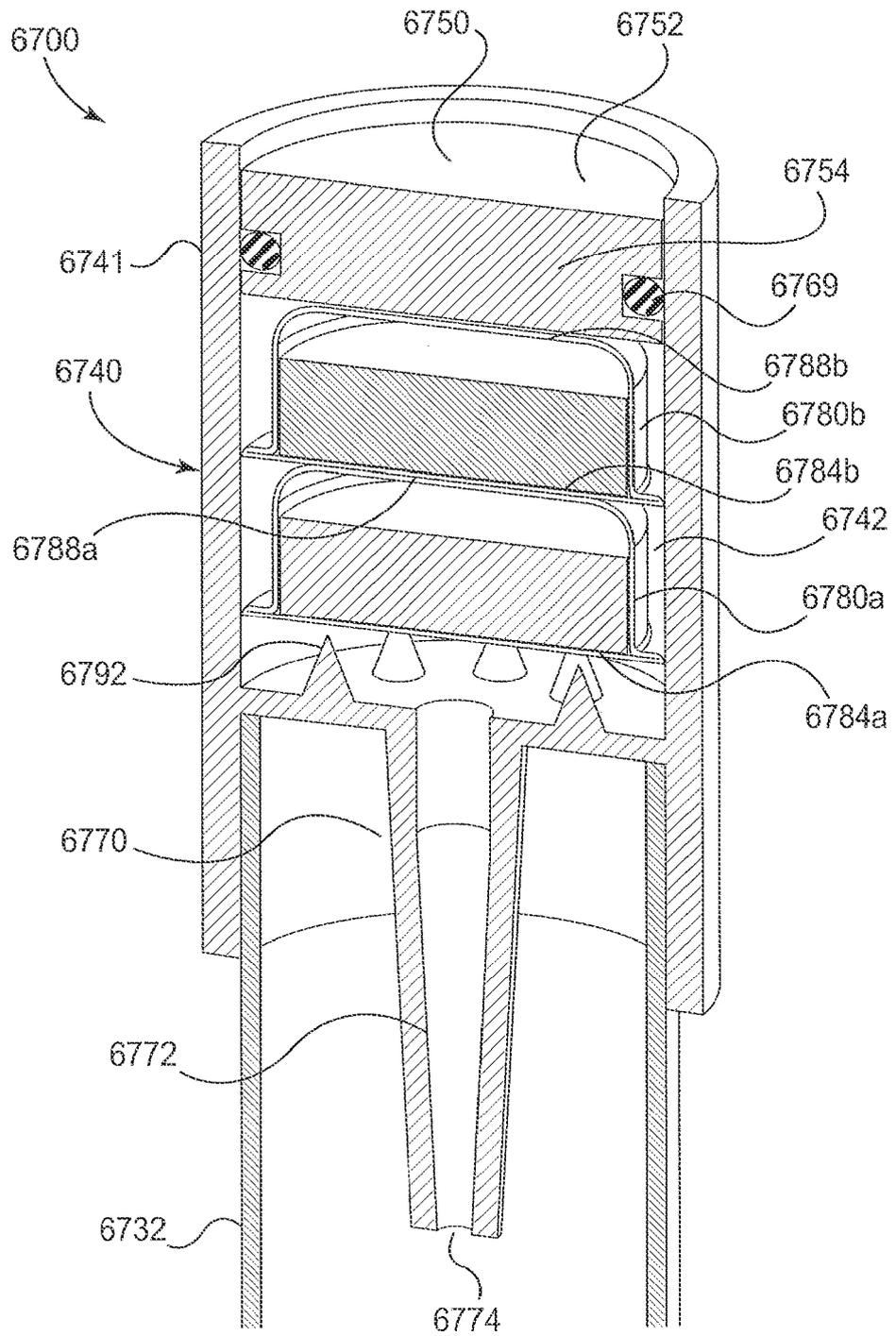


Fig. 31

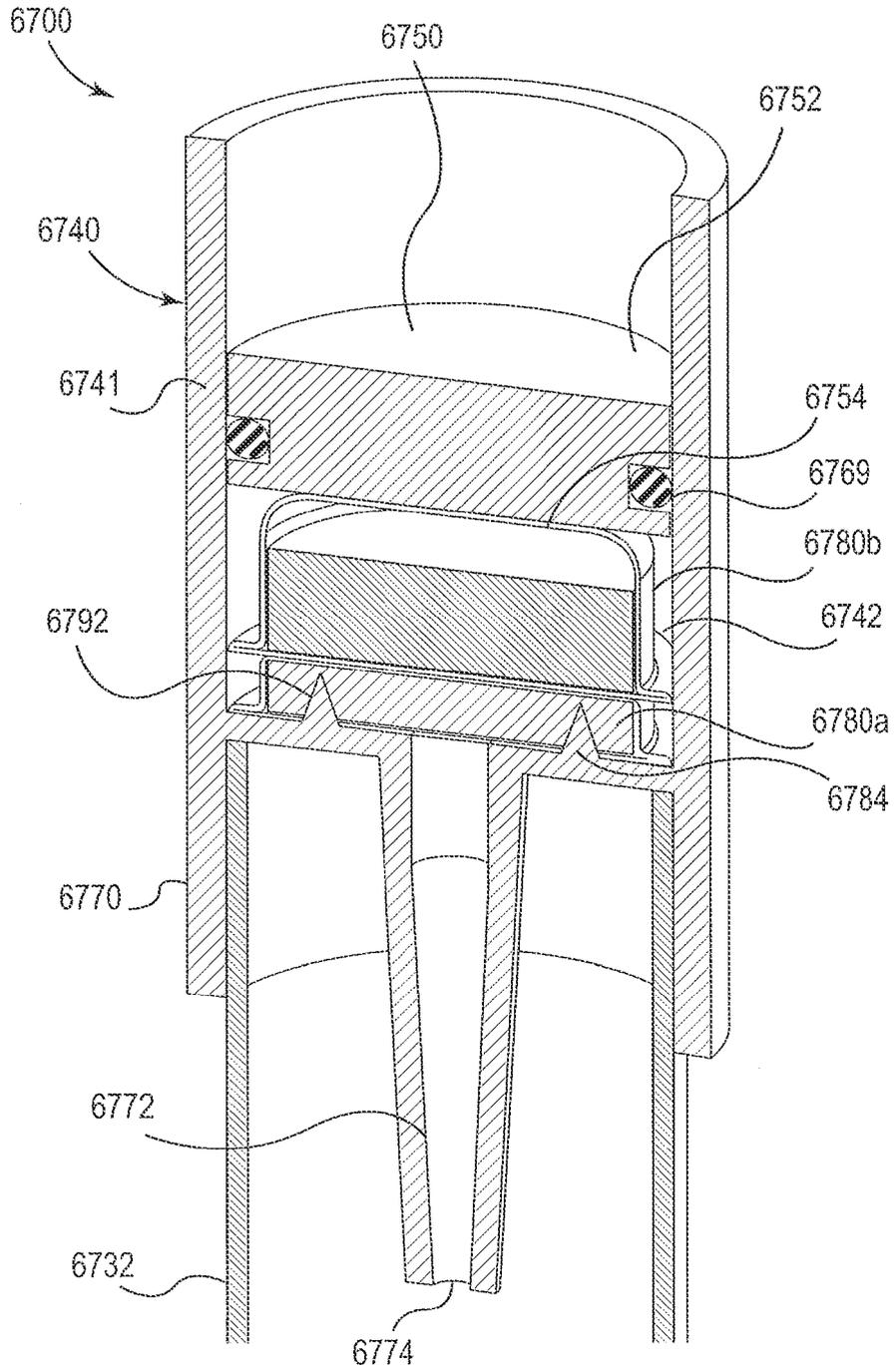


Fig. 32

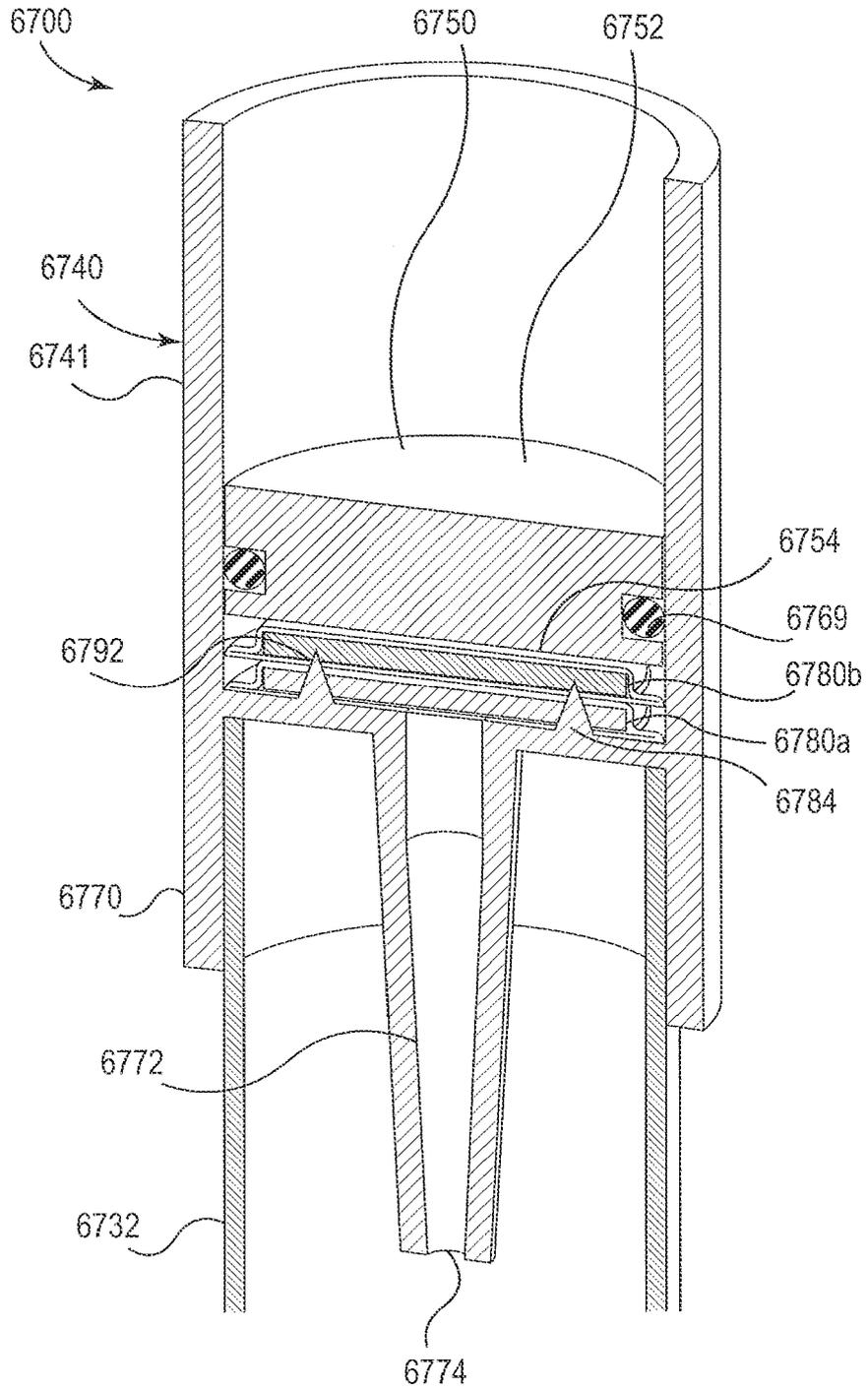


Fig. 34

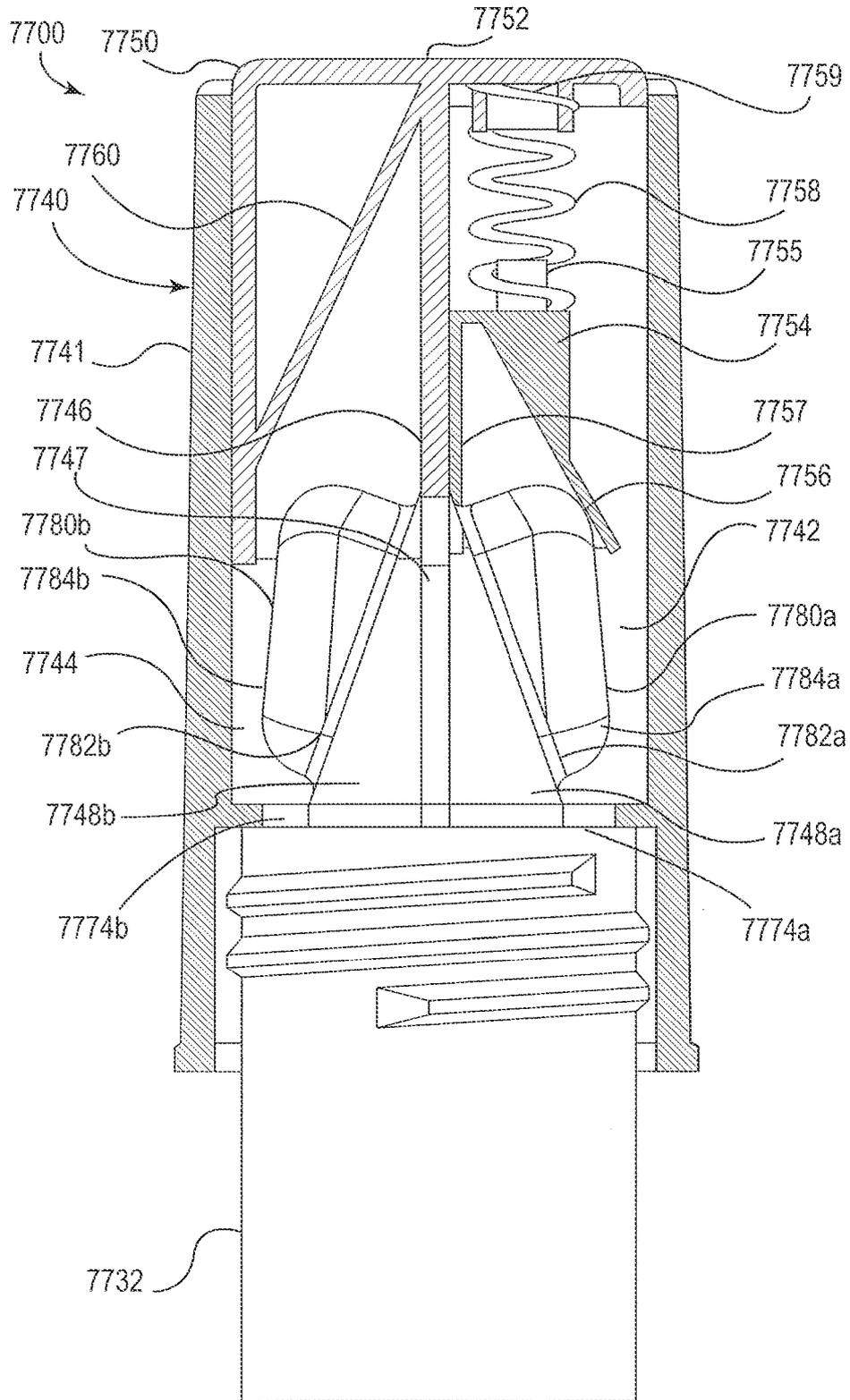


Fig. 35

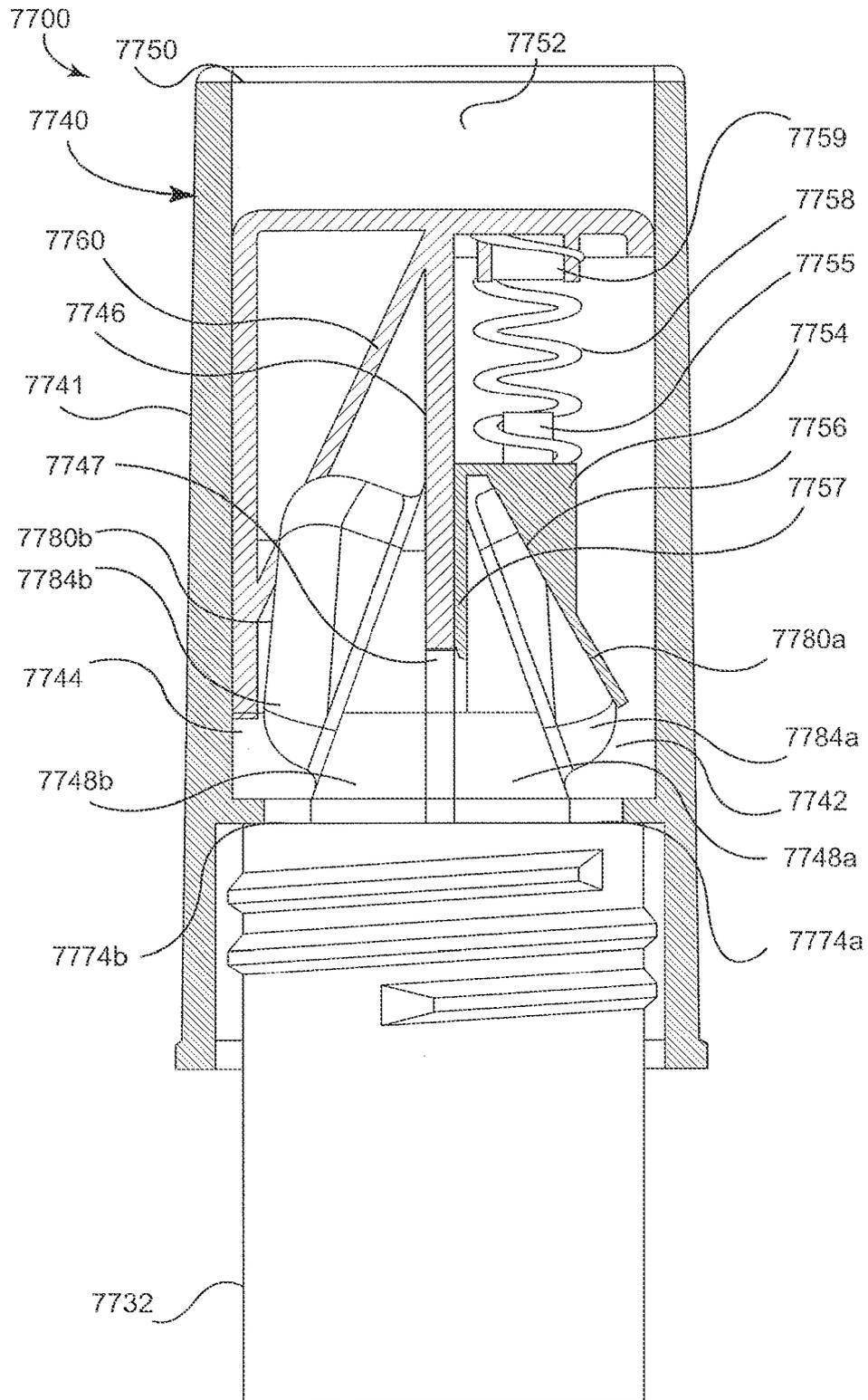


Fig. 36

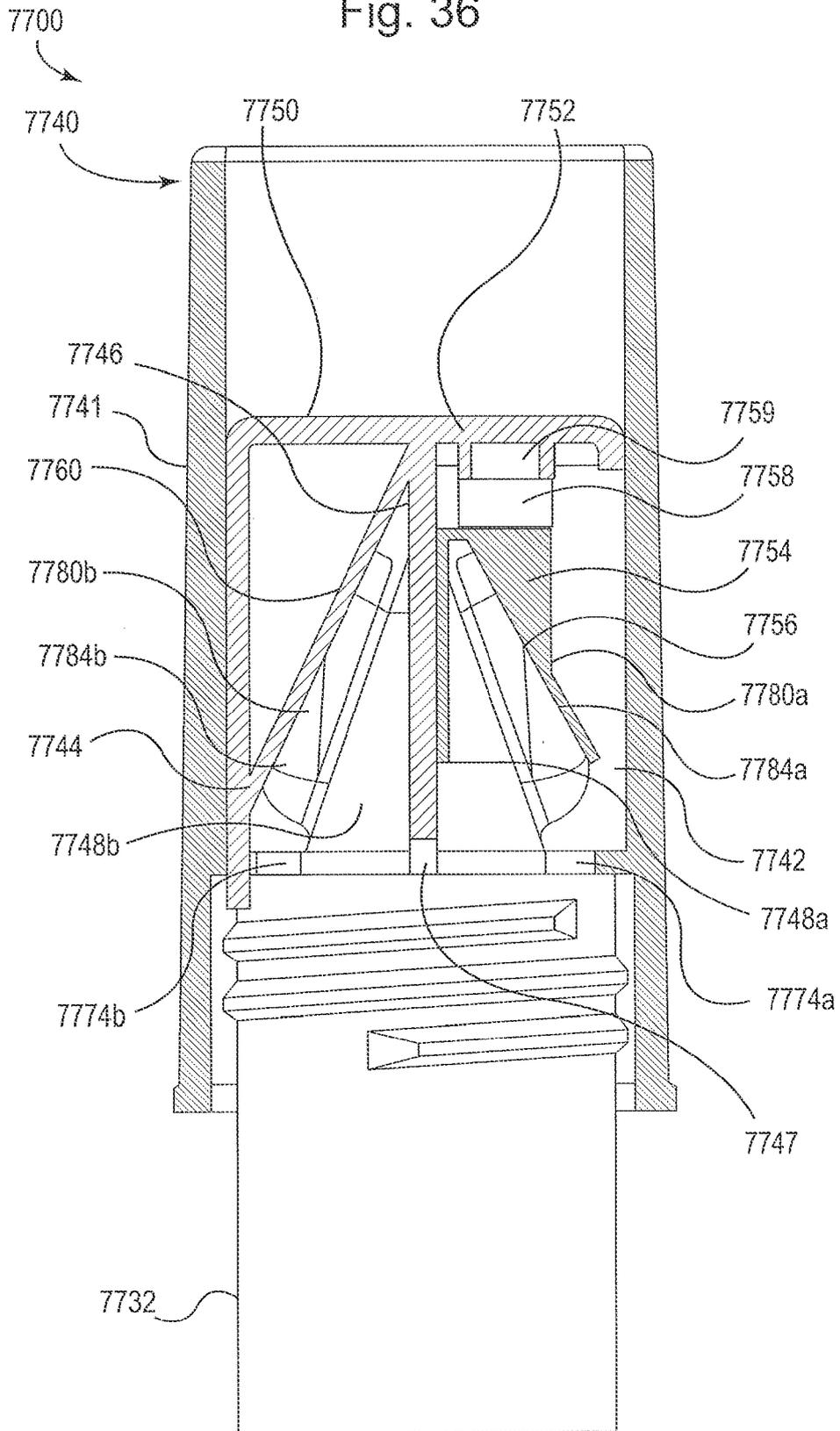


Fig. 37

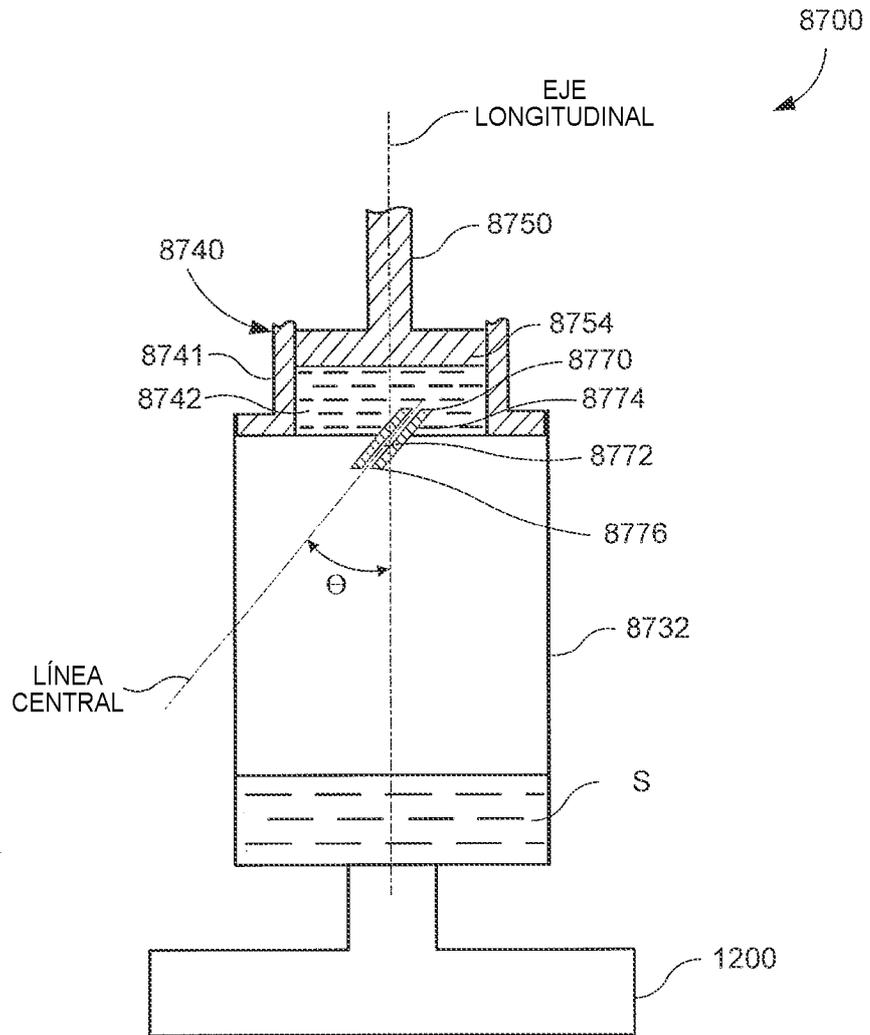


Fig. 38

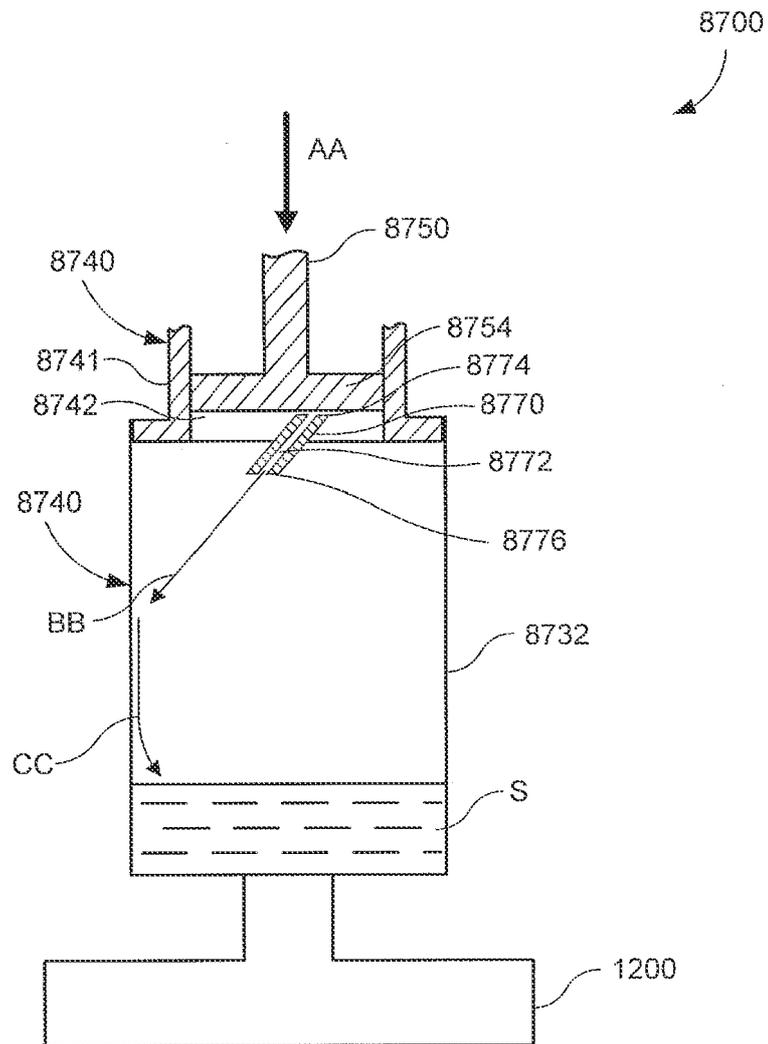


Fig. 39

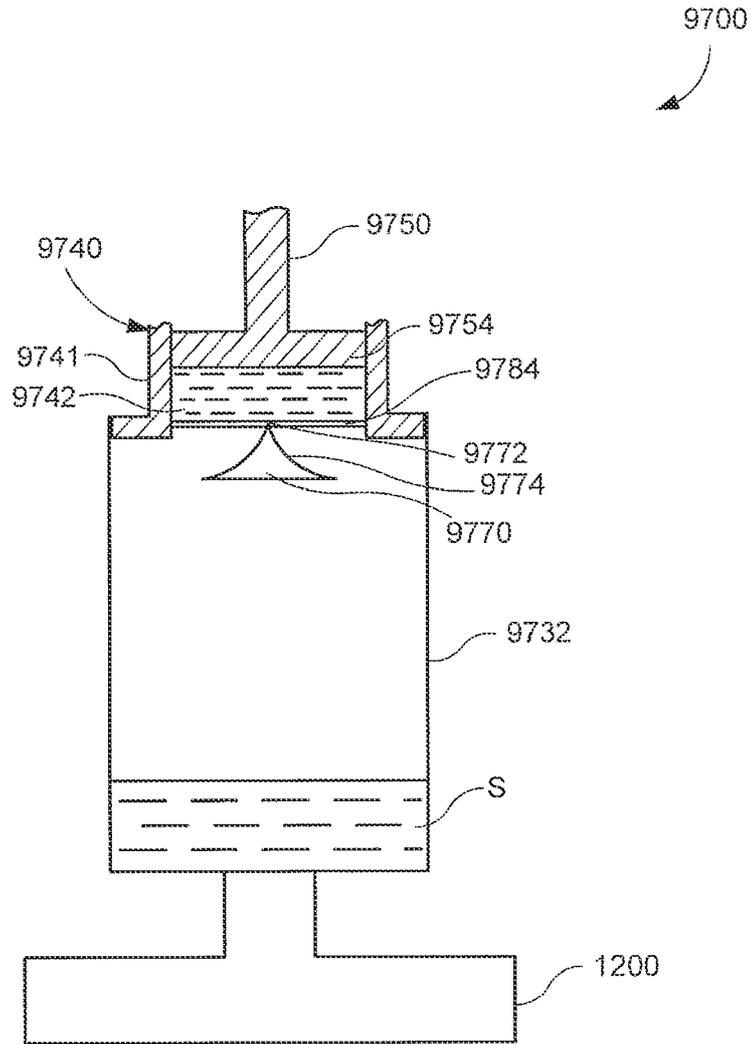


Fig. 40

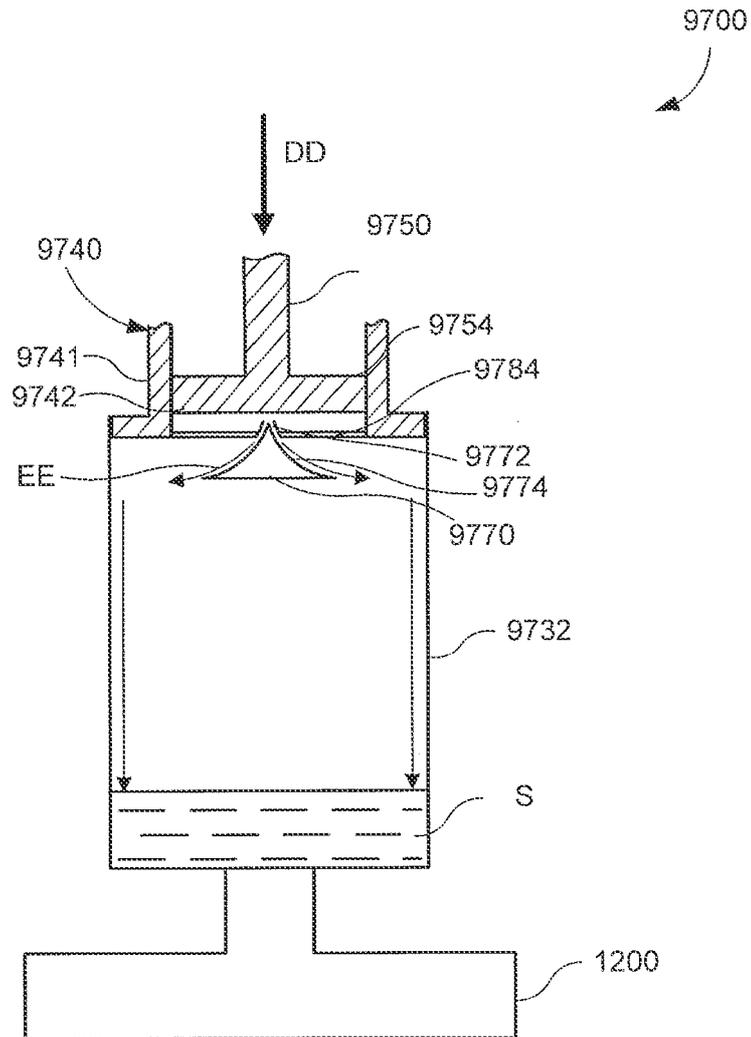


Fig. 41

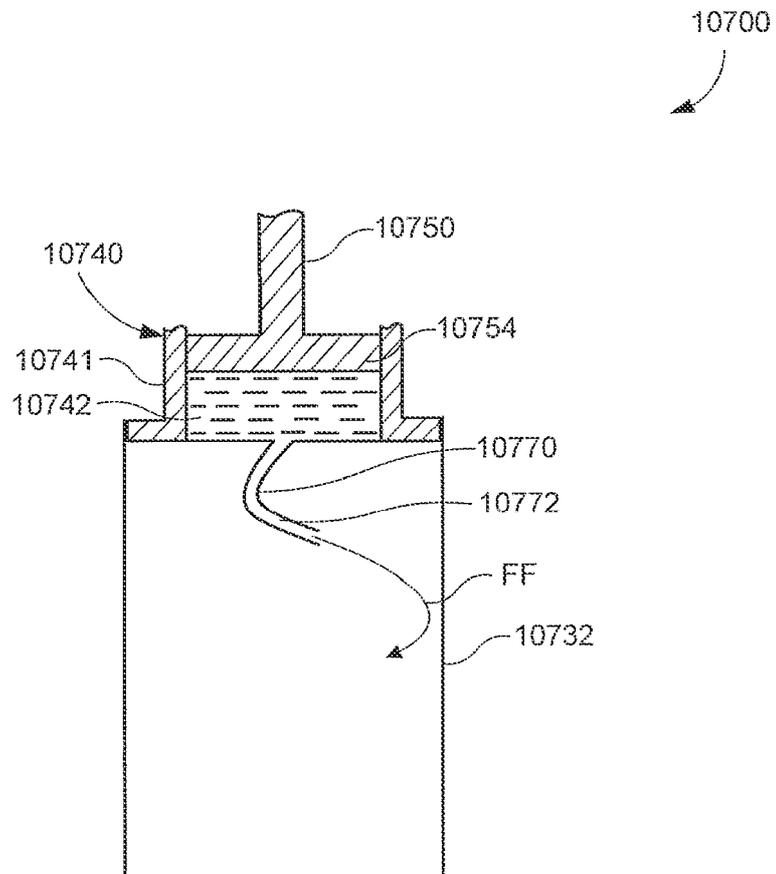


Fig. 42

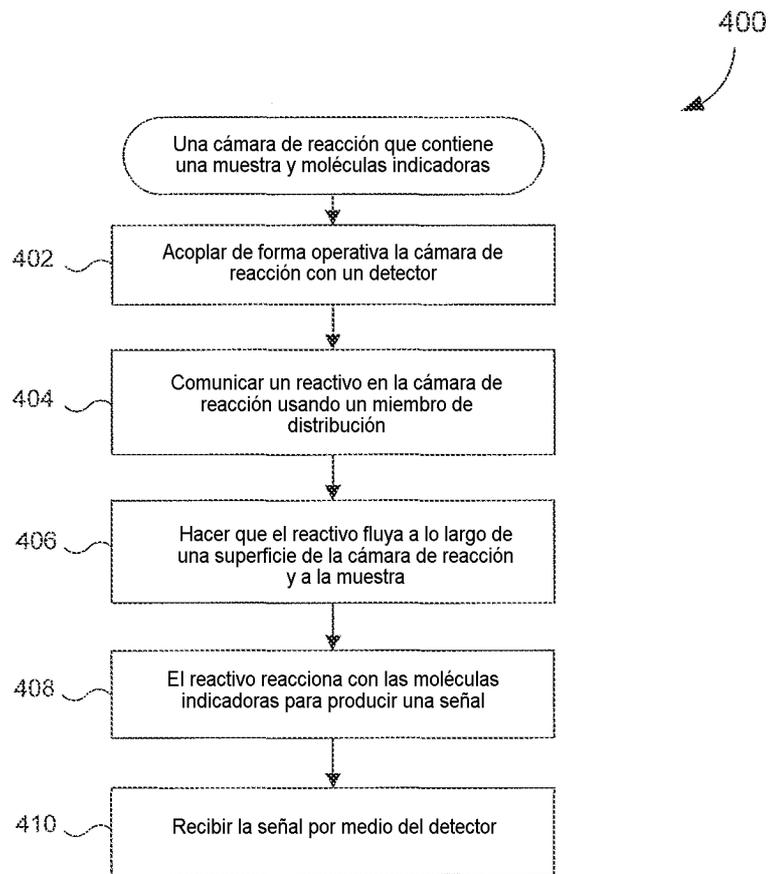


Fig. 43

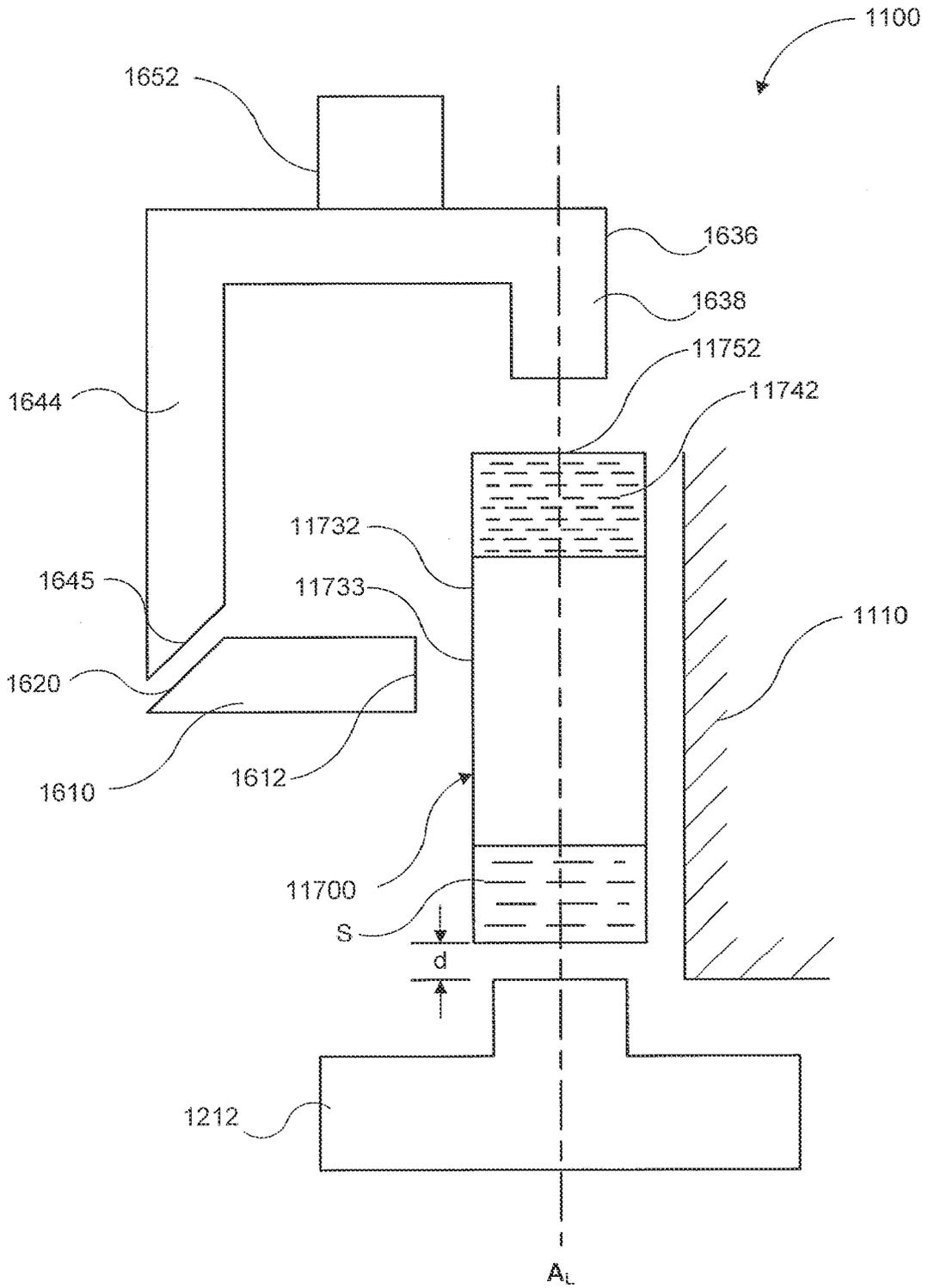


Fig. 44

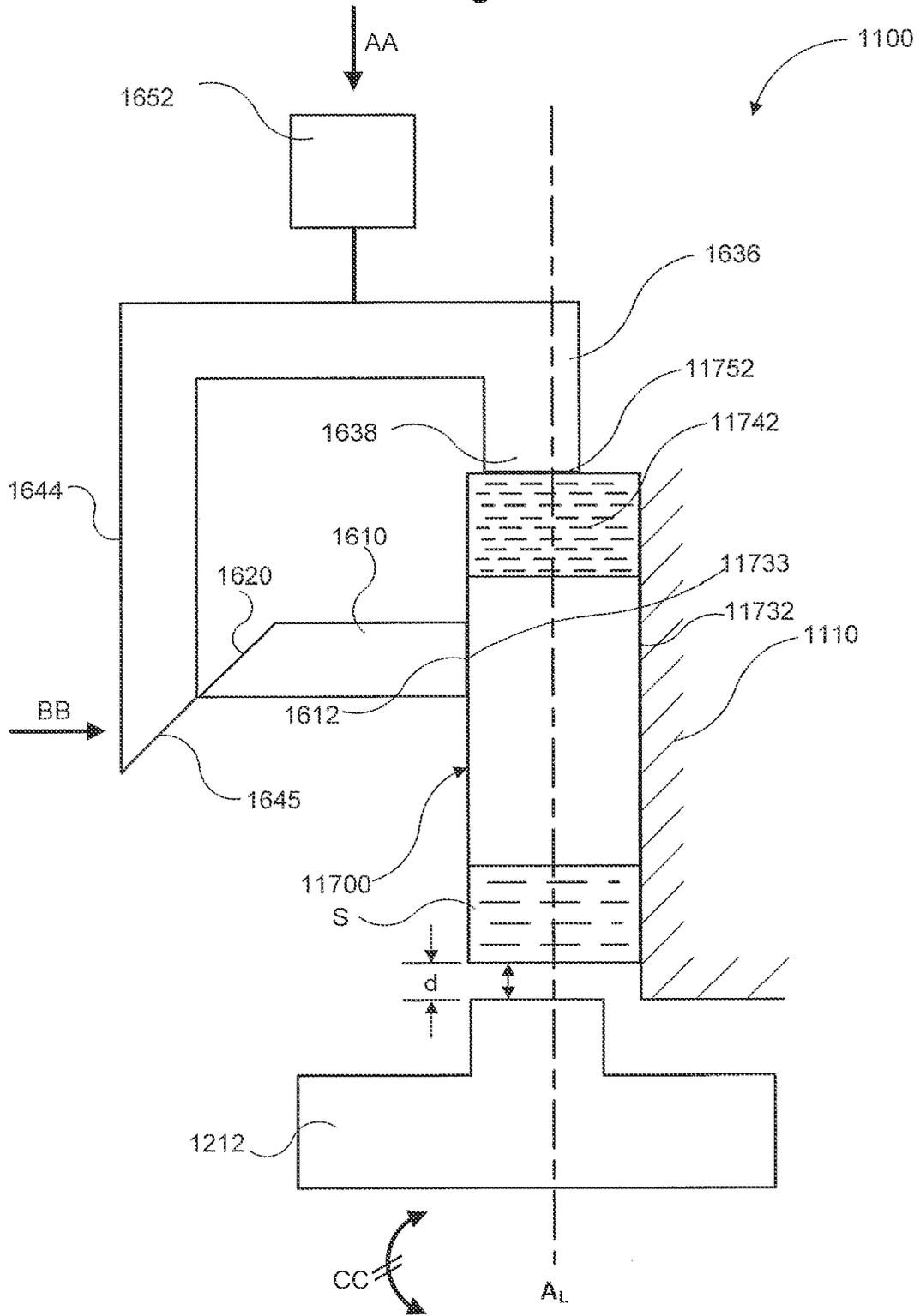


Fig. 45

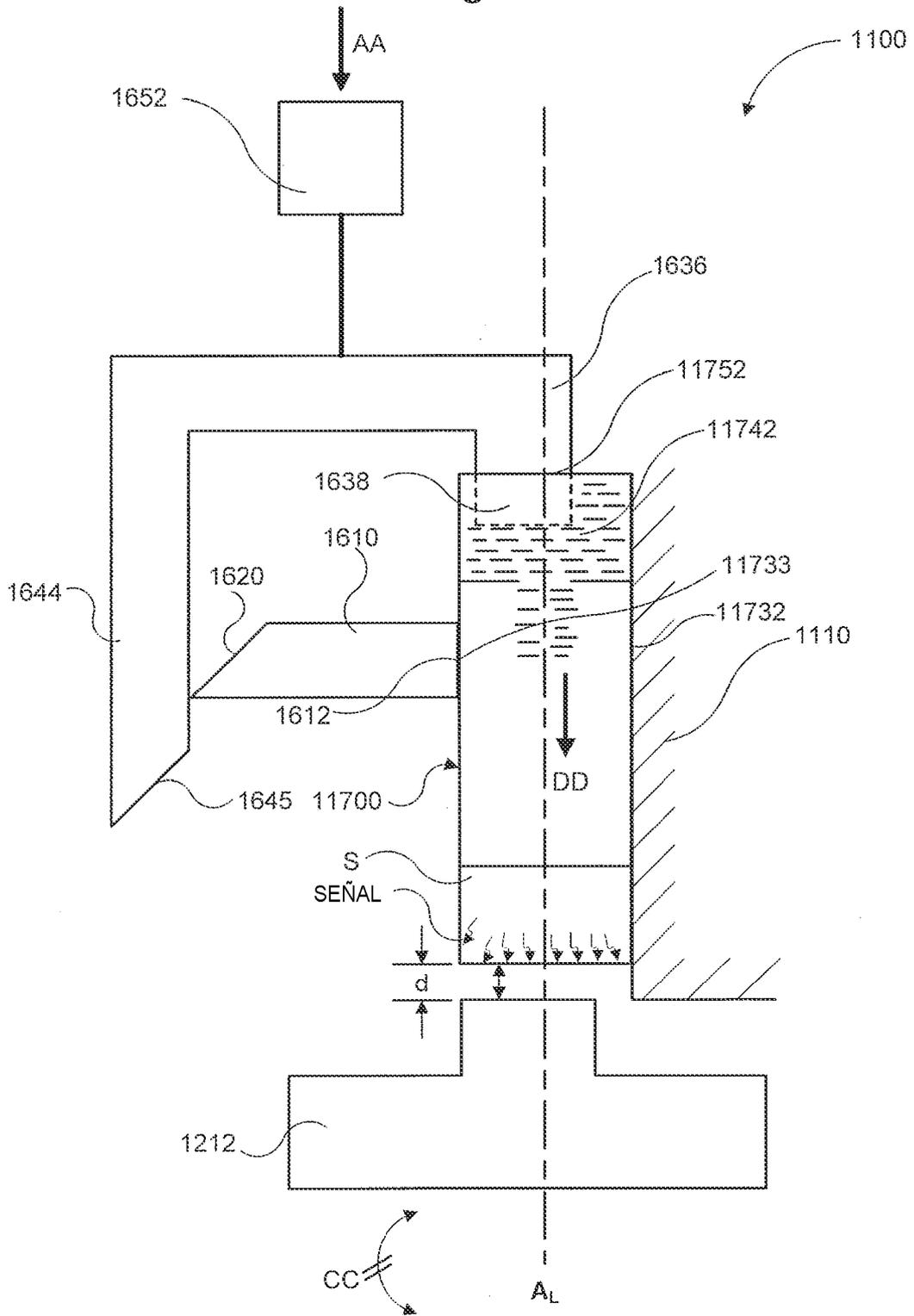


Fig. 46

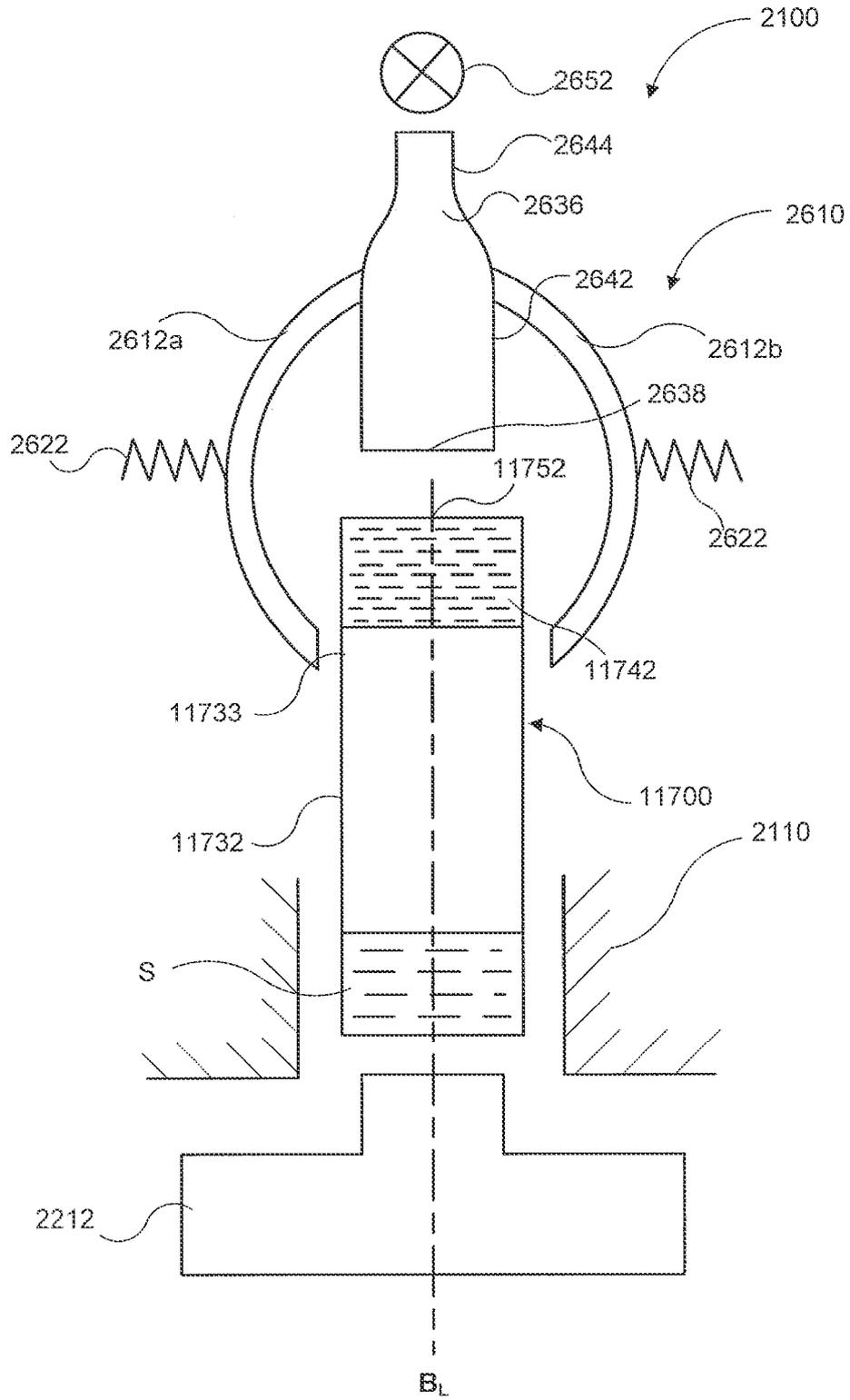


Fig. 47

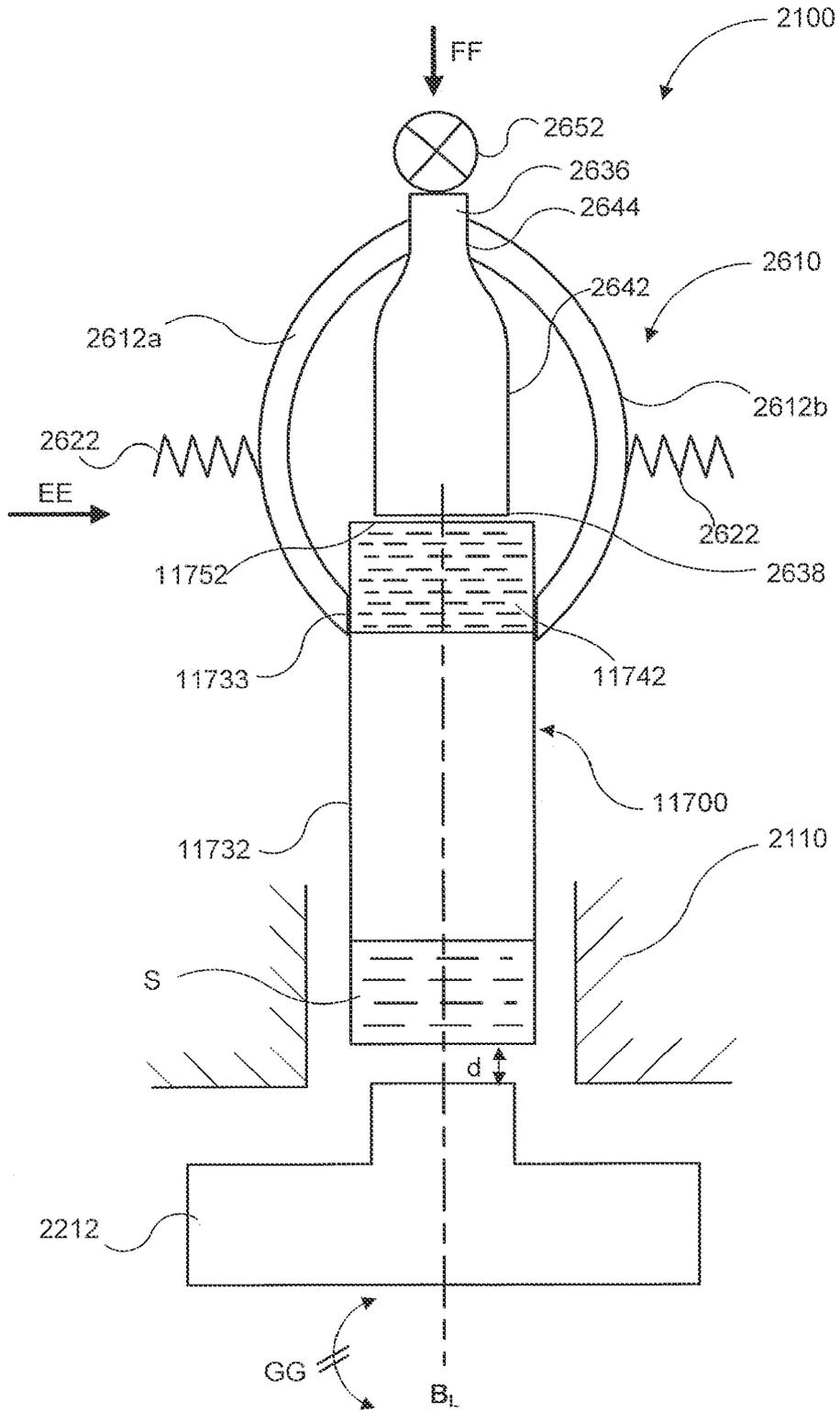


Fig. 48

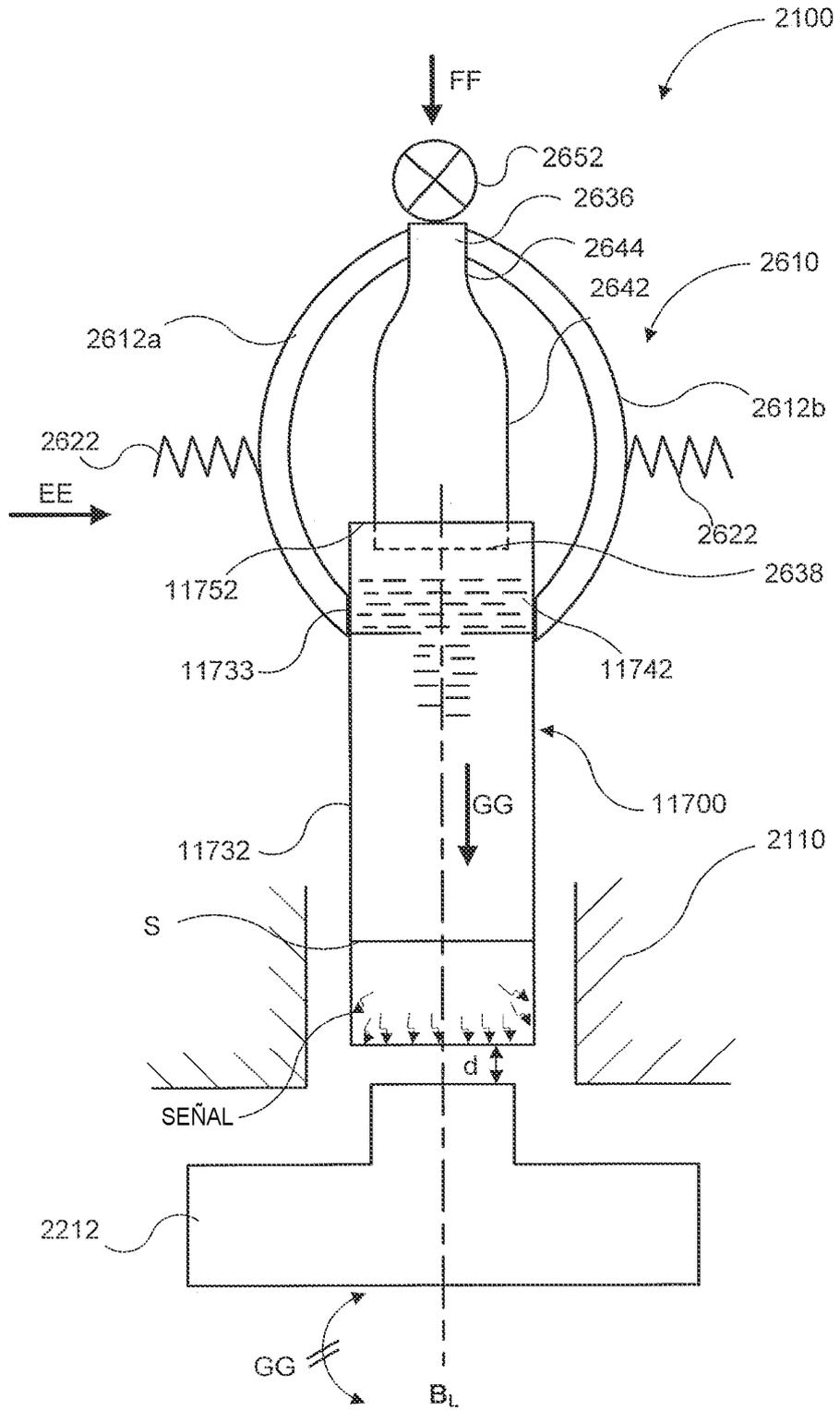


Fig. 49

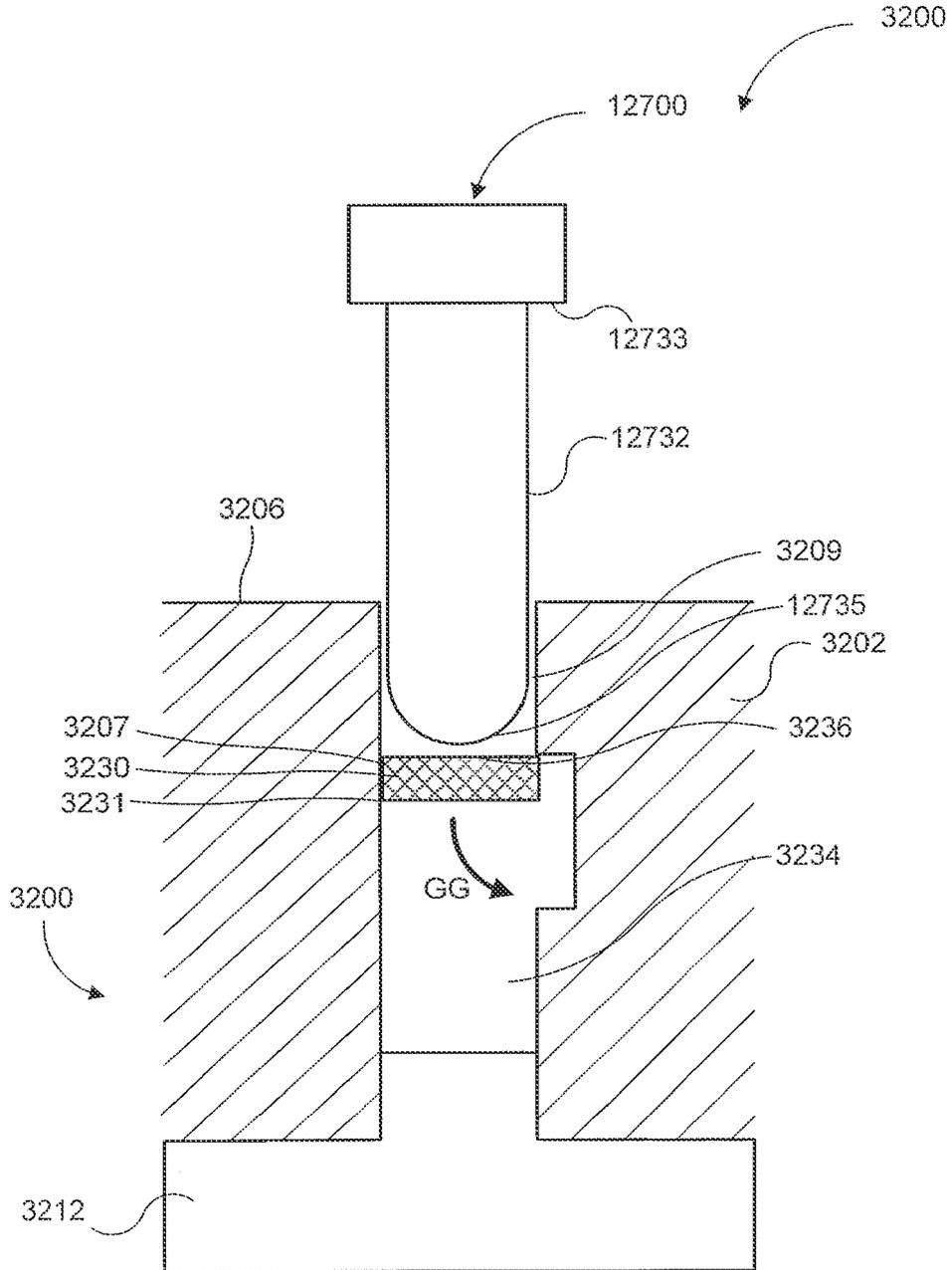


Fig. 50

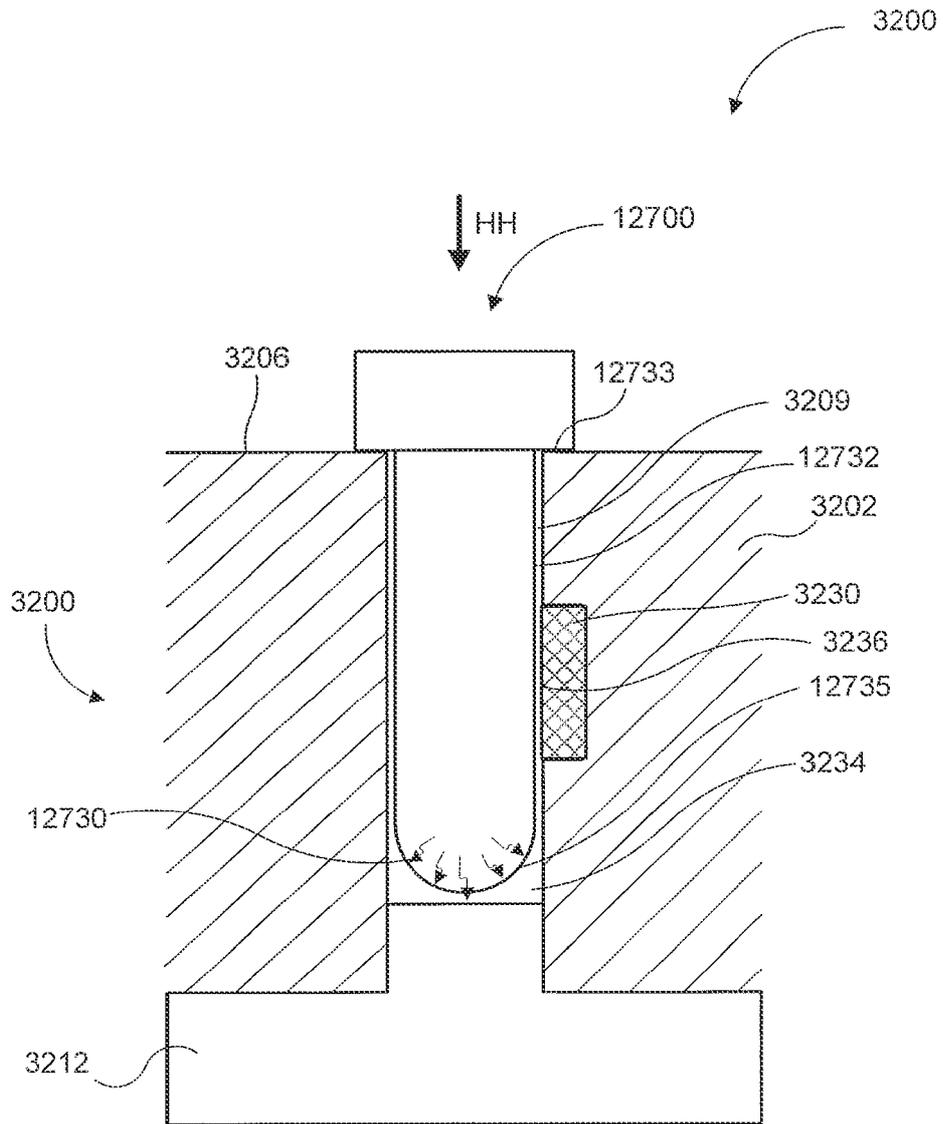


Fig. 51

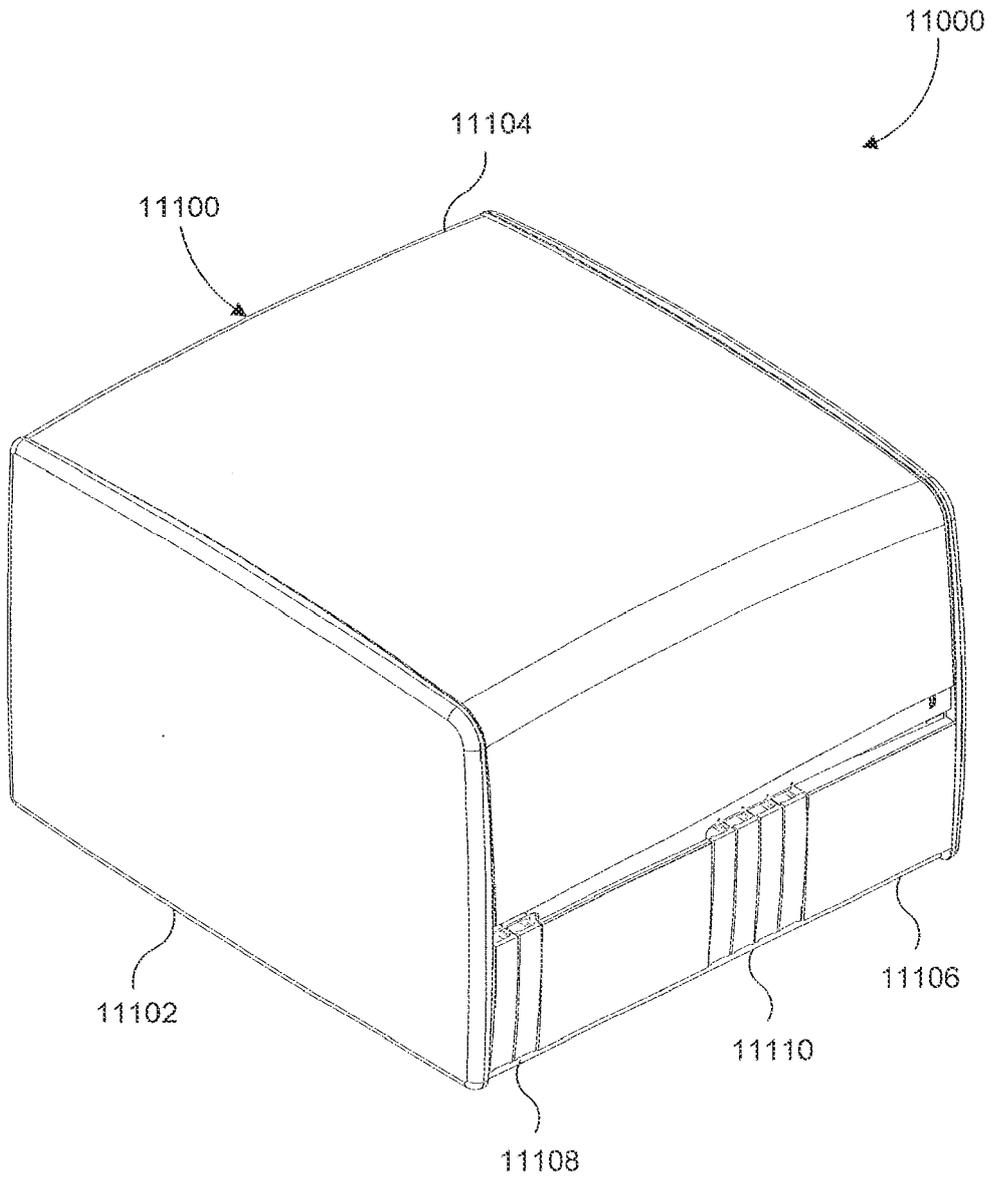


Fig. 52

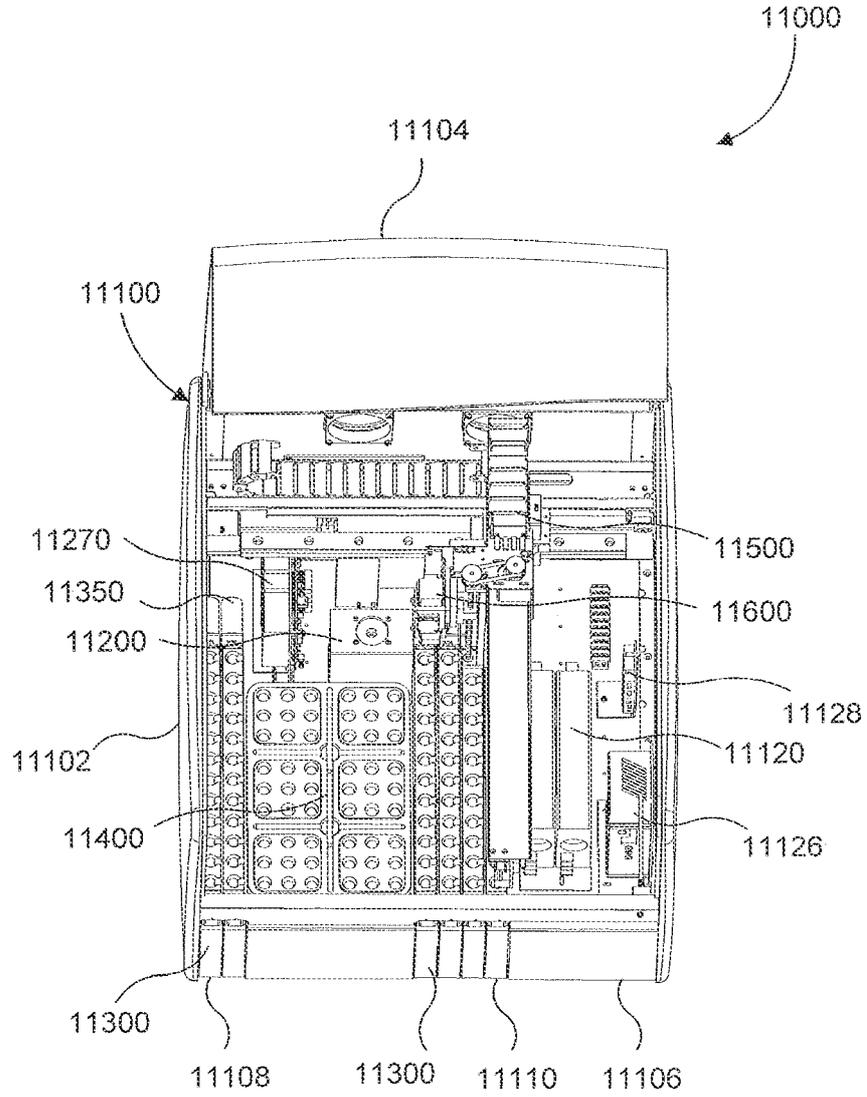


Fig. 53

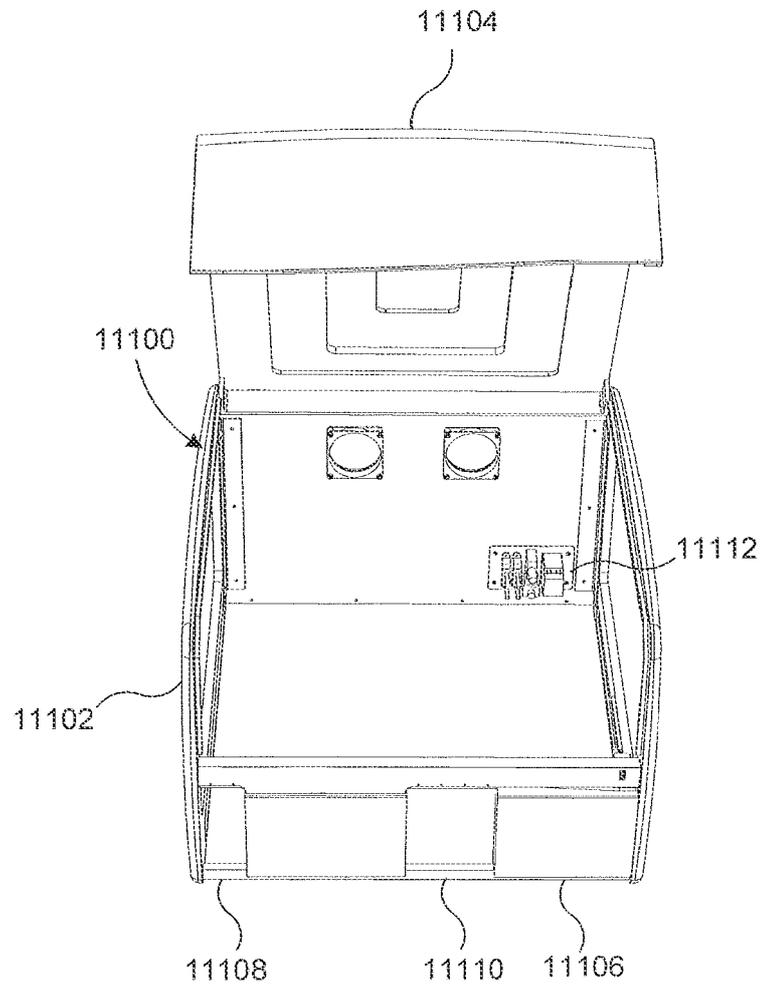


Fig. 54

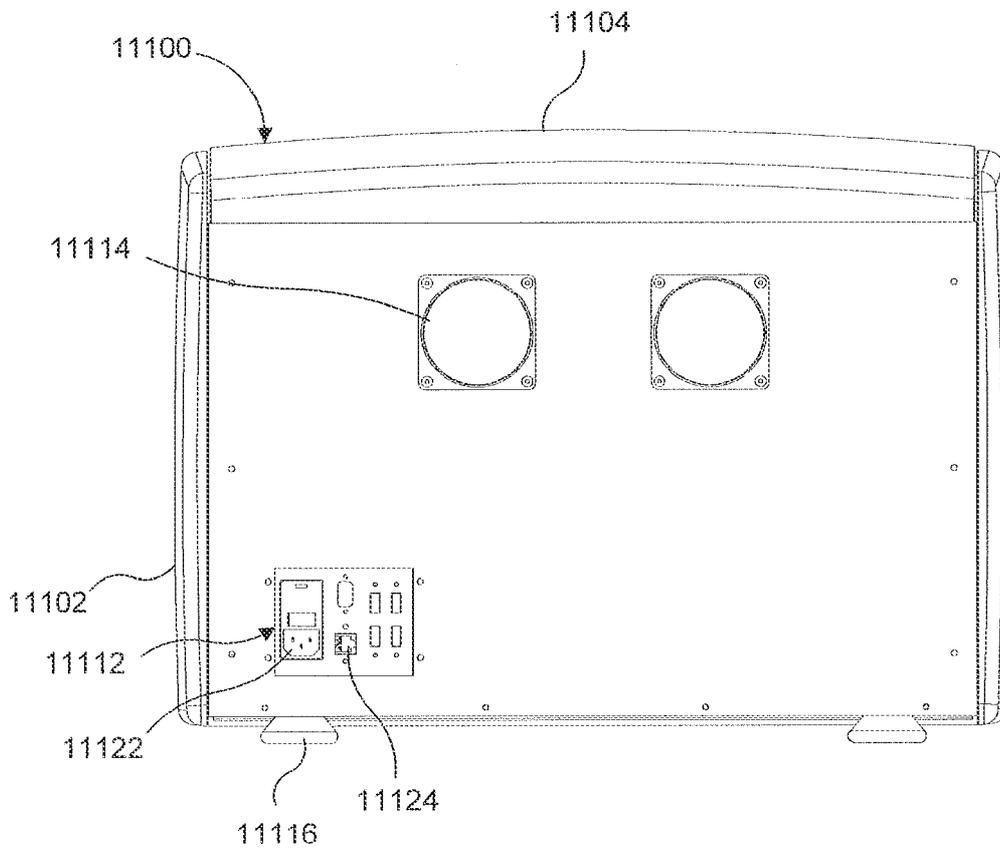


Fig. 55

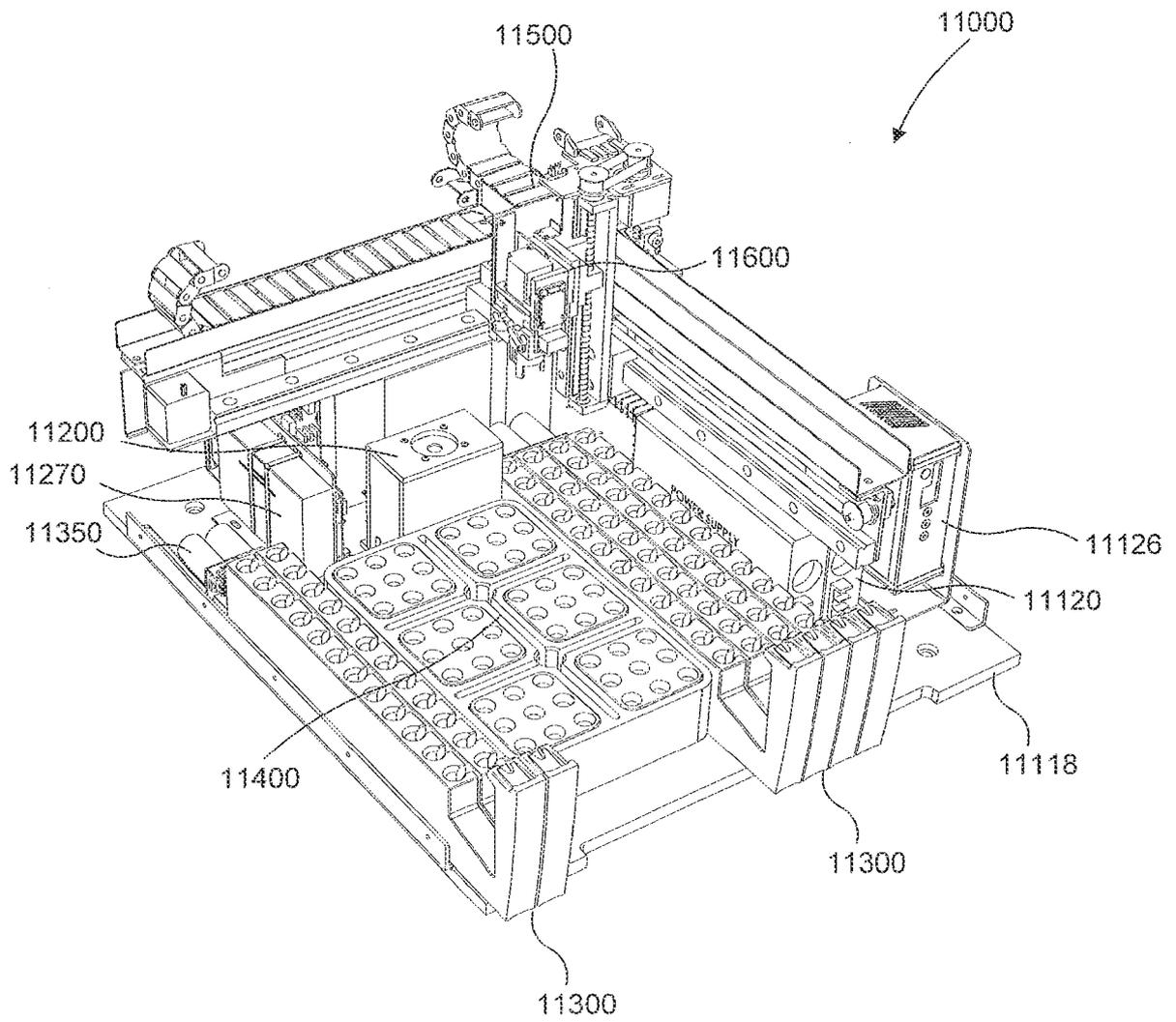


Fig. 56

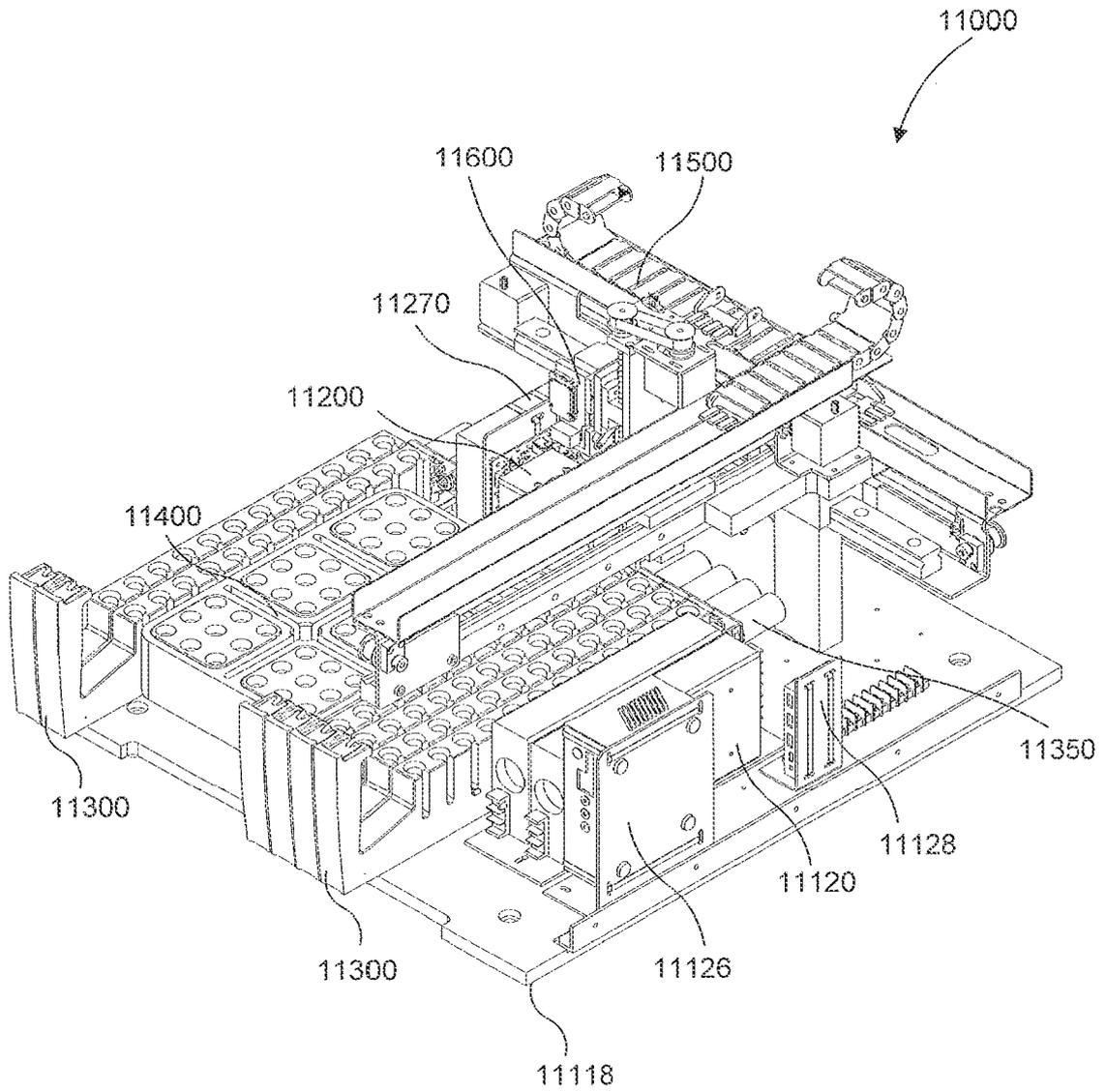


Fig. 57

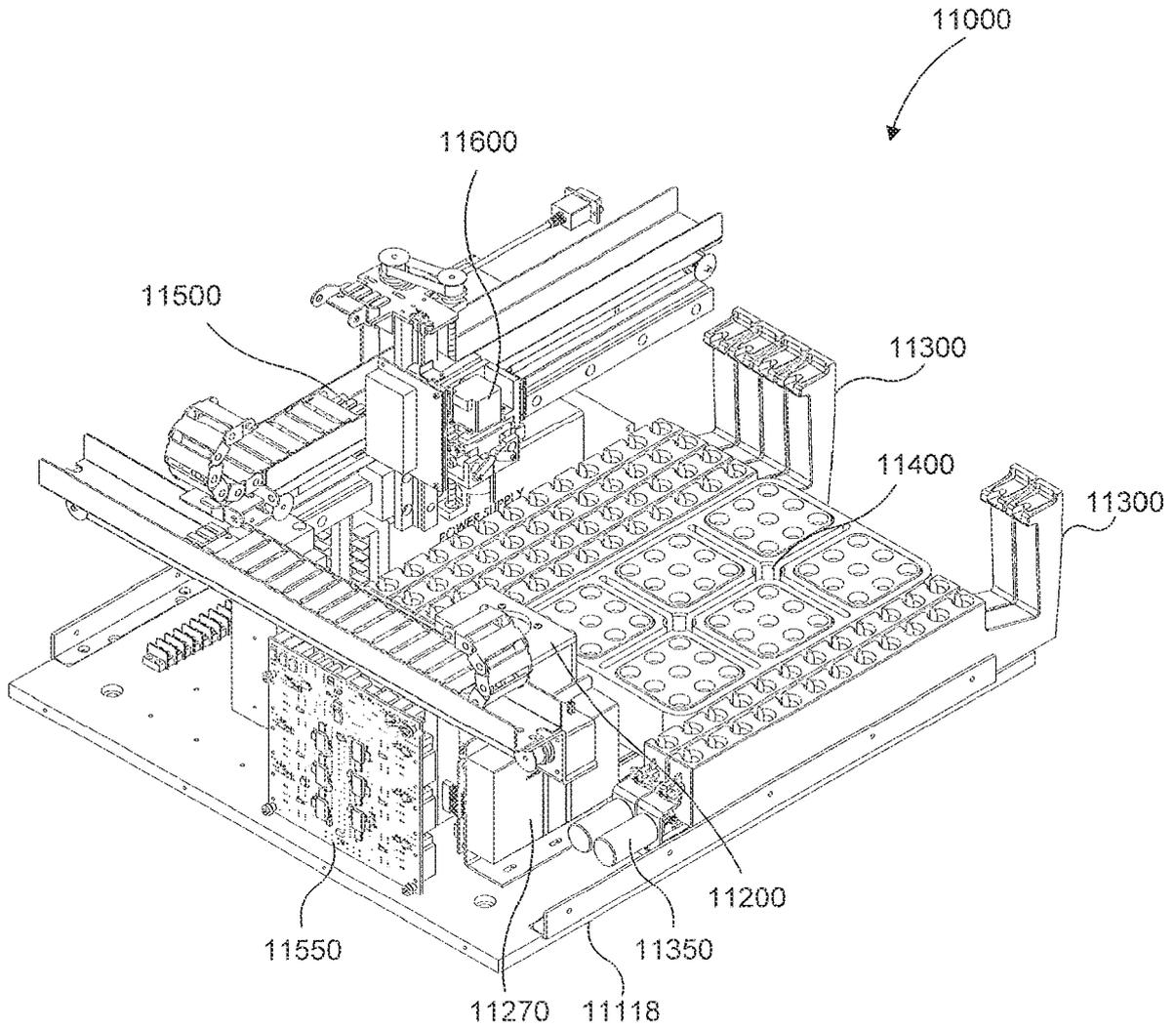


Fig. 58

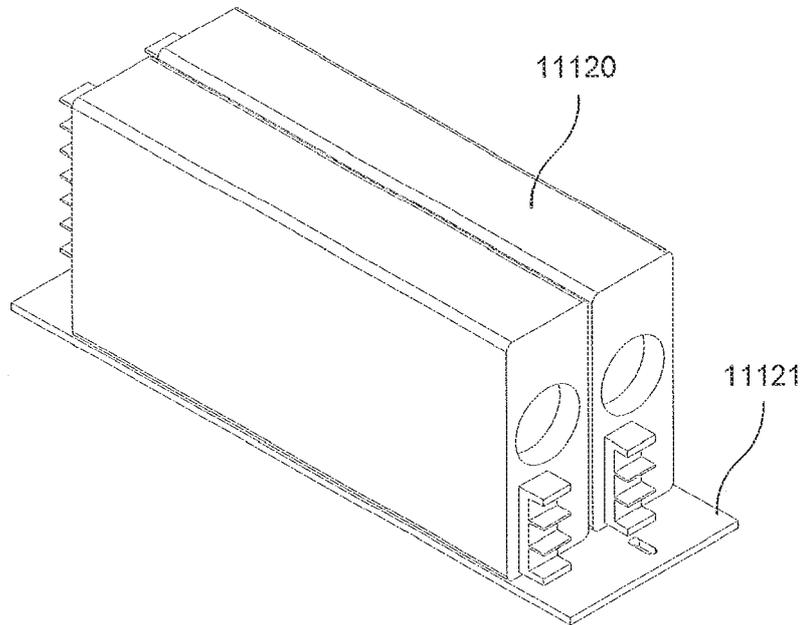


Fig. 59

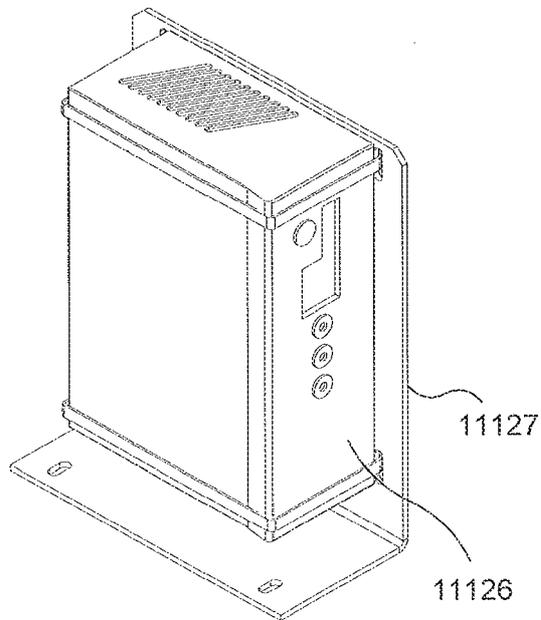


Fig. 60

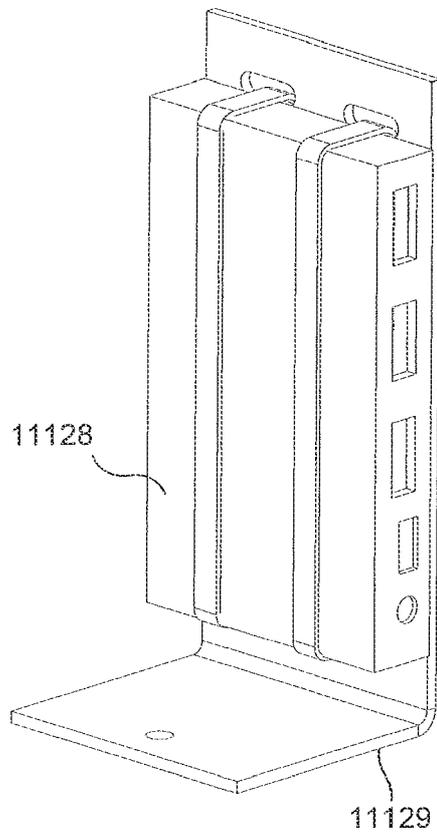


Fig. 62

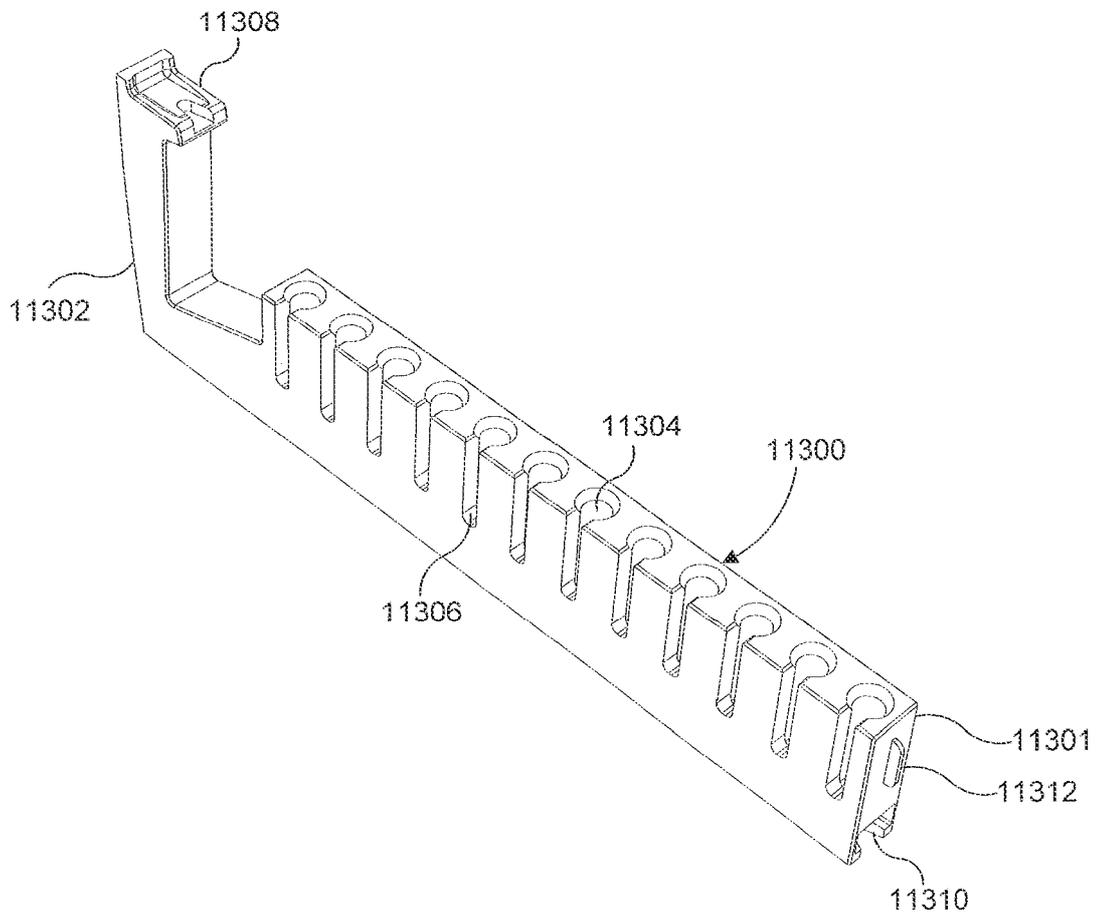


Fig. 63

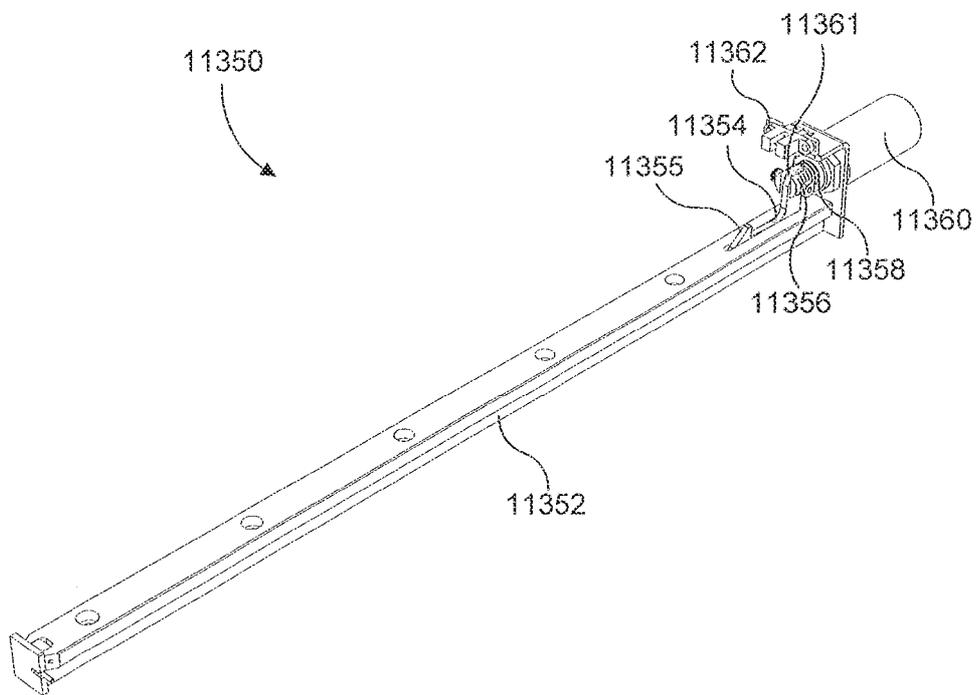


FIG.64

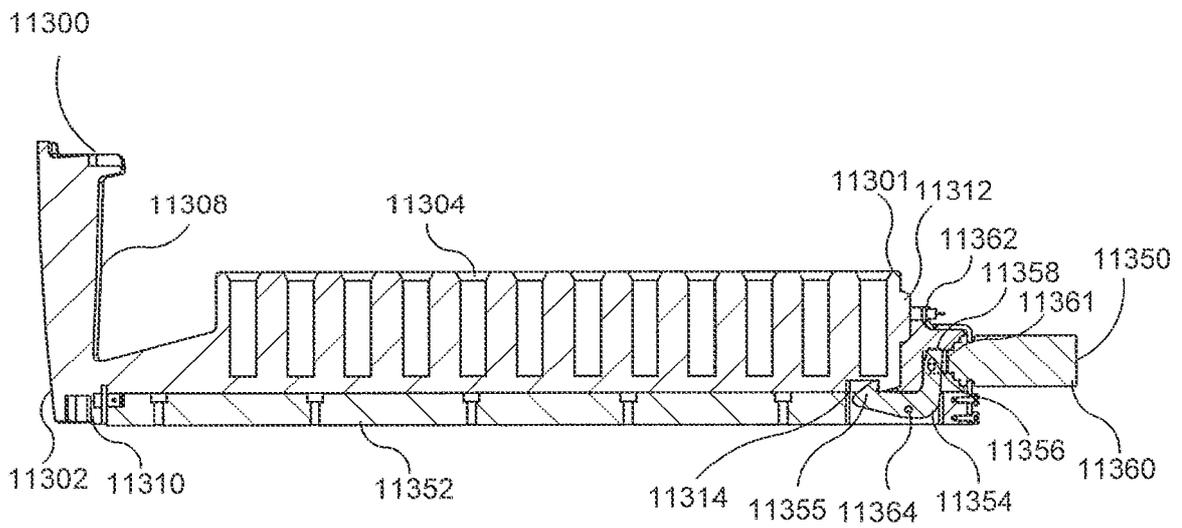


Fig. 65

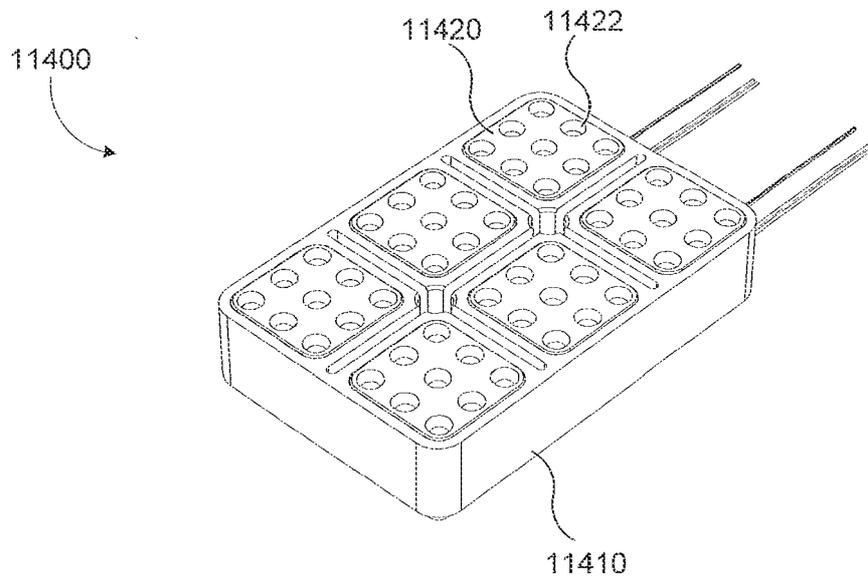


Fig. 66

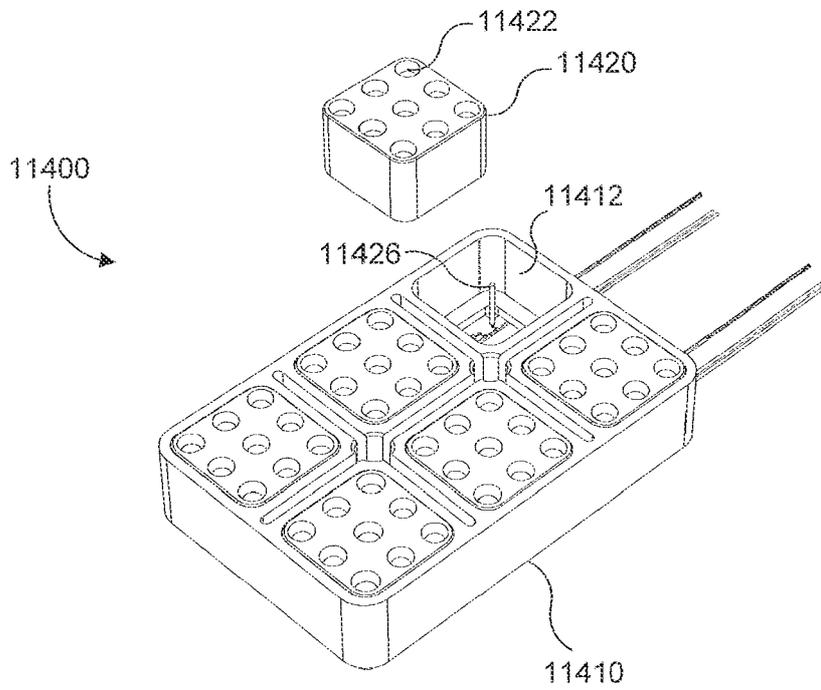


Fig. 67

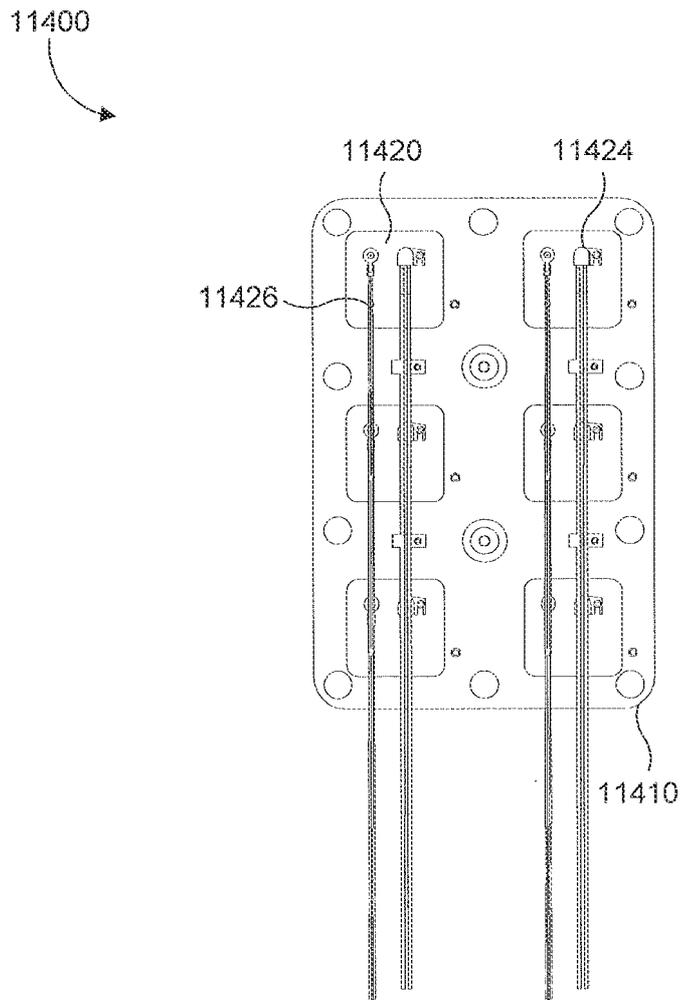


Fig. 68

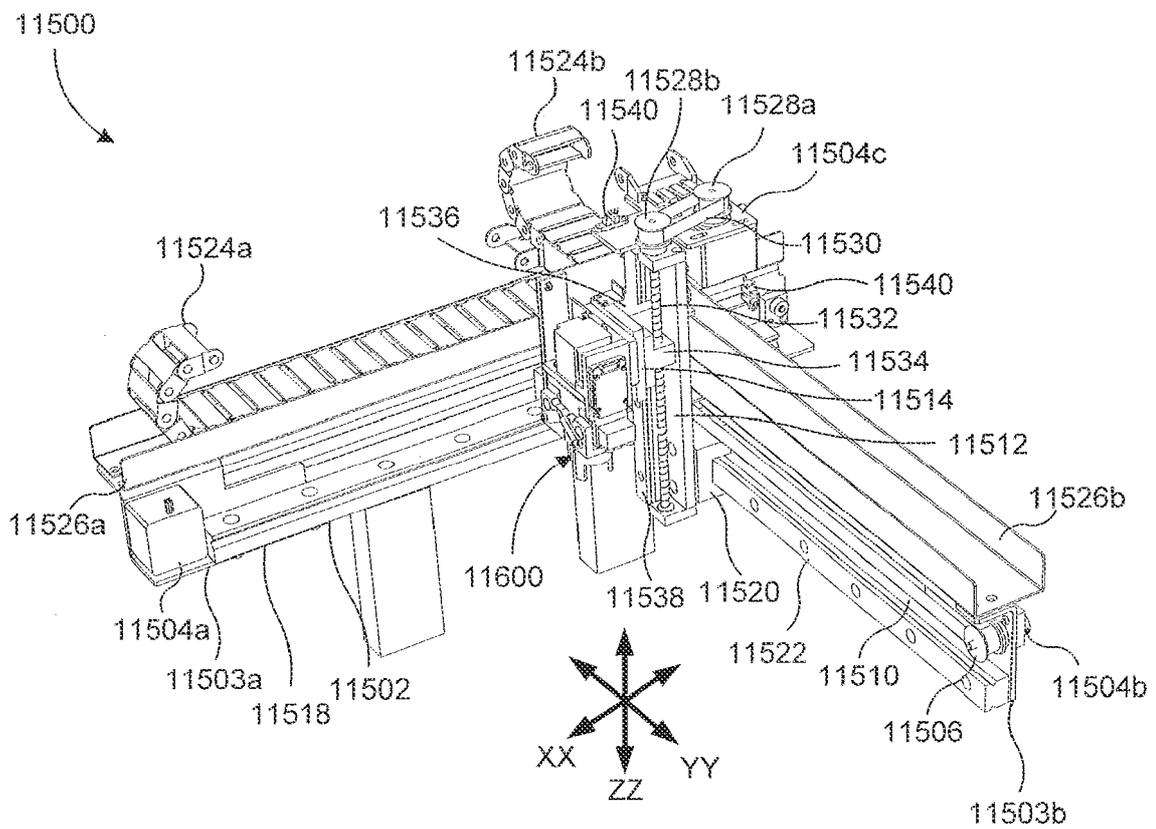


Fig. 69

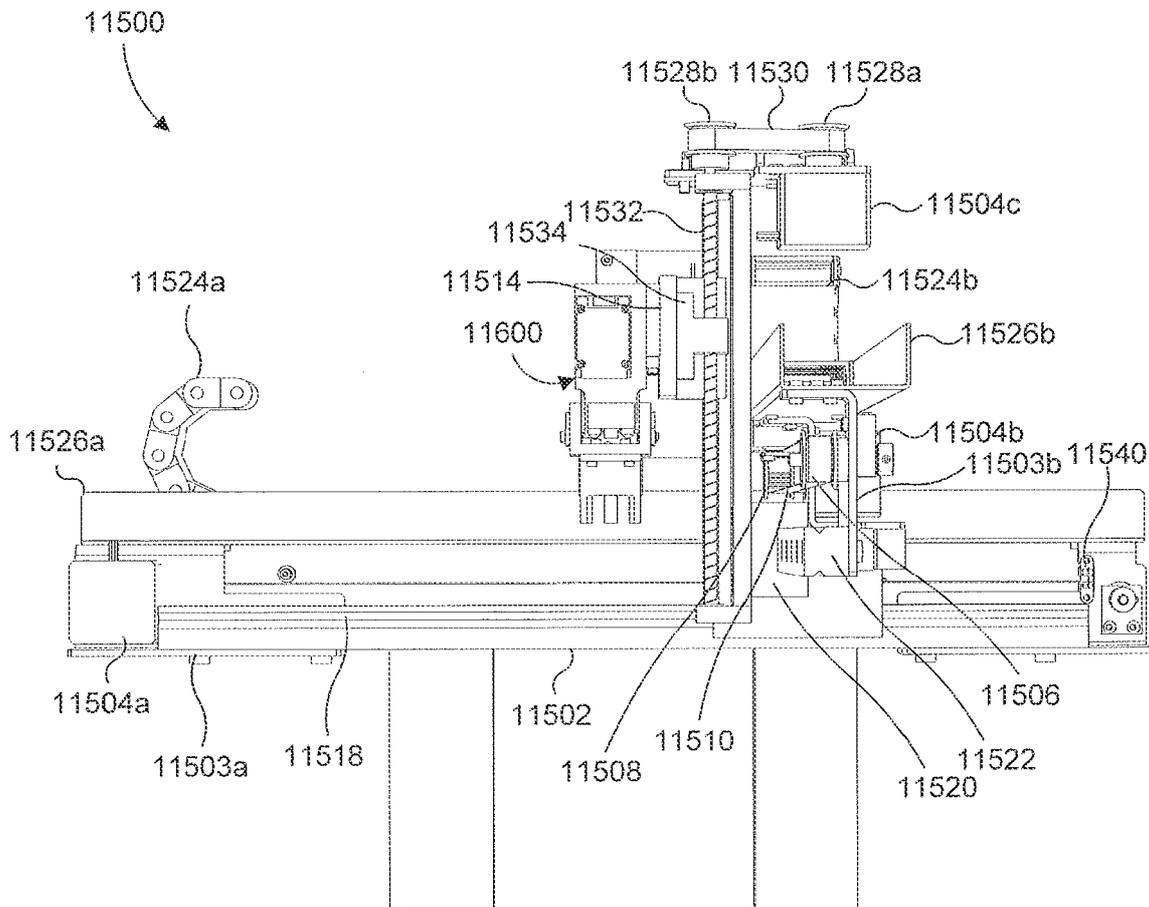


Fig. 70

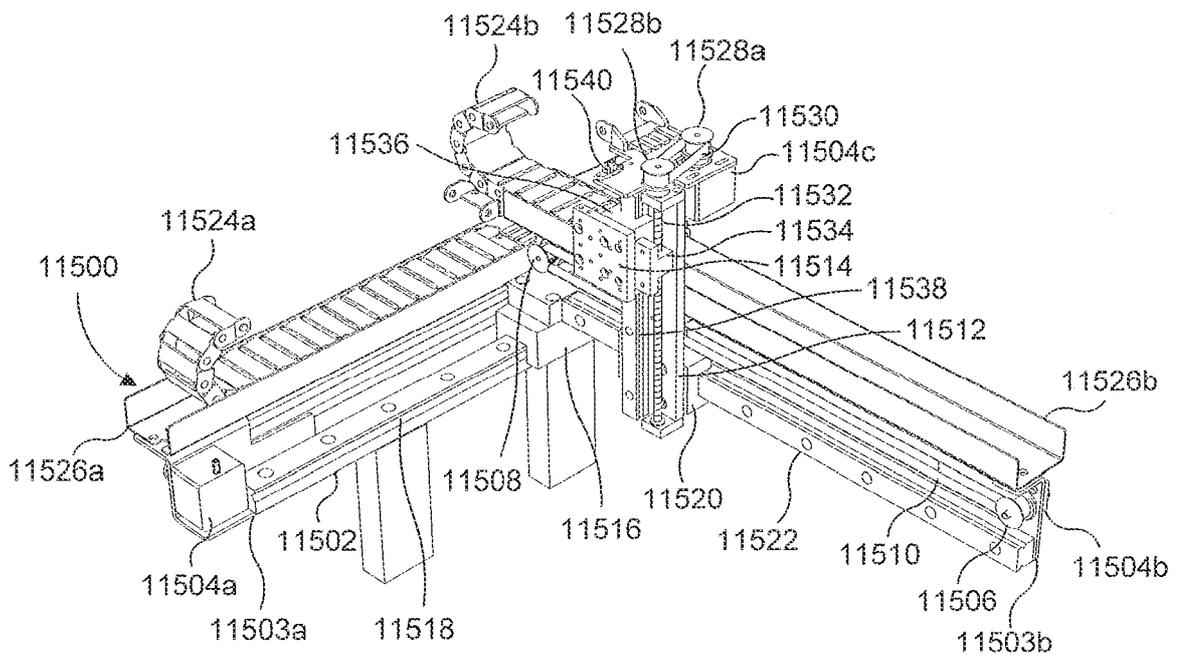


Fig. 71

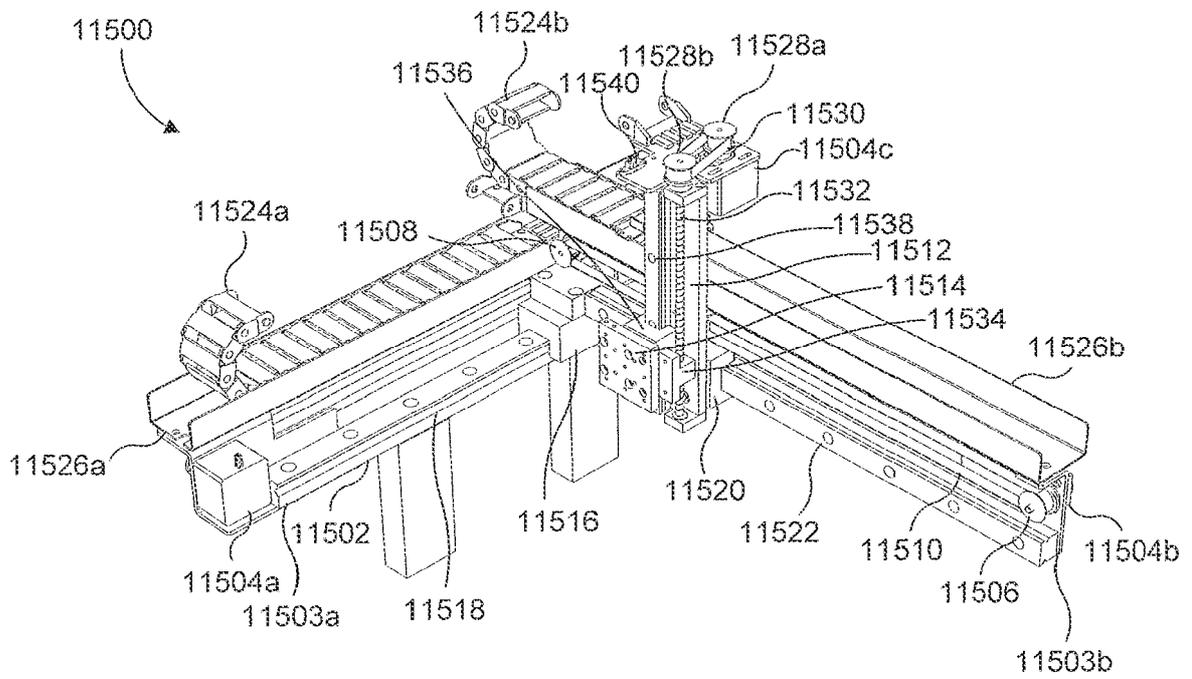


Fig. 72

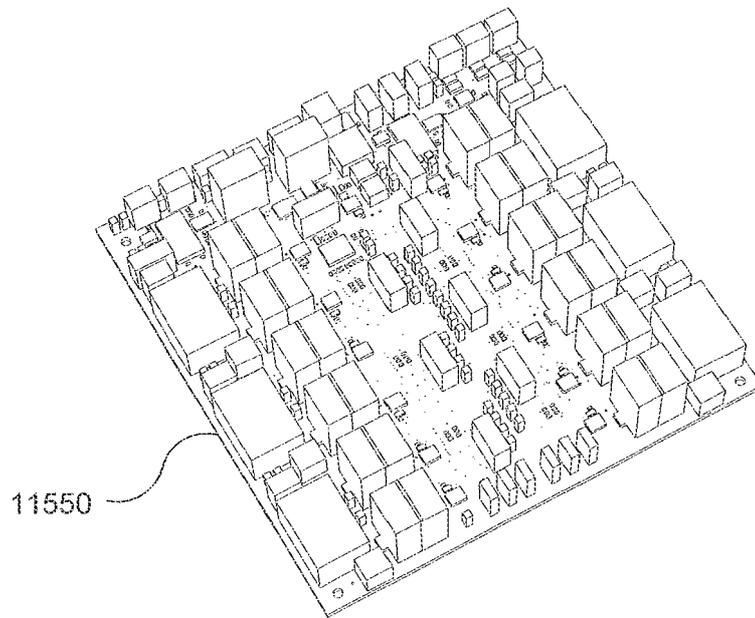


Fig. 73

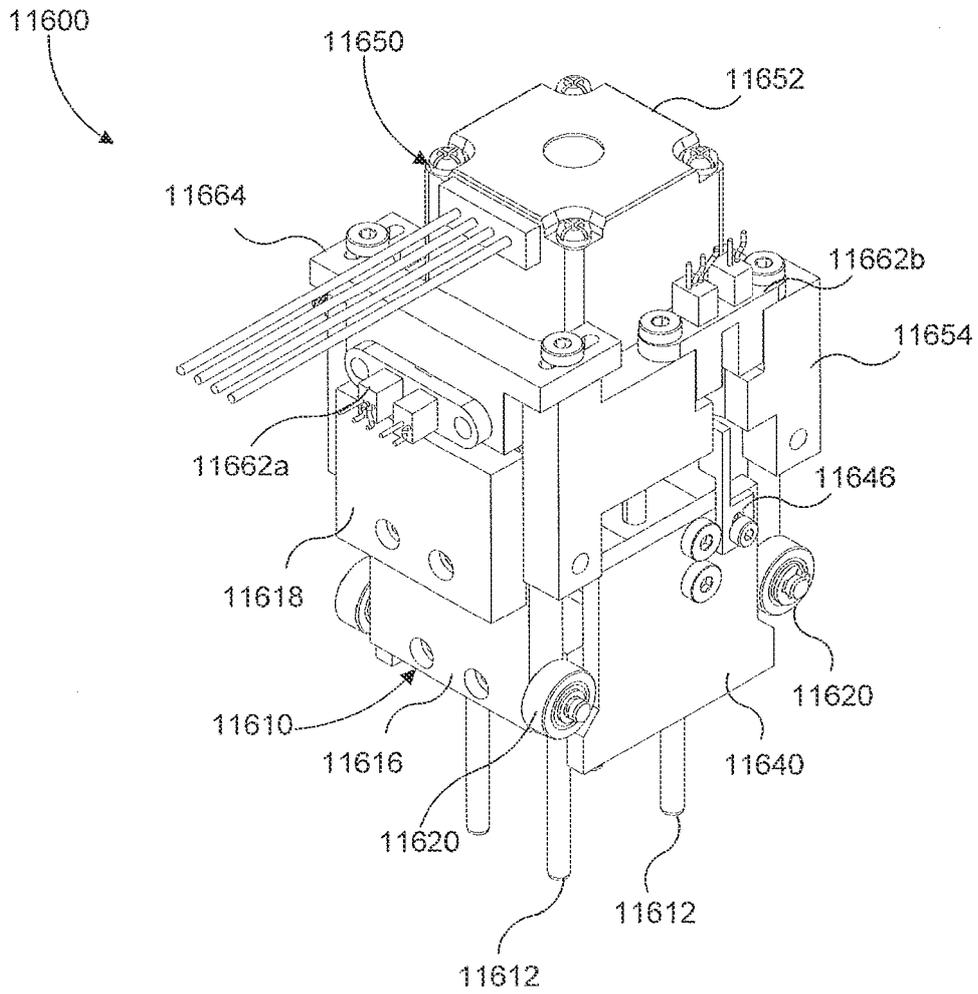


Fig.74

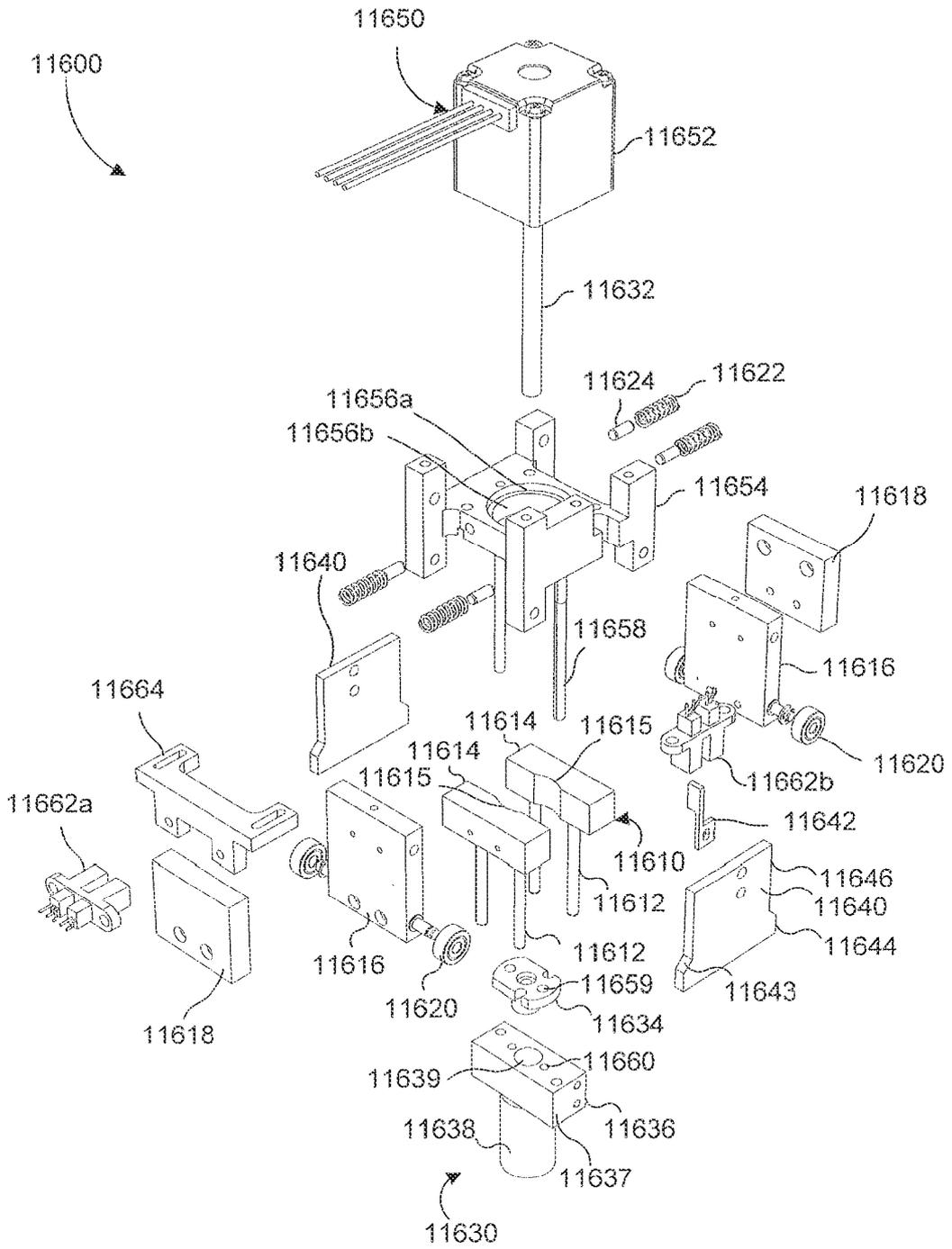


Fig. 75

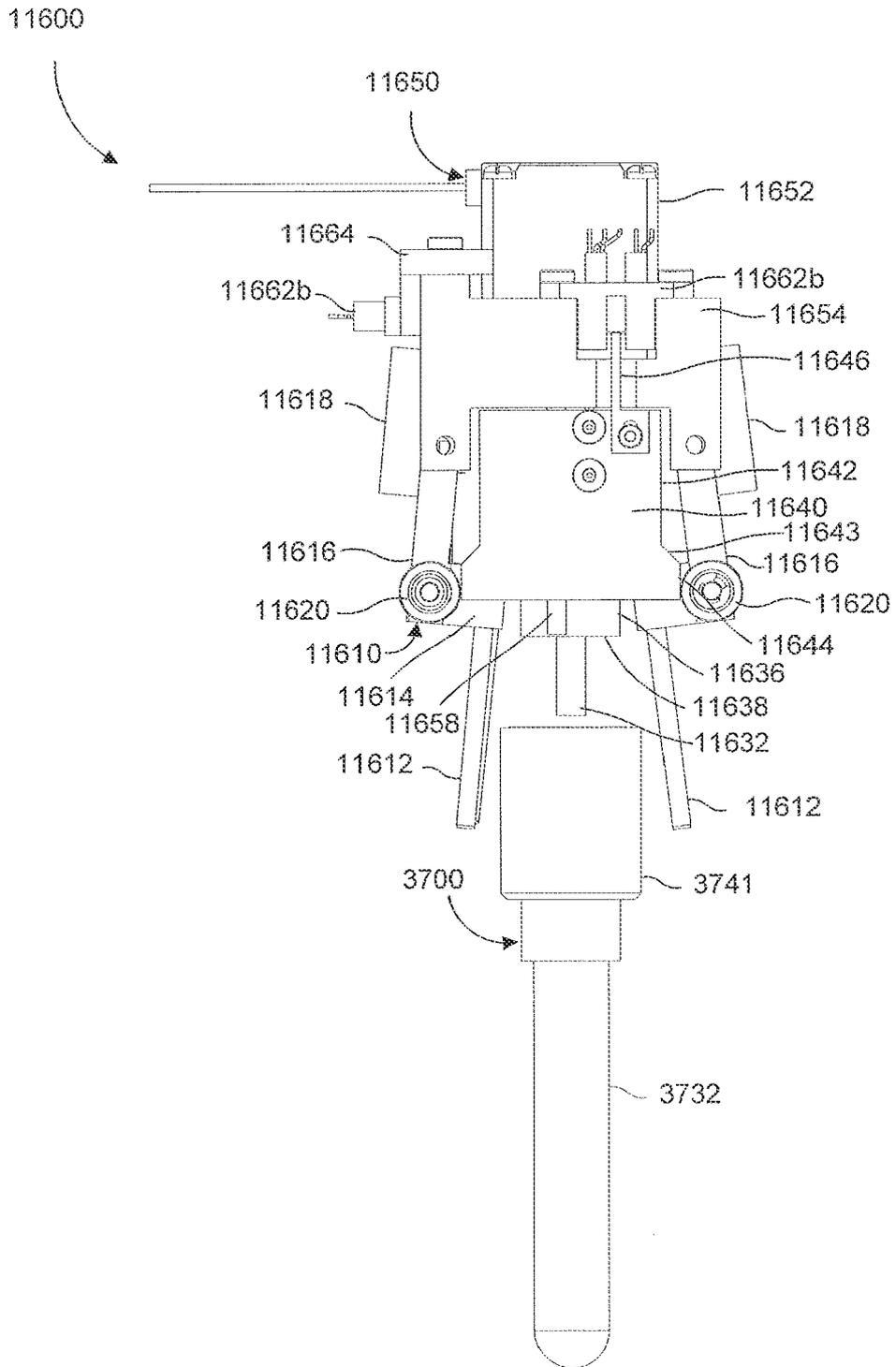


Fig. 76

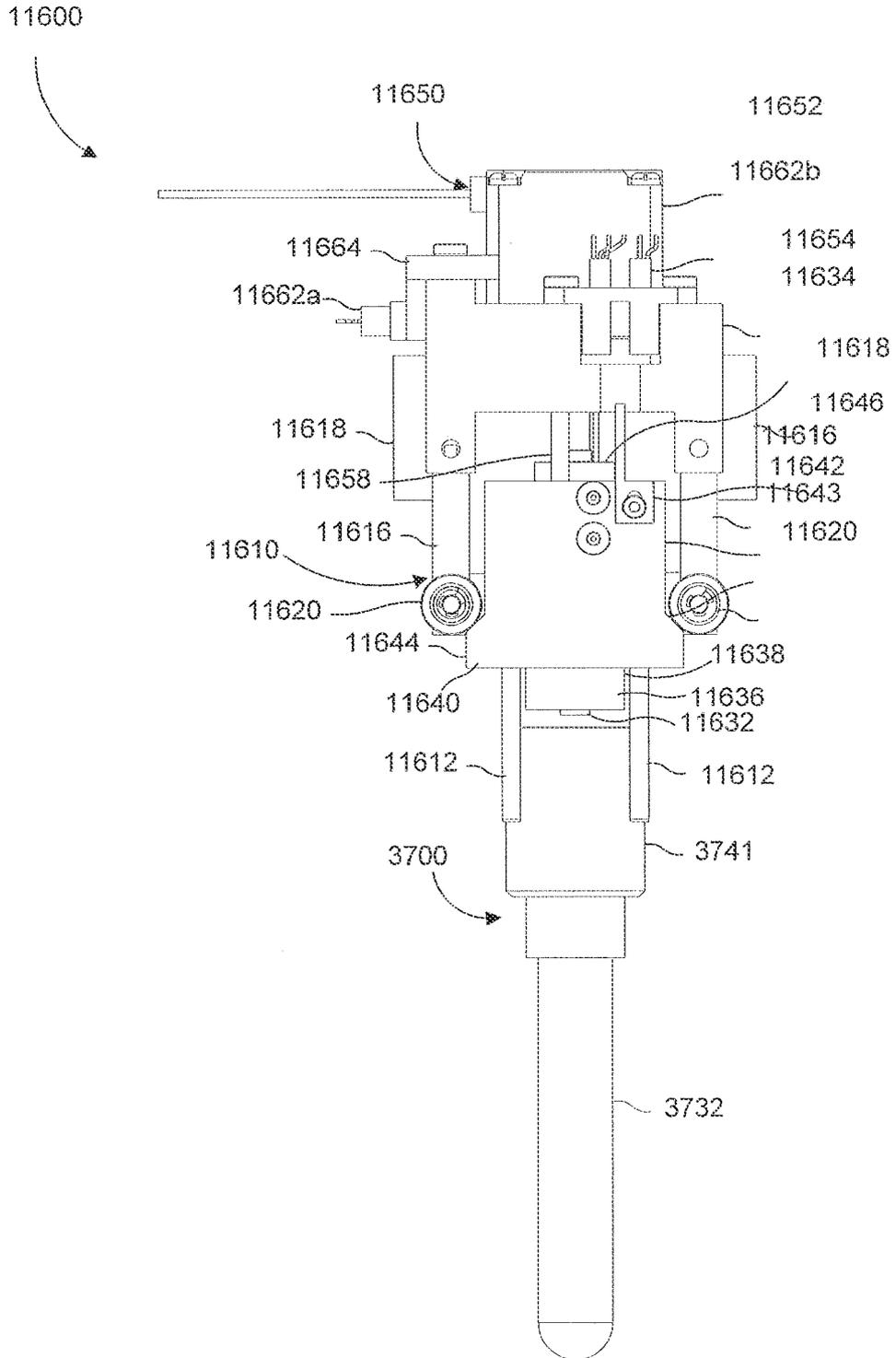


Fig. 77

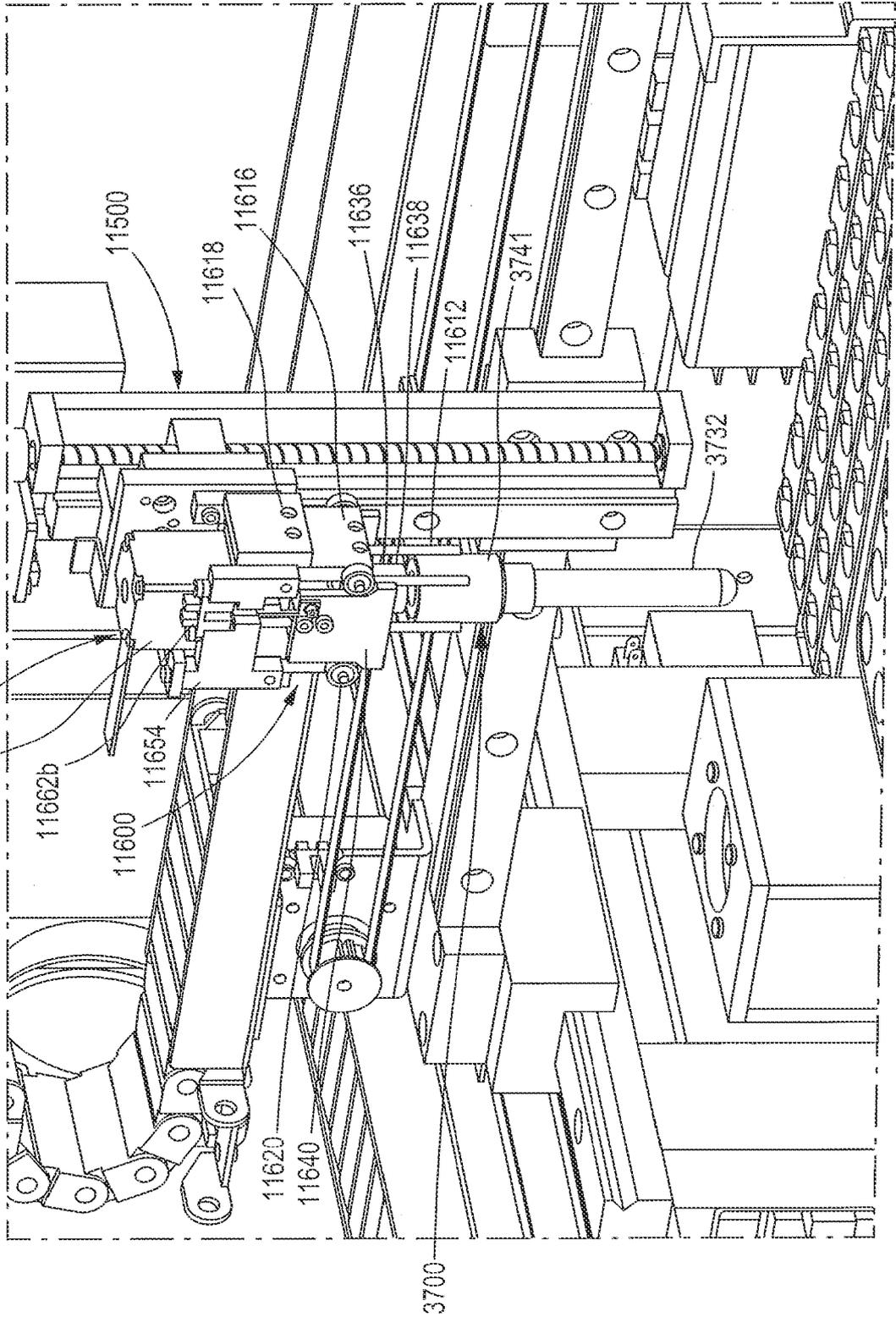


Fig. 78

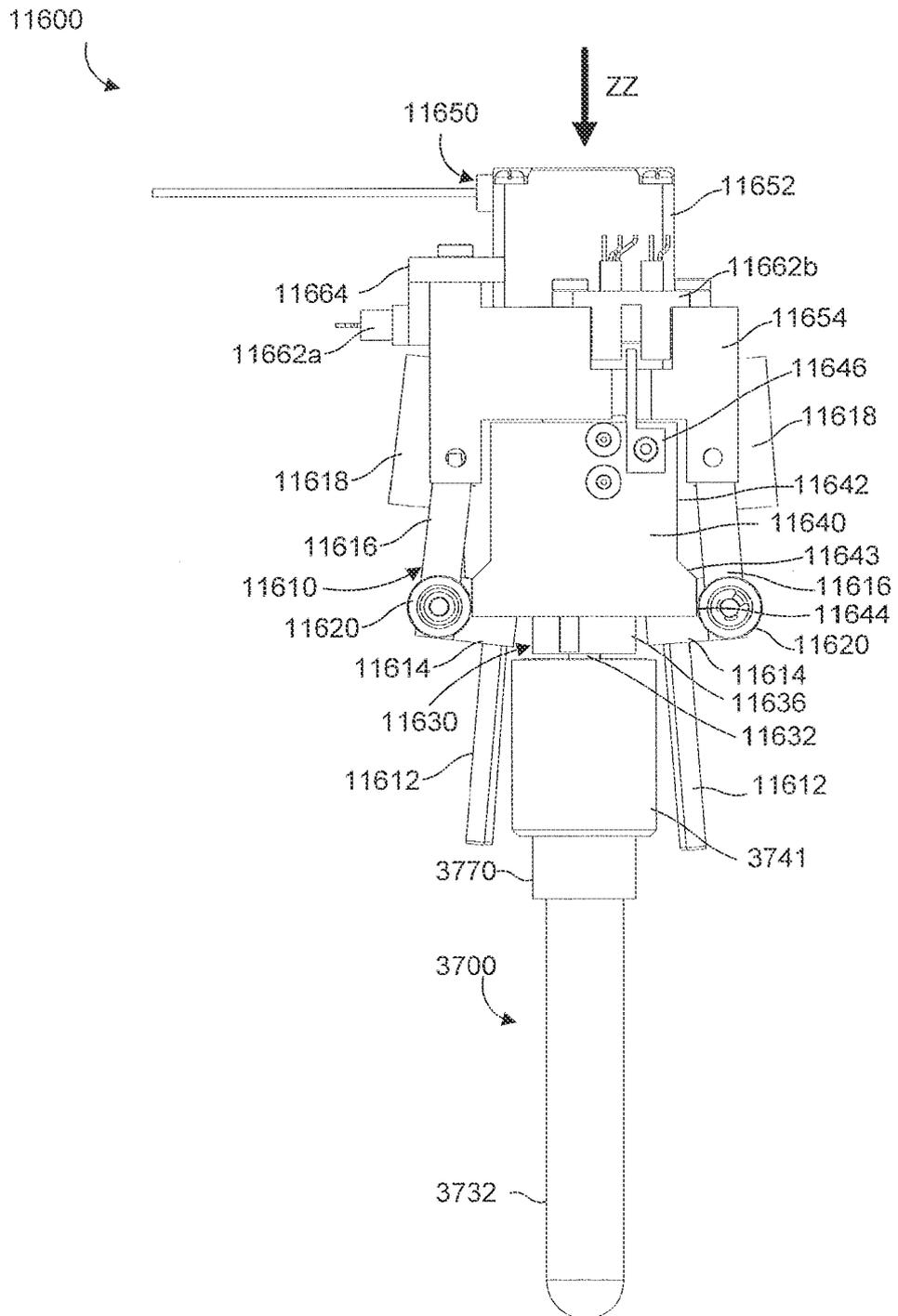


Fig. 79

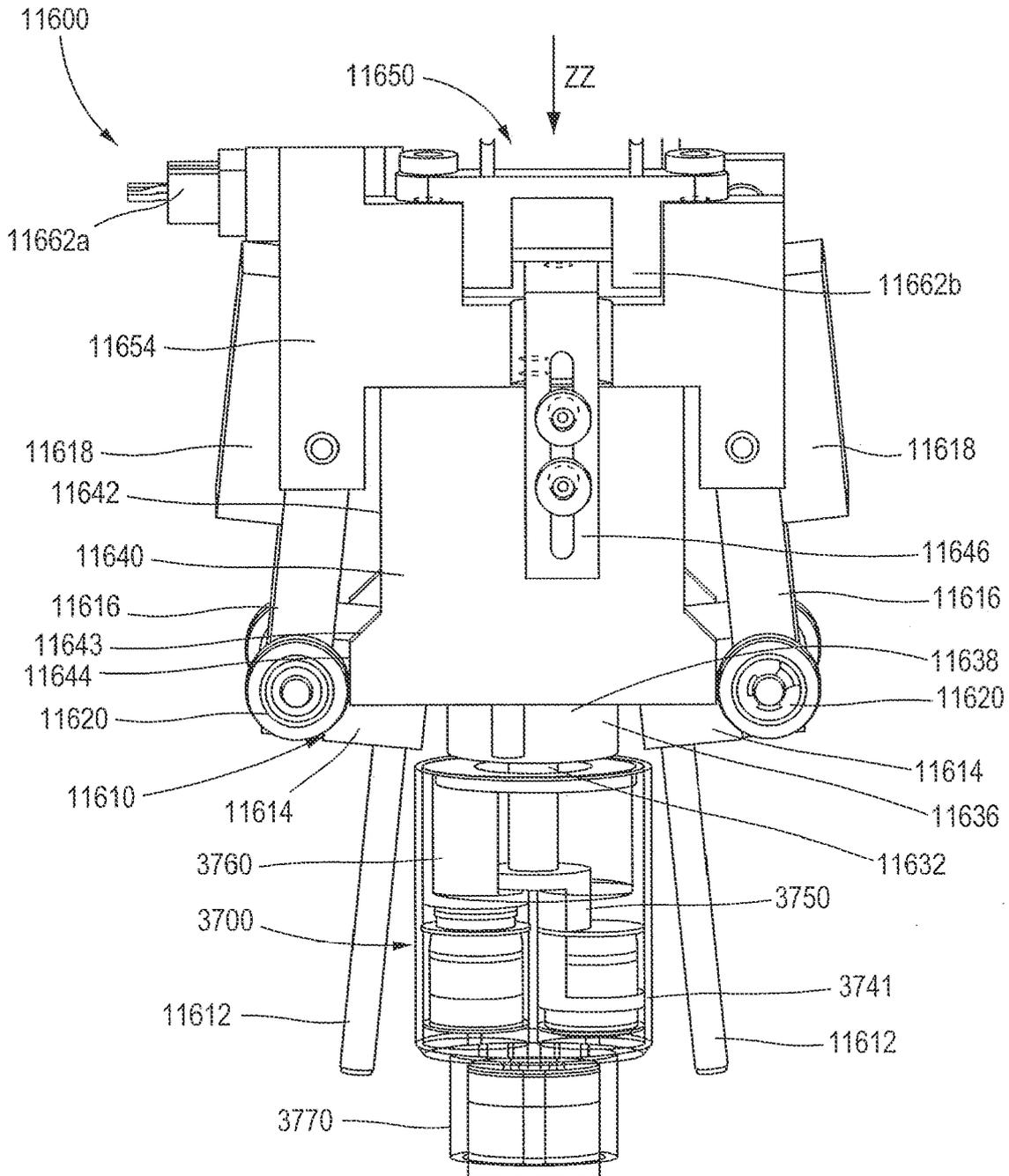


Fig. 80

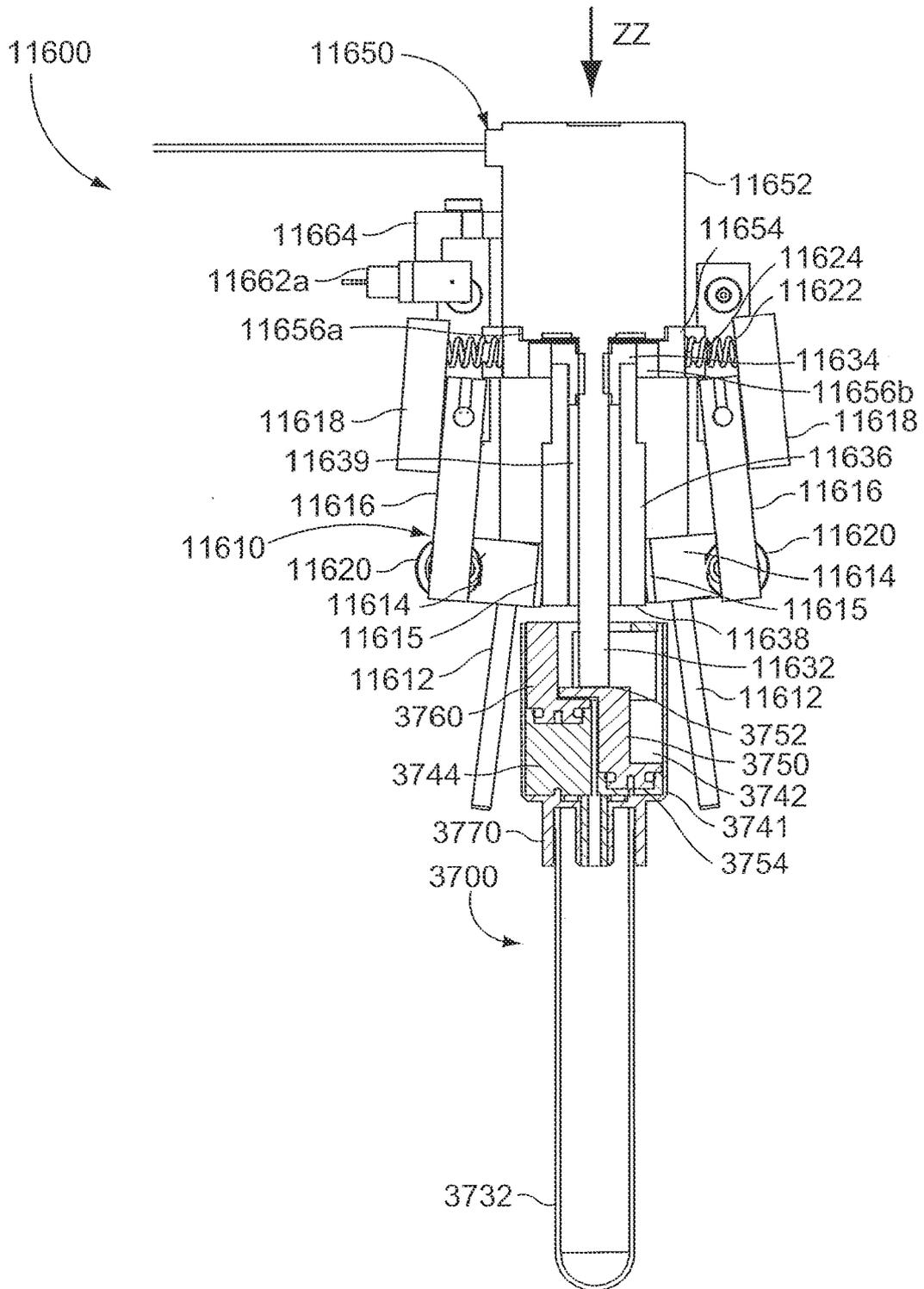


Fig. 81

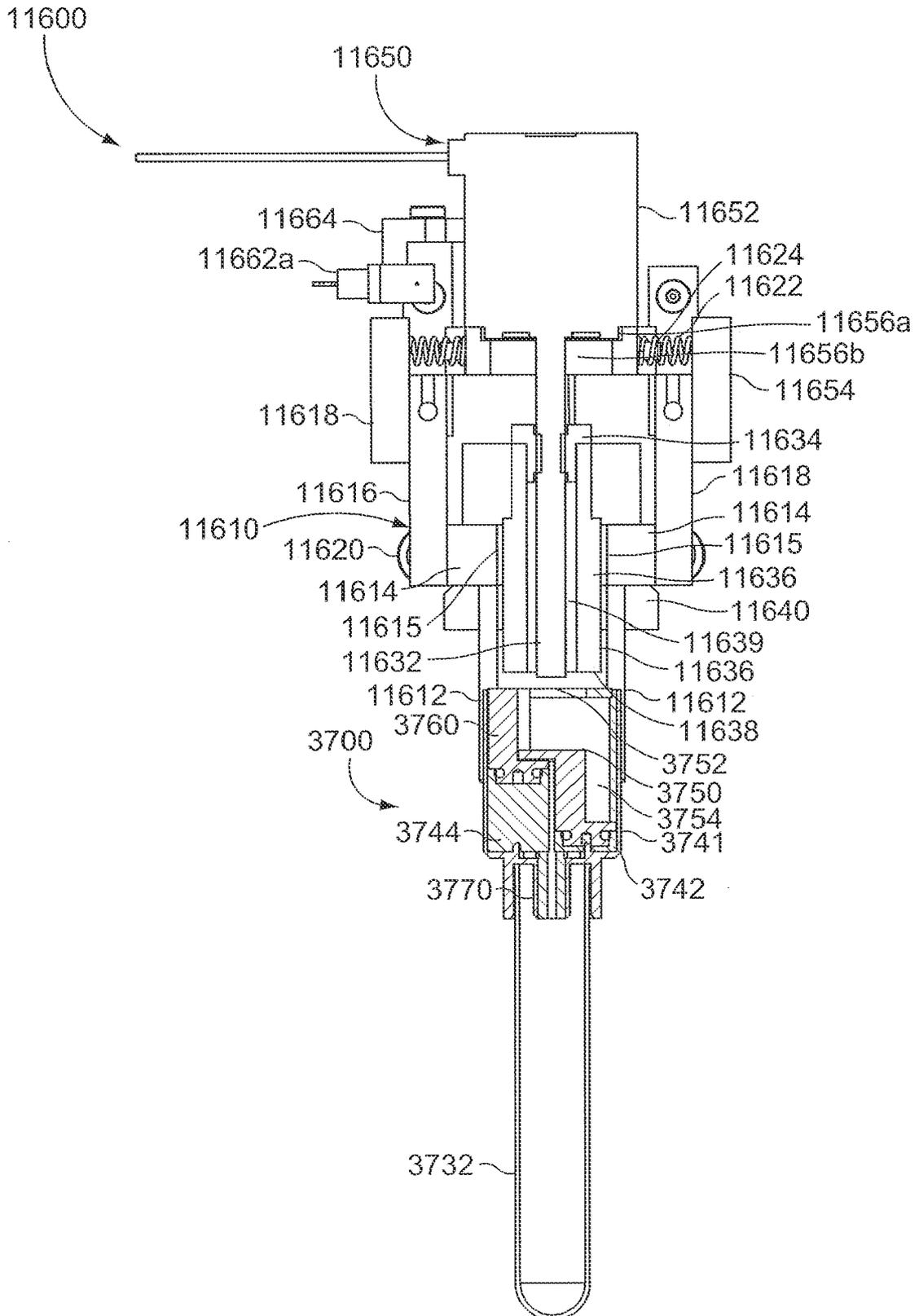


Fig. 82

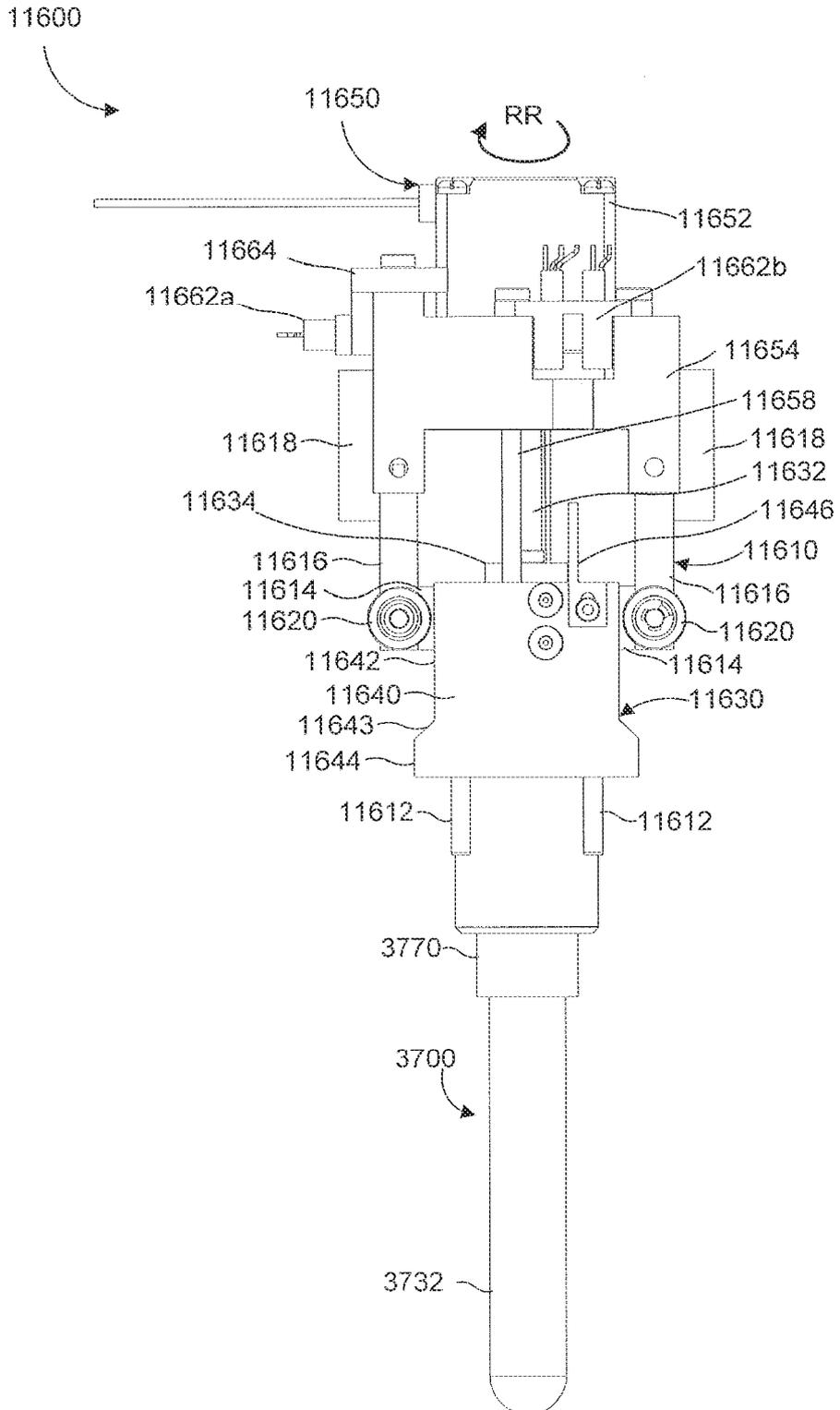


Fig. 83

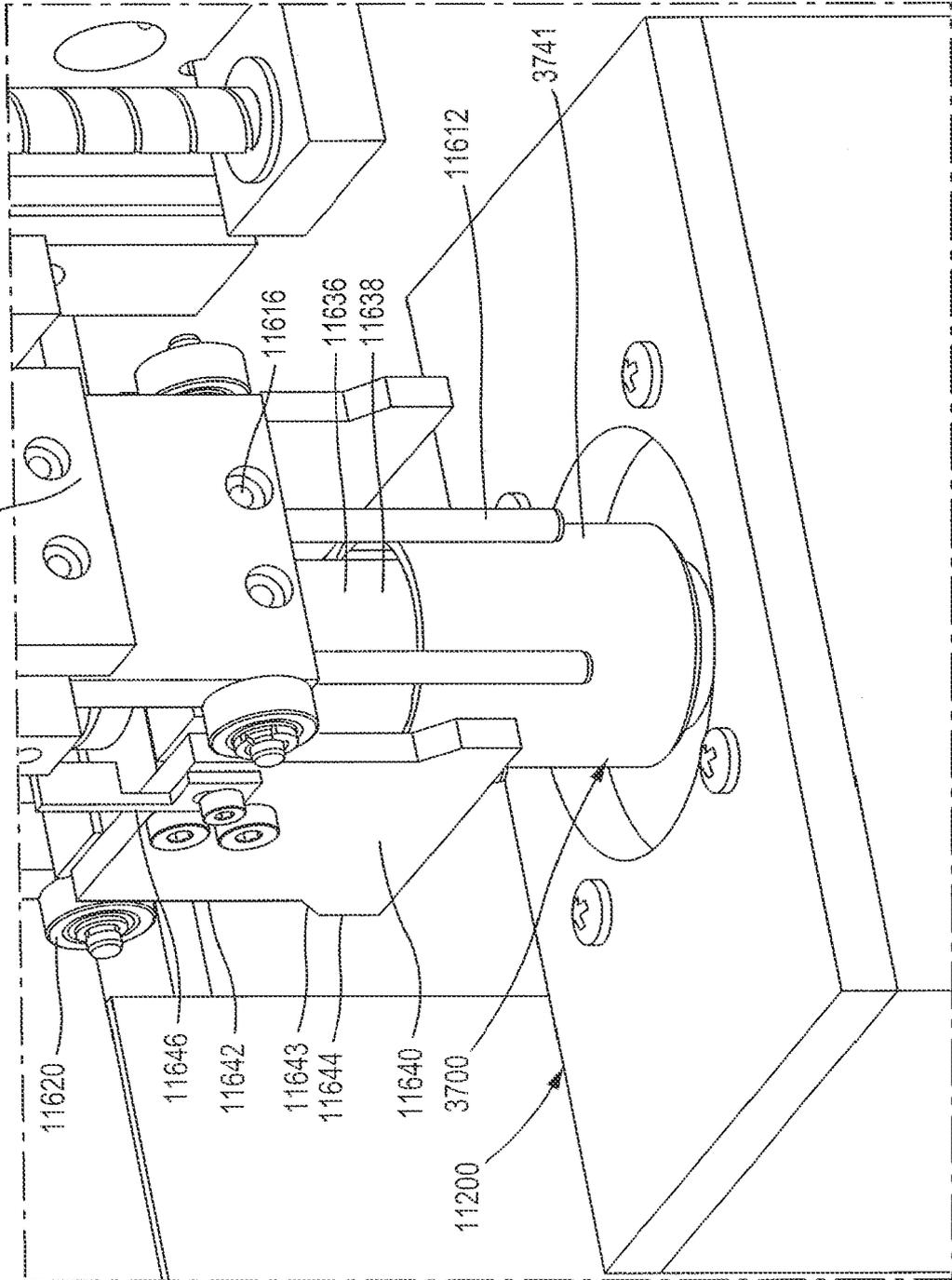


Fig. 84

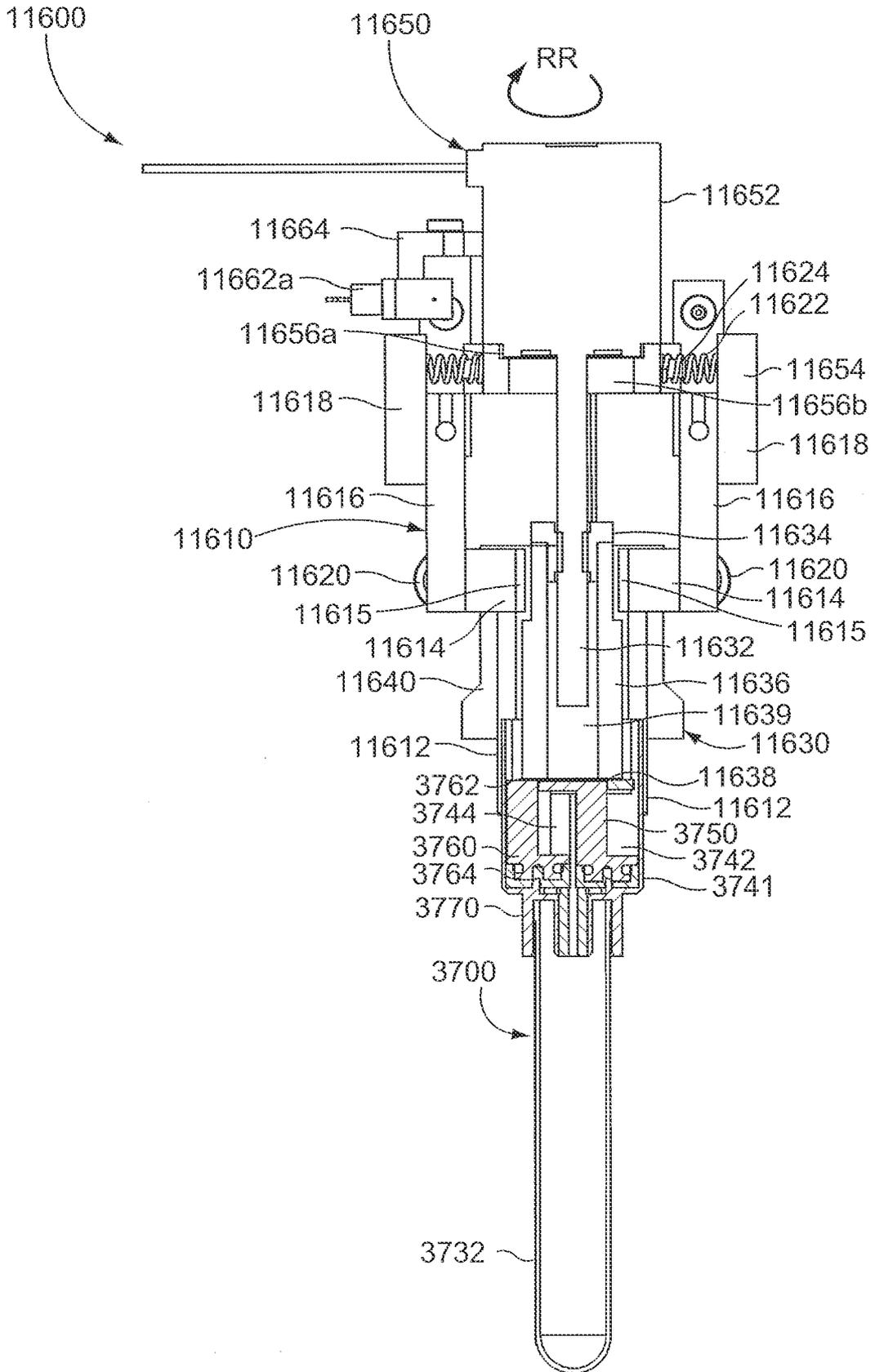


Fig. 85

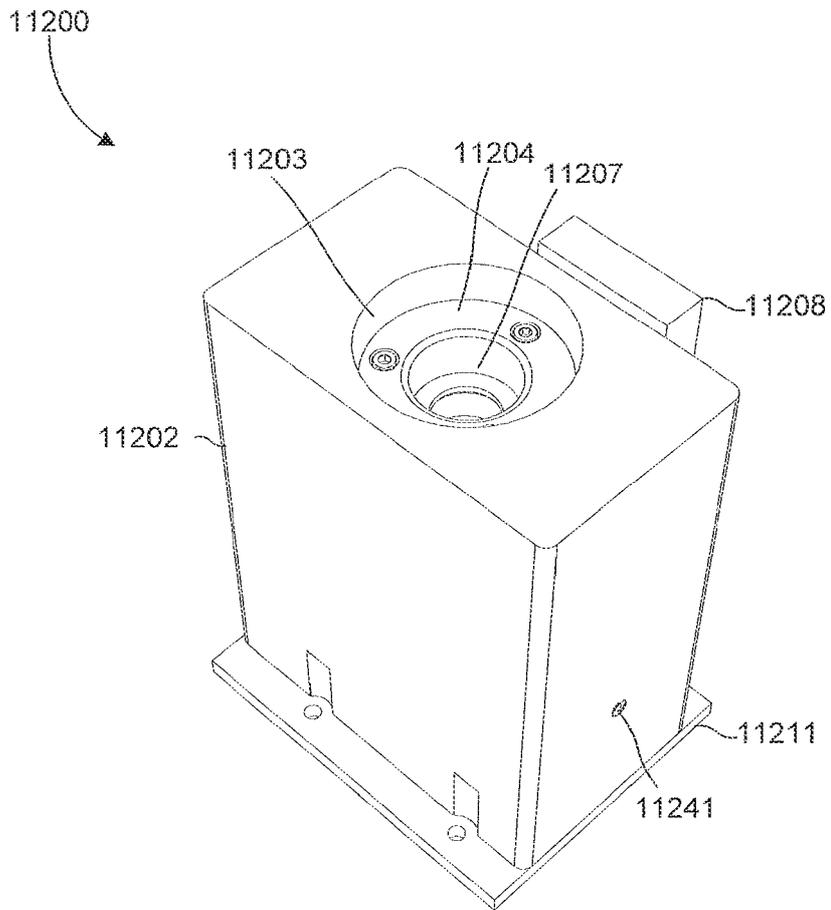


Fig. 86

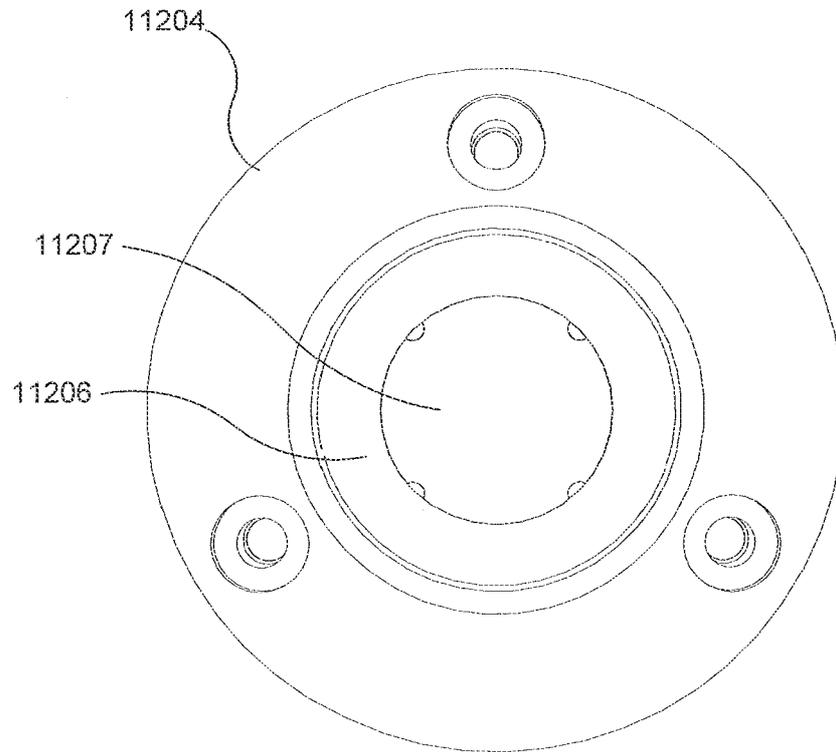


Fig. 87

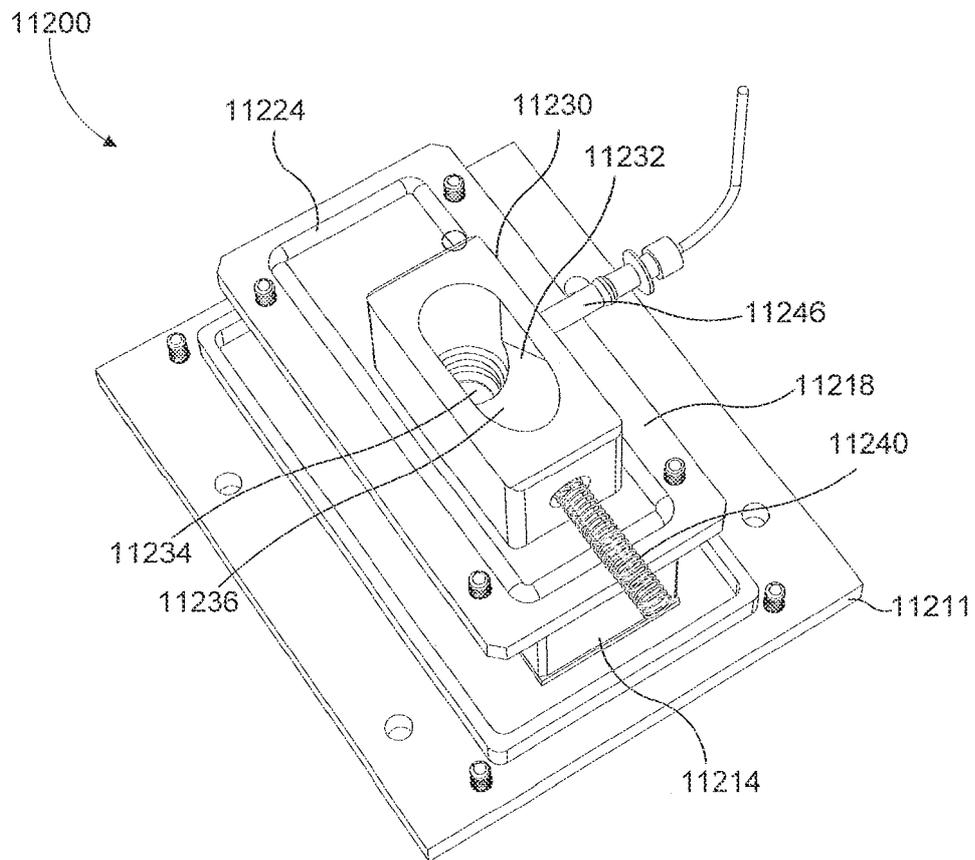


Fig. 88

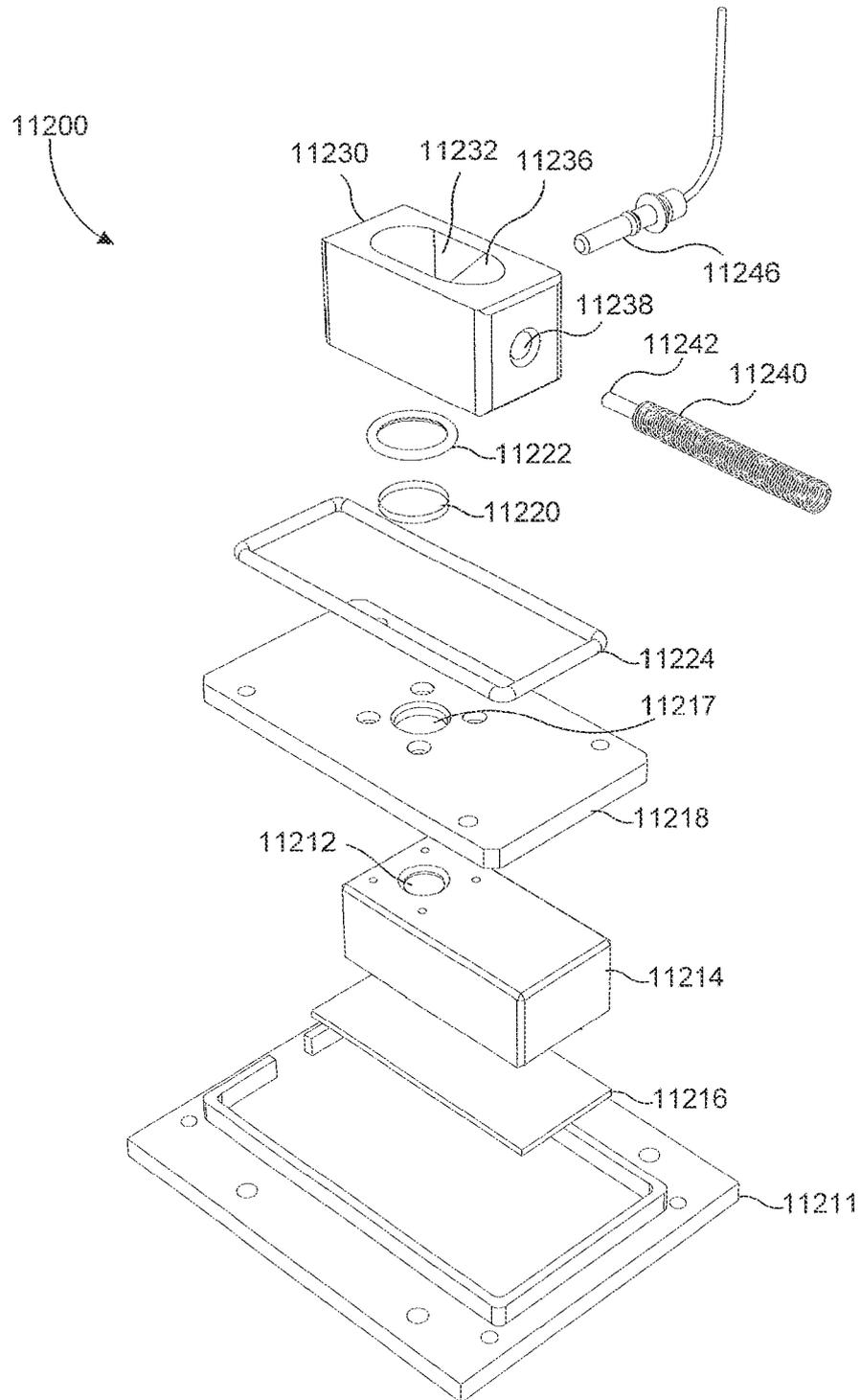


Fig. 89

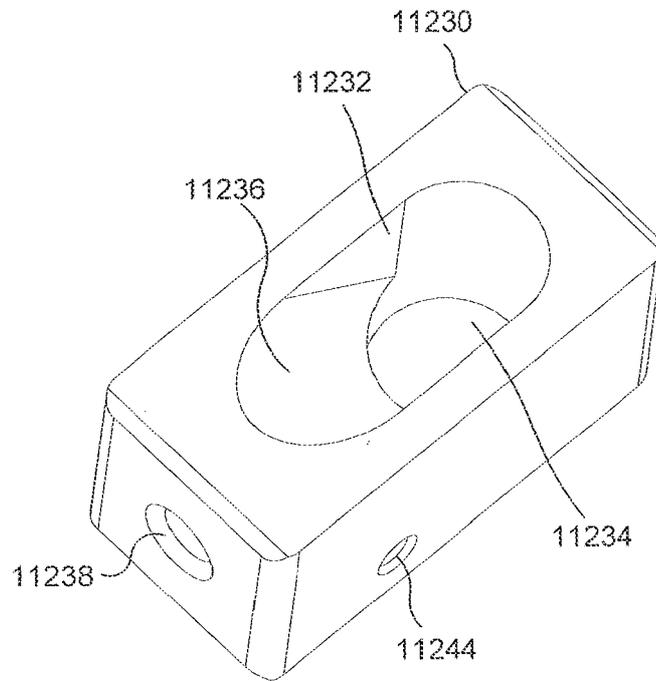


FIG.90

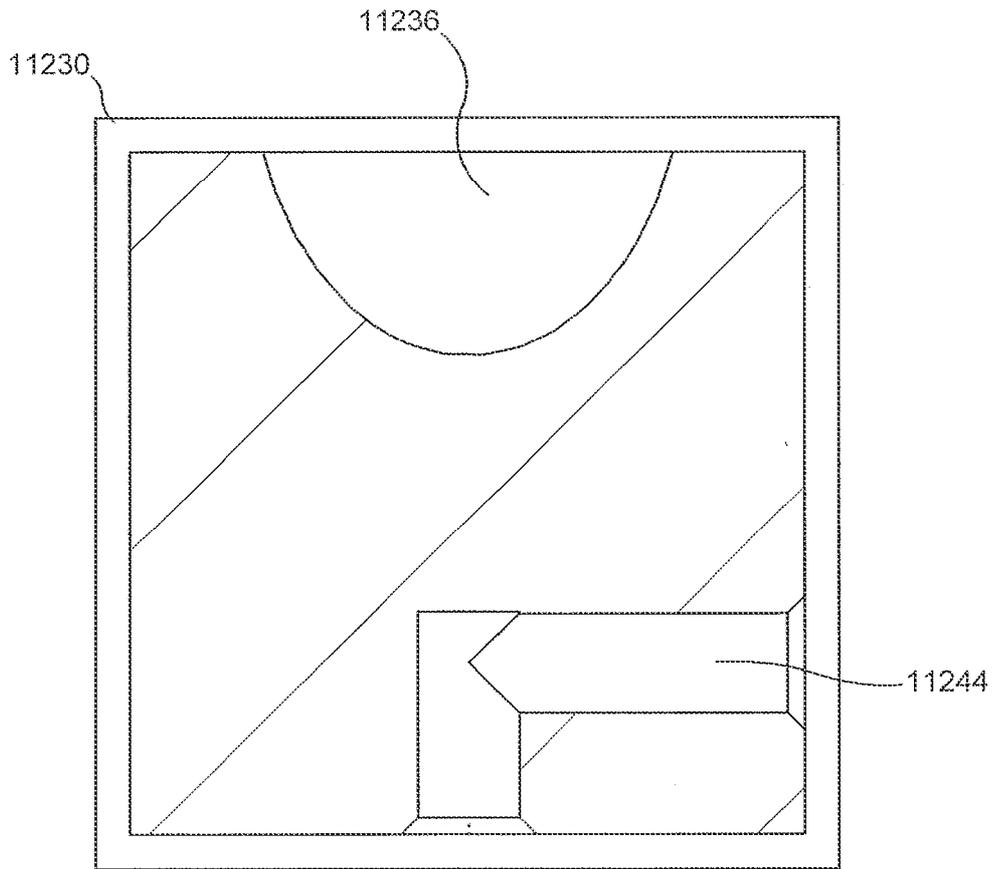


Fig. 91

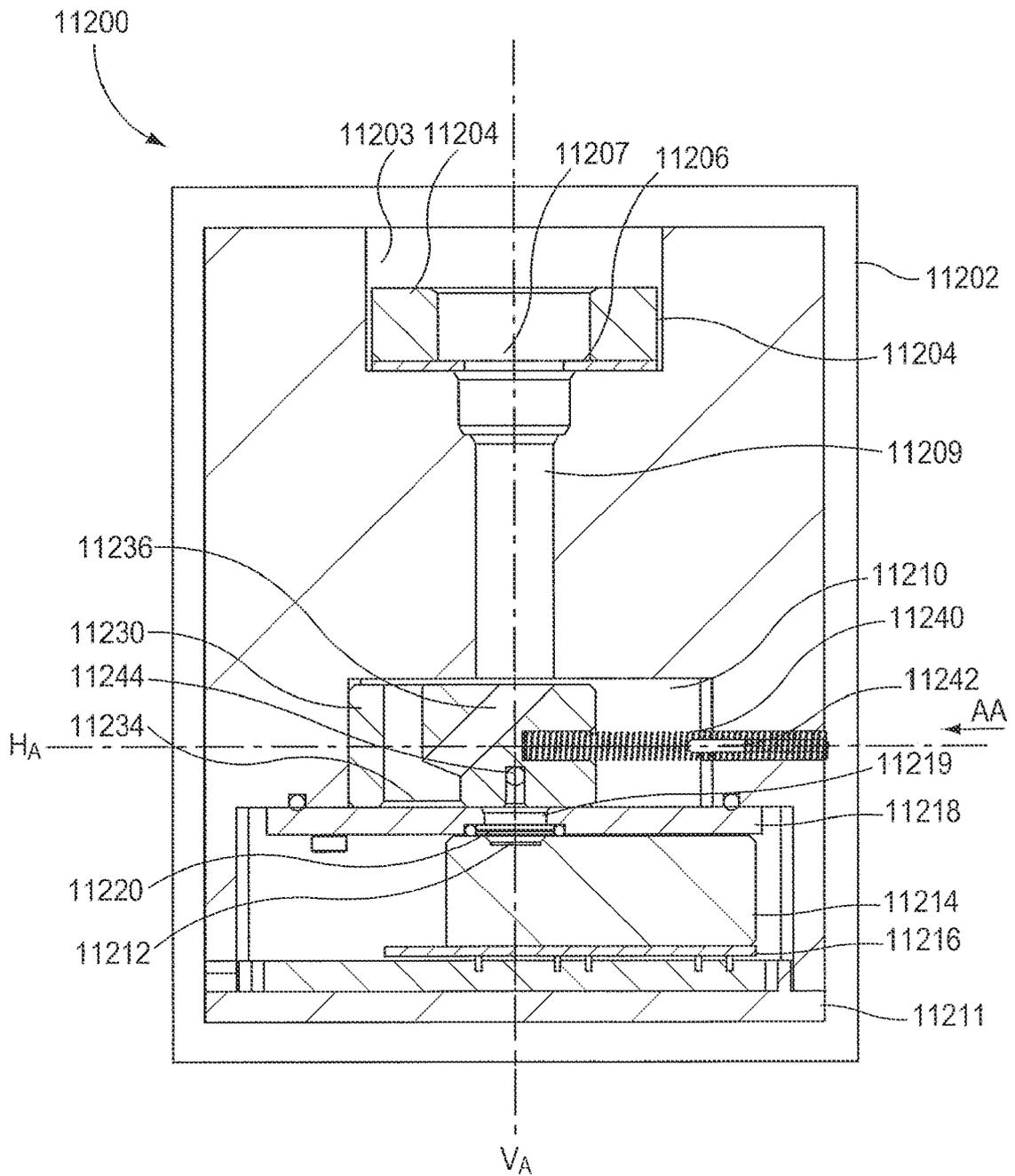


Fig. 92

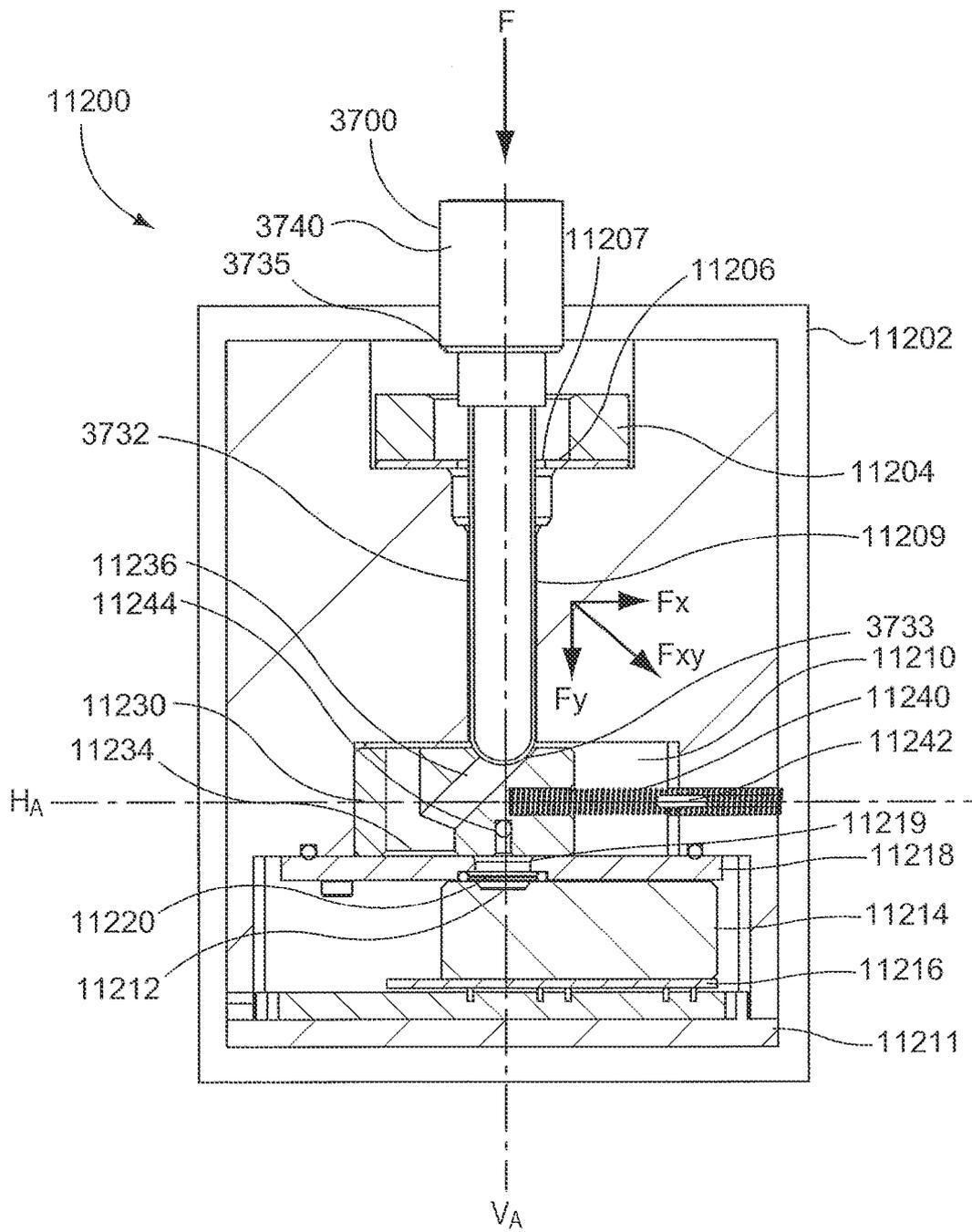


Fig. 93

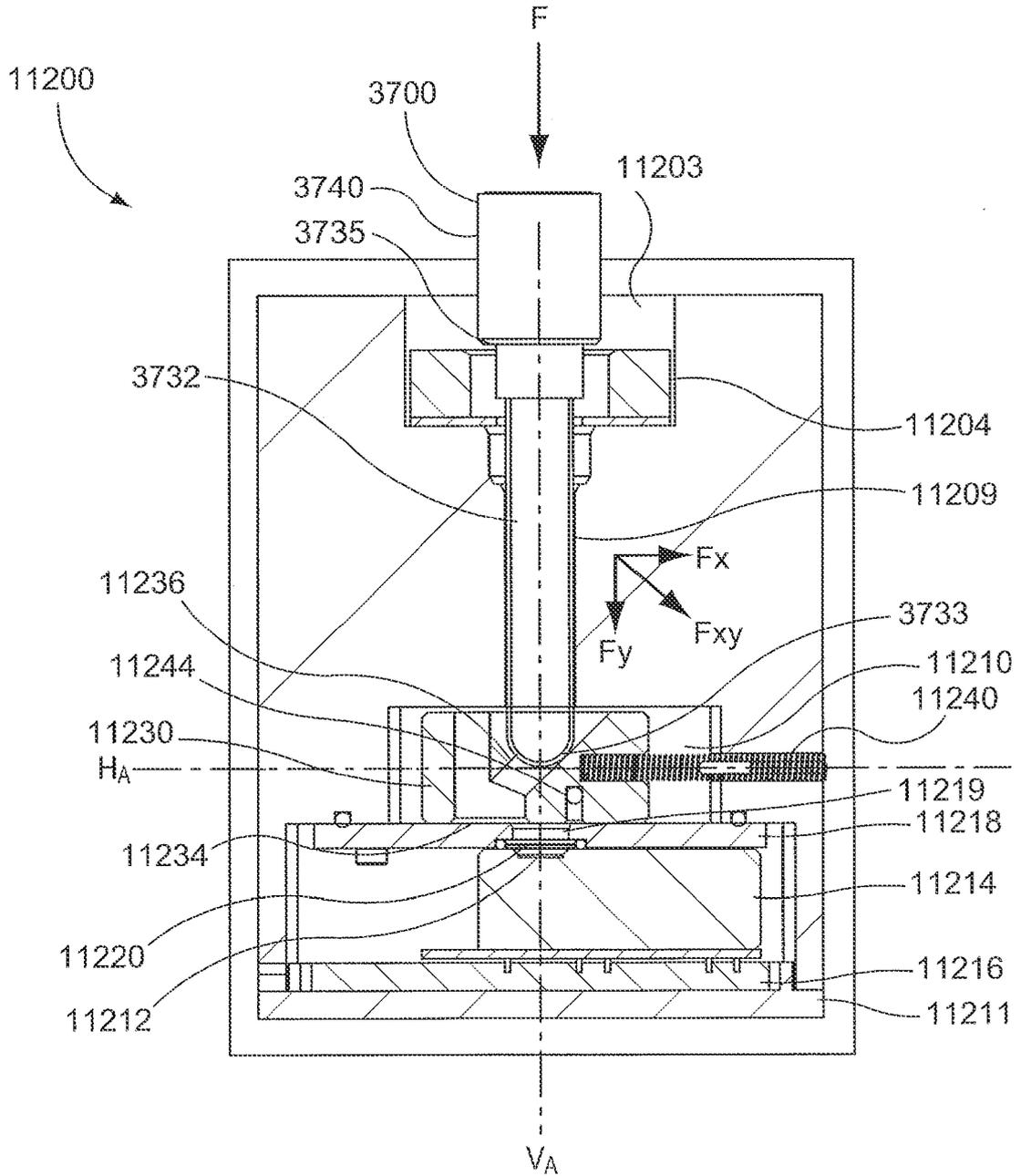


Fig. 94

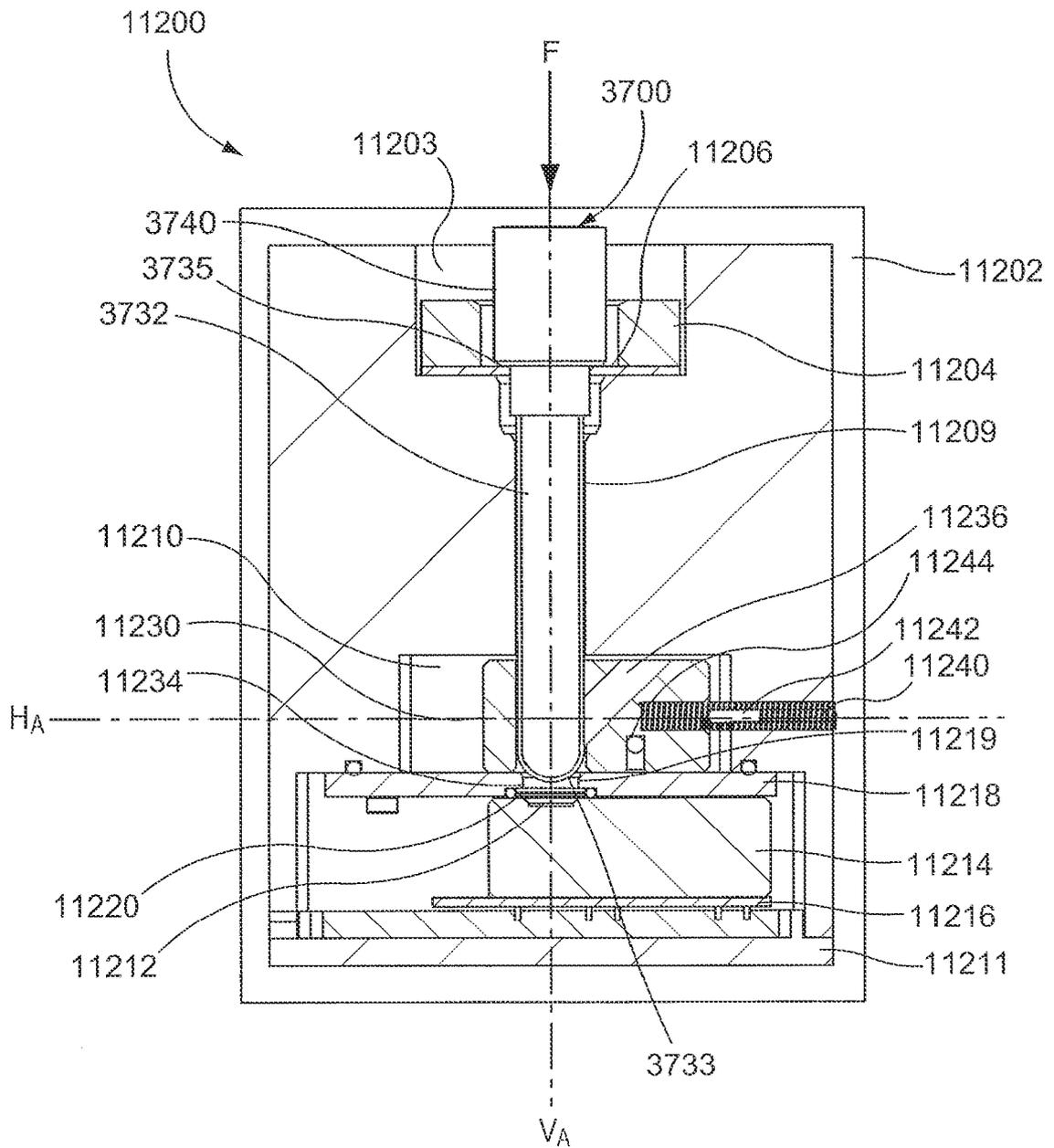


Fig. 95

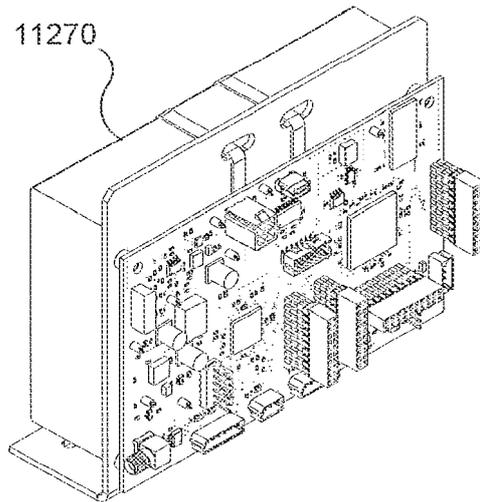


Fig. 96

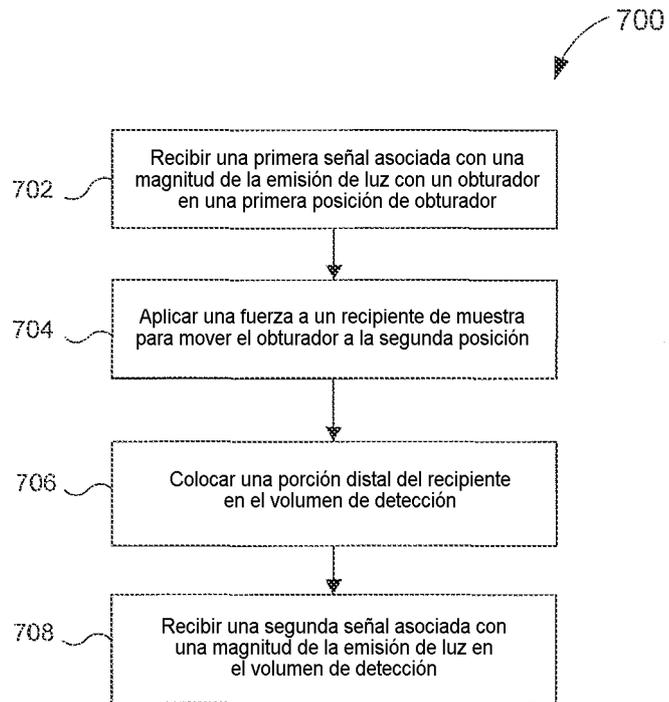


Fig. 97

800

