

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 721 305**

51 Int. Cl.:

**G01N 21/03** (2006.01)

**G01N 21/13** (2006.01)

**B01L 3/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.04.2015 PCT/US2015/027519**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.10.2015 WO15164746**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.04.2015 E 15783819 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.02.2019 EP 3134722**

54 Título: **Cartucho de reactivos**

30 Prioridad:

**24.04.2014 US 201461983765 P**  
**09.02.2015 US 201514617631**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**30.07.2019**

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**DE FOREST, NIKOL;**  
**FREI, WERNER;**  
**REY, DIEGO;**  
**ROY, SHAUNAK;**  
**SHUKLA, SONI;**  
**GRISWOLD, RYAN C.;**  
**OLSON, KENNETH G.;**  
**RICHARDSON, BRUCE J. y**  
**YEE, VICTOR H.**

74 Agente/Representante:

**LINAGE GONZÁLEZ, Rafael**

**ES 2 721 305 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

Cartucho de reactivos

5 **Antecedentes**

Los modos de realización descritos en el presente documento se refieren a sistemas y procedimientos para la detección de células usando partículas de transducción genomanipuladas. Más en particular, los modos de realización descritos en el presente documento también se refieren a un recipiente e instrumento dentro del cual se puede realizar la detección de bacterias en un sistema integrado y cerrado con funcionalidad de lectura diferida.

La detección de bacterias, especialmente cepas resistentes a fármacos, es una etapa crítica para diagnosticar y limitar la propagación de infecciones bacterianas. Por ejemplo, el SARM es una versión resistente a fármacos de la bacteria común *Staphylococcus aureus* de la que es portadora una parte significativa de la población en los EE. UU. La mayoría de las infecciones por SARM se producen en hospitales y pueden tener una alta tasa de mortalidad (las infecciones por SARM causan la muerte de aproximadamente 19.000 personas en los EE. UU. cada año). En consecuencia, existe la necesidad de una identificación eficaz, exacta y rápida de las cepas bacterianas (incluyendo su fenotipo y/o genotipo y otras dianas moleculares) que causan infección, tal como SARM. En particular es importante la capacidad de identificar el fenotipo y/o genotipo bacteriano y otras dianas moleculares de una variedad de diferentes muestras (por ejemplo, muestras humanas, muestras ambientales, muestras de plantas, muestras veterinarias, muestras de alimentos o similares), de manera que se pueda iniciar el régimen de tratamiento y control apropiado de manera oportuna.

Un procedimiento conocido para identificar bacterias incluye el cultivo bacteriano. Un cultivo es altamente sensible, pero a menudo tarda 18 horas o más en producir un resultado y, por lo tanto, no es adecuado para un diagnóstico rápido ni para propósitos de un cribado eficaz. Los procedimientos de cultivo conocidos a menudo se realizan usando sistemas que requieren personal altamente formado para realizar el ensayo y, por lo tanto, no son adecuados para su uso en una variedad de entornos diferentes. Los procedimientos de cultivo conocidos también son propensos a la contaminación, lo que puede dar como resultado falsos positivos y/o identificación errónea de las bacterias. Además, los procedimientos de cultivo conocidos emplean protocolos de cultivo específicamente diseñados para la identificación de diversas especies bacterianas; por tanto, someter a prueba un amplio panel de bacterias puede elevar el coste rápidamente.

La inmunodetección bacteriana directa, es decir, la detección usando una reacción antígeno-anticuerpo, es otro procedimiento para la detección bacteriana. Los procedimientos conocidos de inmunodetección pueden producir resultados más rápidamente y a un coste menor que un cultivo, pero a menudo están limitados por la disponibilidad de anticuerpos selectivos contra la cepa bacteriana de interés y los anticuerpos disponibles son propensos a la reactividad cruzada. Dichos procedimientos conocidos también son menos sensibles que un cultivo, por lo que a menudo existe, no obstante, una necesidad de amplificación bacteriana que puede prolongar el tiempo del ensayo.

Otros procedimientos conocidos para la detección de células bacterianas incluyen el aislamiento y análisis de ácidos nucleicos tales como ADN o ARN. Los procedimientos conocidos para aislar ácidos nucleicos de una muestra a menudo incluyen varias etapas rigurosas de preparación de las muestras que requieren equipos costosos y especializados. En particular, dichas etapas incluyen 1) retirar las proteínas dentro de una muestra que contiene bacterias o células añadiendo una proteasa; 2) descomponer la muestra a granel sobrante para dejar al descubierto los ácidos nucleicos contenidos en la misma (también conocido como lisado 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 procedimientos de análisis conocidos pueden incluir la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la secuenciación génica, la huella génica, la fluorescencia, el inmunoensayo, el inmunoensayo electroquímico, las micromatrices, cualquier otra técnica adecuada o una combinación de los mismos. La PCR ha encontrado un uso comercial generalizado, pero a menudo requiere múltiples etapas que implican reactivos e instrumentos costosos. Muchos procedimientos conocidos que implican la PCR no son adecuados para pruebas experimentales de simulación (por ejemplo, requieren personal relativamente capacitado). Además, los procedimientos de PCR conocidos emplean ciclos térmicos y/o temperaturas elevadas, que pueden aumentar el coste, el tiempo y/o la complejidad del análisis. Además, debido a que las técnicas basadas en la amplificación de ácidos nucleicos no miden la respuesta de una bacteria a un antibiótico, dichas técnicas no son adecuadas para los antibiogramas. Finalmente, debido a que los procedimientos de amplificación de ácidos nucleicos lisan las células de la muestra, dichos procedimientos no pueden distinguir entre células vivas y muertas.

Algunos sistemas y procedimientos conocidos para la identificación de células incluyen el uso de bacteriófagos para identificar y/o detectar determinadas bacterias. En algunos procedimientos conocidos, se pueden usar fagos que están marcados con una molécula indicadora para seleccionar e infectar una cepa bacteriana específica. Después de la infección, los fagos pueden experimentar un ciclo lítico (es decir, romper la pared celular destruyendo las bacterias diana) y/o un ciclo lisógeno (es decir, la replicación del fago junto con las bacterias sin destruir las bacterias), seguido de la detección del fago descendiente amplificado. Dichos procedimientos

conocidos que dependen de la detección de fagos a menudo incluyen etapas limitantes o complejas. Por ejemplo, algunos procedimientos conocidos basados en la detección de fagos para la identificación dependen de la replicación de fagos (durante la cual las bacterias se pueden lisis), y típicamente requieren el cultivo de células para facilitar este proceso. Algunos procedimientos conocidos basados en la detección de fagos requieren la retirada o "desvinculación" de fagos unidos específicamente de las muestras usando reactivos cuidadosamente medidos y/o de pH controlado. Además, algunos procedimientos conocidos basados en la detección de fagos dependen de una medición cuidadosa de la cantidad de fago añadida y/o incluyen la apertura o el cierre de la cámara de reacción para añadir/retirar reactivos, lo que puede dar lugar a contaminación y/o a una mezcla prematura de reactivos que da lugar a resultados erróneos y hace que el ensayo sea de naturaleza compleja.

Algunos sistemas y procedimientos conocidos basados en fagos pueden dar como resultado una administración indeseable y/o desigual de reactivos a un sistema cerrado. Por ejemplo, algunos sistemas y procedimientos conocidos administran reactivos a una muestra para facilitar una reacción que se puede detectar ópticamente. La administración desigual y/o inexacta de dichos reactivos puede dar como resultado una variabilidad indeseable asociada con la detección de luz, lecturas potencialmente falsas o similares. Algunos sistemas conocidos emplean recipientes de reactivos sellados o "envases alveolados" para aislar los reactivos y la muestra hasta que se desee la administración de los reactivos. Para facilitar la administración de reactivos desde un envase alveolado, algunos sistemas conocidos incluyen mecanismos, tales como rodillos, para expulsar el reactivo (véase, por ejemplo, el documento WO2005/085855, figura 31). Otros sistemas conocidos incluyen múltiples perforadores para facilitar la rotura de un envase alveolado (véase, por ejemplo, el documento WO2007/115378, figura 16). Sin embargo, un "volumen muerto" excesivo (el volumen dentro de un envase alveolado después del accionamiento que puede contener el reactivo) puede dar como resultado tiempos y/o cantidades de administración desiguales. Además, los mecanismos de administración de sistemas conocidos pueden producir efectos no deseados cuando se administra el reactivo (por ejemplo, salpicadura excesiva o mezcla incompleta). El documento US 2004/170533 divulga una jeringa que comprende, empaquetadas en el interior de un cilindro, tres cápsulas que comprenden cada una un reactivo. En el presente documento, una aguja se instala en el interior de un adaptador en un extremo del cilindro, mientras que un émbolo se inserta en la abertura del cilindro en el otro extremo. Al empujar el émbolo, cada una de las cápsulas se mueve hacia la aguja y esta las penetra para liberar los reactivos del adaptador para que reaccionen con la muestra. Sin embargo, el documento US 2004/170533 no divulga que el perforador y la carcasa estén contruidos monolíticamente. Por tanto, muchos sistemas conocidos no admiten la administración de reactivos asociados con una reacción de luminiscencia instantánea.

Además de los inconvenientes descritos anteriormente con respecto al uso de procedimientos basados en fagos, los procedimientos conocidos no emplean automatización ni instrumentos para permitir un sistema de identificación de bacteriófagos "con lectura diferida". Por ejemplo, muchos sistemas conocidos no admiten el manejo y/o la medición en un sistema cerrado de una señal que se produce por determinadas moléculas indicadoras, tal como, por ejemplo, una reacción de luminiscencia instantánea. Por tanto, los sistemas y procedimientos conocidos requieren personal capacitado y un manejo personal de las muestras, lo que puede aumentar la posibilidad de falsos positivos o negativos.

Por tanto, existe la necesidad de aparatos y procedimientos mejorados para la detección e identificación rápidas, rentables y fáciles de especies bacterianas en muestras clínicas. En particular, existe la necesidad de estructuras de rotura mejoradas y vías de administración dentro de dichos sistemas. Además, existe la necesidad de aparatos y procedimientos mejorados para el almacenamiento y la transferencia eficaces de muestras clínicas desde un punto de recogida a un lugar de prueba.

### **Sumario**

En el presente documento se describen sistemas y procedimientos para detectar y/o identificar células diana (por ejemplo, bacterias) que usan vectores genomanipulados (incluyendo vectores víricos) y/o partículas de transducción. En algunos modos de realización, un aparato incluye una carcasa y un accionador. La carcasa, que define un volumen de reactivos que puede recibir un recipiente de reactivos, se puede acoplar de manera extraíble a una cámara de reacción. La carcasa incluye un perforador que define una vía de transferencia en comunicación fluida con el volumen de reactivos. Una parte de administración de la carcasa define una vía de administración entre la vía de transferencia y la cámara de reacción cuando la carcasa está acoplada a la cámara de reacción. El accionador tiene una parte de émbolo dispuesta dentro del volumen de reactivos. Se puede manipular una parte de acoplamiento del accionador para mover la parte de émbolo dentro del volumen de reactivos para deformar el recipiente de reactivos. El perforador puede perforar una parte frangible del recipiente de reactivos para transportar un reactivo desde el recipiente de reactivos a la cámara de reacción por medio de la vía de transferencia y/o la vía de administración. El perforador y la carcasa están contruidos monolíticamente.

### **Breve descripción de los dibujos**

Las FIGS. 1-3 son ilustraciones esquemáticas de un conjunto de recipiente de acuerdo con un modo de realización, en una primera configuración, una segunda configuración y una tercera configuración, respectivamente.

La FIG. 4 es una vista en sección transversal de una parte del conjunto de recipiente mostrado en las FIGS. 1-3 tomada a lo largo de la línea X-X en la FIG. 1.

La FIG. 5 es una ilustración esquemática de un conjunto de recipiente de acuerdo con un modo de realización.

Las FIGS. 6 y 7 son ilustraciones esquemáticas de un conjunto de recipiente de acuerdo con un modo de realización, en una primera configuración y una segunda configuración, respectivamente.

La FIG. 8 es una vista desde arriba de una parte del conjunto de recipiente mostrado en las FIGS. 6 y 7.

La FIG. 9 es una ilustración esquemática de una parte del conjunto de recipiente mostrado en las FIGS. 6 y 7 al deformarse en respuesta a una fuerza aplicada.

Las FIGS. 10 y 11 muestran una vista en perspectiva y una vista en despiece, respectivamente, de un conjunto de recipiente 4700, de acuerdo con un modo de realización.

La FIG. 12 es una vista en perspectiva desde arriba de una carcasa del conjunto de recipiente mostrado en las FIGS. 10 y 11.

La FIG. 13 es una vista en sección transversal de la carcasa del conjunto de recipiente mostrado en las FIGS. 10 y 11.

La FIG. 14 es una vista ampliada de la parte de la carcasa identificada como región Z en la FIG. 13.

La FIG. 15 es una vista en sección transversal de un recipiente de reactivos del conjunto de recipiente mostrado en las FIGS. 10 y 11.

La FIG. 16 es una vista en sección transversal de un accionador del conjunto de recipiente mostrado en las FIGS. 10 y 11.

Las FIGS. 17 y 18 son vistas en sección transversal del conjunto de recipiente mostrado en las FIGS. 10 y 11 en una primera configuración y una segunda configuración, respectivamente.

La FIG. 19 es una vista ampliada de la parte del conjunto de recipiente identificada como región Z en la FIG. 18.

La FIG. 20 es un kit, de acuerdo con un modo de realización, que incluye el conjunto de recipiente mostrado en las FIGS. 10 y 11.

La FIG. 21 es un diagrama de flujo esquemático de un procedimiento de acuerdo con un modo de realización.

La FIG. 22 es un diagrama de flujo de un procedimiento de acuerdo con un modo de realización.

La FIG. 23 es un diagrama de flujo de un procedimiento de acuerdo con un modo de realización.

La FIG. 24 es una vista en sección transversal de un conjunto de carcasa de acuerdo con un modo de realización.

Las FIGS. 25A-25C son una vista lateral, una vista frontal y una vista inferior, respectivamente, de un conjunto de carcasa de acuerdo con un modo de realización.

Las FIGS. 26 y 27 son vistas frontales de un conjunto de carcasa de acuerdo con un modo de realización.

La FIG. 28 es una ilustración esquemática de un procedimiento de prueba, y los resultados de la prueba de una comparación de hisopos enrollados de rayón frente a hisopos de espuma de nailon.

La FIG. 29 es una ilustración esquemática de un procedimiento de prueba que compara hisopos enrollados, hisopos flocados y espuma.

Las FIGS. 30A y 30B son gráficos de barras que muestran los resultados de la prueba identificada en la FIG. 29.

La FIG. 31 es un gráfico de barras de los resultados de una prueba que compara diversas velocidades de inyección diferentes de un sustrato.

### **Descripción detallada**

En el presente documento se describen sistemas y procedimientos para detectar y/o identificar células diana (por ejemplo, bacterias) que usan vectores genomanipulados (incluyendo vectores víricos) y/o partículas de

transducción. En algunos modos de realización, un aparato incluye una carcasa y un accionador. La carcasa, que define un volumen de reactivos que puede recibir un recipiente de reactivos, se puede acoplar de manera extraíble a una cámara de reacción (por ejemplo, que puede contener una muestra que incluye una célula diana). El recipiente de reactivos se puede disponer dentro del volumen de reactivos y puede contener cualquier reactivo o sustancia adecuada. Por ejemplo, el recipiente de reactivos puede contener una o más partículas de transducción, un reactivo formulado para reaccionar con una o más moléculas indicadoras en una muestra para potenciar la producción de una señal o intensificar de otro modo la señal u otros componentes del ensayo, tridecanal, un nutriente, un antibiótico, un reactivo de lisis, un reactivo de esterilización y/o similares. La carcasa incluye un perforador que define una vía de transferencia en comunicación fluida con el volumen de reactivos. Una parte de administración de la carcasa define una vía de administración entre la vía de transferencia y la cámara de reacción cuando la carcasa está acoplada a la cámara de reacción. En algunos modos de realización, al menos una parte de la vía de administración puede rodear al menos parcialmente el perforador. El accionador tiene una parte de émbolo dispuesta dentro del volumen de reactivos. Se puede manipular una parte de acoplamiento del accionador para mover la parte de émbolo dentro del volumen de reactivos para deformar el recipiente de reactivos. El perforador puede perforar la parte frangible del recipiente de reactivos para transportar un reactivo desde el recipiente de reactivos a la cámara de reacción por medio de la vía de transferencia y/o la vía de administración.

En algunos modos de realización, un aparato incluye una carcasa, un recipiente de reactivos, un accionador y un miembro de bloqueo. La carcasa se puede acoplar de manera extraíble a una cámara de reacción (por ejemplo, que puede contener una célula diana). La carcasa define un volumen de reactivos e incluye una parte de administración que define una vía de administración. La vía de administración coloca el volumen de reactivos en comunicación fluida con la cámara de reacción cuando la carcasa está acoplada a la cámara de reacción. La parte de administración tiene un perforador en comunicación fluida con la vía de administración. El recipiente de reactivos está dispuesto dentro del volumen de reactivos de la carcasa y puede contener cualquier reactivo o sustancia adecuada. Por ejemplo, el recipiente de reactivos puede contener una o más partículas de transducción, un reactivo formulado para reaccionar con una o más moléculas indicadoras en una muestra para potenciar la producción de una señal o intensificar de otro modo la señal u otros componentes del ensayo, tridecanal, un nutriente, un antibiótico, un reactivo de lisis, un reactivo de esterilización y/o similares. El recipiente de reactivos tiene una parte frangible y un faldón que rodea la parte frangible. El accionador incluye una parte de émbolo dispuesta dentro del volumen de reactivos. El accionador se puede manipular para mover la parte de émbolo dentro del volumen de reactivos para deformar el recipiente de reactivos de una primera configuración a una segunda configuración. El perforador está configurado para perforar la parte frangible del recipiente de reactivos para transportar un reactivo desde el recipiente de reactivos a la cámara de reacción por medio de la vía de administración cuando el recipiente de reactivos está en la segunda configuración. El miembro de bloqueo puede mantener el faldón en contacto con un hombro de la parte de administración de la carcasa cuando el recipiente de reactivos está en la segunda configuración para mantener un cierre sustancialmente estanco a fluidos entre el faldón y el hombro.

En algunos modos de realización, un aparato incluye una carcasa, un recipiente de reactivos y un accionador. La carcasa se puede acoplar de manera extraíble a una cámara de reacción (por ejemplo, que puede contener una célula diana). La carcasa incluye una parte de administración que define una vía de administración e incluye un perforador en comunicación fluida con la vía de administración. La vía de administración coloca el volumen de reactivos en comunicación fluida con la cámara de reacción cuando la carcasa está acoplada a la cámara de reacción. El recipiente de reactivos está dispuesto dentro del volumen de reactivos de la carcasa y puede contener cualquier reactivo o sustancia adecuada. Por ejemplo, el recipiente de reactivos puede contener una o más partículas de transducción, un reactivo formulado para reaccionar con una o más moléculas indicadoras en una muestra para potenciar la producción de una señal o intensificar de otro modo la señal u otros componentes del ensayo, tridecanal, un nutriente, un antibiótico, un reactivo de lisis, un reactivo de esterilización y/o similares. El recipiente de reactivos incluye una parte de contacto, una parte frangible y un faldón que rodea la parte frangible. El accionador tiene una parte de émbolo dispuesta dentro del volumen de reactivos. La parte de émbolo puede corresponder a una o más de la parte de contacto del recipiente de reactivos o el perforador. El accionador se puede manipular para mover la parte de émbolo dentro del volumen de reactivos de modo que la parte de émbolo se acople a la parte de contacto del recipiente de reactivos para deformar el recipiente de reactivos desde una primera configuración a una segunda configuración. El perforador está configurado para perforar la parte frangible del recipiente de reactivos para transportar un reactivo desde el recipiente de reactivos a la cámara de reacción por medio de la vía de administración cuando el recipiente de reactivos está en la segunda configuración.

En algunos modos de realización, un procedimiento incluye disponer una muestra en una cámara de reacción. La cámara de reacción está empaquetada para contener un reactivo (por ejemplo, una composición líquida o seca, tal como un comprimido) formulado para mezclarse con la muestra para formar un medio de ensayo. Una o más partículas de transducción asociadas con un fenotipo celular se mezclan con la muestra en la cámara de reacción. Las una o más partículas de transducción están genomanipuladas para incluir una molécula de ácido nucleico formulada para provocar que el fenotipo celular produzca una o más moléculas indicadoras. El reactivo está formulado para inhibir la producción de las una o más moléculas indicadoras en una parte del fenotipo celular. El reactivo puede incluir cualquier sustancia adecuada. Por ejemplo, el reactivo puede incluir un antibiótico y/o un colorante. Se recibe una primera señal asociada con el reactivo. La primera señal se puede asociar con cualquier

característica adecuada del reactivo, tal como un color del reactivo, y, por lo tanto, se puede usar para indicar y/o confirmar la presencia del reactivo. La muestra y las una o más partículas de transducción se mantienen cuando la primera señal indica la presencia del reactivo para expresar las una o más moléculas indicadoras cuando el fenotipo celular está presente en la muestra. Se recibe una segunda señal asociada con una cantidad de las una o más moléculas indicadoras. En algunos modos de realización, una sustancia formulada para reaccionar con las una o más moléculas indicadoras se puede disponer en la muestra para generar o potenciar la segunda señal.

En algunos modos de realización, un procedimiento incluye recibir un recipiente que contiene un hisopo y un medio de transporte. El hisopo incluye un eje y una parte de recogida construida a partir de material no enrollado. El medio de transporte incluye una muestra liberada de la parte de recogida. La parte de recogida se puede construir a partir de y/o incluye cualquier material adecuado de construcción no enrollado. Por ejemplo, la parte de recogida se puede construir a partir de y/o incluir un material de espuma. El medio de transporte y la muestra se transfieren a una cámara de reacción. El medio de transporte se mezcla en la cámara de reacción con una o más partículas de transducción asociadas con una célula diana. Las una o más partículas de transducción están genomanipuladas para incluir una molécula de ácido nucleico formulada para provocar que la célula diana produzca una o más moléculas indicadoras. Las una o más moléculas indicadoras pueden incluir cualquier sustancia adecuada. Por ejemplo, las una o más moléculas indicadoras pueden incluir una luciferasa bacteriana, una luciferasa eucariota, una proteína fluorescente, una enzima adecuada para detección colorimétrica, una proteína adecuada para inmunodetección, un péptido adecuado para inmunodetección y/o un ácido nucleico que funciona como un aptámero o que presenta actividad enzimática. La mezcla del medio de transporte y las una o más partículas de transducción se mantiene a una temperatura de al menos 20 grados Celsius durante un período de aproximadamente ocho horas o menos para expresar las una o más moléculas indicadoras cuando la célula diana está presente en la muestra. Se puede recibir una señal asociada con una cantidad de las una o más moléculas indicadoras.

En otros modos de realización, la parte de recogida se puede añadir a o disponer directamente dentro de la cámara de reacción. En dichos modos de realización, la parte de recogida puede permanecer en la cámara de reacción durante todo el ensayo o se puede retirar de la cámara de reacción después de que la muestra en la parte de recogida se libere a la cámara de reacción.

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

Como se describe en el presente documento, el término "plásmido" significa el gen, secuencia y/o molécula genomanipulados contenidos dentro del vector que incluye elementos reguladores, secuencias de ácidos nucleicos homólogas a los genes diana y diversas construcciones indicadoras para provocar la expresión de moléculas indicadoras dentro de una célula viable y/o cuando una molécula intracelular está presente dentro de una célula diana.

Una "partícula de transducción" se refiere a un virus que puede administrar una molécula de ácido nucleico no vírico a una célula. El virus puede ser un bacteriófago, un adenovirus, etc. Una "partícula de transducción no replicativa" se refiere a un virus que puede administrar una molécula de ácido nucleico no vírico a una célula, pero no empaqueta su propio genoma vírico replicado en la partícula de transducción. El virus puede ser un bacteriófago, un adenovirus, etc.

Como se usa en el presente documento, "molécula de ácido nucleico indicadora" se refiere a una secuencia de nucleótidos que comprende una molécula de ADN o ARN. La molécula de ácido nucleico indicadora puede ser natural o una molécula artificial o sintética. En algunos modos de realización, la molécula de ácido nucleico indicadora es exógena a una célula huésped y se puede introducir en una célula huésped como parte de una molécula de ácido nucleico exógena, tal como un plásmido o vector. En determinados modos de realización, la molécula de ácido nucleico indicadora puede ser complementaria de un gen diana en una célula. En otros modos de realización, la molécula de ácido nucleico indicadora comprende un gen indicador que codifica una molécula indicadora (por ejemplo, enzima indicadora, proteína). En algunos modos de realización, la molécula de ácido nucleico indicadora se denomina "construcción indicadora" o "construcción indicadora de ácido nucleico".

Como se usa en el presente documento, una "molécula indicadora" o "indicador" se refiere a una molécula (por ejemplo, ácido nucleico o proteína) que confiere a un organismo un fenotipo detectable o seleccionable. El fenotipo detectable puede ser colorimétrico, fluorescente o luminiscente, por ejemplo. Las moléculas indicadoras se pueden expresar a partir de genes indicadores que codifican enzimas que median reacciones de luminiscencia (luxA, luxB, luxAB, luc, rue, nLuc), genes que codifican enzimas que median reacciones colorimétricas (lacZ, HRP), genes que codifican proteínas fluorescentes (GFP, eGFP, YFP, RFP, CFP, BFP, mCherry, proteínas fluorescentes en el infrarrojo cercano), moléculas de ácido nucleico que codifican péptidos de afinidad (marca His, 3X-FLAG) y genes que codifican marcadores seleccionables (amp<sup>r</sup>, tet(M), CAT, erm). La molécula indicadora se puede usar como un marcador para la captación exitosa de una molécula de ácido nucleico o secuencia exógena (plásmido) a una célula. La molécula indicadora también se puede usar para indicar la presencia de un gen diana, una molécula de ácido nucleico diana, una molécula intracelular diana o una célula, como se describe en el presente documento.

De forma alternativa, la molécula indicadora puede ser la molécula de ácido nucleico indicadora por sí misma, tal como un aptámero o una ribozima.

En algunos modos de realización, la molécula de ácido nucleico indicadora está enlazada de forma funcional a un promotor. En otros aspectos, el promotor se puede elegir o diseñar para contribuir a la reactividad y reactividad cruzada del sistema indicador basándose en la actividad del promotor en células específicas (por ejemplo, especies específicas) y no en otras. En determinados aspectos, la molécula de ácido nucleico indicadora comprende un origen de replicación. En otros aspectos, la elección del origen de replicación puede contribuir de forma similar a la reactividad y reactividad cruzada del sistema indicador, cuando la replicación de la molécula de ácido nucleico indicadora dentro de la célula diana contribuye a o es necesaria para la producción de señales indicadoras basada en la actividad del origen de replicación en células específicas (por ejemplo, especies específicas) y no en otras. En algunos modos de realización, la molécula de ácido nucleico indicadora forma un replicón que se puede empaquetar como ADN concatámero en un virus descendiente durante la replicación del virus.

Como se usa en el presente documento, las formas singulares "un", "una" y "el/la" incluyen referentes al plural a menos que el contexto lo indique claramente de otro modo. Por tanto, por ejemplo, se pretende que el término "un miembro" signifique un único miembro o una combinación de miembros, se pretende que "un material" signifique uno o más materiales, o una combinación de los mismos.

Como se usa en el presente documento, se pretende que un término que se refiere a múltiples componentes o partes de los mismos se refiera a un primer componente o una primera parte del mismo, y/o un segundo componente o una segunda parte del mismo, a menos que el contexto lo indique claramente de otro modo. Por tanto, por ejemplo, se pretende que el término "perforadores" se refiera a un "primer perforador" y/o un "segundo perforador".

Como se usa en el presente documento, el término "aproximadamente" significa, en general, más o menos un 10 % del valor expresado. Por ejemplo, aproximadamente 0,5 incluiría 0,45 y 0,55, aproximadamente 10 incluiría de 9 a 11, aproximadamente 1000 incluiría de 900 a 1100.

Se entiende que el término "estanco a fluidos" engloba tanto un cierre hermético (es decir, un cierre que es impermeable a los gases) como un cierre que es impermeable a los líquidos. Con el término "sustancialmente" cuando se usa en relación con "estanco a fluidos", "impermeable a gases" y/o "impermeable a líquidos" se pretende transmitir que, si bien es deseable la impermeabilidad total a los fluidos, se pueden producir algunas fugas mínimas debido a a tolerancias de fabricación, u otras consideraciones prácticas (tal como, por ejemplo, la presión aplicada al cierre y/o dentro del fluido), incluso en un cierre "sustancialmente estanco a fluidos". Por tanto, un cierre "sustancialmente estanco a fluidos" incluye un cierre que evita el paso de un fluido (incluyendo gases, líquidos y/o suspensiones) a través del mismo cuando el cierre se mantiene en una posición constante y a presiones de fluido de menos de aproximadamente 5 psig, menos de aproximadamente 10 psig, menos de aproximadamente 20 psig, menos de aproximadamente 30 psig, menos de aproximadamente 50 psig, menos de aproximadamente 75 psig, menos de aproximadamente 100 psig y todos los valores intermedios. De forma similar, un cierre "sustancialmente estanco a líquidos" incluye un cierre que evita el paso de un líquido (por ejemplo, un medicamento líquido) a través del mismo cuando el cierre se mantiene en una posición constante y está expuesto a presiones de líquidos de menos de aproximadamente 5 psig, menos de aproximadamente 10 psig, menos de aproximadamente 20 psig, menos de aproximadamente 30 psig, menos de aproximadamente 50 psig, menos de aproximadamente 75 psig, menos de aproximadamente 100 psig y todos los valores intermedios.

Las FIGS. 1-3 muestran un conjunto de recipiente 1700 de acuerdo con un modo realización en una primera configuración (FIG. 1), una segunda configuración (FIG. 2) y una tercera configuración (FIG. 3). El conjunto de recipiente 1700 se puede usar y manipular por cualquiera de los instrumentos y/o cualquiera de los componentes descritos en el presente documento y en la solicitud de patente de EE. UU. n.º 13/802.461, titulada "Systems and Methods for Detection of Cells using Engineered Transduction Particles", ("la solicitud '461"). De esta manera, el conjunto de recipiente 1700 y cualquiera de los conjuntos de recipiente descritos en el presente documento se pueden usar para detectar y/o identificar células diana (por ejemplo, bacterias) dentro de una muestra de acuerdo con cualquiera de los procedimientos descritos en el presente documento o en la solicitud '461. Por ejemplo, en algunos modos de realización, el conjunto de recipiente 1700 se puede usar para disponer y/o mezclar un reactivo en una muestra mientras se mantiene el aislamiento fluido entre el recipiente y una región exterior. De esta manera, el procedimiento de identificación de células se puede realizar en un sistema cerrado y/o un ensayo homogéneo. Expresado de forma similar, en algunos modos de realización, el conjunto de recipiente 1700 se usa en procedimientos de identificación y/o detección de células que no implican la retirada de contenido del conjunto de recipiente 1700, la separación del contenido dentro del conjunto de recipiente 1700, el lavado del contenido dentro del conjunto de recipiente 1700 y/o el enjuague del contenido dentro del conjunto de recipiente 1700.

El conjunto de recipiente 1700 incluye una carcasa 1741, un accionador 1750 y una cámara de reacción 1732. La carcasa 1741 está acoplada de manera extraíble a la cámara de reacción 1732. Por ejemplo, en algunos modos de realización, la carcasa 1741 se puede acoplar de manera roscada a la cámara de reacción 1732. En otros

modos de realización, la carcasa 1741 y la cámara de reacción 1732 pueden formar un ajuste con apriete para acoplar la carcasa 1741 a la cámara de reacción 1732. La carcasa 1741 define un volumen de reactivos 1742 configurado para recibir un recipiente de reactivos 1780. La carcasa 1741 incluye un perforador 1792 y una parte de administración 1770. La carcasa 1741 y el perforador 1792 están contruidos monolíticamente. También se divulga que la carcasa 1741, la parte de administración 1770 y/o el perforador 1792 se pueden formar por separado y, a continuación, unir entre sí.

El perforador 1792 está configurado para perforar (por ejemplo, romper) una parte frangible 1788 del recipiente de reactivos 1780 para transportar un reactivo desde el recipiente de reactivos 1780 a la cámara de reacción 1732. Como se muestra en las FIGS. 1-3, el perforador 1792 incluye una estructura que termina en un único punto afilado configurado para perforar el recipiente de reactivos 1780. Además, la estructura del perforador 1792 define una vía de transferencia 1793 en comunicación fluida con el volumen de reactivos 1742. Como se muestra en la FIG. 4, en algunos modos de realización, la inclusión de la vía de transferencia 1793 da como resultado una conformación de sección transversal discontinua en el perforador 1792 (la vista en sección transversal se muestra a continuación o "corriente abajo" desde el único punto afilado). Por tanto, como se describe con más detalle en el presente documento, cuando el perforador 1792 perfora el recipiente de reactivos 1780, la vía de transferencia 1793 proporciona una vía a través de la cual puede fluir el contenido del recipiente de reactivos 1780. Como se muestra, la vía 1793 no es paralela a la parte frangible 1788 del recipiente de reactivos 1780. En particular, la vía 1793 es sustancialmente perpendicular a la parte frangible 1788 del recipiente de reactivos 1780. Dicho de otra manera, la vía 1793 está alineada con y/o es paralela a la dirección de movimiento del accionador 1750 (véase la flecha AA). Además, la disposición de la vía de transferencia 1793 y/o la conformación de sección transversal del perforador 1792 puede limitar los atascos u obstrucciones que se pueden derivar de la perforación, así como el "volumen muerto" después del accionamiento, proporcionando, por tanto, una administración más repetible del contenido del recipiente de reactivos 1780.

Aunque se muestra incluyendo un único punto afilado, en otros modos de realización, una perforación puede incluir un borde afilado (por ejemplo, un borde lineal) y/o una serie de protuberancias configuradas para perforar el recipiente de reactivos. En dichos modos de realización, por ejemplo, la estructura que soporta o define cada una de las series de protuberancias puede definir una vía de transferencia (similar a la vía de transferencia 1793).

Aunque se muestra como una vía sustancialmente lineal que es paralela a la parte frangible 1788, en otros modos de realización, la vía de transferencia 1793 puede tener cualquier conformación, dirección y/o configuración adecuadas, tales como por ejemplo, una conformación helicoidal, una conformación cónica o similares. Aunque la conformación de sección transversal de la vía de transferencia 1793 se muestra en la FIG. 4 como curva y/o semicircular, en otros modos de realización, la conformación de sección transversal de la vía de transferencia 1793 puede tener cualquier conformación adecuada. Además, la conformación y/o el tamaño de la vía de transferencia 1793 pueden ser variables (por ejemplo, como una función de la distancia desde la punta de perforación). Aunque se muestra que el perforador 1792 incluye una única vía de transferencia 1793, en otros modos de realización, un perforador puede definir cualquier número adecuado de vías de transferencia.

La parte de administración 1770 está configurada para facilitar la administración del contenido desde el recipiente de reactivos 1780 y/o el volumen de reactivos 1742 a la cámara de reacción 1732. Por tanto, como se muestra, la parte de administración 1770 puede proporcionar cualquier vía y/o mecanismo adecuados para administrar partículas de transducción y/o reactivos dispuestos en el recipiente de reactivos 1780 y/o el volumen de reactivos 1742 en la cámara de reacción 1732. En particular, la parte de administración 1770 define una vía de administración 1771 entre la vía de transferencia 1793 y la cámara de reacción 1732. La vía de administración 1771 puede tener cualquier tamaño y/o conformación adecuados, y puede admitir cualquier caudal deseado a través del mismo. Por ejemplo, en algunos modos de realización, la vía de transferencia 1793 y/o la vía de administración 1771 pueden admitir cualquier caudal adecuado, por ejemplo, 1 ml/s, 2 ml/s, 3 ml/s, 4 ml/s, 5 ml/s.

El accionador 1750 tiene una parte de émbolo 1754 dispuesta dentro del volumen de reactivos 1742 y una parte de acoplamiento 1752. La parte de acoplamiento 1752 del accionador 1750 está configurada para manipularla para mover la parte de émbolo 1754 dentro del volumen de reactivos 1742 para deformar el recipiente de reactivos 1780. De esta manera, el movimiento de la parte de émbolo 1754 puede empujar la parte frangible 1788 del recipiente de reactivos 1780 contra el perforador 1792 para perforar y/o romper la parte frangible 1788. La parte de émbolo 1754 del accionador 1750 y una parte de la carcasa 1741 pueden definir conjuntamente un cierre para aislar de manera fluida y/u óptica el volumen de reactivos 1742 de un volumen fuera de la carcasa 1741.

El recipiente de reactivos 1780 se puede llenar completa o parcialmente con cualquier reactivo o sustancia adecuados. Por ejemplo, el recipiente de reactivos 1780 puede contener partículas de transducción que incluyen un ácido nucleico genomanipulado formulado para provocar que la célula diana (por ejemplo, bacterias) produzca una o más moléculas indicadoras. En algunos modos de realización, el recipiente de reactivos 1780 puede contener una o más partículas de transducción genomanipuladas para que no puedan realizar su replicación (por ejemplo, replicación lítica, replicación lisógena). Por ejemplo, en algunos modos de realización, el recipiente de reactivos 1780 puede contener cualquiera de las partículas de transducción descritas en el presente documento y

en las publicaciones de EE. UU. n.ºs 2015/0218613; 2014/0272928; 2015/0104787, y la solicitud de patente internacional n.º WO/2014/160418.

- 5 En algunos modos de realización, el recipiente de reactivos puede contener un reactivo formulado para reaccionar con una o más moléculas indicadoras para generar y/o potenciar la producción de una señal. Para otro ejemplo, el recipiente de reactivos 1780 puede incluir un sustrato, tal como tridecanal, que puede interactuar con una molécula indicadora (por ejemplo, luciferasa), para producir una señal mensurable, por ejemplo, por medio de una reacción de luminiscencia. Para aún otro ejemplo, en algunos modos de realización, el recipiente de reactivos 1780 puede incluir un nutriente, un antibiótico (por ejemplo, betalactámicos, betalactámicos de espectro ampliado, aminoglucósidos, ansamicinas, carbacefémicos, carbapenémicos, cualquier generación de cefalosporinas, glucopéptidos, lincosamidas, lipopéptido, macrólidos, monobactámicos, nitrofuranos, oxazolidononas, penicilinas, polipéptidos, quinolonas, fluoroquinolonas, sulfonamidas, tetraciclinas, antibióticos micobacterianos, cloranfenicol, mupirocina), un reactivo de lisis, un reactivo de esterilización, un colorante y/o similares.
- 10
- 15 El recipiente de reactivos 1780 se puede conformar y dimensionar para que se disponga sustancialmente en el interior del volumen de reactivos 1742. El recipiente de reactivos 1780 se puede construir de materiales que son sustancialmente impermeables y/o sustancialmente inertes químicamente a la sustancia contenida en el mismo (por ejemplo, partícula de transducción, sustrato, antibióticos, tampones, tensioactivos o cualquier otro reactivo que se pueda usar con el ensayo de detección) y el entorno exterior. Al menos una parte del recipiente de reactivos 20 1780 (por ejemplo, la parte frangible 1788) se puede construir de un material (por ejemplo, una película de polímero, tal como cualquier forma de polipropileno) que tenga determinadas características de temperatura de modo que las propiedades e integridad deseadas se mantengan durante una determinada temperatura. Por ejemplo, en algunos casos, puede ser deseable conservar el recipiente de reactivos 1780 que contiene reactivo y/o sustrato en un estado refrigerado. En algunos modos de realización, una parte del recipiente de reactivos 1780 se puede 25 construir de polipropileno orientado biaxialmente (BOP). En algunos modos de realización, una parte del recipiente de reactivos 1780 se puede construir de aluminio. En algunos modos de realización, una parte del recipiente de reactivos 1780 se puede construir de poli(cloruro de vinilo) (PVC), etileno-alcohol vinílico (EVOH), polietileno (PE) y/o policlorotrifluoroetileno (PCTFE o PTFCE).
- 30 La cámara de reacción 1732 está configurada para contener una muestra y/u otros reactivos, y se puede formar a partir de cualquier material adecuado, por ejemplo, vidrio, plástico (por ejemplo, polipropileno), acrílico, etc. En algunos modos de realización, la cámara de reacción 1732 se puede formar a partir de un material ligero, rígido y/o inerte. Al menos una parte de la cámara de reacción 1732 (por ejemplo, la parte de extremo distal) puede ser al menos parcialmente transparente para permitir la visualización, el acceso óptico y/o la detección del volumen 35 interno de la cámara de reacción 1732. En algunos modos de realización, la parte de extremo distal de la cámara de reacción 1732 se puede pulir para promover la transmisión óptima de la luz a través de la misma. Aunque se muestra como con una conformación como un cilindro con un fondo redondeado, en otros modos de realización, la cámara de reacción 1732 puede tener cualquier otra conformación adecuada, por ejemplo, cuadrada, rectangular, ovalada, poligonal, elíptica, cónica, etc. Por ejemplo, en algunos modos de realización, la cámara de 40 reacción 1732 puede tener un fondo sustancialmente plano. En algunos modos de realización, la cámara de reacción 1732 puede tener un diámetro de 12 mm y una altura de 75 mm. En algunos modos de realización, el conjunto de recipiente 1700 puede estar provisto de una o más soluciones/reactivos en forma líquida y/o secada (por ejemplo, solución de nutrientes bacterianos, tampones, tensioactivos, partícula de transducción, colorantes y/o antibióticos), dispuestos de antemano dentro de la cámara de reacción 1732. En algunos casos, la cámara de 45 reacción 1732 puede contener cualquier reactivo y/o sustancia adecuados. Por ejemplo, en algunos modos de realización, la cámara de reacción 1732 puede contener una o más partículas de transducción, un reactivo formulado para reaccionar con una o más moléculas indicadoras en una muestra para generar y/o potenciar la producción de una señal, un nutriente, un antibiótico, un reactivo de lisis, un reactivo de esterilización, un colorante y/o similares.
- 50 Como se muestra en la FIG. 1, el conjunto de recipiente 1700 está en una primera configuración. En la primera configuración, el accionador 1750 se sitúa de modo que el recipiente de reactivos 1780 dispuesto dentro de la carcasa 1741 esté sustancialmente sin deformar. Expresado de forma similar, el accionador 1750 se sitúa de modo que no provoque que el perforador 1792 perforo el recipiente de reactivos 1780. Por tanto, el conjunto de recipiente 55 1700 está en un estado "listo" cuando está en la primera configuración. En algunos modos de realización, el conjunto de recipiente 1700 puede incluir un mecanismo de seguridad (no mostrado) para evitar y/o limitar el movimiento del accionador 1750 con respecto a la carcasa 1741 hasta que el operario lo desee.
- 60 Para accionar el conjunto de recipiente 1700, se aplica una fuerza a la parte de acoplamiento 1752 del accionador 1750, provocando, por tanto, que el accionador 1750 se mueva como se muestra por la flecha AA en la FIG. 2. Como se muestra en la FIG. 2, el conjunto de recipiente 1700 está en una segunda configuración (o "intermedia"). En la segunda configuración, el accionador 1750 se sitúa de modo que el recipiente de reactivos 1780 esté parcialmente deformado. Expresado de forma similar, el accionador 1750 se sitúa de modo que al menos una parte de la fuerza se transfiera al recipiente de reactivos 1780. Como tal, al menos una parte del recipiente de 65 reactivos 1780 se deforma. En algunos casos, en la segunda configuración, el perforador 1792 puede perforar al menos parcialmente una parte (por ejemplo, la parte frangible 1788) del recipiente de reactivos 1780, colocando

de este modo el volumen interno del recipiente de reactivos 1780 en comunicación fluida con la vía de transferencia 1793 y/o la vía de administración 1771.

Como se muestra en la FIG. 3, el conjunto de recipiente 1700 está en una tercera configuración (o "desplegada"). En la tercera configuración, el accionador 1750 se sitúa de modo que el recipiente de reactivos 1780 esté sustancialmente deformado. Expresado de forma similar, el accionador 1750 se sitúa de modo que al menos una parte de la fuerza se transfiera al recipiente de reactivos 1780. En dicha configuración, el perforador 1792 ha perforado el recipiente de reactivos 1780 (por ejemplo, la parte frangible 1788), de modo que el contenido del recipiente de reactivos ha salido sustancialmente del recipiente de reactivos 1780 y entrado en la parte de administración 1770 y/o la cámara de reacción 1732 por medio de la vía de transferencia 1793, como se muestra por la flecha BB.

En uso, el accionador 1750 (por ejemplo, la parte de acoplamiento 1752) se manipula para mover la parte de émbolo 1754 dentro de la carcasa 1741 de modo que la parte de émbolo 1754 se acople a una parte de contacto (no identificada en las FIGS. 1-3) del recipiente de reactivos 1780 para deformar parcialmente el recipiente de reactivos 1780 desde la primera configuración a la segunda configuración. Cuando la parte de émbolo 1754 se acopla a la parte de contacto del recipiente de reactivos 1780, el perforador 1792 perfora una parte del recipiente de reactivos 1780 (por ejemplo, una parte frangible 1788) para transportar un reactivo desde el recipiente de reactivos 1780 al volumen de reacción 1742, la parte de administración 1770 y/o la cámara de reacción 1732, al menos en parte por medio de la vía de transferencia 1793. De la segunda configuración a la tercera configuración, el accionador 1750 se manipula para mover la parte de émbolo 1754 dentro de la carcasa 1741 de modo que la parte de émbolo 1754 se acople a una parte de contacto del recipiente de reactivos 1780 para deformar el recipiente de reactivos 1780 de la segunda configuración a la tercera configuración. A medida que el recipiente de reactivos 1780 se deforma de la segunda configuración a la tercera configuración, sustancialmente la totalidad de su contenido (por ejemplo, un reactivo) se transporta desde el recipiente de reactivos 1780 al volumen de reacción 1742, la parte de administración 1770 y/o la cámara de reacción 1732, de modo que el "volumen muerto" en el recipiente de reactivos 1780 está limitado. De esta manera, se puede obtener una administración sustancialmente repetible del contenido del recipiente de reactivos 1780 a la cámara de reacción 1732. Por ejemplo, en algunos modos de realización, una deformación de un primer recipiente de reactivos en un primer momento y una deformación de un segundo recipiente de reactivos en un segundo momento después de la primera vez pueden ser sustancialmente similares, permitiendo de este modo que se transfiera sustancialmente la totalidad del contenido del recipiente de reactivos 1780 en el primer momento y el segundo momento. Además, esta disposición puede limitar los atascos u obstrucciones que se pueden derivar de la perforación del recipiente de reactivos 1780, proporcionando, por tanto, una administración más repetible del contenido del recipiente de reactivos 1780.

La FIG. 5 muestra un conjunto de recipiente 2700 de acuerdo con un modo de realización. El conjunto de recipiente 2700 se puede usar y manipular con cualquiera de los instrumentos y/o cualquiera de los componentes descritos en el presente documento y en la solicitud '461. De esta manera, el conjunto de recipiente 2700 y cualquiera de los conjuntos de recipiente descritos en el presente documento se pueden usar para detectar y/o identificar células diana (por ejemplo, bacterias) dentro de una muestra de acuerdo con cualquiera de los procedimientos descritos en el presente documento o en la solicitud '461. Por ejemplo, en algunos modos de realización, el conjunto de recipiente 2700 se puede usar para disponer y/o mezclar un reactivo en una muestra mientras se mantiene el aislamiento fluido entre el recipiente y una región exterior. De esta manera, el procedimiento de identificación de células se puede realizar en un sistema cerrado y/o un ensayo homogéneo. Expresado de forma similar, en algunos modos de realización, el conjunto de recipiente 2700 se usa en procedimientos de identificación y/o detección de células que no implican la retirada de contenido del conjunto de recipiente 2700, la separación del contenido dentro del conjunto de recipiente 2700, el lavado del contenido dentro del conjunto de recipiente 2700 y/o el enjuague del contenido dentro del conjunto de recipiente 2700.

El conjunto de recipiente 2700 incluye una carcasa 2741, una cámara de reacción 2732, un recipiente de reactivos 2780, un accionador 2750 y un miembro de bloqueo 2772. La carcasa 2741 está acoplada de manera extraíble a la cámara de reacción 2732. Por ejemplo, en algunos modos de realización, la carcasa 2741 se puede acoplar de manera roscada a la cámara de reacción 2732. En otros modos de realización, la carcasa 2741 y la cámara de reacción 2732 pueden formar un ajuste con apriete para acoplar la carcasa 2741 a la cámara de reacción 2732. La carcasa 2741 define un volumen de reactivos 2742 e incluye una parte de administración 2770. La parte de administración 2770 incluye un perforador 2792. La carcasa 2741 y el perforador 2792 están construidos monolíticamente. También se divulga que la carcasa 2741, la parte de administración 2770 y/o el perforador 2792 se pueden formar por separado y, a continuación, unir entre sí.

La parte de administración 2770 está configurada para facilitar la administración del contenido desde el recipiente de reactivos 2780 y/o el volumen de reactivos 2742 a la cámara de reacción 2732. Por tanto, como se muestra, la parte de administración 2770 puede proporcionar cualquier vía y/o mecanismo adecuados para administrar contenido dispuesto en el recipiente de reactivos 2780 y/o el volumen de reactivos 2742 en la cámara de reacción 2732. En particular, la parte de administración 2770 define una vía de administración 2771 entre el volumen de reactivos 2742 y la cámara de reacción 2732. La vía de administración 2771 puede tener cualquier tamaño y/o conformación adecuados, y puede admitir cualquier caudal deseado a través del mismo. Por ejemplo, en algunos

modos de realización, la vía de administración 2771 puede admitir cualquier caudal adecuado, por ejemplo, 1 ml/s, 2 ml/s, 3 ml/s, 4 ml/s, 5 ml/s. Además, la conformación y/o el tamaño de la vía de administración 2771 pueden ser variables. Aunque se muestra que la parte de administración 2770 incluye una única vía de administración 2771, en otros modos de realización, una parte de administración puede definir cualquier número adecuado de vías de administración.

Además, la parte de administración 2770 (y cualquiera de las partes de administración descritas en el presente documento) puede incluir cualquier rasgo característico adecuado, tal como la vía de administración 2771, la geometría de la superficie, el recubrimiento de la superficie o similares. Por ejemplo, como se muestra, la parte de administración 2770 incluye una superficie cóncava 2774. De esta manera, la parte de administración 2770 puede facilitar la administración del contenido desde el recipiente de reactivos 2780 y/o el volumen de reactivos 2742 a la cámara de reacción 2732. Por ejemplo, el contenido del recipiente de reactivos 2780 se puede transferir a lo largo (por ejemplo, en base al menos en parte a la fuerza gravitacional) de la superficie cóncava de la parte de administración 2770 y a la cámara de reacción 2732 por medio de la vía de administración 2771. Sin embargo, en otros modos de realización, la parte de administración 2770 no necesita tener una superficie cóncava.

El perforador 2792 de la parte de administración 2770 está configurado para perforar (por ejemplo, romper) una parte frangible 2788 del recipiente de reactivos 2780 para transportar un reactivo desde el recipiente de reactivos 2780 a la cámara de reacción 2732. Por tanto, el perforador 2792 puede incluir cualquier punta afilada, borde afilado y/o una serie de protuberancias configuradas para perforar el recipiente de reactivos 2780. En algunos modos de realización, la disposición y/o la conformación del perforador pueden limitar los atascos y/u obstrucciones que se pueden derivar de la perforación, proporcionando, por tanto, una administración más repetible del contenido del recipiente de reactivos 2780. Por ejemplo, en algunos modos de realización, el perforador 2792 puede definir una o más vías de transferencia, similares a las mostradas y descritas en el presente documento (por ejemplo, en las FIGS. 1-3). Por tanto, el perforador 2792 está en comunicación fluida con la vía de administración 2771 de la parte de administración 2770. De esta manera, y como se describe con más detalle en el presente documento, el perforador puede facilitar la transferencia del contenido del recipiente de reactivos 2780 a la cámara de reacción 2732.

El recipiente de reactivos 2780 se puede llenar completa o parcialmente con cualquier reactivo o sustancia adecuados. Por ejemplo, el recipiente de reactivos 2780 puede contener partículas de transducción que incluyen un ácido nucleico genomanipulado formulado para provocar que la célula diana (por ejemplo, bacterias) produzca una o más moléculas indicadoras. En algunos modos de realización, el recipiente de reactivos 2780 puede contener una o más partículas de transducción genomanipuladas para que no puedan realizar su replicación (por ejemplo, replicación lítica, replicación lisógena). Por ejemplo, en algunos modos de realización, el recipiente de reactivos 2780 puede contener cualquiera de las partículas de transducción descritas en el presente documento y en las publicaciones de EE. UU. n.º 2015/0218613; 2014/0272928; 2015/0104787, y la solicitud de patente internacional n.º WO/2014/160418.

En algunos modos de realización, el recipiente de reactivos 2780 puede contener un reactivo formulado para reaccionar con una o más moléculas indicadoras para potenciar la producción de una señal. Para otro ejemplo, el recipiente de reactivos 2780 puede incluir un sustrato, tal como tridecanal, que puede interactuar con una molécula indicadora (por ejemplo, luciferasa), para producir una señal mensurable, por ejemplo, por medio de una reacción de luminiscencia. Para aún otro ejemplo, en algunos modos de realización, el recipiente de reactivos 2780 puede incluir un nutriente, un antibiótico (por ejemplo, betalactámicos, betalactámicos de espectro ampliado, aminoglucósidos, ansamicinas, carbacefémicos, carbapenémicos, cualquier generación de cefalosporinas, glucopéptidos, lincosamidas, lipopéptido, macrólidos, monobactámicos, nitrofuranos, oxazolidononas, penicilinas, polipéptidos, quinolonas, fluoroquinolonas, sulfonamidas, tetraciclinas, antibióticos micobacterianos, cloranfenicol, mupirocina), un reactivo de lisis, un reactivo de esterilización, un colorante y/o similares.

El recipiente de reactivos 2780 se puede conformar y dimensionar para que se disponga sustancialmente en el interior del volumen de reactivos 2742. El recipiente de reactivos 2780 se puede construir de materiales que son sustancialmente impermeables y/o substancialmente inertes químicamente a la sustancia contenida en el mismo, por ejemplo, partícula de transducción, sustrato, antibióticos, tampones, tensioactivos o cualquier otro reactivo que se pueda usar con el ensayo de detección. Al menos una parte del recipiente de reactivos 2780 (por ejemplo, la parte frangible 2788) se puede construir de un material (por ejemplo, una película de polímero, tal como cualquier forma de polipropileno) que tenga determinadas características de temperatura de modo que las propiedades e integridad deseadas se mantengan durante una determinada temperatura. Por ejemplo, en algunos casos, puede ser deseable conservar el recipiente de reactivos 2780 que contiene reactivo y/o sustrato en un estado refrigerado. En algunos modos de realización, una parte del recipiente de reactivos 2780 se puede construir de polipropileno orientado biaxialmente (BOP). En algunos modos de realización, una parte del recipiente de reactivos 2780 se puede construir de aluminio. En algunos modos de realización, una parte del recipiente de reactivos 2780 se puede construir de poli(cloruro de vinilo) (PVC), etileno-alcohol vinílico (EVOH), polietileno (PE) y/o policlorotrifluoroetileno (PCTFE o PTFCE).

El recipiente de reactivos 2780 tiene un faldón 2781 y una parte frangible 2788. El faldón 2781 rodea al menos una parte de la parte frangible 2788. Como se muestra, el faldón 2781 está dispuesto entre el miembro de bloqueo 2772 y una parte de hombro 2775 de la parte de administración 2770 de la carcasa 2741. De esta manera, y como se analiza con más detalle en el presente documento, el faldón 2781 se puede fijar (por ejemplo, agarrar, asir, sujetar, pellizcar, ajustar con apriete, etc.) al menos en parte por el miembro de bloqueo 2772. Como tal, el faldón 2781 puede proporcionar una función de fijación de modo que una posición del recipiente de reactivos 2780 se pueda mantener sustancialmente durante el uso. El faldón 2781 puede ser de cualquier tamaño y/o conformación adecuados, y puede incluir cualquier diseño de superficie adecuado (por ejemplo, liso, rugoso y/o similar). Por ejemplo, en algunos modos de realización, el faldón 2781 se puede dimensionar y/o conformar para corresponder a una parte del miembro de bloqueo 2772.

El accionador 2750 tiene una parte de émbolo 2754 dispuesta dentro del volumen de reactivos 2742 y una parte de acoplamiento 2752. La parte de acoplamiento 2752 del accionador 2750 está configurada para manipularla para mover la parte de émbolo 2754 dentro del volumen de reactivos 2742 para deformar el recipiente de reactivos 2780 de una primera configuración a una segunda configuración (la segunda configuración no se muestra en la FIG 5). De esta manera, el movimiento de la parte de émbolo 2754 puede empujar la parte frangible 2788 del recipiente de reactivos 2780 contra el perforador 2792 para perforar y/o romper la parte frangible 2788. Por tanto, como se describe con más detalle en el presente documento, cuando el perforador 2792 perfora el recipiente de reactivos 2780, la vía de administración 2771 proporciona una vía a través de la cual puede fluir el contenido del recipiente de reactivos 2780 (por ejemplo, cuando está en la segunda configuración). La parte de émbolo 2754 del accionador 2750 y una parte de la carcasa 2741 pueden definir conjuntamente un cierre para aislar de manera fluida y/u óptica el volumen de reactivos 2742 de un volumen fuera de la carcasa 2741.

Como se describe anteriormente, el miembro de bloqueo 2772 está configurado para mantener al menos una parte del faldón 2781 del recipiente de reactivos 2780 en contacto con la parte de administración 2770 (por ejemplo, el hombro 2775 de la parte de administración 2770) de la carcasa 2741. Además, la parte del faldón 2781 y el hombro 2775 pueden formar un cierre sustancialmente estanco a fluidos, reduciendo y/o eliminando, por tanto, el reflujo del reactivo dentro del recipiente de reactivos 2780 durante el uso. De esta manera, manteniendo la posición del faldón 2781 con respecto a la parte de administración 2770, el miembro de bloqueo 2772 puede facilitar el mantenimiento del cierre sustancialmente estanco a fluidos entre el faldón 2781 y el hombro 2775 de la parte de administración 2770. Además, el miembro de bloqueo 2772 puede limitar el movimiento del recipiente de reactivos 2780 con respecto a la parte de administración. En particular, el miembro de bloqueo 2772 puede limitar el movimiento cuando el recipiente de reactivos 2780 se deforma de una primera configuración a una segunda configuración. De esta manera, en uso, el miembro de bloqueo 2772 puede limitar y/o evitar el movimiento no deseado del recipiente de reactivos 2780, proporcionando, de este modo, una administración sustancialmente repetible del contenido desde el recipiente de reactivos 2780 a la cámara de reacción 2732. Expresado de forma similar, el recipiente de reactivos 2780 se puede mantener en una posición preferente (por ejemplo, estabilizado) cuando está en la primera configuración y/o la segunda configuración.

El miembro de bloqueo 2772 puede ser de cualquier tamaño y/o conformación adecuados. Por ejemplo, en algunos modos de realización, el miembro de bloqueo 2772 se puede dimensionar y/o conformar para corresponder (por ejemplo, en conformación, tamaño, diseño de la superficie, textura, etc.) a una parte del faldón 2781 del recipiente de reactivos 2780. De esta manera, el miembro de bloqueo 2772 y el faldón 2781 pueden funcionar cooperativamente para mantener sustancialmente el recipiente de reactivos 2780 en una posición deseada con respecto a la parte de administración 2770.

Las FIGS. 6 y 7 muestran un conjunto de recipiente 3700 de acuerdo con un modo de realización en una primera configuración (FIG. 6) y una segunda configuración (FIG. 7). El conjunto de recipiente 3700 se puede usar y manipular con cualquiera de los instrumentos y/o cualquiera de los componentes descritos en el presente documento y en la solicitud '461. De esta manera, el conjunto de recipiente 3700 y cualquiera de los conjuntos de recipiente descritos en el presente documento se pueden usar para detectar y/o identificar células diana (por ejemplo, bacterias) dentro de una muestra de acuerdo con cualquiera de los procedimientos descritos en el presente documento o en la solicitud '461. Por ejemplo, en algunos modos de realización, el conjunto de recipiente 3700 se puede usar para disponer y/o mezclar un reactivo en una muestra mientras se mantiene el aislamiento fluido entre el recipiente y una región exterior. De esta manera, el procedimiento de identificación de células se puede realizar en un sistema cerrado y/o un ensayo homogéneo. Expresado de forma similar, en algunos modos de realización, el conjunto de recipiente 3700 se usa en procedimientos de identificación y/o detección de células que no implican la retirada de contenido del conjunto de recipiente 3700, la separación del contenido dentro del conjunto de recipiente 3700, el lavado del contenido dentro del conjunto de recipiente 3700 y/o el enjuague del contenido dentro del conjunto de recipiente 3700.

El conjunto de recipiente 3700 incluye una carcasa 3741, una cámara de reacción 3732, un recipiente de reactivos 3780 y un accionador 3750. La carcasa 3741 está acoplada de manera extraíble a la cámara de reacción 3732. Por ejemplo, en algunos modos de realización, la carcasa 3741 se puede acoplar de manera roscada a la cámara de reacción 3732. En otros modos de realización, la carcasa 3741 y la cámara de reacción 3732 pueden formar un ajuste con apriete para acoplar la carcasa 3741 a la cámara de reacción 3732. La carcasa 3741 define un

volumen de reactivos 3742 e incluye una parte de administración 3770. La parte de administración 3770 incluye un perforador 3792. La carcasa 3741 y el perforador 3792 están contruidos monolíticamente. También se divulga que la carcasa 3741, la parte de administración 3770 y/o el perforador 3792 se pueden formar por separado y, a continuación, unir entre sí.

5

La parte de administración 3770 está configurada para facilitar la administración del contenido desde el recipiente de reactivos 3780 y/o el volumen de reactivos 3742 a la cámara de reacción 3732. Por tanto, como se muestra, la parte de administración 3770 puede proporcionar cualquier vía y/o mecanismo adecuados para administrar contenido dispuesto en el recipiente de reactivos 3780 y/o el volumen de reactivos 3742 en la cámara de reacción 3732. Por ejemplo, el contenido del recipiente de reactivos 3780 se puede transferir (por ejemplo, empujar al menos en parte por la fuerza gravitacional, la fuerza aplicada por el accionador 3750, las fuerzas de tensión superficial o similares) a lo largo de una o más superficies de la parte de administración 3770 y a la cámara de reacción 3732. En particular, la parte de administración 3770 define una vía de administración 3771 entre el volumen de reactivos 3742 y la cámara de reacción 3732. La vía de administración 3771 puede tener cualquier tamaño y/o conformación adecuados, y puede admitir cualquier caudal deseado a través del mismo. Por ejemplo, en algunos modos de realización, la vía de administración 3771 puede admitir cualquier caudal adecuado, por ejemplo, 1 ml/s, 2 ml/s, 3 ml/s, 4 ml/s, 5 ml/s. Además, la conformación y/o el tamaño de la vía de administración 3771 pueden ser variables. Aunque se muestra que la parte de administración 3770 incluye una única vía de administración 3771, en otros modos de realización, una parte de administración puede definir cualquier número adecuado de vías de administración.

10

15

20

El perforador 3792 de la parte de administración 3770 está configurado para perforar (por ejemplo, romper) una parte frangible 3788 del recipiente de reactivos 3780 para transportar un reactivo desde el recipiente de reactivos 3780 a la cámara de reacción 3732. Por tanto, el perforador 3792 puede incluir cualquier punta afilada, borde afilado y/o una serie de protuberancias configurados para perforar el recipiente de reactivos 3780. La disposición y/o la conformación del perforador pueden limitar los atascos y/u obstrucciones que se pueden derivar de la perforación, proporcionando, por tanto, una administración más repetible del contenido del recipiente de reactivos 3780. El perforador 3792 puede colocar el recipiente de reactivos 3780 en comunicación fluida con la vía de administración 3771 de la parte de administración 3770. De esta manera, y como se describe con más detalle en el presente documento, el perforador puede facilitar la transferencia del contenido del recipiente de reactivos 3780 a la cámara de reacción 3732.

25

30

El recipiente de reactivos 3780 se puede llenar completa o parcialmente con cualquier reactivo o sustancia adecuados. Por ejemplo, el recipiente de reactivos 3780 puede contener partículas de transducción que incluyen un ácido nucleico genomanipulado para provocar que la célula diana (por ejemplo, bacterias) produzca una o más moléculas indicadoras. En algunos modos de realización, el recipiente de reactivos 3780 puede contener una o más partículas de transducción genomanipuladas para que no puedan realizar su replicación (por ejemplo, replicación lítica, replicación lisógena). Por ejemplo, en algunos modos de realización, el recipiente de reactivos 3780 puede contener cualquiera de las partículas de transducción descritas en el presente documento y en las publicaciones de EE. UU. n.<sup>os</sup> 2015/0218613; 2014/0272928; 2015/0104787, y la solicitud de patente internacional n.º WO/2014/160418.

35

40

En algunos modos de realización, el recipiente de reactivos puede contener un reactivo formulado para reaccionar con una o más moléculas indicadoras para potenciar la producción de una señal. Para otro ejemplo, el recipiente de reactivos 3780 puede incluir un sustrato, tal como tridecanal, que puede interactuar con una molécula indicadora (por ejemplo, luciferasa), para producir una señal mensurable, por ejemplo, por medio de una reacción de luminiscencia. Para aún otro ejemplo, en algunos modos de realización, el recipiente de reactivos 3780 puede incluir un nutriente, un antibiótico (por ejemplo, betalactámicos, betalactámicos de espectro ampliado, aminoglucósidos, ansamicinas, carbacefémicos, carbapenémicos, cualquier generación de cefalosporinas, glucopéptidos, lincosamidas, lipopéptido, macrólidos, monobactámicos, nitrofuranos, oxazolidononas, penicilinas, polipéptidos, quinolonas, fluoroquinolonas, sulfonamidas, tetraciclinas, antibióticos micobacterianos, cloranfenicol, mupirocina), un reactivo de lisis, un reactivo de esterilización, un colorante y/o similares.

45

50

El recipiente de reactivos 3780 se puede conformar y dimensionar para que se disponga sustancialmente en el interior del volumen de reactivos 3742. El recipiente de reactivos 3780 se puede construir de materiales que son sustancialmente impermeables y/o substancialmente inertes químicamente a la sustancia contenida en el mismo, por ejemplo, partícula de transducción, sustrato, antibióticos, tampones, tensioactivos o cualquier otro reactivo que se pueda usar con el ensayo de detección. Al menos una parte del recipiente de reactivos 3780 (por ejemplo, la parte frangible 3788) se puede construir de un material (por ejemplo, una película de polímero, tal como cualquier forma de polipropileno) que tenga determinadas características de temperatura de modo que las propiedades e integridad deseadas se mantengan durante una determinada temperatura. Por ejemplo, en algunos casos, puede ser deseable conservar el recipiente de reactivos 3780 que contiene reactivo y/o sustrato en un estado refrigerado. En algunos modos de realización, una parte del recipiente de reactivos 3780 se puede construir de polipropileno orientado biaxialmente (BOP). En algunos modos de realización, una parte del recipiente de reactivos 3780 se puede construir de aluminio. En algunos modos de realización, una parte del recipiente de reactivos 3780 se puede

55

60

65

construir de poli(cloruro de vinilo) (PVC), etileno-alcohol vinílico (EVOH), polietileno (PE) y/o policlorotrifluoroetileno (PCTFE o PTFCE).

5 El recipiente de reactivos 3780 tiene un faldón 3781, una parte de contacto 3782 y una parte frangible 3788. El faldón 3781 rodea al menos una parte de la parte frangible 3788. El faldón 3781 puede ser de cualquier tamaño y/o conformación adecuados, y puede incluir cualquier diseño de superficie adecuado (por ejemplo, liso, rugoso y/o similar). En algunos modos de realización, el faldón 3781 y la parte de administración 3771 pueden formar un cierre sustancialmente estanco a fluidos para minimizar el volumen muerto durante el uso.

10 Como se describe a continuación, la parte de contacto 3782 del recipiente de reactivos 3780 está configurada para ponerse en contacto con la parte de émbolo 3754 del accionador 3750. La parte de contacto puede ser de cualquier tamaño y/o conformación adecuados. Por ejemplo, en algunos modos de realización, la parte de contacto 3782 se puede dimensionar y/o conformar para corresponder al accionador 3750. En otros modos de realización, la parte de contacto 3782 puede incluir uno o más elevadores de concentración de tensiones, perforaciones o similares para facilitar la deformación de la parte de contacto 3782 y/o el recipiente de reactivos 3780 de una manera deseada. Por ejemplo, en algunos modos de realización, la parte de contacto 3782 puede incluir rasgos característicos geométricos y/o propiedades de materiales para facilitar la deformación del recipiente de reactivos 3780 en una dirección y/o manera particular para minimizar el volumen muerto durante el uso.

20 Por ejemplo, como se muestra en la FIG. 9, en algunos modos de realización, la parte de contacto 3782, el faldón 3781 y/o la parte frangible 3788 se pueden configurar conjuntamente de modo que, cuando se aplique una fuerza a la parte de contacto 3782 (como se muestra por la flecha EE), la parte frangible 3788 sobresalga hacia afuera para producir una conformación convexa. En algunos modos de realización, la parte de administración 3770 de la carcasa 3741 puede incluir una superficie cóncava (no mostrada en las FIGS. 6-9) que corresponde a la conformación deformada o "sobresaliente" de la parte frangible durante el uso. De esta manera, la parte deformada del recipiente de reactivos 3780 se puede recibir de forma emparejada dentro de la parte de administración 3770 de la carcasa para minimizar el volumen muerto, facilitar la administración repetible de reactivos o similares.

30 Como se muestra en la FIG. 8, en algunos modos de realización, la parte de contacto 3782 puede ser un anillo anular. De esta manera, la parte de contacto 3782 se puede configurar para que se empareje con la parte de émbolo 3754 del accionador 3750 de manera sustancialmente uniforme en un área definida por el anillo anular, lo que da como resultado la minimización del volumen muerto y el transporte repetible del contenido del recipiente de reactivos 3780 a la cámara de reacción 3732. Aunque se muestra que tiene una anchura constante, en otros modos de realización, el anillo anular puede ser de cualquier tamaño o conformación adecuados (por ejemplo, circular, ovalado, rectangular, etc.). Por ejemplo, en algunos modos de realización, el anillo anular puede tener dimensiones variables (por ejemplo, anchura de anillo variable). De esta manera, la parte de contacto 3782 y la parte de émbolo 3754 pueden funcionar cooperativamente para emparejarse adecuadamente, dando como resultado una administración repetible del contenido del recipiente de reactivos 3780 desde el recipiente de reactivos 3780.

40 El accionador 3750 tiene una parte de émbolo 3754 dispuesta dentro del volumen de reactivos 3742 y una parte de acoplamiento 3752. La parte de acoplamiento 3752 del accionador 3750 está configurada para manipularla para mover la parte de émbolo 3754 dentro del volumen de reactivos 3742 para deformar el recipiente de reactivos 3780 de una primera configuración (FIG. 6) a una segunda configuración (FIG. 7). Expresado de forma similar, la parte de émbolo 3754, en respuesta a la manipulación de la parte de acoplamiento 3752 del accionador 3750, se puede acoplar a la parte de contacto 3782 del recipiente de reactivos 3780 para deformar el recipiente de reactivos 3780 desde la primera configuración a la segunda configuración. De esta manera, el movimiento de la parte de émbolo 3754 puede empujar la parte frangible 3788 del recipiente de reactivos 3780 contra el perforador 3792 para perforar y/o romper la parte frangible 3788. Por tanto, como se describe con más detalle en el presente documento, cuando el perforador 3792 perfora el recipiente de reactivos 3780, la vía de administración 3771 proporciona una vía a través de la cual puede fluir el contenido del recipiente de reactivos 3780 (por ejemplo, cuando está en la segunda configuración).

55 En algunos modos de realización, la parte de émbolo 3754 del accionador 3750 y una parte de la carcasa 3741 pueden definir conjuntamente un cierre para aislar de manera fluida y/u óptica el volumen de reactivos 3742 de un volumen fuera de la carcasa 3741. Además, la parte de émbolo 3754 puede tener cualquier tamaño y/o conformación adecuados. Por ejemplo, la parte de émbolo 3754 se puede conformar y/o dimensionar para corresponder a la parte de contacto 3782 del recipiente de reactivos 3780 y/o al perforador 3792. Además de este ejemplo, como se muestra, la parte de émbolo 3754 tiene una conformación curva configurada para acoplarse de forma emparejada con una conformación curva de la parte de contacto 3782 del recipiente de reactivos 3780. De esta manera, la parte de émbolo 3754, la parte de contacto 3782 y/o el perforador 3792 se pueden emparejar conjuntamente y/o funcionar cooperativamente para limitar el volumen muerto (por ejemplo, el volumen muerto dentro de la parte de administración 3770). La minimización del volumen muerto permite el transporte repetible del contenido del recipiente de reactivos 3780 a la cámara de reacción 3732, y la perforación repetible del recipiente de reactivos 3780 (por ejemplo, estallido de alveolos repetible).

65

Como se muestra en la FIG. 6, el conjunto de recipiente 3700 está en una primera configuración. En la primera configuración, el accionador 3750 se sitúa de modo que el recipiente de reactivos 3780 dispuesto dentro de la carcasa 3741 esté sustancialmente sin deformar. Expresado de forma similar, el accionador 3750 se sitúa de modo que no provoque que el perforador 3752 perfora el recipiente de reactivos 3780. Por tanto, el conjunto de recipiente 3700 está en un estado "listo" cuando está en la primera configuración. En algunos modos de realización, el conjunto de recipiente 3700 puede incluir un mecanismo de seguridad (no mostrado) para evitar y/o limitar el movimiento del accionador 3750 con respecto a la carcasa 3741 hasta que el operario lo desee.

Para accionar el conjunto de recipiente 3700, se aplica una fuerza a la parte de acoplamiento 3752 del accionador 3750, provocando, por tanto, que el accionador 3750 se mueva como se muestra por la flecha CC en la FIG. 6. Como se muestra en la FIG. 7, el conjunto de recipiente 3700 está en una segunda configuración. En la segunda configuración, el accionador 3750 se sitúa de modo que el recipiente de reactivos 3780 esté sustancialmente deformado. Expresado de forma similar, el accionador 3750 se sitúa de modo que al menos una parte de la fuerza se transfiera al recipiente de reactivos 3780. En dicha configuración, el perforador 3792 ha perforado el recipiente de reactivos 3780 (por ejemplo, la parte frangible 3788), de modo que el contenido del recipiente de reactivos ha salido sustancialmente del recipiente de reactivos 3780 y entrado en la parte de administración 3770 y/o la cámara de reacción 3732, como se muestra por la flecha DD.

En uso, el accionador 3750 (por ejemplo, la parte de acoplamiento 3752) se manipula para mover la parte de émbolo 3754 dentro de la carcasa 3741 de modo que la parte de émbolo 3754 se acople a una parte de contacto del recipiente de reactivos 3780 para deformar parcialmente el recipiente de reactivos 3780 desde la primera configuración a la segunda configuración. Cuando la parte de émbolo 3754 se acopla al recipiente de reactivos 3780, el perforador 3792 perfora una parte del recipiente de reactivos 3780 (por ejemplo, una parte frangible 3788) para transportar un reactivo desde el recipiente de reactivos 3780 al volumen de reacción 3742, la parte de administración 3770 y/o la cámara de reacción 3732. Desde la primera configuración a la segunda configuración, el accionador 3750 se manipula para mover la parte de émbolo 3754 dentro de la carcasa 3741 de modo que la parte de émbolo 3754 se acople a una parte de contacto del recipiente de reactivos 3780 para deformar el recipiente de reactivos 3780. A medida que el recipiente de reactivos 3780 se deforma, sustancialmente la totalidad de su contenido (por ejemplo, un reactivo) se transporta desde el recipiente de reactivos 3780 al volumen de reacción 3742, la parte de administración 3770 y/o la cámara de reacción 3732, de modo que el "volumen muerto" en el recipiente de reactivos 3780 está limitado. De esta manera, se puede obtener una administración sustancialmente repetible del contenido desde el recipiente de reactivos 3780 a la cámara de reacción 3732. Por ejemplo, en algunos modos de realización, una deformación de un primer recipiente de reactivos en un primer momento y una deformación de un segundo recipiente de reactivos en un segundo momento después de la primera vez pueden ser sustancialmente similares, permitiendo de este modo que se transfiera sustancialmente la totalidad del contenido del recipiente de reactivos 3780 en el primer momento y el segundo momento. Además, esta disposición puede limitar los atascos u obstrucciones que se pueden derivar de la perforación del recipiente de reactivos 3780, proporcionando, por tanto, una administración más repetible del contenido del recipiente de reactivos 3780.

Aunque se muestra que los conjuntos de recipiente 1700, 2700 y 3700 incluyen solo un recipiente de reactivos, en otros modos de realización, una carcasa y/o conjunto de recipiente pueden incluir cualquier número adecuado de recipientes de reactivos. Por ejemplo, las FIGS. 10 y 11 muestran una vista en perspectiva de un conjunto de recipiente 4700 y una vista en despiece del conjunto de recipiente 4700, respectivamente, de acuerdo con un modo de realización. El conjunto de recipiente 4700 se puede usar y manipular con cualquiera de los instrumentos y/o cualquiera de los componentes descritos en el presente documento y en la solicitud de patente de EE. UU. n.º 13/802.461, titulada "Systems and Methods for Detection of Cells using Engineered Transduction Particles". De esta manera, el conjunto de recipiente 4700 y cualquiera de los conjuntos de recipiente descritos en el presente documento se pueden usar para detectar y/o identificar células diana (por ejemplo, bacterias) dentro de una muestra de acuerdo con cualquiera de los procedimientos descritos en el presente documento o en la solicitud '461. Por ejemplo, en algunos modos de realización, el conjunto de recipiente 4700 se puede usar para disponer y/o mezclar un reactivo en una muestra mientras se mantiene el aislamiento fluido entre el recipiente y una región exterior. De esta manera, el procedimiento de identificación de células se puede realizar en un sistema cerrado y/o un ensayo homogéneo. Expresado de forma similar, en algunos modos de realización, el conjunto de recipiente 4700 se usa en procedimientos de identificación y/o detección de células que no implican la retirada de contenido del conjunto de recipiente 4700, la separación del contenido dentro del conjunto de recipiente 4700, el lavado del contenido dentro del conjunto de recipiente 4700 y/o el enjuague del contenido dentro del conjunto de recipiente 4700.

El conjunto de recipiente 4700 incluye una carcasa 4741, un primer accionador 4750, un segundo accionador 4760 y una cámara de reacción 4732. El conjunto de la carcasa 4741, el primer accionador 4750, el primer recipiente de reactivos 4780, el segundo accionador 4760 y el segundo recipiente de reactivos 4790 se pueden denominar "conjunto de tapa" o "conjunto de reactivos". La carcasa 4741 (y/o el conjunto de tapa) está acoplada de manera extraíble a la cámara de reacción 4732. Por ejemplo, como se muestra en la FIG. 10, la carcasa 4741 se puede acoplar de manera roscada a una parte proximal de la cámara de reacción 4732. En otros modos de realización, la carcasa 4741 y la cámara de reacción 4732 pueden formar un ajuste con apriete para acoplar la carcasa 4741

a la cámara de reacción 4732. Por tanto, la carcasa 4741 (o conjunto de tapa) se puede conservar por separado y/o separar de la cámara de reacción 4732. De esta manera, un usuario puede disponer a continuación una muestra en la cámara de reacción 4732 de acuerdo con los procedimientos descritos en el presente documento (y en la solicitud '461), y, a continuación puede montar la carcasa 4741 (o conjunto de tapa) en la cámara de reacción 4732 (o "tubo") y completar las etapas para la identificación de células, como se describe en el presente documento.

La carcasa 4741 define un primer volumen de reactivos 4742 configurado para recibir un primer recipiente de reactivos 4780 y un segundo volumen de reactivos 4744 configurado para recibir un segundo recipiente de reactivos 4790. La carcasa 4741 incluye un primer perforador 4792, un segundo perforador 4794, una primera parte de administración 4770 y una segunda parte de administración 4772. La carcasa 4741, el primer perforador 4792 y el segundo perforador 4794 están construidos monolíticamente. También se divulga que la carcasa 4741, la primera parte de administración 4770, la segunda parte de administración 4772, el primer perforador 4792 y/o el segundo perforador 4794 se pueden formar por separado y, a continuación unir entre sí.

Las FIGS. 12-14 muestran una vista de una parte interna de la carcasa 4741, una vista lateral en sección transversal tomada a lo largo de la línea X-X en la FIG. 12, y una vista detallada de la vista lateral en sección transversal mostrada en la FIG. 13, respectivamente. Como se muestra, la carcasa 4741 define un primer volumen de reactivos 4742 configurado para recibir el primer recipiente de reactivos 4780 (no mostrado) y un segundo volumen de reactivos 4744 configurado para recibir el segundo recipiente de reactivos 4790 (no mostrado). Además, como se muestra, la primera parte de administración 4770 define una primera vía de administración 4771 en comunicación fluida con el primer perforador 4792. De forma similar, la segunda parte de administración 4772 define una segunda vía de administración 4773 en comunicación fluida con el segundo perforador 4794.

El primer perforador 4792 y/o el segundo perforador 4794 están configurados para perforar (por ejemplo, romper) la primera parte frangible 4788 del recipiente de reactivos 4780 (no mostrada en la FIG. 12) y la segunda parte frangible del recipiente de reactivos 4790 (no mostrada en la FIG. 12), respectivamente, para transportar reactivo desde el recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790 a la cámara de reacción 4732. Por tanto, el perforador 4792 y el perforador 4794 incluyen una punta afilada, un borde afilado y/o una protuberancia, como se muestra, para perforar el recipiente de reactivos 4780 y el recipiente de reactivos 4790, respectivamente. Además, el primer perforador 4792 define una primera serie de vías de transferencia 4793 en comunicación fluida con el primer volumen de reactivos 4742, y el segundo perforador 4794 define una segunda serie de vías de transferencia 4795 en comunicación fluida con el segundo volumen de reactivos 4744. En particular, cada una de la primera serie de vías de transferencia 4793 y la segunda serie de vías de transferencia 4795 incluye cuatro canales separados a intervalos de aproximadamente 90 grados alrededor del punto central del perforador respectivo. Por tanto, como se muestra, la inclusión de la primera serie de vías de transferencia 4793 y/o la segunda serie de vías de transferencia 4795 produce una conformación de sección transversal discontinua en el primer perforador 4792 y el segundo perforador, respectivamente 4794. Cuando el primer perforador 4792 perfora el primer recipiente de reactivos 4780, la primera serie de vías de transferencia 4793 proporciona vías a través de las cuales puede fluir el contenido del recipiente de reactivos 4780. De forma similar, cuando el segundo perforador 4794 perfora el segundo recipiente de reactivos 4790, la segunda serie de vías de transferencia 4795 proporciona vías a través de las cuales puede fluir el contenido del recipiente de reactivos 4790. Además, la disposición de la primera serie de vías de transferencia 4793, la segunda serie de vías de transferencia 4795, la conformación de sección transversal del primer perforador 4792 y/o la conformación de sección transversal del segundo perforador 4794 pueden limitar los atascos u obstrucciones que se pueden derivar de la perforación, proporcionando, por tanto, una administración más repetible del contenido del primer recipiente de reactivos 4780 y/o el segundo recipiente de reactivos 4790.

Como se muestra, el perforador 4792 y/o el perforador 4794 están dispuestos a lo largo de y/o alineados con una línea central axial del volumen de reactivos 4742 y el volumen de reactivos 4744, respectivamente. Expresado de forma similar, el perforador 4792 y el perforador 4794 están centrados con respecto al recipiente de reactivos 4780 y el recipiente de reactivos 4790, respectivamente. Dicha configuración promueve la administración repetible y sustancialmente completa del contenido desde el recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790, como se describe en el presente documento. En otros modos de realización, sin embargo, el perforador 4792 y/o el perforador 4794 pueden estar desplazados respecto a una línea central axial del volumen de reactivos 4742 y el volumen de reactivos 4744, respectivamente. En dichos modos de realización, por ejemplo, el desplazamiento se puede basar en una conformación, tamaño, pendiente y/o configuración de la primera parte de administración 4770, la segunda parte de administración 4772 y/o la cámara de reacción 4732. Por ejemplo, en algunos modos de realización, el perforador 4792 puede estar desplazado lateralmente hacia una parte lateral de la carcasa 4741. De forma similar, en algunos modos de realización, el perforador 4794 puede estar desplazado lateralmente hacia una parte lateral de la carcasa 4741. De esta manera, se puede propiciar que el contenido del recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790 fluya relativamente cerca de la parte de la pared lateral 4734, evitando, por tanto, la salpicadura y/o la turbulencia del contenido. Por tanto, en dichos modos de realización, un desplazamiento del perforador 4792 y/o el perforador 4794 puede proporcionar una administración eficaz, deseable y/o completa del contenido desde el recipiente de reactivos 4780 y el recipiente de reactivos 4790, respectivamente.

Aunque las configuraciones de sección transversal de la primera serie de vías de transferencia 4793 y la segunda serie de vías de transferencia 4795 se muestran en la FIG. 12 como curvas y/o semicirculares, en otros modos de realización, la primera serie de vías de transferencia 4793 y/o la segunda serie de vías de transferencia 4795 pueden tener cualquier conformación y configuración adecuadas, tales como, por ejemplo, una conformación helicoidal, una conformación cónica y/o similares. Además, aunque la conformación y/o el tamaño de la primera serie de vías de transferencia 4793 y/o la segunda serie de vías de transferencia 4795 se muestran en la FIG. 13 como que tienen una orientación vertical y un diámetro constante (área de sección transversal, área de flujo), en otros modos de realización, la primera serie de vías de transferencia 4793 y/o la segunda serie de vías de transferencia 4795 pueden tener cualquier orientación, configuración y tamaño adecuados. Por ejemplo, en algunos modos de realización, la primera serie de vías de transferencia 4793 y/o la segunda serie de vías de transferencia 4795 pueden tener áreas de sección transversal (o flujo) variables (por ejemplo, como una función de la distancia desde la punta de perforación) y/u orientaciones no verticales (por ejemplo, inclinadas). De esta manera, la primera serie de vías de transferencia 4793 y/o la segunda serie de vías de transferencia 4795 se pueden configurar para promover un caudal controlado y/o deseado de las sustancias que fluyen a través de ellas. Además, aunque la primera serie de vías de transferencia 4793 y la segunda serie de vías de transferencia 4795 se muestran cada una en la FIG. 12 como definiendo cuatro canales, en otros modos de realización, una vía de transferencia puede definir cualquier número adecuado de canales de transferencia.

Las FIGS. 13 y 14 muestran una vista en sección transversal y una vista en sección transversal en primer plano, respectivamente, de la carcasa 4741 mostrada en la FIG. 12. Como se muestra, la primera vía de administración 4771 está en comunicación fluida con la primera serie de vías de transferencia 4793, el primer volumen de reactivos 4742 y la cámara de reacción 4732. De forma similar, la segunda vía de administración 4773 está en comunicación fluida con la segunda serie de vías de transferencia 4795, el segundo volumen de reactivos 4744 y la cámara de reacción 4732. Como tal, la primera serie de vías de transferencia 4793 y la segunda serie de vías de transferencia 4795 están configuradas para colocar la cámara de reacción 4732 en comunicación fluida con la primera vía de administración 4771 y la segunda vía de administración 4773, respectivamente, y el volumen de reactivos 4742 y el volumen de reactivos 4744, respectivamente. De esta manera, el contenido del recipiente de reactivos 4780 se puede transportar desde el recipiente de reactivos 4780 a la cámara de reacción 4732 por medio del volumen de reactivo 4742, la primera serie de vías de transferencia 4793 y/o la primera vía de administración 4771. De forma similar, el contenido del recipiente de reactivos 4790 se puede transportar desde el recipiente de reactivos 4790 a la cámara de reacción 4732 por medio del volumen de reactivo 4744, la segunda serie de vías de transferencia 4795 y/o la segunda vía de administración 4773.

Además, aunque se muestra que la carcasa 4741 tiene una primera serie de vías de transferencia 4793 y una segunda serie de vías de transferencia 4795, en otros modos de realización, la carcasa 4741 puede tener (o definir) cualquier número adecuado de vías de transferencia y/o series de vías de transferencia. Aunque no se muestra, en algunos modos de realización, la primera serie de vías de transferencia 4793 (o una parte de la misma) y la segunda serie de vías de transferencia 4795 (o una parte de la misma) pueden estar en comunicación fluida entre sí. Por ejemplo, en algunos modos de realización, la primera serie de vías de transferencia 4793 y la segunda serie de vías de transferencia 4795 pueden estar en comunicación fluida entre sí por medio de una vía de cabecera de transferencia (no mostrada), en la que la vía de cabecera de transferencia está en comunicación fluida con la cámara de reacción 4732. En dichos modos de realización, por ejemplo, el contenido del primer recipiente de reactivos 4780 se puede comunicar (por ejemplo, mezclar) con el contenido del segundo recipiente de reactivos 4790 antes de alcanzar la cámara de reacción 4732 o una parte de la misma. Dicha disposición, en algunos modos de realización, puede promover la mezcla y/o minimizar la aireación, el exceso de pulverización y/o la turbulencia indeseable del contenido del recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790.

Con referencia a las FIGS. 11 y 16-18, el primer accionador 4750 tiene una primera parte de émbolo 4754 dispuesta dentro del primer volumen de reactivos 4742, y una primera parte de acoplamiento 4752. El segundo accionador 4760 (no mostrado en la FIG. 16) tiene una segunda parte de émbolo 4756 dispuesta dentro del segundo volumen de reactivos 4744, y una segunda parte de acoplamiento 4753. Aunque el accionador 4760 mostrado en la FIG. 16 se describe en el presente documento con referencia al accionador 4750 para facilitar la explicación, se debe entender que cualquier rasgo característico descrito con referencia al primer accionador 4750 se puede también, o de forma alternativa, aplicar al segundo accionador 4760, y viceversa.

La primera parte de acoplamiento 4752 del primer accionador 4750 está configurada para manipularla para mover la primera parte de émbolo 4754 dentro del primer volumen de reactivos 4742 para deformar el primer recipiente de reactivos 4780. La segunda parte de acoplamiento 4753 del segundo accionador 4760 está configurada para manipularla para mover la segunda parte de émbolo 4756 dentro del segundo volumen de reactivos 4744 para deformar el segundo recipiente de reactivos 4790. De esta manera, el movimiento de la parte de émbolo 4754 puede empujar una parte frangible 4788 del primer recipiente de reactivos 4780 contra el perforador 4792 para perforar y/o romper la parte frangible 4788. De forma similar, el movimiento de la parte de émbolo 4756 puede empujar una parte frangible 4789 del segundo recipiente de reactivos 4790 contra el perforador 4794 para perforar y/o romper la parte frangible 4789. La parte de émbolo 4754 del accionador 4750 y una parte de la carcasa 4741 pueden definir conjuntamente un cierre para aislar de manera fluida y/u óptica el volumen de reactivos 4742 de un volumen fuera de la carcasa 4741. De forma similar, la parte de émbolo 4756 del accionador 4760 y una parte de

la carcasa 4741 pueden definir conjuntamente un cierre para aislar de manera fluida y/u óptica el volumen de reactivos 4744 de un volumen fuera de la carcasa 4741.

Además, aunque la parte de émbolo 4754 mostrada en la FIG. 16 tiene una superficie sustancialmente plana para ponerla en contacto con el recipiente de reactivos 4780, en otros modos de realización, la parte de émbolo 4754 puede ser de cualquier conformación, tamaño y/o configuración adecuados. Por ejemplo, en algunos modos de realización, la parte de émbolo 4754 puede corresponder (por ejemplo, compartir una conformación similar, funcionar cooperativamente) al recipiente de reactivos 4780 (por ejemplo, la parte de contacto del recipiente de reactivos) y/o el perforador 4792. Por ejemplo, en algunos modos de realización, la parte de émbolo 4754 puede ser curva (por ejemplo, cóncava) para emparejarse con una parte curva (por ejemplo, cóncava) del recipiente de reactivos 4780. De esta manera, la parte de émbolo 4754 y el recipiente de reactivos 4780 pueden funcionar conjunta y/o cooperativamente para limitar el volumen muerto. Además, dicha cooperación (por ejemplo, el emparejamiento) puede promover la administración repetible del contenido del recipiente de reactivos 4780. De forma similar, en algunos modos de realización, por ejemplo, la parte de émbolo 4754 puede ser curva para emparejarse con una parte curvada del perforador 4792. De esta manera, la parte de émbolo 4754 y el perforador 4792 pueden funcionar conjunta y/o cooperativamente para limitar el volumen muerto. Además, dicha cooperación (por ejemplo, el emparejamiento) puede promover la administración repetible del contenido de los recipientes de reactivos 4780.

Como se muestra en la FIG. 15, el recipiente de reactivos 4780 tiene una pared lateral 4786 y una parte frangible 4788, que conjuntamente definen un volumen interno. El volumen interno se puede llenar completa o parcialmente con un reactivo y/o sustancia, como se describe en el presente documento. Además, el recipiente de reactivos 4780 tiene un faldón 4781 (denominado "primer faldón"), una parte de contacto 4782 (denominada "primera parte de contacto") y una parte frangible 4788 (denominada "primera parte frangible"). El faldón 4781 rodea al menos una parte de la parte frangible 4788. En algunos modos de realización, la pared lateral 4786 también puede ser frangible. El recipiente de reactivos 4790 tiene un faldón 4791 (denominado "segundo faldón"), una parte de contacto 4792 (denominada "segunda parte de contacto") y una parte frangible 4789 (denominada "segunda parte frangible"). El segundo faldón 4791 rodea al menos una parte de la segunda parte frangible 4789. Cabe destacar que, aunque el recipiente de reactivos mostrado en la FIG. 15 se describe con referencia al recipiente de reactivos 4780 para facilitar la explicación, cualquier rasgo característico descrito con referencia al recipiente de reactivos 4780 se puede también, o de forma alternativa, aplicar al recipiente de reactivos 4790 y viceversa.

El primer faldón 4781 y/o el segundo faldón 4791 pueden ser de cualquier tamaño y/o conformación adecuados, y pueden incluir cualquier diseño de superficie adecuado (por ejemplo, liso, rugoso y/o similar). Por ejemplo, en algunos modos de realización, el primer faldón 4781 y/o el segundo faldón 4791 se pueden dimensionar y/o conformar para corresponder a una parte de la carcasa 4741. La primera parte de contacto 4782 del recipiente de reactivos 4780 y/o la segunda parte de contacto 4792 del recipiente de reactivos 4790 pueden ser de cualquier tamaño y/o conformación adecuados. Por ejemplo, en algunos modos de realización, la primera parte de contacto 4782 y/o la segunda parte de contacto 4792 se pueden dimensionar y/o conformar para corresponder al primer accionador 4750 y/o al segundo accionador 4760, respectivamente. Por ejemplo, en dichos modos de realización, la primera parte de contacto 4782 y/o la segunda parte de contacto 4792 pueden incluir una parte cóncava, y el primer accionador 4750 y/o el segundo accionador 4760 se pueden dimensionar y/o conformar para corresponder a la parte cóncava de la primera parte de contacto 4782 y/o la parte cóncava de la segunda parte de contacto 4792, respectivamente. De esta manera, el recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790 se pueden configurar para promover la dispensación sustancialmente completa de sus contenidos respectivos (por ejemplo, reactivos, sustancias, etc.) y/o promover una vía preferente para que los contenidos se desplacen desde el recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790 cuando se perforan el recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790.

El recipiente de reactivos 4780 se conforma y dimensiona para que se disponga sustancialmente en el interior del primer volumen de reactivos 4742. El recipiente de reactivos 4790 se conforma y dimensiona para que se disponga sustancialmente en el interior del primer volumen de reactivos 4744. Como se ilustra mejor en las FIGS. 17 y 18, el recipiente de reactivos 4780 se puede mantener en una posición deseada mediante un ajuste con apriete entre el primer faldón 4781 y una parte de la carcasa 4741. De forma similar, el recipiente de reactivos 4790 se puede mantener en una posición deseada mediante un ajuste de apriete entre el segundo faldón 4791 y una parte de la carcasa 4741. De esta manera, una posición deseada del recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790 se puede mantener sustancialmente con respecto a la carcasa 4741 durante el uso.

Aunque no se muestra que el conjunto de recipiente 4700 incluya un miembro de bloqueo, en algunos modos de realización, el conjunto de recipiente 4700 puede incluir un miembro de bloqueo similar al miembro de bloqueo 2772 mostrado y descrito anteriormente con referencia a la FIG. 5. En dichos modos de realización, el recipiente de reactivos 4780 se puede mantener en una posición deseada por el miembro de bloqueo (no mostrado) y por un ajuste de apriete entre el primer faldón 4781 y una parte de la carcasa 4741 y/o una parte del miembro de bloqueo. De forma similar, en dichos modos de realización, el recipiente de reactivos 4790 se puede mantener en una posición deseada por el miembro de bloqueo (no mostrado) y por un ajuste de apriete entre el segundo faldón 4791 y una parte de la carcasa 4741 y/o una parte del miembro de bloqueo.

El recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790 pueden tener cualquier tamaño y/o volumen adecuados. Por ejemplo, en algunos modos de realización, el recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790 pueden tener un volumen interno de aproximadamente 400 µl cuando están en la configuración expandida. En dichos modos de realización, el recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790 pueden contener inicialmente de aproximadamente 300 µl a aproximadamente 350 µl (y más en particular, aproximadamente 325 µl) de cualquiera de los reactivos descritos en el presente documento. Por tanto, cuando el recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790 están en sus respectivas configuraciones expandidas, tienen un porcentaje de llenado de aproximadamente un 75 por ciento a aproximadamente un 88 por ciento. El recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790 están configurados, junto con sus respectivos émbolos y partes de la carcasa, de modo que, cuando están en sus respectivas configuraciones plegadas, el volumen dispensado sea de aproximadamente 250 µl a aproximadamente 300 µl (y más en particular, aproximadamente 285 µl). De forma similar, cuando el recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790 están en sus respectivas configuraciones plegadas, tienen un porcentaje de dispensación de entre aproximadamente un 76 por ciento y aproximadamente un 92 por ciento.

El primer recipiente de reactivos 4780 y el segundo recipiente de reactivos 4790 se pueden llenar completa o parcialmente con cualquier reactivo o sustancia adecuados. En algunos modos de realización, el primer recipiente de reactivos 4780 y el segundo recipiente de reactivos 4790 pueden incluir el mismo contenido (por ejemplo, el mismo reactivo). En otros modos de realización, el primer recipiente de reactivos 4780 y el segundo recipiente de reactivos 4790 pueden incluir contenidos desiguales (por ejemplo, el primer recipiente de reactivos 4780 contiene un primer reactivo y el segundo recipiente de reactivos contiene un segundo reactivo diferente del primer reactivo). En algunos modos de realización, por ejemplo, el recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790 pueden contener partículas de transducción que incluyen un ácido nucleico genomanipulado formulado para provocar que la célula diana (por ejemplo, bacterias) produzca una o más moléculas indicadoras. En algunos modos de realización, el recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790 pueden contener una o más partículas de transducción genomanipuladas para que no puedan realizar su replicación (por ejemplo, replicación lítica, replicación lisógena). Por ejemplo, en algunos modos de realización, el recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790 pueden contener cualquiera de las partículas de transducción descritas en el presente documento y en las publicaciones de EE. UU. n.ºs 2015/0218613; 2014/0272928; 2015/0104787, y la solicitud de patente internacional n.º WO/2014/160418.

En algunos modos de realización, el recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790 pueden contener un reactivo formulado para reaccionar con una o más moléculas indicadoras para generar y/o potenciar la producción de una señal. Para otro ejemplo, el recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790 pueden incluir un sustrato de luciferasa, tal como tridecanal, que puede interactuar con una molécula indicadora (por ejemplo, luciferasa), para producir una señal mensurable, por ejemplo, por medio de una reacción de luminiscencia. Para aún otro ejemplo, en algunos modos de realización, el recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790 pueden incluir un nutriente, un antibiótico (por ejemplo, betalactámicos, betalactámicos de espectro ampliado, aminoglucósidos, ansamicinas, carbacefémicos, carbapenémicos, cualquier generación de cefalosporinas, glucopéptidos, lincosamidas, lipopéptido, macrólidos, monobactámicos, nitrofuranos, oxazolidononas, penicilinas, polipéptidos, quinolonas, fluoroquinolonas, sulfonamidas, tetraciclinas, antibióticos micobacterianos, cloranfenicol, mupirocina), un reactivo de lisis, un reactivo de esterilización, un colorante y/o similares.

El recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790 se pueden construir de cualquier material adecuado que tenga cualquier dimensión adecuada. El grosor de la pared lateral del recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790 puede ser, por ejemplo, entre aproximadamente 0,254 mm (0,010 pulgadas) y 0,508 mm (0,020 pulgadas). Además, el recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790 se pueden construir de materiales que son sustancialmente impermeables y/o sustancialmente inertes químicamente a la(s) sustancia(s) contenida(s) en los mismos, por ejemplo, partícula de transducción, sustrato, antibióticos, tampones, tensioactivos o cualquier otro reactivo que se pueda usar con el ensayo de detección. Al menos una parte del recipiente de reactivos 4780 (por ejemplo, la parte frangible 4788) y/o al menos una parte del recipiente de reactivos 4790 (por ejemplo, la parte frangible 4789) se puede construir de un material (por ejemplo, una película de polímero, tal como cualquier forma de polipropileno) que tenga determinadas características de temperatura de modo que las propiedades e integridad deseadas se mantengan durante una determinada temperatura. Por ejemplo, en algunos casos, puede ser deseable conservar el recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790 que contienen reactivo y/o sustrato en un estado refrigerado. En algunos modos de realización, una parte del recipiente de reactivos 4780 y/o una parte del recipiente de reactivos 4790 se puede construir de polipropileno orientado biaxialmente (BOP). En algunos modos de realización, una parte del recipiente de reactivos 4780 y/o una parte del recipiente de reactivos 4790 se puede construir de aluminio. En algunos modos de realización, una parte del recipiente de reactivos 4780 y/o una parte del recipiente de reactivos 4790 se puede construir de poli(cloruro de vinilo) (PVC), etileno-alcohol vinílico (EVOH), polietileno (PE), policlorotrifluoroetileno (PCTFE o PTFCE), un copolímero de calidad farmacéutica, una película de copolímero de olefina cíclica, Tekniflex, COC P12P, laminación de película de PCTFE y/o Tekniflex VA10200.

Por ejemplo, en algunos modos de realización, el recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790 se pueden construir de PVC que tiene un laminado de polietileno EVOH en la superficie interna de las paredes laterales. De esta manera, el laminado puede funcionar como una barrera al oxígeno para preservar los reactivos contenidos dentro del recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790. En algunos modos de realización, una superficie externa puede incluir un recubrimiento de PCTFE para funcionar como una barrera contra la humedad. En algunos modos de realización, la parte frangible 4788 y/o la parte frangible 4789 están selladas por soldadura a las paredes laterales. Además, en algunos modos de realización, la parte frangible 4788 y/o la parte frangible 4789 pueden estar desprovistas de los recubrimientos para proporcionar suficiente "perforabilidad" o una resistencia a la rotura mínima para un funcionamiento repetible. En otros modos de realización, la parte frangible 4788 y/o la parte frangible 4789 pueden incluir un recubrimiento de laca.

La cámara de reacción 4732 se puede acoplar de manera extraíble a la carcasa 4741. Como se muestra, la cámara de reacción 4732 está acoplada de manera roscada a la carcasa 4741. En otros modos de realización, sin embargo, la cámara de reacción 4732 puede formar un ajuste de apriete para acoplar la cámara de reacción 4732 a la carcasa 4741. La cámara de reacción 4732 incluye una parte de pared lateral 4734 y una parte distal (incluyendo una superficie inferior) 4736, y puede ser cualquier cámara adecuada para contener una muestra clínica (por ejemplo, una muestra de un paciente) de una manera que permita la vigilancia, identificación y/o detección de una célula diana (por ejemplo, bacterias) dentro de la muestra. En algunos modos de realización, al menos una parte de la cámara de reacción 4732, tal como la parte distal 4736, puede ser sustancialmente transparente, por ejemplo, para permitir la visualización y/o la vigilancia óptica del contenido que contiene la misma. En algunos modos de realización, una parte de la cámara de reacción 4732 (por ejemplo, una parte distal) puede ser sustancialmente transparente, mientras que el resto de la cámara de reacción 4732 puede ser sustancialmente opaco. De esta manera, la cámara de reacción 4732 se puede configurar para transportar luz a través de la parte sustancialmente transparente de la cámara de reacción 4732, pero bloquear la luz en la parte sustancialmente opaca de la cámara de reacción 4732. En algunos modos de realización, la parte de pared lateral 4734 de la cámara de reacción 4732 puede incluir un recubrimiento para permitir la transmisión óptima de luz a través de la parte distal 4736 de la cámara de reacción 4732. En algunos modos de realización, el recubrimiento puede ser cualquier material adecuado configurado para bloquear y/o reflejar la luz, por ejemplo, un marcador. En particular, en algunos modos de realización, el marcador puede ser un marcador blanco para reflejar la luz. Además, en algunos modos de realización, la parte distal 4736 de la cámara de reacción 4732 se puede pulir para promover la transmisión óptima de la luz a través de la misma.

Las FIGS. 17 y 18 muestran una vista lateral en sección transversal del conjunto de recipiente 4700 en una primera configuración (FIG. 17) y una segunda configuración (FIG. 18), respectivamente. Como se muestra, la parte distal 4736 de la cámara de reacción 4732 incluye una superficie inferior sustancialmente plana. La superficie inferior plana promueve la administración de luz sustancialmente uniforme a través de la misma. Específicamente, en uso, la luz se puede transmitir a través de la parte distal 4736 de manera sustancialmente uniforme a un detector. Expresado de forma similar, esta disposición permite una "lectura desde abajo" del conjunto de recipiente 4732 por el detector (por ejemplo, cualquier detector descrito en el presente documento y en la solicitud '461). Además, en uso, dicha superficie sustancialmente plana en la parte distal 4736 puede dar como resultado que el conjunto de recipiente 4700 se coloque constantemente más cerca y/o en contacto con una ventana de detección óptica en un instrumento. De esta manera, dicha configuración puede minimizar la distancia en la vía de señales entre la producción de la señal y la detección de la señal y/o minimizar una interfase entre los medios dialécticos emparejados erróneamente en la vía de señales, ambos de los cuales pueden contribuir a la pérdida de señal que llega al sensor, por ejemplo, debido a la dispersión de la luz y/o la refracción de la luz. Además, en algunos modos de realización, por ejemplo, la superficie plana se puede configurar para ponerse en contacto con la ventana de detección óptica. Además, como se muestra en las FIGS. 17 y 18, la parte de la pared lateral 4734 de la cámara de reacción 4732 es cónica. Expresado de forma similar, una superficie de la parte de pared lateral 4734 no es paralela a una línea central longitudinal definida por la cámara de reacción 4732. La configuración cónica promueve el flujo de contenido desde el recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790 a lo largo de la parte de pared lateral 4734. Como tal, la turbulencia, la salpicadura, la producción de burbujas, la aireación, y/o similares, del contenido se pueden limitar, y las lecturas ópticas posteriores pueden ser más exactas que si la muestra contiene dichas burbujas, aireación o similares. En particular, una parte de salida de la primera vía de administración 4771 y una parte de salida de la segunda vía de administración 4773 definen cada una un eje de salida (el eje EE y el eje FF, respectivamente) que cruza la parte de pared lateral 4734 de la cámara de reacción 4732, como se muestra en la FIG. 17. Por tanto, en uso, el contenido del recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790 pueden fluir desde la primera vía de administración 4771 y/o la segunda vía de administración 4773, respectivamente, a la parte de pared lateral 4734 a lo largo de su respectivo eje de salida. Además, como se muestra, la intersección de cada eje de salida (es decir, el eje EE y el eje FF) y la parte de pared lateral 4734 se produce por encima de la línea de llenado prevista 4738 (o línea de llenado nominal), evitando y/o limitando, por tanto, las salpicaduras, la turbulencia o similares, del contenido a medida que el contenido se mueve desde el recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790 a la cámara de reacción 4732. Aunque la parte de pared lateral 4734 de la cámara de reacción 4732 se muestra como cónica de modo que cada eje de salida intercepta la parte de pared lateral 4734 en una parte de la mitad superior de la cámara de reacción 4732, en otros modos de realización, la parte de pared lateral 4734 puede ser cónica (o estar en ángulo) en cualquier grado adecuado. En algunos modos de realización, la parte de pared lateral 4734 puede ser cónica (con respecto

a la línea central longitudinal) en aproximadamente un grado. En otros modos de realización, la parte de pared lateral 4734 puede ser cónica (con respecto a la línea central longitudinal) en menos de 5 grados. De forma similar, aunque se ilustra que la línea de llenado nominal 4738 está ubicada cerca de la parte media de la cámara de reacción 4736, en otros modos de realización, la línea de llenado nominal puede estar ubicada en cualquier nivel adecuado (por ejemplo, como una función, un ángulo asociado con la parte de pared lateral 4734 y/o cualquiera de los ejes de salida).

La cámara de reacción 4732 se puede construir de cualquier material adecuado, por ejemplo, vidrio, plástico (por ejemplo, polipropileno), acrílico, etc. En algunos modos de realización, la cámara de reacción 4732 puede ser esterilizable con rayos gamma. En algunos modos de realización, la cámara de reacción 4732 puede ser un recipiente disponible comercialmente, por ejemplo, un tubo de centrifuga, un tubo Eppendorf®, un vial de vidrio, un vial/tubo de fondo plano, un vial/tubo de fondo redondo, o cualquier otro recipiente adecuado.

Como se muestra en la FIG. 17, el conjunto de recipiente 4700 está en una primera configuración. En la primera configuración, el primer accionador 4750 y el segundo accionador 4760 se sitúan de modo que el recipiente de reactivos 4780 y el recipiente de reactivos 4790 dispuestos dentro de la carcasa 4741 estén sustancialmente sin deformar. Expresado de forma similar, el primer accionador 4750 y el segundo accionador 4760 se sitúan de modo que no provoquen que el perforador 4752 y el perforador 4794 perforen el recipiente de reactivos 4780 y el recipiente de reactivos 4790, respectivamente. Por tanto, el conjunto de recipiente 4700 está en un estado "listo" cuando está en la primera configuración. En algunos modos de realización, el conjunto de recipiente 4700 puede incluir un mecanismo de seguridad (no mostrado) para evitar y/o limitar el movimiento del primer accionador 4750 y/o el segundo accionador 4760 con respecto a la carcasa 4741 hasta que el operario lo desee.

Para accionar el conjunto de recipiente 4700, se aplica una fuerza a la parte de acoplamiento 4752 del primer accionador 4750, y se aplica una fuerza a la parte de acoplamiento 4753 del accionador 4760, provocando, por tanto, que el primer accionador 4750 y el segundo accionador 4760 se muevan como se muestra por la flecha GG y HH, respectivamente, en la FIG. 17. Las fuerzas se pueden aplicar mediante cualquier instrumento adecuado, tales como los que se muestran y describen en la solicitud '461. Las fuerzas se pueden aplicar de forma sustancialmente simultánea o en diferentes momentos, de acuerdo con el ensayo deseado.

Más en particular, el primer accionador 4750 se manipula (por ejemplo, en la primera parte de acoplamiento 4752) para mover la primera parte de émbolo 4754 dentro de la carcasa 4741 de modo que la primera parte de émbolo 4754 se acopla a la parte de contacto 4782 del recipiente de reactivos 4780 para deformar parcialmente el recipiente de reactivos 4780 desde la primera configuración a la segunda configuración. Cuando la primera parte de émbolo 4754 se acopla al recipiente de reactivos 4780, el primer perforador 4792 perfora una parte del recipiente de reactivos 4780 (por ejemplo, la parte frangible 4788) para transportar reactivo desde el recipiente de reactivos 4780 al primer volumen de reactivos 4742, la primera parte de administración 4770 y/o la cámara de reacción 4732. De forma similar, el segundo accionador 4760 se manipula (por ejemplo, en la segunda parte de acoplamiento 4753) para mover la segunda parte de émbolo 4756 dentro de la carcasa 4741 de modo que la segunda parte de émbolo 4756 se acopla a la segunda parte de contacto 4784 del recipiente de reactivos 4790 para deformar parcialmente el recipiente de reactivos 4790 desde la primera configuración a la segunda configuración. Cuando la segunda parte de émbolo 4756 se acopla al recipiente de reactivos 4790, el segundo perforador 4794 perfora una parte del recipiente de reactivos 4790 (por ejemplo, la parte frangible 4789) para transportar reactivo desde el recipiente de reactivos 4790 al segundo volumen de reactivos 4744, la segunda parte de administración 4772 y/o la cámara de reacción 4732.

Como se muestra en la FIG. 18, y con mayor detalle en la FIG. 19, el conjunto de recipiente 4700 está en una segunda configuración. En la segunda configuración, el primer accionador 4750 y el segundo accionador 4760 se sitúan de modo que el recipiente de reactivos 4780 y el recipiente de reactivos 4790 están sustancialmente deformados y/o plegados. Expresado de forma similar, el primer accionador 4750 y el segundo accionador 4760 se sitúan de modo que al menos partes de las fuerzas respectivas se transfieran al primer recipiente de reactivos 4780 y al segundo recipiente de reactivos 4790, respectivamente. En dicha configuración, como se muestra, el primer perforador 4792 ha perforado el recipiente de reactivos 4780 de modo que una cantidad deseada del contenido del recipiente de reactivos 4780 ha salido sustancialmente del recipiente de reactivos 4780, y entrado en la primera parte de administración 4770 y/o la cámara de reacción 4732, como se muestra por la flecha II. De forma similar, el segundo perforador 4794 ha perforado el recipiente de reactivos 4790 de modo que una cantidad deseada del contenido del recipiente de reactivos 4790 ha salido sustancialmente del recipiente de reactivos 4790, y entrado en la segunda parte de administración 4772 y/o la cámara de reacción 4732, como se muestra por la flecha JJ.

Cuando el recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790 se deforman, una cantidad deseada de su contenido se transporta a la cámara de reacción 4732 de una manera tal que el "volumen muerto" se limita y/o se elimina sustancialmente. Como se usa en el presente documento, el "volumen muerto" es el volumen de reactivo que se dispensa desde el recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790 pero que no se transporta a la cámara de reacción 4732. El volumen muerto puede incluir, por ejemplo, el volumen de las vías de administración y las vías de transferencia. En algunos modos de realización, el recipiente de reactivos 4780 y/o el

recipiente de reactivos 4790 se pueden configurar para limitar el volumen muerto en los mismos cuando se acciona el conjunto 4700. Por ejemplo, en algunos modos de realización, la parte de contacto 4782 y/o la parte de contacto 4784 se pueden configurar, junto con las correspondientes partes de acoplamiento del accionador 4750 y del accionador 4760, respectivamente, para deformarse de una manera controlada que reduce el volumen muerto. De esta manera, el recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790 se pueden configurar para promover una dispensación constante y/o repetible de su contenido (por ejemplo, reactivos)

En algunos modos de realización, el conjunto de tapa (es decir, el recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790 junto con sus respectivos émbolos y partes de la carcasa) se configura de modo que el "volumen muerto" esté entre aproximadamente 30  $\mu\text{l}$  y aproximadamente 50  $\mu\text{l}$ . En algunos modos de realización, el conjunto de tapa está configurado de modo que el "volumen muerto" es aproximadamente 40  $\mu\text{l} \pm 9 \mu\text{l}$ . Al limitar la variación de parte a parte en el volumen muerto, se puede mejorar la exactitud de la administración de reactivos y, por tanto, la exactitud del ensayo. En algunos modos de realización, por ejemplo, el conjunto de tapa está configurado de modo que el volumen dispensado sea de aproximadamente 285  $\mu\text{l}$ , con un coeficiente de variación de aproximadamente un tres por ciento.

Como se describe en el presente documento, en algunos modos de realización, un conjunto de recipiente (por ejemplo, el conjunto de recipiente 4700 o cualquier otro conjunto de recipiente descrito en el presente documento) puede contener una muestra de un paciente que potencialmente contiene una célula (por ejemplo, bacterias) que se va a detectar usando los procedimientos, instrumentos y/o cualquiera de los componentes descritos en el presente documento y en la solicitud '461. La muestra puede ser una muestra humana (por ejemplo, un hisopado nasal, un hisopado mucoso, una muestra de saliva, una muestra de sangre, una muestra de orina, una muestra fecal, una biopsia de tejido, médula ósea y/o líquido cefalorraquídeo), una muestra veterinaria, una muestra de alimentos, una muestra de plantas y/o una muestra ambiental. En algunos modos de realización, la muestra puede ser una muestra bruta, cruda o sustancialmente no procesada de otro modo.

En algunos modos de realización, se puede proporcionar y/o usar un kit para realizar dichos procedimientos. Por ejemplo, la FIG. 20 ilustra un kit 4000, de acuerdo con un modo de realización. Como se muestra, el kit 4000 incluye un conjunto de recipiente de transporte 4010, un miembro de transferencia 4030 y el conjunto de recipiente 4700. Aunque se muestra que incluye el conjunto de recipiente 4700, en otros modos de realización, un kit puede incluir cualquiera de los conjuntos de recipiente y/o conjuntos de tapa como se muestra y describe en el presente documento.

El conjunto de recipiente de transporte 4010 (también denominado "conjunto de recogida") incluye un colector de muestras 4020, una tapa de transporte 4012 y una cámara de transporte 4014. La tapa de transporte 4012 se puede acoplar de manera extraíble a la cámara de transporte 4014 para formar un cierre sustancialmente estanco a fluidos. Por ejemplo, en algunos modos de realización, la tapa de transporte 4012 se puede acoplar de manera roscada a la cámara de transporte 4014. En otros modos de realización, la tapa de transporte 4012 y la cámara de transporte 4014 pueden formar un ajuste de apriete, ajuste a presión, presilla y/o cualquier otro ajuste adecuado para acoplar la tapa de transporte 4012 a la cámara de transporte 4014.

La cámara de transporte 4014 puede tener cualquier tamaño y/o conformación adecuados, y se puede construir de cualquier material adecuado. La cámara de transporte 4014 define un volumen de transporte 4016 dentro del cual se puede disponer la muestra. En algunos modos de realización, la cámara de transporte 4014 puede incluir dentro del volumen de transporte 4016 un medio de transporte, solución y/o reactivo (no identificado en la FIG. 20). El medio de transporte puede incluir, por ejemplo, un medio de nutrientes bacterianos, medios selectivos de organismos, tampones, tensioactivos o cualquier otro componente para facilitar el crecimiento y/u optimizar la salud de la muestra del paciente (por ejemplo, bacterias diana), la producción de moléculas indicadoras dentro de las bacterias diana, la detección de bacterias y/o similares. En algunos modos de realización, el medio de transporte puede incluir, por ejemplo, un nutriente bacteriano y/o medios de crecimiento (por ejemplo, medio no definido, medio definido, medio diferencial, medio mínimo, medio selectivo, etc.) para permitir que las bacterias crezcan y se multipliquen, un tampón para mantener el pH (por ejemplo, Amies, PBS, HEPES, TRIS, TAPSO, bicina, MES, MOPS, tricina, PIPES, SSC, ácido succínico, etc.) y/o un tensioactivo (por ejemplo, Tween 20, Tween 80, TritonX, X-114, CHAPS, DOC, NP-40 CTAB, SDS, etc.). En algunos modos de realización, el medio de transporte o la composición de transporte pueden estar dispuestos de antemano en el volumen interno 4016 o se pueden añadir después de que la muestra se transporte al recipiente. En algunos modos de realización, el medio de transporte puede estar dispuesto de antemano en la cámara de transporte 4014, pero se puede mantener selectivamente aislado de la muestra, por ejemplo, en un compartimento separado (no mostrado) dentro de la cámara de transporte 4014. Por ejemplo, en algunos modos de realización, el medio de transporte se puede conservar en la tapa de transporte 4012, de modo que la solución se pueda comunicar a la muestra del paciente a demanda y/o en un entorno de sistema cerrado.

En algunos modos de realización, el medio de transporte, el reactivo y/o la composición se pueden adaptar para potenciar el crecimiento, acortar la fase de latencia, sustentar y/o atacar una célula diana particular, por ejemplo, una bacteria. En algunos modos de realización, se pueden emplear versiones específicas de la solución para células diana y/o muestras específicas. Por ejemplo, una primera preparación de la solución se puede adaptar

para muestras de hisopados nasales que contienen SARM, una segunda preparación de la solución se puede adaptar para muestras de orina que contienen *E. coli*, una tercera preparación de la solución se puede adaptar para muestras de heces que contienen *C. difficile*, y similares.

5 El colector de muestras 4020 incluye una parte de eje 4022 y una parte de recogida 4024. La parte de eje 4022 está configurada para acoplarse (por ejemplo, de manera extraíble o sustancialmente permanente) a la tapa de transporte 4012. Por ejemplo, en algunos modos de realización, la parte de eje 4022 del colector de muestras 4020 se puede acoplar de manera extraíble a la tapa de transporte 4012 después de que el colector de muestras 4020 se haya usado para recoger una muestra de un paciente. En otros modos de realización, por ejemplo, la  
10 parte de eje 4022 puede permanecer acoplada a la tapa de transporte 4012 mientras que el colector de muestras 4020 se usa para recoger una muestra de un paciente. De esta manera, en algunos modos de realización, un usuario puede manejar el colector de muestras usando la tapa de transporte, mientras que en otros modos de realización, un usuario puede manejar el colector de muestras usando la parte de eje 4022.

15 El colector de muestras 4020 puede tener cualquier configuración y material adecuados para recoger una muestra de un paciente. Por ejemplo, en algunos modos de realización, el colector de muestras 4020 puede ser un hisopo (por ejemplo, un hisopo enrollado, un hisopo flocado, un hisopo de espuma, etc.). Además, en algunos modos de realización, el colector de muestras 4020 (y, más específicamente, la parte de recogida 4024) se puede configurar para liberar al menos una parte de la muestra del paciente en el medio de transporte. De esta manera, el colector de muestras 4020 puede liberar una muestra de un paciente en la cámara de transporte 4014 para su posterior  
20 transferencia al conjunto de recipiente 4700, como se describe en el presente documento.

En consecuencia, en algunos modos de realización, el colector de muestras 4020 está configurado para y/o  
25 construido de materiales formulados para maximizar la eficacia de la recogida de muestras y la eficacia de liberar la muestra recogida al conjunto de recipiente 4700 y/o la cámara de reacción 4732. Como respaldan los ejemplos proporcionados en el presente documento, en algunas situaciones, se ha determinado que los hisopos de espuma tienen un rendimiento mejor que los hisopos enrollados y/o flocados en un ensayo de cribado de SARM cuando el hisopo se transporta en un medio de ensayo (por ejemplo, por medio de una cámara de transporte 4014, con una microesfera de ensayo y tapa 4012). Aún en otros casos, se ha determinado que los hisopos de espuma y/o  
30 flocados tienen un rendimiento relativamente similar, y ambos son mejores que los hisopos enrollados, cuando el hisopo se transporta junto con la muestra dentro de la cámara de transporte 4014. En algunos casos, se ha determinado que los hisopos enrollados (por ejemplo, hisopos de rayón enrollados) y/o hisopos de dacrón, aunque tradicionalmente usados en diversos procedimientos de obtención de muestras, son deficientes para liberar la muestra del paciente (por ejemplo, bacterias) en un ensayo. En otros casos, se ha determinado que los hisopos  
35 flocados tienen un rendimiento mejor que los hisopos tradicionales (por ejemplo, hisopos enrollados) para liberar la muestra del paciente pero, en algunos casos, tienen un rendimiento deficiente en el ensayo. Dicho rendimiento deficiente, en algunos casos, se puede mitigar realizando determinados procedimientos de transporte. Dichos procedimientos de transporte pueden incluir transferir la muestra del paciente desde el hisopo del paciente a una cámara de reacción (por ejemplo, la cámara de reacción 4732) sin colocar el hisopo del paciente en la cámara de  
40 transporte 4014 (por ejemplo, transferir la muestra del paciente por medio de una herramienta de transferencia). De esta manera, en algunos casos, se ha determinado que los hisopos flocados pueden tener un rendimiento bueno en el ensayo. En otros casos, se ha determinado que los hisopos de espuma, aunque no usados típicamente en ensayos bacterianos, liberan las bacterias tan bien como los hisopos flocados y tienen un rendimiento bueno en el ensayo.

45 La herramienta de transferencia 4030 puede ser cualquier herramienta adecuada usada para transferir el medio de transporte y/o la muestra desde la cámara de transporte 4014 a una cámara de reacción (por ejemplo, la cámara de reacción 4732). Por ejemplo, en algunos modos de realización, la herramienta de transferencia 4030 puede ser una pipeta. En otros modos de realización, por ejemplo, la herramienta de transferencia 4030 puede ser un hisopo.  
50 Aún en otros modos de realización, por ejemplo, la herramienta de transferencia 4030 puede ser una jeringa. La herramienta de transferencia 4030 puede tener cualquier tamaño y conformación adecuados, y se puede construir de cualquier material adecuado.

La FIG. 21 es un diagrama de flujo que ilustra un procedimiento 4200 para recoger, transportar y someter a prueba  
55 una muestra de un paciente usando el kit 4000 o cualquier otro dispositivo mostrado y descrito en el presente documento. Como se muestra en 4210, una muestra de un paciente se recoge de un paciente (por ejemplo, por medio de una fosa nasal del paciente) usando el colector de muestras 4020. En 4220, el colector de muestras 4020 se coloca en el conjunto de recipiente de transporte 4010 de modo que la muestra del paciente se dispone dentro del volumen de transporte 4016 de la cámara de transporte 4014. En particular, el colector de muestras  
60 4020 se deposita dentro del volumen de transporte 4016, de modo que la parte de recogida 4024 se dispone dentro de cualquier medio de transporte dentro de la cámara de transporte 4014. La tapa de transporte 4012 se acopla a continuación a la cámara de transporte 401, dejando el colector de muestras 4020 dentro de la cámara de transporte 4014. De esta manera, la muestra del paciente se puede comunicar desde el colector de muestras 4020 (por ejemplo, desde la parte de recogida 2024) al volumen de transporte 4016 y/o el medio de transporte de la cámara de transporte 4014. En algunos modos de realización, las operaciones 4210 y 4220 se pueden producir en un punto de recogida, tal como, por ejemplo, un control de enfermería.

En 4230, al menos una parte de la muestra del paciente (por ejemplo, que incluye potencialmente las bacterias diana) y el medio de transporte se pueden comunicar desde el conjunto de recipiente de transporte 4010 y/o el colector de muestras 4020 por medio de la herramienta de transferencia 4030 (por ejemplo, una pipeta) a la cámara de reacción (por ejemplo, la cámara 4732). En algunos casos, la tapa de transporte 4012 se separa en primer lugar de la cámara de transporte 4014. Como tal, la herramienta de transferencia 4030 puede acceder a al menos una parte de la muestra del paciente dispuesta dentro de la cámara de transporte 4014. De esta manera, una bacteria diana se transfiere desde por medio de la herramienta de transferencia 4030 a la cámara de reacción 4732 del conjunto de recipiente 4700. Aunque se muestra como conjunto de recipiente 4700, se puede usar cualquier conjunto de recipiente adecuado (por ejemplo, el conjunto de recipiente 1700, 2700, 3700, etc.).

En 4250, el conjunto de recipiente 4700 que contiene células diana está dispuesto dentro de un instrumento de detección (por ejemplo, cualquier instrumento descrito en el presente documento y en la solicitud '461). El conjunto de recipiente 4700 se somete a continuación a los procedimientos de detección descritos en el presente documento y en la solicitud '461.

En algunos modos de realización, un procedimiento puede implicar el uso de un colector de muestras formulado para maximizar la eficacia de la recogida de muestras y/o la eficacia de liberar la muestra recogida en un conjunto de recipiente. Por ejemplo, la FIG. 22 es un diagrama de flujo de un procedimiento 200 de acuerdo con un modo de realización. Como se muestra en la FIG. 22, el procedimiento 200 incluye recibir un recipiente que contiene un hisopo y un medio de transporte, en 205. El hisopo puede ser similar a los colectores de muestras descritos en el presente documento, e incluye un eje que tiene una parte de recogida construida de material no enrollado. En algunos modos de realización, la parte de recogida se puede construir de un material que se monta electrostáticamente o se floca de otro modo (es decir, un hisopo flocado) o de un material de espuma, tal como un hisopo de punta de espuma de celda abierta. El medio de transporte incluye una muestra liberada de la parte de recogida.

En 210, el medio de transporte y la muestra se transfieren a una cámara de reacción. La cámara de reacción puede ser cualquier cámara de reacción descrita en el presente documento, tal como la cámara de reacción 4732. El medio de transporte y la muestra se pueden transferir por medio de cualquier mecanismo adecuado, tal como por medio del miembro de transferencia 4030 (por ejemplo, una pipeta).

El medio de transporte y una o más partículas de transducción asociadas con una célula diana se mezclan en la cámara de reacción, en 215. Las partículas de transducción pueden ser cualquier partícula de transducción descrita en el presente documento, y están genomanipuladas para incluir una molécula de ácido nucleico formulada para provocar que la célula diana produzca una o más moléculas indicadoras. En algunos modos de realización, las una o más partículas de transducción pueden ser no replicativas. En algunos modos de realización, las una o más partículas de transducción pueden estar desprovistas de una molécula indicadora de las una o más moléculas indicadoras. Aún en otros modos de realización, la molécula indicadora de las una o más moléculas indicadoras puede incluir una o más de una luciferasa bacteriana, una luciferasa eucariota, una proteína fluorescente, una enzima adecuada para detección colorimétrica, una proteína adecuada para inmunodetección, un péptido adecuado para inmunodetección o un ácido nucleico que funciona como un aptámero o que presenta actividad enzimática.

Las partículas de transducción se pueden añadir a y/o mezclar dentro de la cámara de reacción por cualquier mecanismo adecuado. En algunos modos de realización, las partículas de transducción se pueden incluir en el recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790 dentro de la carcasa 4741 (o conjunto de tapa) como se describe en el presente documento. En dichos modos de realización, las partículas de transducción se pueden añadir a y/o mezclar dentro de la cámara de reacción (por ejemplo, la cámara 4732) mediante la aplicación de una fuerza a un accionador (por ejemplo, el accionador 4750 y/o el accionador 4760), que, de este modo provoca que las partículas de transducción se transporten desde el recipiente de reactivos a la cámara de reacción como se describe en el presente documento. En algunos modos de realización, las partículas de transducción se pueden transportar de modo que el volumen muerto dentro del conjunto de tapa esté entre aproximadamente 30  $\mu\text{l}$  y aproximadamente 50  $\mu\text{l}$ . En algunos modos de realización, las partículas de transducción se pueden transportar de modo que el "volumen muerto" sea aproximadamente 40  $\mu\text{l} \pm 9 \mu\text{l}$ . En algunos modos de realización, las partículas de transducción se pueden transportar de modo que el volumen dispensado sea de aproximadamente 285  $\mu\text{l}$ , con un coeficiente de variación de aproximadamente un tres por ciento. Al limitar el volumen muerto y/o la variación de parte a parte en el volumen muerto, se puede mejorar la exactitud de la administración y, por tanto, la exactitud del ensayo.

En algunos modos de realización, las partículas de transducción se pueden transportar a la cámara de reacción de una manera que reduce la turbulencia generada en la misma. Por ejemplo, en algunos modos de realización, las partículas de transducción se pueden transportar de modo que impacten y/o se pongan en contacto con la pared lateral de la cámara de reacción como se describe en el presente documento. En otros modos de realización, las partículas de transducción se pueden transportar a una velocidad y/o un caudal para promover la mezcla y/o reducir la turbulencia. Por ejemplo, en algunos modos de realización, la mezcla de las partículas de transducción

incluye transportar las partículas de transducción a la cámara de reacción moviendo el accionador (por ejemplo, el accionador 4750) linealmente a una tasa de entre aproximadamente 63 mm por segundo y aproximadamente 81 mm por segundo. En algunos modos de realización, la mezcla de las partículas de transducción incluye transportar las partículas de transducción a la cámara de reacción moviendo el accionador (por ejemplo, el

5

accionador 4750) linealmente a una tasa de aproximadamente 72 mm por segundo.

En algunos modos de realización, la cámara de reacción puede contener un reactivo (por ejemplo, en forma seca que incluye forma de comprimido, y/o que incluye un antibiótico, como se describe en el presente documento) formulado para mezclarse con el medio de transporte. Los antibióticos se pueden seleccionar y/o formular para destruir otras cepas bacterianas no seleccionadas, por ejemplo, cepas no resistentes a fármacos, de manera que solo sobreviva la cepa resistente a fármacos. De esta manera, las moléculas indicadoras producidas se producen necesariamente por las cepas bacterianas seleccionadas restantes. En algunos modos de realización, el antibiótico/serie de antibióticos se puede disponer de antemano en la cámara de reacción (por ejemplo, en el medio de transporte, en forma secada por congelación y/o liofilizada o cualquier otra forma adecuada). En otros modos de realización, el antibiótico/serie de antibióticos se puede disponer en un compartimento separado (por ejemplo, en un recipiente de reactivos, tal como el recipiente de reactivos 4790), y se puede comunicar a la solución de muestra a demanda o en un momento predeterminado.

10

15

La mezcla del medio de transporte y las una o más partículas de transducción se mantiene a una temperatura de al menos 20 grados Celsius durante un período de aproximadamente ocho horas o menos para expresar las una o más moléculas indicadoras cuando la célula diana está presente en la muestra, en 220. En algunos modos de realización, la mezcla se puede mantener a aproximadamente 37 grados Celsius durante aproximadamente cuatro horas. Aún en otros modos de realización, la mezcla se puede mantener durante aproximadamente tres horas o menos, o aproximadamente 2 horas o menos. Aún en otros modos de realización, la mezcla se puede mantener y a cualquier temperatura adecuada, por ejemplo, entre el intervalo de aproximadamente 20 grados Celsius y aproximadamente 37 grados Celsius.

20

25

Se recibe una señal asociada con una cantidad de las una o más moléculas indicadoras, en 225. La señal puede ser cualquier señal adecuada que se produzca por determinadas moléculas indicadoras, tal como, por ejemplo, una señal óptica producida por una reacción de luminiscencia instantánea. En algunos modos de realización, la señal está asociada con la cantidad de moléculas indicadoras dentro de la muestra. En algunos modos de realización, la magnitud de la señal es independiente de la cantidad de partículas de transducción por encima de una cantidad predeterminada. Expresado de forma similar, en algunos modos de realización, la intensidad de la señal es sustancialmente independiente de la cantidad de partículas de transducción.

30

35

Aunque el kit 4000 incluye el conjunto de recipiente de transporte 4010, la herramienta de transferencia 4030 y el conjunto de recipiente 4700, en otros modos de realización, un kit puede incluir componentes adicionales y/o estar desprovisto de cualquiera de dichos componentes. Por ejemplo, en algunos modos de realización, un kit puede estar desprovisto de una herramienta de transferencia. En algunos modos de realización, un kit puede estar desprovisto de una herramienta de transferencia y una cámara de transporte. En dichos modos de realización, por ejemplo, un kit puede incluir una tapa de transporte (por ejemplo, la tapa de transporte 4012, un colector de muestras (por ejemplo, el colector de muestras 4020) y un conjunto de recipiente (por ejemplo, el conjunto de recipiente 4700 o cualquier otro conjunto de recipiente descrito en el presente documento). De esta manera, una muestra de una paciente recogida con y dispuesta en un colector de muestras se puede colocar dentro de una cámara de reacción (por ejemplo, la cámara de reacción 4732 o cualquier otra cámara de reacción descrita en el presente documento). En dichos modos de realización, por ejemplo, la tapa de transporte se puede acoplar de manera extraíble a la cámara de reacción. De esta manera, la tapa de transporte se puede retirar de la cámara de reacción, y la cámara de reacción se puede acoplar de manera extraíble a una carcasa (por ejemplo, la carcasa 4741 o cualquier otra carcasa o conjunto de tapa descrito en el presente documento). Aún en otros modos de realización, un kit puede incluir una tapa de transporte (por ejemplo, la tapa de transporte 4012), un colector de muestras (por ejemplo, el colector de muestras 4020) y una cámara de reacción (por ejemplo, la cámara de reacción 4732 o cualquier otra cámara de reacción descrita en el presente documento).

40

45

50

Aunque la FIG. 21 ilustra un procedimiento que incluye el conjunto de recipiente de transporte 4010 y una cámara de reacción separada, en otros modos de realización, una muestra de un paciente se puede comunicar desde el colector de muestras 4020 directamente a una cámara de reacción (por ejemplo, una cámara de reacción 4732) sin transferirla en primer lugar a un recipiente de transporte. En dichos modos de realización, la muestra del paciente se puede comunicar desde el colector de muestras 4020 directamente a la cámara de reacción 4732, sin el uso de la herramienta de transferencia 4030. En dichos modos de realización, la muestra del paciente se puede recoger en un sitio de recogida por medio del colector de muestras 4020 (por ejemplo, similar a la operación 4210 descrita anteriormente). A continuación, el colector de muestras 4020 se puede comunicar a la cámara de reacción 4732, o a cualquier otra cámara de reacción divulgada en el presente documento. De esta manera, la muestra del paciente se comunica desde el paciente a la cámara de reacción 4732. Una vez que al menos una parte de la muestra del paciente y/o el colector de muestras 4020 se disponen dentro de la cámara de reacción 4732, la tapa de transporte 4012 se puede acoplar de manera extraíble a la cámara de reacción 4732. Como tal, la muestra del paciente puede estar contenida y/o protegida conjuntamente por la tapa de transporte 4012, la cámara de reacción

55

60

65

4732 y/o el colector de muestras 4020. De esta manera, la muestra del paciente se puede conservar y/o transferir de forma segura desde el sitio de recogida a un sitio de prueba y/o de detección. Cuando se desee (por ejemplo, en preparación para la detección de células diana), la tapa de transporte 4012 se puede retirar de la cámara de reacción 4732, y la carcasa 4741 (o el conjunto de tapa) o cualquier otra carcasa descrita en el presente documento se puede acoplar de manera extraíble a la cámara de reacción 4732 para completar el ensayo.

En algunos modos de realización, la cámara de transporte 4014 y/o la cámara de reacción 4732 pueden contener un reactivo u otra composición formulada para mezclarse con la muestra para formar un medio de ensayo o solución. Dicho reactivo se puede incluir dentro de y/o una parte del medio de transporte, o de forma alternativa, puede ser una composición separada. Por ejemplo, en algunos modos de realización, la cámara de transporte 4014 y/o la cámara de reacción 4732 pueden incluir un comprimido liofilizado que se mantiene por separado del medio de transporte, y se mezcla con la muestra para formar un medio de ensayo. Por ejemplo, en algunos modos de realización, la cámara de transporte 4014 y/o la cámara de reacción 4732 pueden contener antibióticos (por ejemplo, ceftioxitina, oxacilina, cefotetán, amoxicilina, penicilina, eritromicina, azitromicina, cefalosporinas, carbapenémicos, aminoglucósidos, sulfonamidas, quinolonas, oxazolidinonas, etc.). La inclusión de antibióticos puede destruir o prevenir de otro modo la expresión y/o generación de una señal de una molécula indicadora de todas las bacterias susceptibles al fármaco, por ejemplo, en un ensayo de viabilidad y/o susceptibilidad de células bacterianas de los tipos mostrados y descritos en el presente documento. Los antibióticos se pueden seleccionar y/o formular para destruir otras cepas bacterianas no seleccionadas, por ejemplo, cepas no resistentes a fármacos, de manera que solo sobreviva la cepa resistente a fármacos. De esta manera, las moléculas indicadoras producidas se producen necesariamente por las cepas bacterianas seleccionadas restantes. En algunos modos de realización, el antibiótico/serie de antibióticos se puede disponer de antemano en el recipiente (por ejemplo, en la solución, en forma secada por congelación y/o liofilizada o cualquier otra forma adecuada). En otros modos de realización, el antibiótico/serie de antibióticos se puede disponer en un compartimento separado (por ejemplo, en el cuerpo o tapa del conjunto de recipiente), y se puede comunicar a la solución de muestra a demanda o en un momento predeterminado.

En algunos modos de realización, la cámara de reacción puede incluir colorante (por ejemplo, un tinte) junto con cualquier reactivo dispuesto en la misma. Dicho tinte se puede usar, por ejemplo, como un "control de procedimiento" para garantizar que el contenido del recipiente (por ejemplo, los reactivos) no se alteró y/o se vació antes de colocar la muestra en el mismo. De esta manera, si durante el uso un instrumento detecta color en la mezcla de muestra, se puede enviar una señal para indicar y/o confirmar que la sustancia reactiva secada estaba realmente dentro del recipiente. Si no se identifica y/o detecta ningún color, por ejemplo, el instrumento puede enviar una señal de error que indica que los reactivos deseados no estaban, de hecho, dentro del recipiente durante la prueba.

En particular, la FIG. 23 es un diagrama de flujo de un procedimiento 100 de acuerdo con un modo de realización. Como se muestra en la FIG. 23, el procedimiento 100 incluye disponer una muestra en una cámara de reacción (cualquiera de las cámaras de reacción descritas en el presente documento, por ejemplo, la cámara de reacción 4732), en 105. La cámara de reacción está empaquetada para contener un reactivo (por ejemplo, un reactivo secado, un reactivo liofilizado) formulado para mezclarse con la muestra para formar un medio de ensayo. En algunos modos de realización, el reactivo podría estar en forma de gránulos. En otros modos de realización, el reactivo se puede secar en el tubo (por ejemplo, adherido a una superficie interna de la cámara de reacción 4732). Además, en algunos modos de realización, el reactivo puede incluir un antibiótico y un colorante. En dichos modos de realización, el antibiótico se puede formular para inhibir la producción de una o más moléculas indicadoras en la parte del fenotipo celular, como se describe en el presente documento. En otros modos de realización, el reactivo puede incluir una sustancia formulada para inhibir la transferencia y/o el transporte de una señal detectable.

La muestra en la cámara de reacción se mezcla con una o más partículas de transducción asociadas con un fenotipo celular, en 110. Las partículas de transducción pueden estar contenidas en el recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790 y se pueden introducir en la muestra como se describe en el presente documento. Las una o más partículas de transducción están genomanipuladas para incluir una molécula de ácido nucleico formulada para provocar que el fenotipo celular produzca una o más moléculas indicadoras que puedan generar y/o producir una señal detectable. En algunos modos de realización, la señal detectable puede ser una señal óptica producida por una reacción de luminiscencia instantánea. En algunos modos de realización, las partículas de transducción pueden estar genomanipuladas para que no puedan realizar su replicación lítica y/o lisógena. En algunos modos de realización, las una o más partículas de transducción se pueden derivar de un bacteriófago. El reactivo está formulado para inhibir la señal detectable, inhibiendo la producción de composiciones que producen la señal o bien inhibiendo el transporte y/o la transmisión de la señal. En algunos modos de realización, por ejemplo, el reactivo está formulado para inhibir la producción de las una o más moléculas indicadoras en al menos una parte del fenotipo celular.

Las partículas de transducción se pueden añadir a y/o mezclar dentro de la cámara de reacción por cualquier mecanismo adecuado. En algunos modos de realización, las partículas de transducción se pueden incluir en el recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790 dentro de la carcasa 4741 (o conjunto de tapa) como se describe en el presente documento. En dichos modos de realización, las partículas de transducción se

pueden añadir a y/o mezclar dentro de la cámara de reacción (por ejemplo, la cámara 4732) mediante la aplicación de una fuerza a un accionador (por ejemplo, el accionador 4750 y/o el accionador 4760), que, de este modo provoca que las partículas de transducción se transporten desde el recipiente de reactivos al recipiente de reacción como se describe en el presente documento. En algunos modos de realización, las partículas de transducción se pueden transportar de modo que el volumen muerto dentro del conjunto de tapa esté entre aproximadamente 30  $\mu\text{l}$  y aproximadamente 50  $\mu\text{l}$ . En algunos modos de realización, las partículas de transducción se pueden transportar de modo que el "volumen muerto" sea aproximadamente  $40 \mu\text{l} \pm 9 \mu\text{l}$ . En algunos modos de realización, las partículas de transducción se pueden transportar de modo que el volumen dispensado sea de aproximadamente 285  $\mu\text{l}$ , con un coeficiente de variación de aproximadamente un tres por ciento. Al limitar el volumen muerto y/o la variación de parte a parte en el volumen muerto, se puede mejorar la exactitud de la administración y, por tanto, la exactitud del ensayo.

En algunos modos de realización, las partículas de transducción se pueden transportar a la cámara de reacción de una manera que reduce la turbulencia generada en la misma. Por ejemplo, en algunos modos de realización, las partículas de transducción se pueden transportar de modo que impacten y/o se pongan en contacto con la pared lateral de la cámara de reacción como se describe en el presente documento. En otros modos de realización, las partículas de transducción se pueden transportar a una velocidad y/o un caudal para promover la mezcla y/o reducir la turbulencia. Por ejemplo, en algunos modos de realización, la mezcla de las partículas de transducción incluye transportar las partículas de transducción a la reacción moviendo el accionador (por ejemplo, el accionador 4750) linealmente a una tasa de entre aproximadamente 63 mm por segundo y aproximadamente 81 mm por segundo. En algunos modos de realización, la mezcla de las partículas de transducción incluye transportar las partículas de transducción a la cámara de reacción moviendo el accionador (por ejemplo, el accionador 4750) linealmente a una tasa de aproximadamente 72 mm por segundo.

Se recibe una primera señal asociada con el reactivo, en 115. En algunos modos de realización, la primera señal puede ser una señal óptica asociada con un colorante incluido dentro del reactivo. En algunos modos de realización, la primera señal se puede asociar con un volumen del medio de ensayo dentro de la cámara de reacción. De esta manera, la primera señal puede indicar la presencia del reactivo. Cuando la primera señal indica la presencia del reactivo, la muestra y las una o más partículas de transducción se mantienen para expresar las una o más moléculas indicadoras cuando el fenotipo celular está presente en las mismas, en 120.

Se recibe una segunda señal asociada con una cantidad de las una o más moléculas indicadoras, en 125. La segunda señal es la señal detectable, y puede ser cualquier señal adecuada que se produzca por determinadas moléculas indicadoras, tal como, por ejemplo, una señal óptica producida por una reacción de luminiscencia instantánea. En algunos modos de realización, la segunda señal está asociada con la cantidad de moléculas indicadoras dentro de la muestra. En algunos modos de realización, la magnitud de la segunda señal es independiente de la cantidad de partículas de transducción por encima de una cantidad predeterminada. Expresado de forma similar, en algunos modos de realización, la intensidad de la segunda señal es sustancialmente independiente de la cantidad de partículas de transducción.

Además, en algunos modos de realización, la parte del fenotipo celular puede incluir un fenotipo bacteriano que es resistente a un antibiótico individualmente o en combinación con otro antibiótico. Un antibiótico puede incluir uno o más de betalactámicos, betalactámicos de espectro ampliado, aminoglucósidos, ansamicinas, carbacefémicos, carbapenémicos, cualquier generación de cefalosporinas, glucopéptidos, lincosamidas, lipopéptido, macrólidos, monobactámicos, nitrofuranos, oxazolidononas, penicilinas, polipéptidos, quinolonas, fluoroquinolonas, sulfonamidas, tetraciclinas, antibióticos micobacterianos, cloranfenicol o mupirocina. En algunos modos de realización, la parte del fenotipo celular puede incluir un fenotipo bacteriano que es resistente a uno o más de cefoxitina, vancomicina, teicoplanina, ampicilina/sulbactam, ciprofloxacino, meropenem, ceftazidima, ceftriaxona, piperacilina/tazobactam o gentamicina.

En algunos modos de realización, el procedimiento 100 puede incluir disponer una sustancia en la muestra. La sustancia está formulada para reaccionar con las una o más moléculas indicadoras para potenciar la segunda señal. Por ejemplo, en algunos modos de realización, la molécula indicadora puede ser luciferasa y el procedimiento 100 puede emplear el conjunto de tapa y/o la carcasa 4741 descritos anteriormente. En dichos modos de realización, el recipiente de reactivo 4780 y/o el recipiente de reactivo 4790 pueden contener un reactivo de aldehído formulado para desencadenar, iniciar y/o catalizar una reacción de luminiscencia que se puede detectar mediante la producción de la señal. En algunos modos de realización, el reactivo puede incluir un aldehído de 6 carbonos (hexanal), un aldehído de 13 carbonos (tridecanal) y/o un aldehído de 14 carbonos (tetradecanal), incluidos todos los aldehídos de longitud de la cadena de carbono variable entre los mismos. En algunos modos de realización, el conjunto 4700 se puede configurar para mantener el reactivo adicional en aislamiento fluido de la muestra antes de disponerlo en la muestra. De esta manera, se puede controlar el momento de la administración del reactivo adicional en la muestra. En algunos modos de realización, el sistema puede incluir un mecanismo (por ejemplo, un mecanismo para aplicar una fuerza al accionador 4750 y/o al accionador 4760 para añadir el reactivo adicional en cualquier momento adecuado y/o de cualquier manera adecuada para inducir la señal detectable. Por ejemplo, como se describe con más detalle en el presente documento, en algunos modos de realización, el sistema

y/o el recipiente de pruebas pueden incluir un mecanismo para transportar un reactivo adicional a la muestra a una velocidad (o caudal) predeterminada para promover el nivel deseado de mezcla.

Por ejemplo, en algunos modos de realización, el reactivo y/o el sustrato se puede transportar de modo que impacte y/o se ponga en contacto con la pared lateral de la cámara de reacción como se describe en el presente documento. En otros modos de realización, el reactivo y/o el sustrato se puede transportar a una velocidad y/o un caudal para promover la mezcla y/o reducir la turbulencia. Una etapa en la reacción de la luciferasa incluye la primera formación de un complejo entre la luciferasa y el flavín mononucleótido. En ausencia de un aldehído adecuado (es decir, el sustrato), este complejo no puede proceder en la reacción de luminiscencia. La reacción de la luciferasa procede y emite luz tras la adición del aldehído, e idealmente, es preferente que todas las luciferasas complejadas se activen para emitir fotones simultáneamente. Esto daría como resultado que se emita un gran flujo de fotones en un corto período de tiempo, es decir, un destello de luz que se puede detectar fácilmente. Sin embargo, como respaldan los resultados de las pruebas presentados en el presente documento, si el reactivo y/o el sustrato se transportan a la cámara de reacción a una tasa que es demasiado alta, la cantidad de luz detectada disminuirá y/o la cantidad de luz detectada de las réplicas presentará una mayor variabilidad que dará como resultado un aumento del coeficiente de variación asociado con la detección de luz. Se cree que esta reducción del rendimiento está relacionada con las salpicaduras y/o la formación de burbujas en la solución que pueden resultar cuando el reactivo y/o el sustrato se transportan a una velocidad alta. En consecuencia, la mezcla del reactivo y/o el sustrato se puede controlar para producir el rendimiento de salida de luz deseado. Por ejemplo, en algunos modos de realización, la mezcla del reactivo y/o el sustrato incluye transportar el reactivo y/o el sustrato a la cámara de reacción moviendo el accionador (por ejemplo, el accionador 4760) linealmente a una tasa de entre aproximadamente 63 mm por segundo y aproximadamente 81 mm por segundo. En algunos modos de realización, la mezcla del reactivo y/o el sustrato incluye transportar el reactivo y/o el sustrato a la cámara de reacción moviendo el accionador (por ejemplo, el accionador 4760) linealmente a una tasa de aproximadamente 72 mm por segundo.

En algunos modos de realización, se puede desarrollar y/o realizar un ensayo de indicadores de SARM usando cualquier sistema y procedimiento adecuados como se describe en el presente documento. En dichos modos de realización, se desarrolla una partícula de transducción no replicativa a partir de un bacteriófago específico de *S. aureus* y se incorporan los genes de la luciferasa bacteriana luxAB bajo el control de un promotor constitutivo. Cuando esta partícula de transducción introduce el sistema indicador en *S. aureus*, el promotor constitutivo puede expresar luxAB adecuada para informar sobre la presencia de un *S. aureus* viable. Si, además, el antibiótico ceftioxiina, o un antibiótico similar, también se añade antes de o simultáneamente a mezclar las partículas de transducción con células de *S. aureus*, si las células no contienen ni expresan el gen mecA, no se expresará luxAB en el ensayo, indicando, por tanto, que no hay SARM. Sin embargo, si las células sí contienen y expresan el gen mecA, se expresará luxAB en el ensayo, indicando, por tanto, que las células son SARM (es decir, resistentes a la inhibición por ceftioxiina).

Aunque se muestra que el conjunto de recipiente 4700 incluye un acoplamiento roscado entre la carcasa 4741 y la cámara de reacción 4732, en otros modos de realización, una carcasa se puede acoplar a una cámara de reacción por medio de un ajuste a presión. Por ejemplo, la FIG. 24 muestra una vista lateral, en sección transversal parcial, de un conjunto de recipiente 5700 de acuerdo con un modo de realización. El conjunto de recipiente 5700 se puede usar y manipular con cualquiera de los instrumentos y/o cualquiera de los componentes descritos en el presente documento y en la solicitud de patente de EE. UU. n.º 13/802.461, titulada "Systems and Methods for Detection of Cells using Engineered Transduction Particles". De esta manera, el conjunto de recipiente 5700 y cualquiera de los conjuntos de recipiente descritos en el presente documento se pueden usar para detectar y/o identificar células diana (por ejemplo, bacterias) dentro de una muestra de acuerdo con cualquiera de los procedimientos descritos en el presente documento o en la solicitud '461. Por ejemplo, en algunos modos de realización, el conjunto de recipiente 5700 se puede usar para disponer y/o mezclar un reactivo en una muestra mientras se mantiene el aislamiento fluido entre el recipiente y una región exterior. De esta manera, el procedimiento de identificación de células se puede realizar en un sistema cerrado y/o un ensayo homogéneo. Expresado de forma similar, en algunos modos de realización, el conjunto de recipiente 5700 se usa en procedimientos de identificación y/o detección de células que no implican la retirada de contenido del conjunto de recipiente 5700, la separación del contenido dentro del conjunto de recipiente 5700, el lavado del contenido dentro del conjunto de recipiente 5700 y/o el enjuague del contenido dentro del conjunto de recipiente 5700.

El conjunto de recipiente 5700 incluye una carcasa 5741, un primer accionador (no mostrado) un segundo accionador 5760 y una cámara de reacción (no mostrada). La carcasa 5741 se puede acoplar de manera extraíble a la cámara de reacción. Por ejemplo, como se muestra en la FIG. 24, la carcasa 5741 se puede acoplar a una parte proximal de la cámara de reacción por medio de una parte de ajuste a presión 5743. Por tanto, la carcasa 5741 (y los componentes dispuestos en la misma) se pueden conservar por separado y/o separar de la cámara de reacción 5732. De esta manera, un usuario puede disponer a continuación una muestra en la cámara de reacción de acuerdo con los procedimientos descritos en el presente documento (y en la solicitud '461), y, a continuación puede montar la carcasa 5741 (o "conjunto de tapa") en la cámara de reacción (o "tubo") y completar las etapas para la identificación de células, como se describe en el presente documento.

La carcasa 5741 define un primer volumen de reactivos (no identificado) configurado para recibir un primer recipiente de reactivos (no mostrado) y un segundo volumen de reactivos 5744 configurado para recibir un segundo recipiente de reactivos 5790. La carcasa 5741 incluye un primer perforador 5792, un segundo perforador 5794, una primera vía de administración 5771 y una segunda vía de administración 5773. El primer perforador 5792, el segundo perforador 5794, la primera vía de administración 5771 y la segunda vía de administración 5773 son similares a la estructura correspondiente de la carcasa 4741 descrita anteriormente y, por lo tanto, no se describen con detalle.

La parte de ajuste a presión 5743 incluye un rebajo o ranura dentro del cual una parte de la cámara de reacción se puede disponer de manera segura (es decir, para formar un ajuste a presión o de apriete). En algunos modos de realización, la parte de ajuste a presión 5743 puede incluir un miembro de cierre (por ejemplo, una junta tórica o similar) para definir un cierre sustancialmente estanco a fluidos cuando la carcasa 5741 está acoplada a la cámara de reacción.

El segundo accionador 5760, como se muestra, es sustancialmente sólido y tiene una anchura sustancialmente similar a la anchura del segundo volumen de reactivos 5744. De esta manera, el "espacio muerto" indeseable dentro del segundo volumen de reactivos 5744 (y/o el primer volumen de reactivos, no identificado) se puede limitar. En uso, el conjunto de recipiente 5700 se puede accionar de una manera similar a la descrita anteriormente con respecto a la carcasa 4741 y/o al conjunto de tapa. En particular, el segundo accionador 5760 se puede manipular dentro del segundo volumen de reactivos 5760 para transportar un reactivo desde el segundo volumen de reactivos 5760 a la cámara de reacción.

Aunque los recipientes de reactivos (por ejemplo, el recipiente de reactivos 4780, el recipiente de reactivos 4790, el recipiente de reactivos 5780, el recipiente de reactivos 5790) se han descrito e ilustrado en posiciones laterales entre sí cuando están dispuestos dentro de una carcasa (por ejemplo, la carcasa 4741), en otros modos de realización, los recipientes de reactivos se pueden disponer dentro de una carcasa de cualquier manera o configuración adecuadas, tal como, por ejemplo, en una configuración vertical. Por ejemplo, las FIGS. 25A-C, y las FIGS. 26 y 27 muestran una carcasa 6741 (y un "conjunto de tapa") de acuerdo con un modo de realización. En particular, las FIGS. 25A-C muestran la carcasa 6741 en una vista lateral en sección transversal (FIG. 25A), una vista frontal en sección transversal (FIG. 25B) y una vista desde abajo (FIG. 25C). Las FIGS. 26 y 27 muestran la carcasa 6741 (sin los recipientes de reactivos) en una vista frontal en sección transversal (FIG. 26) y una vista frontal (FIG. 27).

Como se muestra, la carcasa 6741 define un volumen de reactivos 6742 (FIG. 25B) configurado para recibir un primer recipiente de reactivos 6780 y un segundo recipiente de reactivos 6790. Como se muestra en la FIG. 26, la carcasa 6741 incluye un primer miembro de rotura 6798 y un segundo miembro de rotura 6799. El primer miembro de rotura 6798 y el segundo miembro de rotura 6799 incluyen un primer perforador 6792 y un segundo perforador 6794, respectivamente. El miembro de rotura 6798 y el miembro de rotura 6799 definen cada uno, al menos en parte, una vía de administración 6771. La vía de administración 6771 coloca el volumen de reactivos 6742 en comunicación fluida con una cámara de reacción (no mostrada). Además, como se muestra, la vía de administración 6771 coloca el primer miembro de rotura 6798 y el segundo miembro de rotura 6799 en comunicación fluida entre sí. De esta manera, el contenido del recipiente de reactivos 6780 se puede comunicar (por ejemplo, mezclar) con el contenido del recipiente de reactivos 6790 antes de llegar a la cámara de reacción (no mostrada) o una parte de la misma. Dicha disposición, en algunos modos de realización, puede promover la mezcla y/o minimizar la aireación, el exceso de pulverización y/o la turbulencia indeseable del contenido del recipiente de reactivos 6780 y/o el recipiente de reactivos 6790.

Aunque se muestra que está en comunicación fluida, en otros modos de realización, el primer miembro de rotura 6798 y el segundo miembro de rotura 6799 se pueden mantener en aislamiento fluido entre sí. Por ejemplo, en algunos modos de realización, el primer miembro de rotura 6798 puede definir en parte una primera vía de administración (no mostrada), y el segundo miembro de rotura 6799 puede definir en parte una segunda vía de administración (no mostrada) de modo que la segunda vía de administración que es distinta y/o esté en aislamiento fluido de la primera vía de administración.

La rotura del recipiente de reactivos 6780 y el recipiente de reactivos 6790 se puede iniciar y/o provocar al menos en parte por cualquier medio adecuado. Por ejemplo, en algunos modos de realización, la carcasa 6741 se puede manipular de modo que se altere la presión dentro de una parte interna de la carcasa 6741, lo que da como resultado que el recipiente de reactivos 6780 y/o el recipiente de reactivos 6790 se empujen contra el primer miembro de rotura 6798 y el segundo miembro de rotura 6799, respectivamente. De esta manera, el perforador 6792 del primer miembro de rotura 6798 y/o el perforador del segundo miembro de rotura 6799 pueden romper el primer recipiente de reactivos 6780 y el segundo recipiente de reactivos 6790, respectivamente. Por ejemplo, en algunos modos de realización, la carcasa 6741 puede incluir uno o más accionadores (similar al accionador 4750).

Si bien se han descrito anteriormente diversos modos de realización, se debe entender que se han presentado a modo de ejemplo únicamente y sin limitación. Donde los procedimientos y/o esquemas descritos anteriormente indican determinados eventos y/o patrones de flujo que se producen en determinado orden, el orden de

determinados eventos y/o patrones de flujo se puede modificar. Adicionalmente, determinados eventos se pueden realizar simultáneamente en procedimientos paralelos cuando sea posible, así como realizar de forma secuencial. Si bien los modos de realización se han mostrado y descrito en particular, se entenderá que se pueden realizar diversos cambios en la forma y detalles.

Aunque los perforadores (por ejemplo, el perforador 1792) se describen en el presente documento como sustancialmente estacionarios (por ejemplo, fijos) con respecto a la carcasa (por ejemplo, la carcasa 1741), en otros modos de realización, un perforador puede ser móvil (por ejemplo, deslizable, giratorio, etc.) con respecto a la carcasa.

En uso, cualquier conjunto de recipiente adecuado (por ejemplo, el conjunto de recipiente 1700, 2700, 3700, 4700, 5700, etc.) puede recibir una muestra de un paciente (por ejemplo, bacterias) por medio de cualquier procedimiento adecuado. Por ejemplo, en algunos modos de realización, el conjunto de recipiente se puede proporcionar dentro de un kit que incluye componentes adicionales, por ejemplo, hisopos para recoger muestras de pacientes. En dichos modos de realización, la muestra se puede administrar al recipiente de pruebas por medio del hisopo. En otros modos de realización, la muestra se puede administrar al conjunto de recipiente desde un recipiente de transporte (por ejemplo, por medio de una pipeta, jeringa, etc.).

Aunque el recipiente de reactivos 4780 y el recipiente de reactivos 4790 se muestran y se describen como que tienen una conformación y construcción específicas, cualquiera de los recipientes de reactivos (o envases alveolados) descritos en el presente documento se puede construir de cualquier material adecuado, por ejemplo, PVC, y/o de una combinación de diferentes materiales (por ejemplo, copolímero de calidad farmacéutica, película de copolímero de olefina cíclica, Tekniflex COC P12P, laminación de película de PCTFE, Tekniflex VA10200). En algunos modos de realización, los recipientes de reactivos o los envases alveolados descritos en el presente documento se pueden construir de materiales que son compatibles con procedimientos de reducción del grado de contaminación microbiana que incluyen la irradiación gamma.

Además, cualquiera de los envases alveolados descritos en el presente documento puede tener cualquier tamaño o conformación adecuados. Por ejemplo, en algunos modos de realización, un envase alveolado puede incluir una parte lineal (por ejemplo, el faldón del envase alveolado, una superficie plana) y una parte no lineal (por ejemplo, una superficie redondeada). En dichos modos de realización, un envase alveolado se puede configurar para limitar el volumen muerto en el mismo (por ejemplo, un espacio vacío, un vacío, una cavidad, un área sin reactivo, etc.). En algunos modos de realización, en lugar de o además de la parte lineal, el envase alveolado puede incluir una parte cóncava. De esta manera, cuando se rompe la parte (por ejemplo, la lámina comienza a sobresalir), se puede establecer un contacto eficaz y/o suficiente entre la superficie de la parte cóncava y el miembro de perforación. Como tal, la dispensación del contenido del envase alveolado se puede maximizar y/o se puede lograr un volumen muerto reducido.

Cualquiera de los recipientes de reactivos y/o envases alveolados descritos en el presente documento (por ejemplo, el recipiente de reactivos 4780 y/o el recipiente de reactivos 4790) puede contener una cantidad predeterminada de cualquier reactivo adecuado (por ejemplo, reactivo de ensayo, reactivo de antibiótico, partículas de transducción, reactivo de sustrato, etc.). La cantidad predeterminada se puede medir de cualquier manera adecuada, por ejemplo, por el volumen de concentraciones específicas. Además, cualquiera de los recipientes de reactivos y/o envases alveolados puede incluir cualquiera de las partículas de transducción descritas en el presente documento y en las publicaciones de EE. UU. n.ºs 2015/0218613; 2014/0272928; 2015/0104787, y la publicación de patente internacional n.º WO/2014/160418.

Aunque los conjuntos de recipiente, sistemas y procedimientos se describen en el presente documento como usados para detectar y/o identificar células diana usando partículas de transducción no replicativas, en otros modos de realización, cualquiera de los conjuntos de recipiente y sistemas descritos en el presente documento se pueden usar conjuntamente con cualquier reactivo adecuado para detectar una bacteria diana. Por ejemplo, en algunos modos de realización, los conjuntos y sistemas descritos en el presente documento se pueden usar conjuntamente con partículas de transducción competentes para la replicación, tales como, por ejemplo, un indicador de fagos tradicional.

Por ejemplo, en algunos modos de realización, una carcasa o "conjunto de tapa" (por ejemplo, la carcasa 4741) contiene dos volúmenes de reactivos (por ejemplo, los volúmenes 4742 y 4744) y/o dos recipientes de reactivos (por ejemplo, los recipientes de reactivos 4780 y 4790). El primer volumen de reactivos y/o recipiente de reactivos contiene un bacteriófago indicador de luciferasa genomanipulado, tal como, por ejemplo, la luciferasa Nanoluc® producida por Promega Corp. El segundo volumen de reactivos y/o el segundo recipiente de reactivos contiene un sustrato, tal como furimazina. En algunos modos de realización, el sustrato se puede formular para una compatibilidad específica con el bacteriófago indicador de luciferasa (por ejemplo, el Nanoluc®) contenido dentro del primer volumen de reactivos.

En uso, después de que se añade la muestra a la cámara de reacción y el conjunto de tapa se acopla a la misma, el procedimiento incluye añadir el contenido del primer volumen de reactivos a la cámara de reacción. La muestra

y el primer reactivo (por ejemplo, el fago indicador, tal como el fago indicador Nanoluc®) se mantienen a una temperatura predeterminada o por encima de ella durante un período de tiempo predeterminado (es decir, la muestra se incuba). Si la muestra contiene bacterias que el fago indicador está diseñado para identificar, entonces el fago indicador provoca que las bacterias diana viables expresen la luciferasa durante el período de incubación.

5 Después del período de incubación, el contenido del segundo volumen de reactivos se añade a la cámara de reacción proporcionando el sustrato (es decir, furimazina) que puede reaccionar con cualquier luciferasa expresada y generar una señal luminiscente, indicando de este modo la presencia de las bacterias diana en la muestra. La salida de luz producida durante este ensayo (y cualquiera de los ensayos descritos en el presente documento) se puede detectar usando cualquier instrumento adecuado, tales como los instrumentos descritos en la solicitud '461.

En algunos modos de realización, un procedimiento incluye usar un fago indicador de luciferasa para identificar la presencia de bacterias resistentes a antibióticos. Por ejemplo, en algunos modos de realización, una cámara de reacción (por ejemplo, la cámara de reacción 4732) puede incluir un antibiótico, por ejemplo, como un reactivo seco. Se puede usar cualquier antibiótico del tipo descrito en el presente documento. Una carcasa o "conjunto de tapa" (por ejemplo, la carcasa 4741) está configurada para acoplarse de manera extraíble a la cámara de reacción y contiene dos volúmenes de reactivos (por ejemplo, los volúmenes 4742 y 4744) y/o dos recipientes de reactivos (por ejemplo, los recipientes de reactivos 4780 y 4790). El primer volumen de reactivos y/o recipiente de reactivos contiene cualquier fago indicador adecuado. El segundo volumen de reactivos y/o el segundo recipiente de reactivos contiene un sustrato, tal como la luciferina.

En uso, después de que se añade la muestra a la cámara de reacción y el conjunto de tapa se acopla a la misma, el procedimiento incluye añadir el contenido del primer volumen de reactivos a la cámara de reacción. La muestra y el primer reactivo (por ejemplo, el fago indicador) se mantienen a una temperatura predeterminada o por encima de ella durante un período de tiempo predeterminado (es decir, la muestra se incuba). De esta manera, cualquier bacteria presente dentro de la muestra que sea resistente al antibiótico se puede propagar y expresar luciferasa. En cambio, aquellas bacterias dentro de la muestra que son sensibles al antibiótico no se propagan y/o no expresan luciferasa y/o no pueden mediar de otro modo con éxito en una reacción de luminiscencia. Después del período de incubación, el contenido del segundo volumen de reactivos se añade a la cámara de reacción proporcionando el sustrato que puede reaccionar con cualquier luciferasa expresada para generar una señal luminiscente, indicando de este modo la presencia de las bacterias diana en la muestra. La salida de luz producida durante este ensayo (y cualquiera de los ensayos descritos en el presente documento) se puede detectar usando cualquier instrumento adecuado, tales como los instrumentos descritos en la solicitud '461.

En otros modos de realización, un ensayo indicador de luciferasa puede emplear los genes de luciferasa bacteriana luxAB como primer reactivo, y su sustrato, un aldehído tal como decanal, como segundo reactivo. Aún en otros modos de realización, un ensayo indicador de luciferasa puede emplear el operón de genes de luciferasa bacteriana, incluyendo los genes luxCDEAB, eliminando, por tanto, la necesidad de la adición de un sustrato (por ejemplo, aldehído) ya que el operón contiene genes que permiten a las bacterias diana producir el aldehído. En dichos modos de realización, el conjunto de tapa solo necesita definir un volumen de reactivos o incluir un recipiente de reactivos. Dichos procedimientos se pueden usar conjuntamente con un antibiótico y/o compuesto antimicrobiano, como se describe en el presente documento.

Aunque los conjuntos de recipiente, sistemas y procedimientos se describen en el presente documento como usados para detectar y/o identificar células diana, tales como bacterias, en otros modos de realización, cualquiera de los conjuntos de recipiente, sistemas y procedimientos descritos en el presente documento se pueden usar conjuntamente con cualquier ensayo homogéneo adecuado. Además, aunque los conjuntos de recipiente, sistemas y procedimientos se describen en el presente documento como usados para detectar y/o identificar células diana, tales como bacterias, en otros modos de realización, cualquiera de los conjuntos de recipiente, sistemas y procedimientos descritos en el presente documento se pueden usar conjuntamente con cualquier ensayo que incorpore una "señal conmutable", es decir, un sistema indicador que permita un ensayo homogéneo en el que se pueda generar y detectar una señal específica sin la necesidad de etapas de lavado o separación. Expresado de forma similar, cualquiera de los conjuntos de recipiente, sistemas y procedimientos descritos en el presente documento se puede usar conjuntamente con cualquier ensayo adecuado en el que no se produzca una señal a menos o hasta que se produzca una reacción con un analito y/o en el que no esté presente ninguna cantidad de un indicador en la muestra hasta que las condiciones sean tales que se produzca el indicador. Además, aunque las moléculas indicadoras "conmutables" se describen en el presente documento como moléculas que se pueden expresar a partir de genes indicadores que codifican enzimas que median reacciones de luminiscencia, en otros modos de realización, un indicador conmutable puede estar mediado por la adición directa de una molécula que se "activa" para producir una señal tras, por ejemplo, un cambio conformacional mediado por la unión a un analito diana, tal como, por ejemplo, el aptámero conmutable diseñado para detectar S-adenosilmetionina que consiste en un ARN denominado espinaca y el fluoróforo 3,5-difluoro-4-hidroxibencilideno imidazolinona (DFHBI) diseñado para incluir un elemento transductor que se une a la S-adenosilmetionina que provoca un cambio conformacional que permite la activación del fluoróforo como se describe en "Fluorescence imaging of cellular metabolites with RNA, Science. Mar 2012, vol. 335, n.º 6073, 9, pp. 1194". Aún en otros modos

de realización, un indicador conmutable incluye cualquier cosa que presente una primera señal antes de reaccionar con un analito y una segunda señal (diferente) después de reaccionar con el analito.

5 En algunos modos de realización, los conjuntos de recipiente y los sistemas descritos en el presente documento se pueden usar en un ensayo de higiene para determinar la presencia de organismos vivos (o previamente vivos) detectando la presencia de trifosfato de adenosina (ATP) dentro de la muestra. En dichos modos de realización, una muestra de higiene desconocida se añade a una cámara de reacción (por ejemplo, la cámara de reacción 4732). El procedimiento incluye además conectar una carcasa o "conjunto de tapa" (por ejemplo, la carcasa 4741) a la cámara de reacción. Como se describe anteriormente, la carcasa contiene dos volúmenes de reactivos (por ejemplo, los volúmenes 4742 y 4744) y/o dos recipientes de reactivos (por ejemplo, los recipientes de reactivos 4780 y 4790). El primer volumen de reactivos y/o recipiente de reactivos contiene un medio nutriente formulado de modo que cualquier organismo presente en la muestra permanezca metabólicamente activo. Los medios nutrientes pueden ser similares y/o contener cualquiera de los nutrientes o composiciones del medio de transporte descrito en el presente documento. El segundo volumen de reactivos y/o segundo recipiente de reactivos contiene una formulación que incluye una enzima luciferasa eucariota, luciferina y un reactivo de lisis. Como se describe a continuación, cuando el ATP está presente, se produce una salida de luz (es decir, por medio de una reacción de luminiscencia) que se puede detectar usando cualquier instrumento adecuado, tal como los instrumentos descritos en la solicitud '461.

20 En uso, después de que se añade la muestra a la cámara de reacción y el conjunto de tapa se acopla a la misma, el procedimiento incluye añadir el contenido del primer volumen de reactivos a la cámara de reacción para proporcionar nutrientes para que cualquier organismo en la muestra permanezca metabólicamente activo. En algunos modos de realización, la muestra se puede incubar durante un período de tiempo para permitir que crezca cualquier organismo en la muestra. Dicha incubación se puede realizar usando cualquiera de los instrumentos descritos en la solicitud '461 durante cualquier momento adecuado y a cualquier temperatura adecuada. El contenido del segundo volumen de reactivos se puede añadir a continuación a la cámara de reacción. El reactivo de lisis (incluido dentro de la segunda cámara de reactivos) está formulado para liberar trifosfato de adenosina producido por organismos viables que pueden existir dentro de la muestra. Si la muestra contiene cualquier organismo viable, entonces la luciferasa y la luciferina reaccionarán junto con el trifosfato de adenosina extraído, lo que provocará una reacción luminiscente y, por tanto, indicará la presencia de organismos viables en la reacción.

35 En otros modos de realización, un procedimiento para realizar un ensayo de higiene no necesita incluir la adición de un medio nutriente, como se indica anteriormente. Por tanto, en algunos modos de realización, el conjunto de tapa puede incluir solo un volumen de reactivos, un accionador y/o un recipiente de reactivos únicos. En dichos modos de realización, el procedimiento puede incluir informar sobre la presencia de organismos viables directamente desde una muestra sin una etapa de incubación.

40 En otros modos de realización, un procedimiento de realizar un ensayo de higiene puede incluir la administración de una variedad de composiciones diferentes usando un conjunto de tapa de los tipos descritos en el presente documento. De esta manera, determinadas composiciones usadas en el ensayo se pueden conservar por separado y/o separadas de otras composiciones. Por ejemplo, dichos procedimientos que emplean los conjuntos de tapa descritos en el presente documento pueden facilitar el almacenamiento separado del reactivo de lisis (o extracción), lo que puede limitar la probabilidad de que el agente de lisis tenga un impacto negativo en el rendimiento de la enzima luciferasa y/o la luciferina. Por ejemplo, en algunos modos de realización, la luciferina y/o la luciferasa se pueden incorporar en un reactivo seco y colocar en la cámara de reacción. Esta disposición también admite el uso de formulaciones de luciferina y/o luciferasa que no son estables en forma líquida. Por ejemplo, en algunos modos de realización, la luciferina se puede incluir como un reactivo secado dentro de la cámara de reacción, el primer volumen de reactivos (del conjunto de tapa) puede incluir el reactivo de lisis, y el segundo volumen de reactivos (del conjunto de tapa) puede incluir la enzima luciferasa eucariota. En uso, el reactivo de lisis se puede añadir en un momento diferente al de la enzima luciferasa, permitiendo, por tanto, un período de lisis controlada antes de añadir la enzima luciferasa. En otros modos de realización, la enzima luciferasa se puede incluir como un reactivo secado dentro de la cámara de reacción, el primer volumen de reactivos (del conjunto de tapa) puede incluir el reactivo de lisis, y el segundo volumen de reactivos (del conjunto de tapa) puede incluir la luciferina. Aún en otros modos de realización, tanto la enzima luciferasa como la luciferina se pueden incluir como un reactivo secado dentro de la cámara de reacción y un volumen de reactivos (del conjunto de tapa) puede incluir el reactivo de lisis.

60 En algunos modos de realización, un procedimiento para realizar un ensayo de higiene puede incluir exponer la muestra a un compuesto antimicrobiano. El compuesto antimicrobiano puede incluir cualquier sustancia, tal como, por ejemplo, un antibiótico, formulado y/o seleccionado para destruir organismos no seleccionados (por ejemplo, cepas bacterianas o similares). De esta manera, el procedimiento se puede usar para indicar la presencia de organismos viables en la reacción que son insensibles o resistentes al compuesto antimicrobiano. En dichos modos de realización, el compuesto antimicrobiano se puede incluir dentro de la cámara de reacción, por ejemplo, en una forma secada. Por tanto, en algunos modos de realización, un procedimiento incluye añadir una muestra de higiene desconocida a la cámara de reacción que contiene el compuesto antimicrobiano. Una carcasa o "conjunto de tapa" (por ejemplo, la carcasa 4741) está conectada a la cámara de reacción. Como se describe anteriormente, la

carcasa contiene dos volúmenes de reactivos (por ejemplo, los volúmenes 4742 y 4744) y/o dos recipientes de reactivos (por ejemplo, los recipientes de reactivos 4780 y 4790). El primer volumen de reactivos y/o recipiente de reactivos contiene un medio nutriente formulado de modo que cualquier organismo presente en la muestra permanezca metabólicamente activo. Los medios nutrientes pueden ser similares y/o contener cualquiera de los nutrientes o composiciones del medio de transporte descrito en el presente documento. El segundo volumen de reactivos y/o recipiente de reactivos contiene una formulación que incluye una enzima luciferasa eucariota, luciferina y un reactivo de lisis. Como se describe a continuación, cuando el ATP está presente, se produce una salida de luz (es decir, por medio de una reacción de luminiscencia) que se puede detectar usando cualquier instrumento adecuado, tal como los instrumentos descritos en la solicitud '461.

Después de que la muestra se añade a la cámara de reacción y el conjunto de tapa se acopla a la misma, el contenido del primer volumen de reactivos se puede añadir a la cámara de reacción para proporcionar nutrientes para que cualquier organismo en la muestra (que sea resistente al compuesto antimicrobiano) permanezca metabólicamente activo. En algunos modos de realización, la muestra se puede incubar durante un tiempo para permitir que crezca cualquier organismo que sea resistente al compuesto antimicrobiano en la muestra. Dicha incubación se puede realizar usando cualquiera de los instrumentos descritos en la solicitud '461 durante cualquier momento adecuado y a cualquier temperatura adecuada. El contenido del segundo volumen de reactivos se puede añadir a continuación a la cámara de reacción. El reactivo de lisis (incluido dentro de la segunda cámara de reactivos) está formulado para liberar trifosfato de adenosina producido por organismos viables que pueden existir dentro de la muestra (es decir, aquellos que son insensibles o resistentes al compuesto antimicrobiano). Si la muestra contiene cualquier organismo viable, entonces la luciferasa y la luciferina reaccionarán junto con el trifosfato de adenosina extraído, lo que provocará una reacción luminiscente y, por tanto, indicará la presencia de dichos organismos viables en la reacción.

En algunos modos de realización, los conjuntos de recipiente y sistemas descritos en el presente documento se pueden usar para detectar la presencia de determinadas enzimas en una muestra. De esta manera, se puede determinar la función y/o las características de cualquier organismo presente dentro de una muestra. Por ejemplo, en algunos modos de realización, un procedimiento incluye determinar la presencia de una enzima betalactamasa, que puede ser indicativa de una bacteria que es resistente a determinados antibióticos. En dichos modos de realización, una cámara de reacción (por ejemplo, la cámara de reacción 4732) puede incluir un sustrato de luciferasa enjaulado (por ejemplo, en una forma secada), tal como, por ejemplo, una molécula de D-luciferina enjaulada tal como las de  $\beta$ -lactama-d-luciferina (Bluco) descrita en "Hequan Yao *et al.*, A Bioluminogenic Substrate for In Vivo Imaging of Beta-Lactamase Activity, *Angewandte Chemie International Edition*, ago. 2007, vol. 46, pp. 7031-7034". El sustrato de luciferasa enjaulado se puede diseñar y/o genomanipular para tener una reactividad limitada o nula como el sustrato de luciferasa a menos que una enzima betalactamasa reaccione en primer lugar con el sustrato de luciferasa enjaulado de modo que libere al sustrato. Una carcasa o "conjunto de tapa" (por ejemplo, la carcasa 4741) está configurada para acoplarse de manera extraíble a la cámara de reacción. La carcasa contiene dos volúmenes de reactivos (por ejemplo, los volúmenes 4742 y 4744) y/o dos recipientes de reactivos (por ejemplo, los recipientes de reactivos 4780 y 4790). El primer volumen de reactivos y/o recipiente de reactivos contiene un reactivo de lisis celular. El segundo volumen de reactivos y/o segundo recipiente de reactivos contiene una molécula bioluminiscente tal como la luciferasa de *Renilla*.

Después de que se añade la muestra a la cámara de reacción y el conjunto de tapa se acopla a la misma, el procedimiento incluye añadir el contenido del primer volumen de reactivos a la cámara de reacción. De esta manera, se lisan todas las células que puedan estar presentes en la muestra. Si la muestra contiene células diana que expresan la betalactamasa, dicho lisado de las células libera la betalactamasa y otras moléculas intracelulares. A continuación, el procedimiento incluye añadir el contenido del segundo volumen de reactivos a la cámara de reacción. Si la betalactamasa está presente, puede liberar la luciferina enjaulada y permitir que el sustrato de luciferasa liberado reaccione con la luciferasa (añadida del segundo volumen de reactivos, por ejemplo, la luciferasa de *Renilla*), produciendo de este modo una señal de luminiscencia que es indicativa de la presencia de la enzima betalactamasa en la muestra. La salida de luz producida durante este ensayo (y cualquiera de los ensayos descritos en el presente documento) se puede detectar usando cualquier instrumento adecuado, tales como los instrumentos descritos en la solicitud '461.

En otros modos de realización, el sustrato de luciferasa enjaulado se puede incluir en cualquier parte (o volumen) adecuada del conjunto de recipiente y/o se puede añadir en cualquier momento adecuado del procedimiento. Por ejemplo, en algunos modos de realización, un primer volumen de reactivos de un conjunto de tapa puede incluir una partícula de transducción no replicativa diseñada para expresar luciferasa de *Renilla* en la célula diana. Un segundo volumen de reactivos puede incluir un sustrato de luciferasa enjaulado diseñado para tener una reactividad limitada o nula como el sustrato de luciferasa a menos que una enzima betalactamasa reaccione en primer lugar con el sustrato de luciferasa enjaulado de modo que libere al sustrato.

Después de que se añade la muestra a la cámara de reacción y el conjunto de tapa se acopla a la misma, el procedimiento incluye añadir el contenido del primer volumen de reactivos a la cámara de reacción. La solución resultante se mantiene a continuación a una temperatura predeterminada o por encima de ella durante un período de tiempo (es decir, la solución se incuba). De esta manera, si la muestra contiene células diana, la partícula de

transducción no replicativa puede provocar que la célula diana exprese luciferasa de *Renilla*. A continuación, el procedimiento incluye añadir el contenido del segundo volumen de reactivos a la cámara de reacción. Si la bacteria diana produce una betalactamasa, la betalactamasa puede liberar el sustrato de luciferasa enjaulado y permitir que el sustrato de luciferasa liberado reaccione con la luciferasa, produciendo de este modo una señal de luminiscencia que es indicativa de la presencia de la enzima betalactamasa en la muestra. La salida de luz producida durante este ensayo (y cualquiera de los ensayos descritos en el presente documento) se puede detectar usando cualquier instrumento adecuado, tales como los instrumentos descritos en la solicitud '461

Aunque los procedimientos se muestran y describen como que determinan la presencia de una enzima betalactamasa, en otros modos de realización, se pueden usar procedimientos y sistemas para determinar la presencia de cualquier enzima adecuada. Por ejemplo, en algunos modos de realización, un procedimiento incluye determinar la presencia de una enzima carbapenemasa. En dichos modos de realización, una cámara de reacción (por ejemplo, la cámara de reacción 4732) puede incluir un sustrato de carbapenemasa secado tal como un carbapenémico o cefamicina. Una carcasa o "conjunto de tapa" (por ejemplo, la carcasa 4741) está configurada para acoplarse de manera extraíble a la cámara de reacción. La carcasa contiene dos volúmenes de reactivos (por ejemplo, los volúmenes 4742 y 4744) y/o dos recipientes de reactivos (por ejemplo, los recipientes de reactivos 4780 y 4790). El primer volumen de reactivos y/o recipiente de reactivos contiene un reactivo de lisis celular. El segundo volumen de reactivos y/o segundo recipiente de reactivos contiene un reactivo que contiene un indicador de pH formulado de modo que, cuando se añade a la muestra, la reacción cambiará de color cuando el pH de la mezcla de reacción esté comprendido entre 6,4 y 8,4.

Después de que se añade la muestra a la cámara de reacción y el conjunto de tapa se acopla a la misma, el procedimiento incluye añadir el contenido del primer volumen de reactivos a la cámara de reacción. De esta manera, se lisan todas las células que puedan estar presentes en la muestra. Si la muestra contiene células diana que expresan la carbapenemasa, dicho lisado de las células libera la carbapenemasa y otras moléculas intracelulares. A continuación, el procedimiento incluye añadir el contenido del segundo volumen de reactivos a la cámara de reacción. Si está presente la carbapenemasa, reacciona con el sustrato de carbapenemasa y provoca un cambio de color por medio del indicador de pH, en el que un cambio de color indica la presencia de bacterias productoras de carbapenemasa en la muestra. El cambio de color producido durante este ensayo (y cualquiera de los ensayos descritos en el presente documento) se puede detectar usando cualquier instrumento adecuado, tales como los instrumentos descritos en la solicitud '461.

En algunos modos de realización, los conjuntos de recipiente y sistemas descritos en el presente documento se pueden usar en un ensayo de secuenciación de ADN. En dichos modos de realización, una cámara de reacción (por ejemplo, la cámara de reacción 4732) contiene una composición de moléculas de aptámero secadas y un fluoróforo secado. Las moléculas de aptámero secadas están formuladas, genomanipuladas y/o diseñadas para unirse a una secuencia diana de ADN. El fluoróforo secado (también denominado tinte) está diseñado para emitir fluorescencia preferentemente cuando se une a un complejo formado por la unión del aptámero a la secuencia de ADN diana. Una carcasa o "conjunto de tapa" (por ejemplo, la carcasa 4741) se puede acoplar de manera extraíble a la cámara de reacción. Como se describe anteriormente, la carcasa contiene dos volúmenes de reactivos (por ejemplo, los volúmenes 4742 y 4744) y/o dos recipientes de reactivos (por ejemplo, los recipientes de reactivos 4780 y 4790). El primer volumen de reactivos y/o recipiente de reactivos contiene una solución tampón diseñada para producir y/o promover condiciones que son favorables para la unión de aptámero/ADN diana/fluoróforo. El segundo volumen de reactivos y/o segundo recipiente de reactivos contiene una formulación que contiene un oligonucleótido diseñado para unirse a la molécula de ADN diana y desplazar (por ejemplo, "acabar con la competencia") un aptámero que ya puede estar unido a la molécula de ADN diana.

En uso, después de que se añade la muestra a la cámara de reacción y el conjunto de tapa se acopla a la misma, el procedimiento incluye añadir el contenido del primer volumen de reactivos a la cámara de reacción. Debido a que la adición del primer reactivo produce condiciones favorables para la unión de aptámero/ADN diana/fluoróforo, si la muestra contiene ADN diana, entonces se producirá la unión y se podrá detectar una señal de fluorescencia del fluoróforo complejo. De esta manera, las moléculas de aptámero se pueden considerar un aptámero "conmutable". Después de que haya transcurrido un período de tiempo, el contenido del segundo volumen de reactivos se puede añadir a la cámara de reacción. Si la señal de fluorescencia se elimina después de la adición de los oligonucleótidos introducidos desde el segundo volumen de reactivos, entonces si la pérdida de la señal se debe al desplazamiento del aptámero del ADN diana (y, por lo tanto, el desplazamiento del fluoróforo del aptámero ahora no complejo) por el oligonucleótido. Dicha pérdida de señal sirve como confirmación de que la señal fluorescente inicial se debió específicamente a la complejación del aptámero con el ADN diana. La salida de luz producida durante este ensayo (y cualquiera de los ensayos descritos en el presente documento) se puede detectar usando cualquier instrumento adecuado, tales como los instrumentos descritos en la solicitud '461.

En algunos modos de realización, los sistemas y procedimientos de detección de secuencias de ADN pueden incluir la detección de ADN dentro de células vivas. Por ejemplo, en algunos modos de realización, el procedimiento descrito anteriormente se puede modificar de modo que la cámara de reacción (por ejemplo, la cámara de reacción 4732) contenga un fluoróforo secado que esté formulado y/o genomanipulado de modo que pueda entrar en células vivas cuando una muestra que contiene células vivas se añade a una cámara de reacción. Además, el fluoróforo

también está diseñado para emitir fluorescencia preferentemente cuando se une a un complejo formado por la unión del aptámero a la secuencia de ADN diana. La carcasa o "conjunto de tapa" (por ejemplo, la carcasa 4741) usada conjuntamente con el procedimiento contiene dos volúmenes de reactivos (por ejemplo, los volúmenes 4742 y 4744) y/o dos recipientes de reactivos (por ejemplo, los recipientes de reactivos 4780 y 4790). El primer volumen de reactivos y/o recipiente de reactivos contiene un liposoma y un aptámero. El aptámero puede ser similar a los descritos anteriormente, y está formulado, genomanipulado y/o diseñado para unirse a una secuencia diana de ADN. Los liposomas pueden llevar los aptámeros directamente a las células vivas, o pueden llevar una secuencia de ADN diseñada para expresar los aptámeros dentro de las células vivas. El segundo volumen de reactivos y/o segundo recipiente de reactivos contiene un reactivo de lisis para liberar las moléculas dentro de la célula viva y un oligonucleótido diseñado para desplazar el aptámero de la secuencia de ADN diana (similar a la descrita anteriormente).

En uso, después de que se añade la muestra a la cámara de reacción y el conjunto de tapa se acopla a la misma, el contenido del primer volumen de reactivos se puede añadir a la cámara de reacción. Después de la administración del aptámero a la cámara de reacción, el aptámero se administra a las células por medio del liposoma contenido en el primer volumen de reactivos. En otros modos de realización, se puede usar cualquier otro mecanismo adecuado para transportar los aptámeros a las células. Además, en algunos modos de realización, los liposomas pueden llevar y/o transportar los aptámeros directamente a las células vivas, mientras que, en otros modos de realización, los liposomas pueden llevar y/o transportar una secuencia de ADN diseñada para expresar los aptámeros dentro de las células vivas. Después de que el aptámero esté dentro de la célula viva, se puede complejar con una secuencia de ADN diana que permita que el complejo se una al fluoróforo y produzca una señal fluorescente que es indicativa de la unión del aptámero a la secuencia de ADN diana. Después de un período de tiempo, el contenido del segundo volumen de reactivos se puede añadir a la cámara de reacción. La adición del reactivo de lisis libera las moléculas dentro de la célula viva y el oligonucleótido puede, por tanto, desplazar el aptámero de la secuencia de ADN diana. En consecuencia, si la señal de fluorescencia se elimina después de la adición de los oligonucleótidos introducidos desde el segundo volumen de reactivos, entonces la pérdida de la señal se debe al desplazamiento del aptámero del ADN diana (y, por lo tanto, el desplazamiento del fluoróforo del aptámero ahora no complejado) por el oligonucleótido. Esto sirve como confirmación de que la señal fluorescente inicial se debió específicamente a la complejación del aptámero con el ADN diana. La salida de luz producida durante este ensayo (y cualquiera de los ensayos descritos en el presente documento) se puede detectar usando cualquier instrumento adecuado, tales como los instrumentos descritos en la solicitud '461.

En algunos modos de realización, los conjuntos de recipiente y sistemas descritos en el presente documento se pueden usar en un ensayo para determinar la actividad de transcripción de una muestra. En dichos modos de realización, una muestra se puede disponer dentro de una cámara de reacción (por ejemplo, la cámara de reacción 4732). Una carcasa o "conjunto de tapa" (por ejemplo, la carcasa 4741) se puede acoplar de manera extraíble a la cámara de reacción. La carcasa contiene dos volúmenes de reactivos (por ejemplo, los volúmenes 4742 y 4744) y/o dos recipientes de reactivos (por ejemplo, los recipientes de reactivos 4780 y 4790). El primer volumen de reactivos y/o recipiente de reactivos contiene liposomas que llevan balizas moleculares diseñadas para emitir fluorescencia cuando la baliza se ha unido a una secuencia de transcrito de ARN diana. El segundo volumen de reactivos y/o segundo recipiente de reactivos contiene una formulación que contiene un reactivo de lisis y oligonucleótidos diseñados para unirse preferentemente a la secuencia de ARN diana y desplazar una baliza molecular unida (por ejemplo, "acabar con la competencia" de la baliza).

Después de que se añade la muestra a la cámara de reacción y el conjunto de tapa se acopla a la misma, el procedimiento incluye añadir el contenido del primer volumen de reactivos a la cámara de reacción. Los liposomas añadidos pueden administrar las balizas moleculares a las células vivas que pueden estar presentes en la muestra. Si la muestra contiene células vivas de bacterias que están transcribiendo el ARN diana, entonces las balizas moleculares se pueden unir a la secuencia de ARN diana y producir una señal fluorescente. La señal fluorescente se puede detectar usando cualquier instrumento adecuado, tales como los instrumentos descritos en la solicitud '461. El contenido del segundo volumen de reactivos se puede añadir a continuación a la cámara de reacción. La adición del reactivo de lisis libera las moléculas dentro de la célula viva y el oligonucleótido puede, por tanto, desplazar la baliza molecular de la secuencia de ARN diana. En consecuencia, si la señal de fluorescencia se elimina después de la adición de los oligonucleótidos introducidos desde el segundo volumen de reactivos, entonces la pérdida de la señal se debe al desplazamiento de la baliza molecular del ARN diana (y, por lo tanto, la nueva extinción de la baliza molecular desplazada) por el oligonucleótido. Esto sirve como confirmación de que la señal fluorescente inicial se debió a la complejación de la baliza molecular con el ARN diana. La salida de luz y/o el cambio en la salida de luz producidos durante este ensayo (y cualquiera de los ensayos descritos en el presente documento) se pueden detectar usando cualquier instrumento adecuado, tales como los instrumentos descritos en la solicitud '461.

Aún en otros modos de realización, los conjuntos de tapa, recipientes y procedimientos descritos en el presente documento no necesitan usarse para determinar la presencia de células o actividad biológica. Por ejemplo, en algunos modos de realización, los conjuntos de recipiente y sistemas descritos en el presente documento se pueden usar en un ensayo de valoración para determinar, por ejemplo, el pH de una muestra. En dichos modos de realización, se añade una muestra de pH desconocido a una cámara de reacción (por ejemplo, la cámara de

reacción 4732) que contiene un tinte indicador de pH secado tal como azul de bromotimol. Una carcasa o "conjunto de tapa" (por ejemplo, la carcasa 4741) está conectada a la cámara de reacción. Como se describe anteriormente, la carcasa contiene dos volúmenes de reactivos (por ejemplo, los volúmenes 4742 y 4744) y/o dos recipientes de reactivos (por ejemplo, los recipientes de reactivos 4780 y 4790). Uno de los volúmenes de reactivos y/o recipientes contiene una concentración conocida de ácido clorhídrico, y el otro volumen de reactivos y/o recipiente contiene una concentración conocida de hidróxido de sodio.

En uso, después de añadir la muestra, se puede determinar el color de la solución en la cámara de reacción (por ejemplo, usando cualquier instrumento adecuado, tales como los instrumentos descritos en la solicitud '461, que puede contener un fotodetector que puede determinar el color de la muestra). Si el pH de la muestra es neutro ( $6 < \text{pH} < 7,6$ ), entonces la solución dentro de la cámara (es decir, la solución de la muestra y el reactivo secado dentro de la cámara) es verde. Sin embargo, si el pH de la muestra es  $> 7,6$ , entonces la solución es azul. Cuando el instrumento detecta el color de la muestra como azul, el reactivo en el primer volumen de reactivos (es decir, la concentración conocida de ácido clorhídrico) se puede añadir a la cámara de reacción. La adición del primer reactivo se puede realizar a cualquier tasa adecuada y/o en cualquier cantidad adecuada. Por ejemplo, en algunos modos de realización, se puede añadir una cantidad predeterminada del primer reactivo (HCl). Si la reacción cambia de azul a amarillo, entonces la muestra contiene al menos una cantidad de iones hidroxilo que es equivalente a la concentración de ácido clorhídrico en el primer volumen de reactivos. Por tanto, cuando el instrumento detecta un cambio en el color (por ejemplo, de azul a amarillo), se puede producir una salida que indica el pH y/o la concentración de iones.

Si el pH es  $< 6$ , entonces la reacción es amarilla y el reactivo en el segundo volumen de reactivos (es decir, la concentración conocida de hidróxido de sodio) se puede añadir a la cámara de reacción. Si la reacción cambia de amarillo a azul, entonces la muestra puede contener al menos una cantidad de iones de hidrógeno que es equivalente a la concentración de hidróxido de sodio en el segundo volumen de reactivos. Por tanto, cuando el instrumento detecta un cambio en el color (por ejemplo, de amarillo a azul), se puede producir una salida que indica el pH y/o la concentración de iones.

Aún en otros modos de realización, cualquiera de los volúmenes de reactivo o recipientes de reactivo descritos en el presente documento puede contener cualquier reactivo adecuado para facilitar el uso en el mismo para cualquier ensayo adecuado. Por ejemplo, en algunos modos de realización, un volumen de reactivos o un recipiente de reactivos puede incluir una variedad de diferentes tintes o indicadores. Dichos tintes pueden incluir, por ejemplo, tintes de membrana, tintes lipófilos (por ejemplo, "rojo Nilo" o 9-dietilamino-5-benzo[a]fenoxazinona), un tinte de indocarbocianina catiónica lipófila (por ejemplo, "Dil" o (2Z)-2-[(E)-3-(3,3-dimetil-1-octadecilindol-1-ilo-2-il)prop-2-enilideno]-3,3-dimetil-1-octadecilindol; perclorato) y/o un tinte permeable a células que se puede usar para determinar la viabilidad celular (por ejemplo, calceína AM, producida por Life Technologies).

Aunque se han descrito diversos modos de realización que tienen rasgos característicos y/o combinaciones de componentes particulares, son posibles otros modos de realización que tengan una combinación de cualquier rasgo característico y/o componente de cualquiera de los modos de realización como se analiza anteriormente. Por ejemplo, en algunos modos de realización, el accionador 4750 y/o el accionador 4760 del conjunto de tapa descrito anteriormente pueden incluir un rasgo característico de acoplamiento cóncavo, tal como la parte de acoplamiento 3752 descrita anteriormente con respecto al accionador 3750.

#### **Análisis de la herramienta de recogida**

El procedimiento 200 descrito anteriormente incluye transferir el contenido (por ejemplo, medio de transporte) dispuesto dentro de la región interna de un recipiente de transporte (por ejemplo, la cámara de transporte 4014) a una cámara de reacción (por ejemplo, la cámara de reacción 4732). La transferencia del medio de transporte incluye la transferencia de la muestra del paciente (por ejemplo, recogida usando una herramienta de recogida, tal como un hisopo) desde la cámara de transporte a la cámara de reacción. En algunos modos de realización, la transferencia del contenido puede incluir la comunicación de las bacterias diana liberadas de la herramienta de recogida al medio de transporte, por medio de una herramienta de transferencia (por ejemplo, una pipeta), a la cámara de reacción. Por tanto, en algunos modos de realización, los procedimientos pueden emplear una herramienta de recogida que sea eficaz tanto para (1) recoger una muestra (por ejemplo, de una cavidad nasal de un paciente) como para (2) liberar la muestra recogida a la cámara de transporte, el conjunto de recipiente y/o la cámara de reacción. En particular, los procedimientos pueden emplear una herramienta de recogida que sea adecuada para dichos procedimientos en los que la muestra puede incluir niveles muy bajos de las bacterias diana (es decir, "cargas bajas") y/o que emplean un tiempo de incubación limitado. De esta manera, el procedimiento de detección de células diana puede ser eficaz incluso cuando la cantidad de células diana disponibles para la detección es limitada.

Por ejemplo, las herramientas de recogida que tienen una parte de recogida construida de un material enrollado, tal como rayón o dacrón, pueden proporcionar comodidad al paciente y/o una recogida eficaz de la muestra, pero no pueden liberar una cantidad suficiente de la muestra recogida al medio de transporte y/o la cámara de transporte para que sea eficaz en los procedimientos descritos en el presente documento. Véase, por ejemplo, "Comparison

of Rayon and Dacron Swabs in Amies Medium for *Bordetella pertussis* Transport", J. Stephen Thompson *et al.*, ASM 99<sup>th</sup> General Meeting, mayo de 1999; "Why Flocked Swabs are Superior to Fiber Wrapped Swabs and Foam Swabs and How They Can Improve Infectious Disease Diagnosis", Copan Innovation, Brescia, Italia, recuperado en línea en [<http://www.mls.be/nieuwsbrieven/css/Why-Flocked-Swabs-are-Superior-to-Fiber-and-Foam.pdf>] ("Copan Innovation"). Además, las herramientas de recogida que tienen una parte de recogida construida de un material de espuma se considera que tienen propiedades de absorción deficientes y, por tanto, a menudo no se usan en ensayos bacterianos. Véase Copan Innovation. En consecuencia, se realizaron pruebas para evaluar la herramienta de recogida (y más específicamente la construcción de la parte de recogida o "hisopo") para determinar una herramienta de recogida apropiada para los ensayos y procedimientos descritos en el presente documento.

Una primera prueba implicó una comparación de la recuperación de células durante la transferencia de células usando hisopos enrollados de rayón (hisopo BD-220115 de Becton Dickinson), hisopos de espuma de nailon (hisopo 25-1506 1PF de Puritan) y una transferencia directa de células. Una ilustración esquemática del procedimiento de prueba y los resultados de la prueba se muestran en la FIG. 28. Como se muestra, la cantidad de células liberadas en la solución usando hisopos de espuma es aproximadamente siete veces mayor que la cantidad de células liberadas usando los hisopos enrollados. De hecho, la eficacia de liberación o transferencia de los hisopos de espuma fue semejante a la de una transferencia directa de células (por ejemplo, por medio de pipeteo) a la solución. En consecuencia, aunque los hisopos enrollados pueden proporcionar una mejor absorción de líquidos (por ejemplo, para su uso en la recogida de una muestra), el rendimiento de la liberación o transferencia de los hisopos enrollados fue inferior al de los hisopos de espuma.

Una segunda prueba implicó comparar la salida de señal (es decir, unidades de luz relativa o ULR) asociadas con una solución que contiene células diana transferidas por medio de un hisopo enrollado, un hisopo "flocado" y un hisopo de espuma. De esta manera, al comparar la salida de la señal, la segunda prueba se asoció estrechamente con los procedimientos de detección descritos en el presente documento. Como se muestra en la FIG. 29, la segunda prueba incluyó colocar un hisopo en una muestra conocida que contenía una cantidad de células diana. Cada hisopo se colocó a continuación en un recipiente que contenía una cantidad de un medio de transporte. De esta manera, el recipiente funciona de una manera similar a cualquiera de las cámaras de transporte descritas en el presente documento. Además de los tres hisopos diferentes, la prueba también incluyó una prueba de "control", en la que una parte de la muestra se transfirió directamente al recipiente.

Cada recipiente se mantuvo en condiciones controladas durante un tiempo predeterminado o un período de "incubación". La prueba incluyó un período de incubación de dos horas y un período de incubación de 20 horas. Después de completado el período de incubación, se transfirió una cantidad controlada del medio de transporte a una placa de ensayo para un ensayo manual. Se le añadió un reactivo (es decir, un sustrato) a la placa de ensayo para hacerlo reaccionar con la pluralidad de moléculas indicadoras para potenciar la señal de luminiscencia. A continuación, se registró la señal de luminiscencia.

Las FIGS. 30A y 30B son gráficos de la cantidad de salida de luz (para los tiempos de incubación tanto de dos como de 20 horas) y la cantidad de recuperación de células diana (en un porcentaje de "unidades formadoras de colonias" resultante de la segunda prueba. La FIG. 31A es una tabla que muestra los resultados de salida de luz para cada tanda de prueba individual (identificada como pruebas S30, S32 y S60), y la FIG. 31B es un gráfico de los datos mostrados en la tabla en la FIG. 31A. Como muestran los resultados de la segunda prueba, durante el tiempo de incubación de dos horas, el hisopo de espuma dio como resultado la producción de más salida de luz de lo que lo hicieron el hisopo enrollado o bien el flocado. Por tanto, aunque algunos ensayos se realizan con hisopos enrollados (para posibles características mejoradas de recogida de muestras) o con hisopos flocados (para un posible rendimiento mejorado en la recogida de muestras y/o transferencia de células), el resultado sorprendente es que el uso de una herramienta de recogida que tenga una parte de recogida construida de un material de espuma puede producir una señal mayor. Esta ventaja es importante en particular cuando los procedimientos implican una baja carga de células y/o bajas salidas de luz nominal, como es el caso con muchos de los procedimientos descritos en el presente documento.

Expresado de forma similar, estos resultados demuestran que, a niveles de muestra bajos (por ejemplo, después de un período de tiempo corto), el rendimiento del hisopo de espuma es superior al de un hisopo flocado. Como tal, en algunos modos de realización, los procedimientos descritos en el presente documento pueden incluir una herramienta de recogida seleccionada específicamente para su uso con tiempos de incubación que producen una señal baja. En dichos modos de realización, por ejemplo, se puede seleccionar un hisopo de espuma durante un tiempo de incubación corto y/o cuando hay una cantidad limitada de muestra cuando se determina que un hisopo de espuma tiene un rendimiento adecuado y/o tiene un rendimiento mejor que otros tipos de hisopos con dichos tiempos de incubación cortos.

Debido a que la segunda prueba indicó que en determinadas condiciones el uso de un hisopo de espuma o bien un hisopo flocado era superior al uso de un hisopo enrollado, se llevaron a cabo pruebas adicionales para evaluar el rendimiento de los hisopos flocados en diferentes medios de transporte. En particular, se efectuó una tercera prueba comparando la salida de señal (es decir, unidades de luz relativa o ULR) asociada con una solución que

contiene células diana y un hisopo "flocado" usando dos tipos diferentes de medios de transporte. El primer medio se identificó como BSS M64 y el segundo medio se identificó como TSB Mod. Los componentes de los dos medios se identifican a continuación en la tabla 1. En primer lugar, el ensayo se efectuó en la solución en ausencia de cualquier hisopo, y cada solución produjo una cantidad suficiente de luz. En segundo lugar, el ensayo se efectuó con hisopos flocados que se habían dispuesto dentro de la solución. En este caso, la solución que usa el medio TSB Mod no consiguió producir una salida de luz suficiente para completar el ensayo. Finalmente, los hisopos flocados se empaparon con cada uno de los dos medios de transporte y, a continuación, se usaron para transferir células a un medio acondicionado. En este caso, los hisopos que se empaparon en la solución TSB Mod no consiguieron producir una salida de luz suficiente para completar el ensayo. Por tanto, aunque en la segunda serie de pruebas se mostró que los hisopos flocados son semejantes a los hisopos de espuma, la tercera serie de pruebas mostró que los hisopos flocados cuando se usaron con el medio de transporte TSB Mod no tuvieron un rendimiento adecuado.

TABLA 1

**BSS M64**

Componentes por litro de TSB	gramos	Cantidad total
Digerido enzimático de caseína	17	1,70 %
Digerido enzimático de harina de soja	3	0,30 %
Glucosa	2,5	0,30 %
Fosfato dipotásico	2,5	0,30 %
Cloruro de sodio	5	0,50 %

**TSB Mod**

CaCl <sub>2</sub>	0,55	0,005 M
MgCl <sub>2</sub>	0,952	0,01 M
BGP	12,96	0,06 M

Finalmente, se llevó a cabo una cuarta serie de pruebas para evaluar el rendimiento de los hisopos flocados y los hisopos de espuma al recoger una muestra conocida por medio de la obtención de muestras nasales. La tercera prueba se efectuó comparando la salida de señal (es decir, unidades de luz relativa, o ULR) asociada con las células diana recogidas de muestras nasales. Como se indica en la tabla 2 a continuación, el uso de un hisopo flocado recuperó en promedio aproximadamente 50.000 UFC/ml más de células de lo que lo hizo el uso de un hisopo de espuma.

Tabla 2

N.º de muestra	Espuma	Flocado	Flocado - Espuma
1	24.000	180.000	156.000
5	400	6400	6000
6	800	600	(200)
7	10.000	140.000	130.000
8	10.000	220.000	210.000
9	2600	5800	3200
10	800	600	(200)
11	800	200	(600)
12	34.000	32.000	(2000)

N.º de muestra	Espuma	Flocado	Flocado - Espuma
13	400	400	-

Promedio 50.220

**Análisis de la tasa de administración del sustrato**

5 Los procedimientos descritos anteriormente incluyen mezclar un sustrato con una muestra a una tasa predeterminada. Más en particular, en algunos modos de realización, se puede emplear una partícula de transducción indicadora de luciferasa bacteriana. Estos indicadores provocan la expresión de una luciferasa bacteriana tal como la del organismo *V. fischeri*. La luciferasa bacteriana está compuesta de los genes luxA y luxB que codifican las proteínas LuxA y LuxB que se combinan para formar la enzima luciferasa activa. LuxAB cataliza una reacción luminiscente en presencia de oxígeno, flavín mononucleótido reducido (FMNH<sub>2</sub>, suministrado por la célula huésped) y un aldehído tal como tridecanal (suministrado de forma exógena y que penetra fácilmente en las células bacterianas viables).

15 En consecuencia, durante dichos procedimientos o ensayos, se expresa la luciferasa bacteriana y las moléculas de luciferasa se complejan con moléculas de FMNH<sub>2</sub>. Estos complejos se acumulan y, cuando se añade un aldehído, la reacción de luminiscencia procede. Idealmente, es preferente que todas las luciferasas complejadas se activen para emitir fotones simultáneamente. De esta manera, se emite un gran flujo de fotones en un corto período de tiempo, es decir, se produce un destello de luz que se puede detectar fácilmente, especialmente cuando hay una carga baja de células diana. Se entiende que si las luciferasas complejadas emiten luz de manera no sincronizada, los fotones se emiten durante un período prolongado de tiempo, no produciendo, de este modo, un destello.

25 Debido a que la cinética de emisión de luz está mediada por la disponibilidad de aldehído (es decir, el sustrato), en condiciones ideales es deseable administrar el aldehído instantáneamente a un volumen completo de una reacción. Inyectar aldehído en la reacción a una velocidad rápida puede acercarse a esta situación ideal. Por lo tanto, se puede razonar que velocidades de inyección más altas darán como resultado reacciones instantáneas más óptimas. De hecho, un estudio que examinó el efecto de la velocidad de inyección en la salida de luz encontró que aumentar la velocidad de inyección daba como resultado una mayor salida de luz al medir el valor máximo de producción de luz. Sin embargo, en determinado punto, se encontró que un aumento de la velocidad de inyección daba como resultado una menor salida de luz y/o una mayor variabilidad en los resultados. Este fenómeno se atribuye a las salpicaduras y la formación de burbujas en la reacción que sirven para perturbar la detección de la luz producida. Por lo tanto, se encontró un intervalo deseado de velocidad de inyección (expresado como la velocidad del accionador) donde se alcanza la salida de luz máxima.

35 Los resultados de la prueba se resumen en la FIG. 31, que es un gráfico de barras que muestra las ULR máximas promedio obtenidas a partir de células que expresan luciferasa después de inyectar aldehído a velocidades variables (las velocidades se presentan en pasos por segundo, donde un paso es de 0,0254 mm). Téngase en cuenta que los valores de ULR se expresan como un porcentaje o el valor máximo de ULR obtenido en este estudio. Como se muestra, se observó una salida de ULR óptima a 3200 pasos/s, donde los valores de ULR eran máximos y la variabilidad en la salida de luz (expresada como un coeficiente de variación) era mínima. Otras pruebas identificaron un intervalo óptimo de entre aproximadamente 2500 pasos/s (63,5 mm/s) y aproximadamente 3200 pasos/s (81,3 mm/s). Por tanto, en algunos modos de realización, el sustrato se mezcla moviendo el accionador linealmente a una tasa de aproximadamente 2850 pasos/s (72,4 mm/s).

**REIVINDICACIONES**

1. Un aparato (1700, 2700, 3700, 4700), que comprende:

5 - una carcasa (1741, 2741, 3741, 4741) configurada para acoplarse de manera extraíble a una cámara de reacción (1732, 2732, 3742, 4742), definiendo la carcasa un volumen de reactivos (1742, 2742, 3742, 4742) configurado para recibir un recipiente de reactivos (1780, 2780, 3780, 4780), incluyendo la carcasa un perforador (1792, 2792, 3792, 4792) que define una vía de transferencia (1793, 4793) en comunicación fluida con el volumen de reactivos, incluyendo la carcasa una parte de administración (1770, 2770, 3770, 4770) que define una vía de administración (1771, 2771, 3771, 4771) entre la vía de transferencia y la cámara de reacción cuando la carcasa está acoplada a la cámara de reacción; y

15 - un accionador (1750, 2750, 3750, 4750) que tiene una parte de émbolo (1754, 2754, 3754, 4754) dispuesta dentro del volumen de reactivos, una parte de acoplamiento (1752, 2752, 3752, 4752) del accionador configurada para manipularla para mover la parte de émbolo dentro del volumen de reactivos para deformar el recipiente de reactivos, configurado el perforador para perforar una parte frangible (1788, 2788, 3788, 4788) del recipiente de reactivos para transportar un reactivo desde el recipiente de reactivos a la cámara de reacción por medio de la vía de transferencia y la vía de administración,

20 caracterizado por que

- el perforador y la carcasa están contruidos monolíticamente.

25 2. El aparato de la reivindicación 1, en el que la vía de transferencia es perpendicular a la parte frangible del recipiente de reactivos.

30 3. El aparato de la reivindicación 1, en el que el perforador define una pluralidad de vías de transferencia en comunicación fluida con el volumen de reactivos y la vía de administración, siendo la vía de transferencia una de la pluralidad de vías de transferencia.

4. El aparato de la reivindicación 1, en el que una parte de la vía de administración rodea parcialmente el perforador.

35 5. El aparato de la reivindicación 1, que comprende además:

- el recipiente de reactivos dispuesto dentro del volumen de reactivos, el recipiente de reactivos que incluye un faldón (2781, 3781, 4781) que rodea la parte frangible, formando el faldón y una superficie de la parte de administración un cierre sustancialmente estanco a fluidos; y

40 - un miembro de bloqueo (2772) configurado para limitar el movimiento del faldón con respecto al carcasa cuando el recipiente de reactivos se deforma para mantener el cierre sustancialmente estanco a fluidos entre el faldón y la superficie.

45 6. El aparato de la reivindicación 1, en el que la parte de émbolo del accionador y una parte de la carcasa definen conjuntamente un cierre para aislar de manera fluida el volumen de reactivos de un volumen fuera de la carcasa.

50 7. El aparato de la reivindicación 1, que comprende además la cámara de reacción que tiene una pared lateral cónica, una parte de salida de la vía de administración define un eje de salida que cruza la pared lateral cónica de la cámara de reacción.

8. El aparato de la reivindicación 1, en el que

55 - un recipiente de reactivos está dispuesto dentro del volumen de reactivos de la carcasa, conteniendo el recipiente de reactivos un reactivo, incluyendo el recipiente de reactivos una parte frangible y un faldón que rodea la parte frangible;

60 - el accionador está configurado para manipularlo para mover la parte de émbolo dentro del volumen de reactivos para deformar el recipiente de reactivos de una primera configuración a una segunda configuración y el perforador está configurado para perforar la parte frangible del recipiente de reactivos para transportar un reactivo desde el recipiente de reactivos a la cámara de reacción por medio de la vía de administración cuando el recipiente de reactivos está en la segunda configuración; y en el que el aparato comprende además

65 - un miembro de bloqueo configurado para mantener el faldón en contacto con un hombro (2775) de la parte de administración de la carcasa cuando el recipiente de reactivos está en la segunda configuración para mantener un cierre sustancialmente estanco a fluidos entre el faldón y el hombro.

- 5 9. El aparato de la reivindicación 8, en el que el perforador define una pluralidad de vías de transferencia configuradas para colocar la cámara de reacción en comunicación fluida con la vía de administración cuando el recipiente de reactivos está en la segunda configuración.
- 10 10. El aparato de la reivindicación 8, en el que una parte de la vía de administración rodea parcialmente el perforador.
- 10 11. El aparato de la reivindicación 8, que comprende además:
- la cámara de reacción que tiene una pared lateral cónica,
  - una parte de salida de la vía de administración define un eje de salida que cruza la pared lateral cónica de la cámara de reacción.
- 15 12. El aparato de la reivindicación 8, en el que un volumen del recipiente de reactivos en la segunda configuración es menor que aproximadamente un cinco por ciento de un volumen del recipiente de reactivos en la primera configuración.
- 20 13. El aparato de la reivindicación 1, en el que:
- un recipiente de reactivos está dispuesto dentro del volumen de reactivos de la carcasa, conteniendo el recipiente de reactivos un reactivo, incluyendo el recipiente de reactivos una parte de contacto (3782, 4782), una parte frangible y un faldón que rodea la parte frangible; y
  - la parte de émbolo del accionador corresponde a al menos una de la parte de contacto del recipiente de reactivos o el perforador, el accionador está configurado para manipularlo para mover la parte de émbolo dentro del volumen de reactivos de modo que la parte de émbolo se acople a la parte de contacto del recipiente de reactivos para deformar el recipiente de reactivos de una primera configuración a una segunda configuración, y el perforador está perforando la parte frangible del recipiente de reactivos para transportar un reactivo desde el recipiente de reactivos a la cámara de reacción por medio de la vía de administración cuando el recipiente de reactivos está en la segunda configuración.
- 25 30
- 35 14. El aparato de la reivindicación 13, en el que:
- la parte de contacto del recipiente de reactivos rodea al perforador; y
  - la parte de émbolo del accionador define una abertura alineada con el perforador.
- 40 15. El aparato de la reivindicación 13, en el que la parte de émbolo tiene una conformación curva configurada para acoplarse de forma emparejada con una conformación curva de la parte de contacto del recipiente de reactivos.
- 45 16. El aparato de la reivindicación 13, en el que la parte de administración incluye una superficie y un hombro, extendiéndose el perforador desde la superficie, configurada la superficie para recibir al menos la parte frangible del recipiente de reactivos cuando el recipiente de reactivos está en la segunda configuración, rodeando el hombro a la superficie.
- 50 17. El aparato de la reivindicación 13, que comprende además:
- un miembro de bloqueo configurado para mantener el faldón en contacto con el hombro de la parte de administración de la carcasa cuando el recipiente de reactivos está en la segunda configuración para mantener un cierre sustancialmente estanco a fluidos entre el faldón y el hombro.

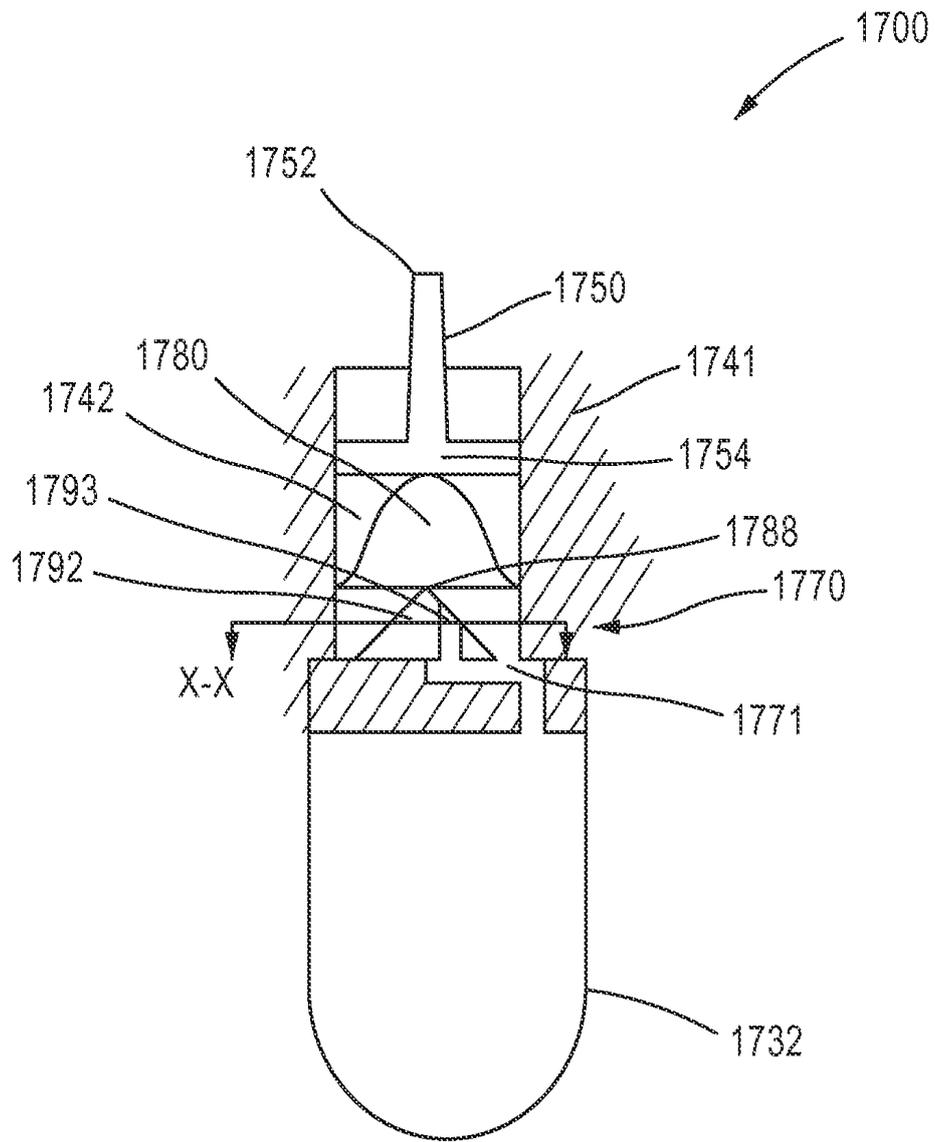


FIG.1

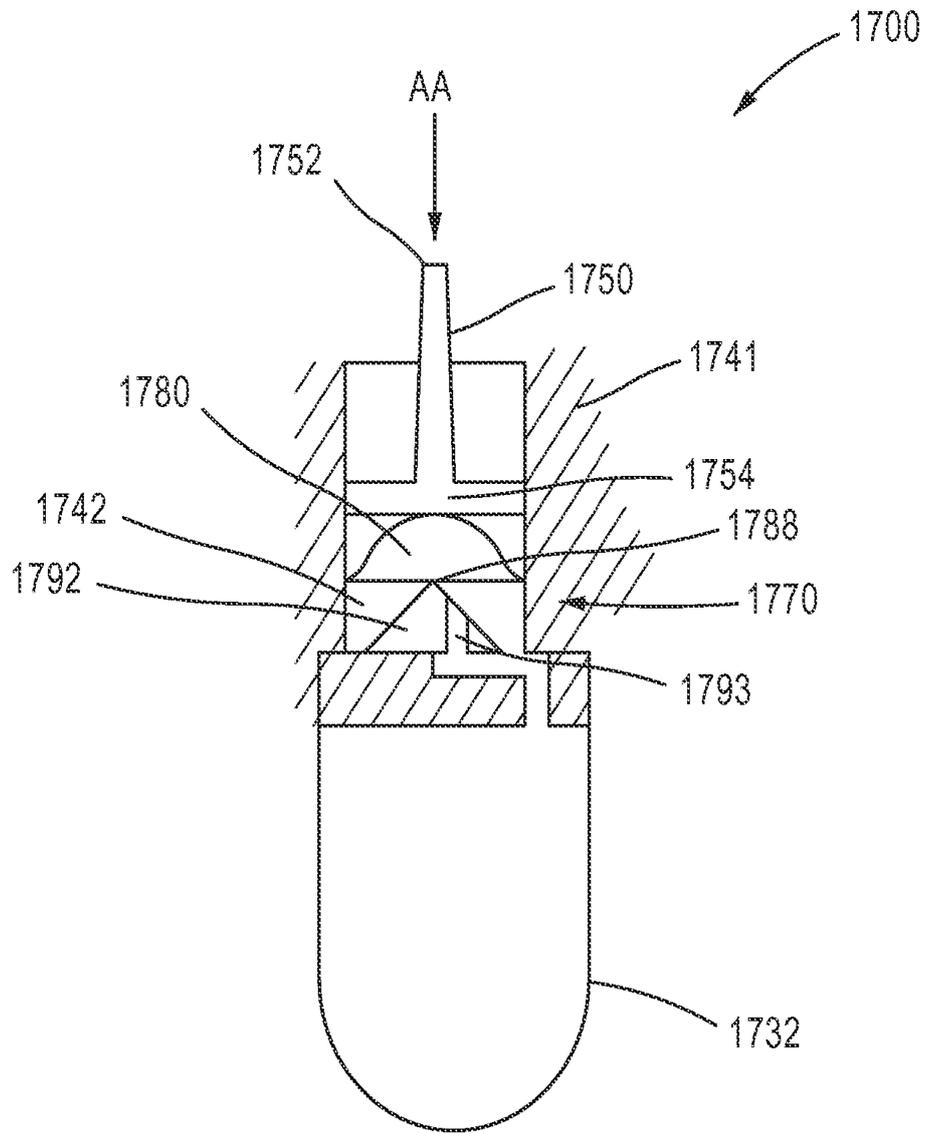


FIG.2

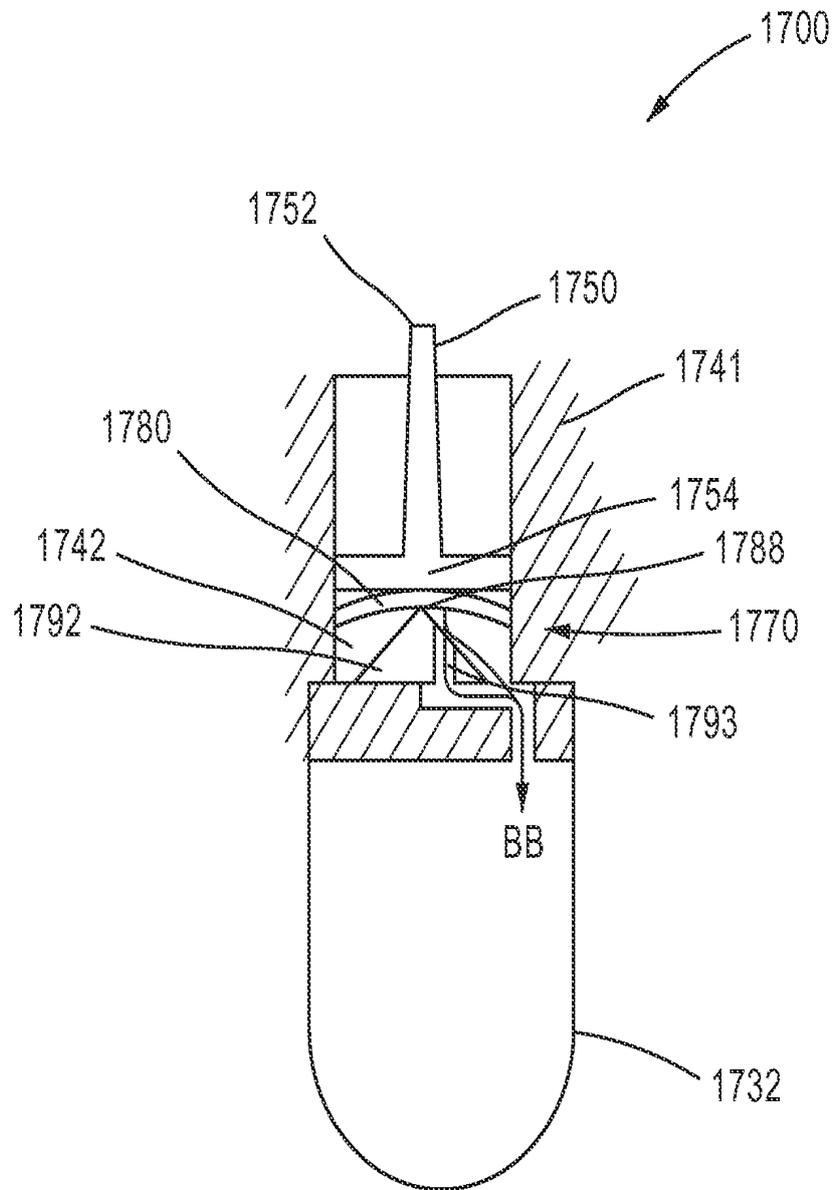


FIG.3

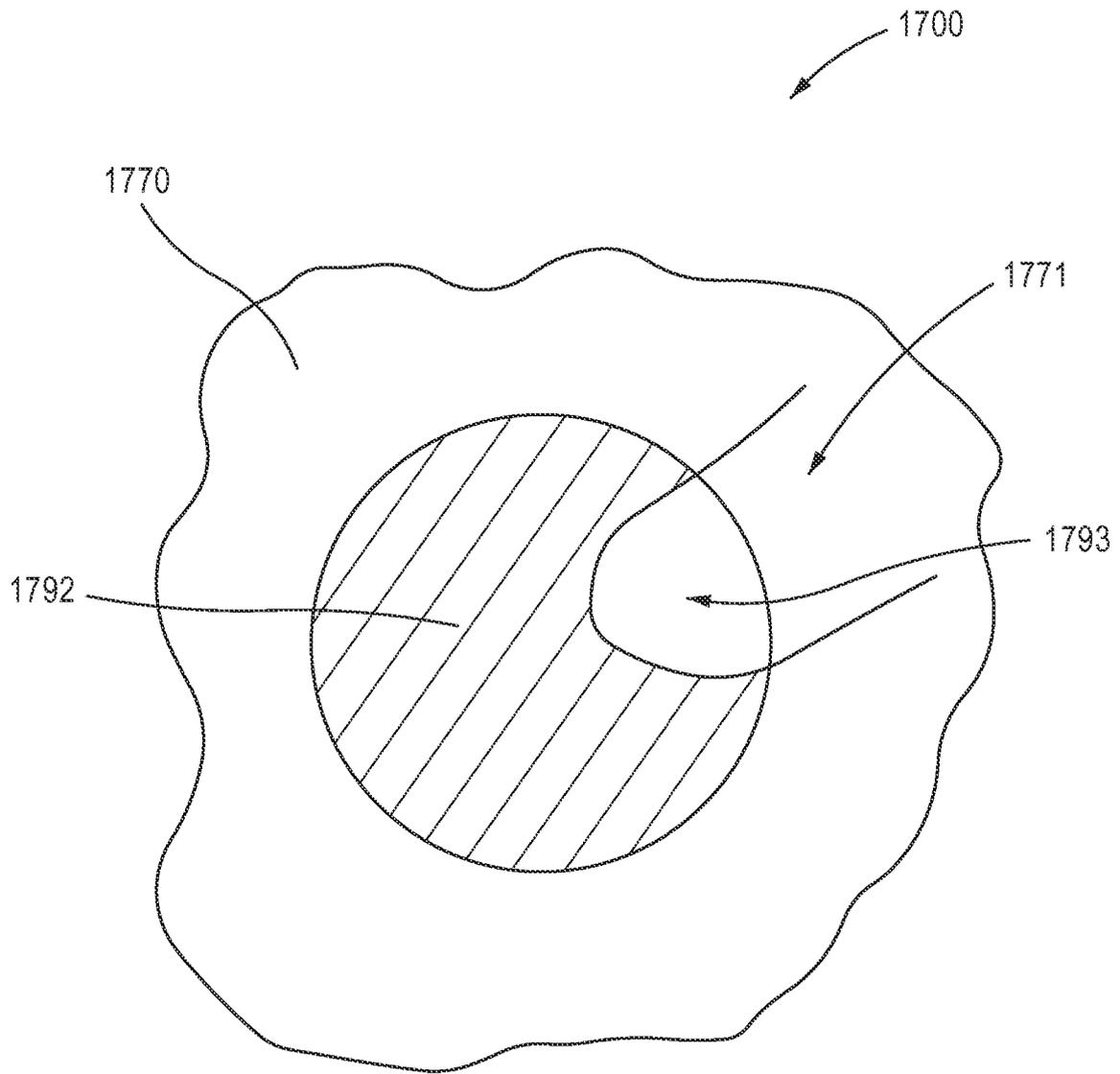


FIG.4

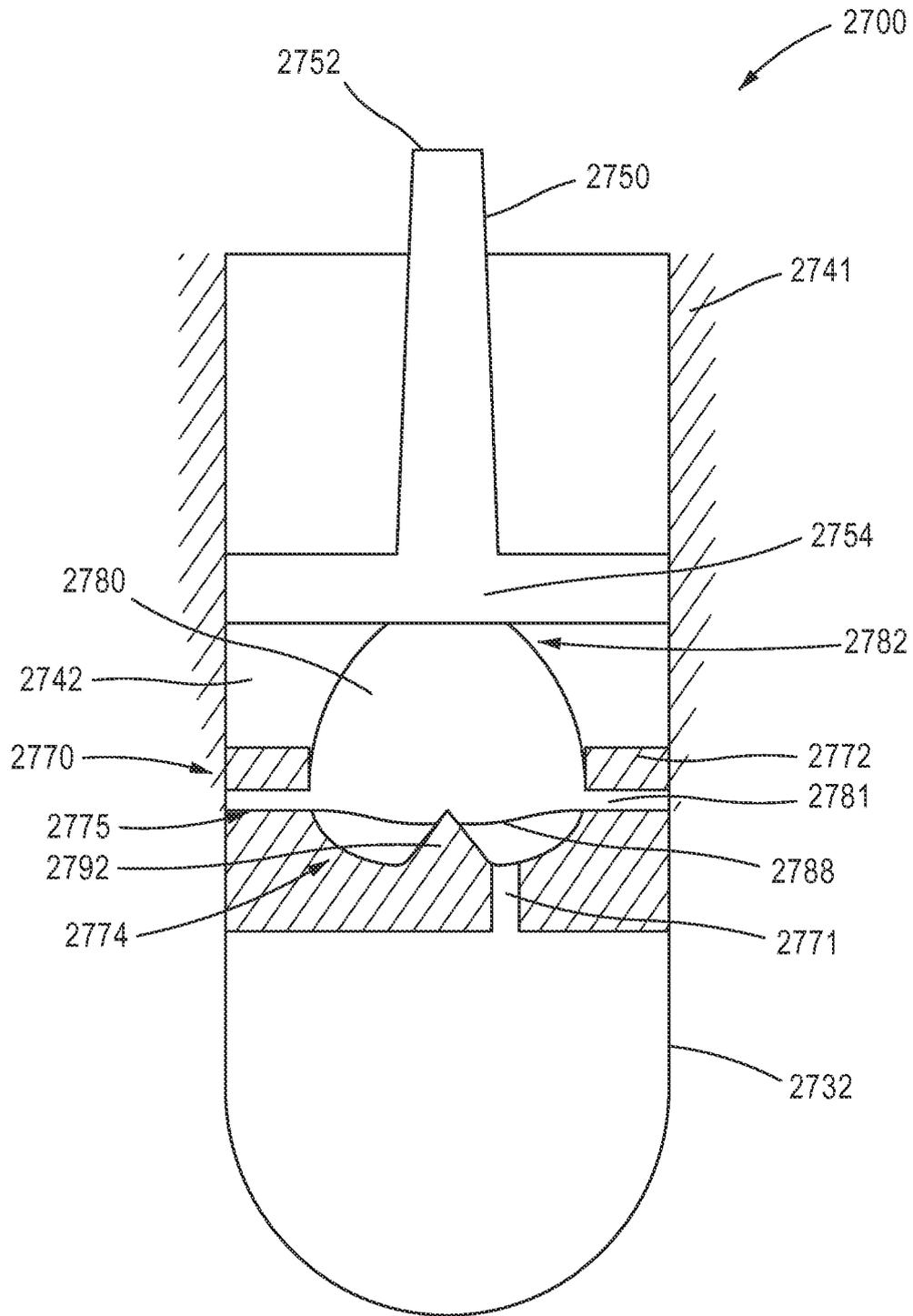


FIG.5

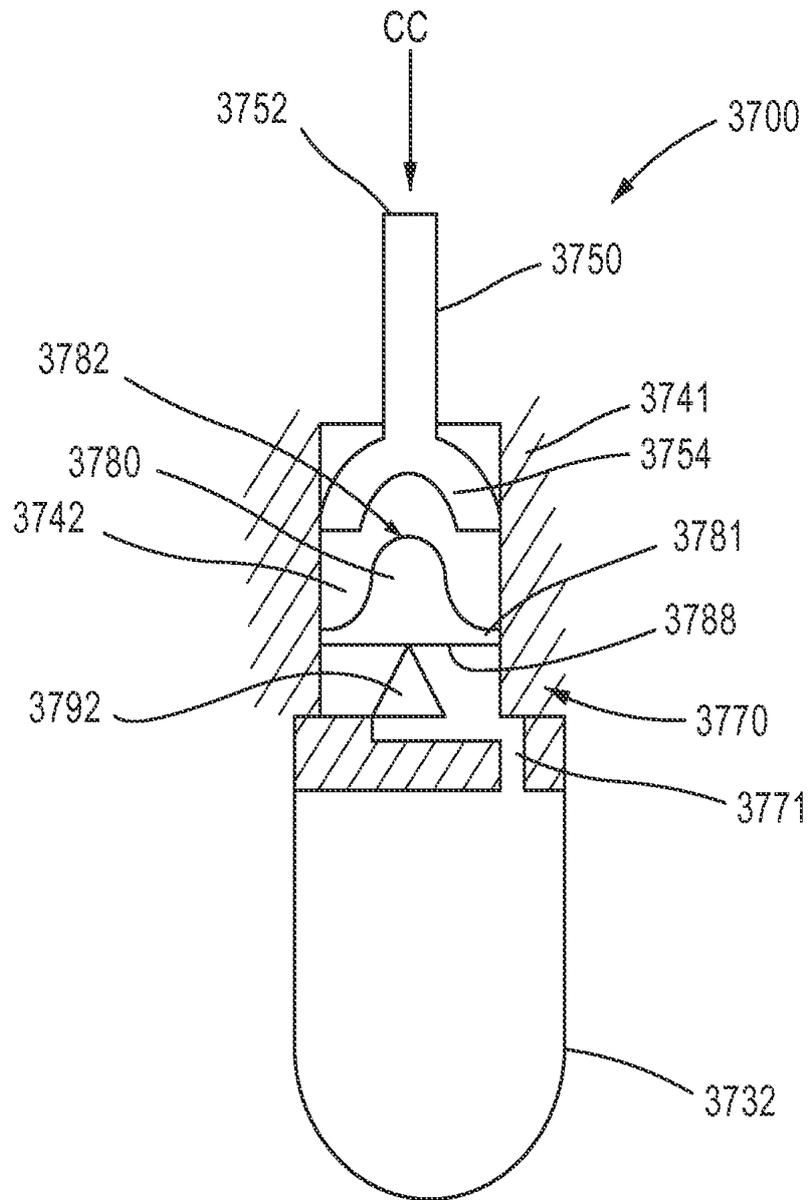


FIG.6

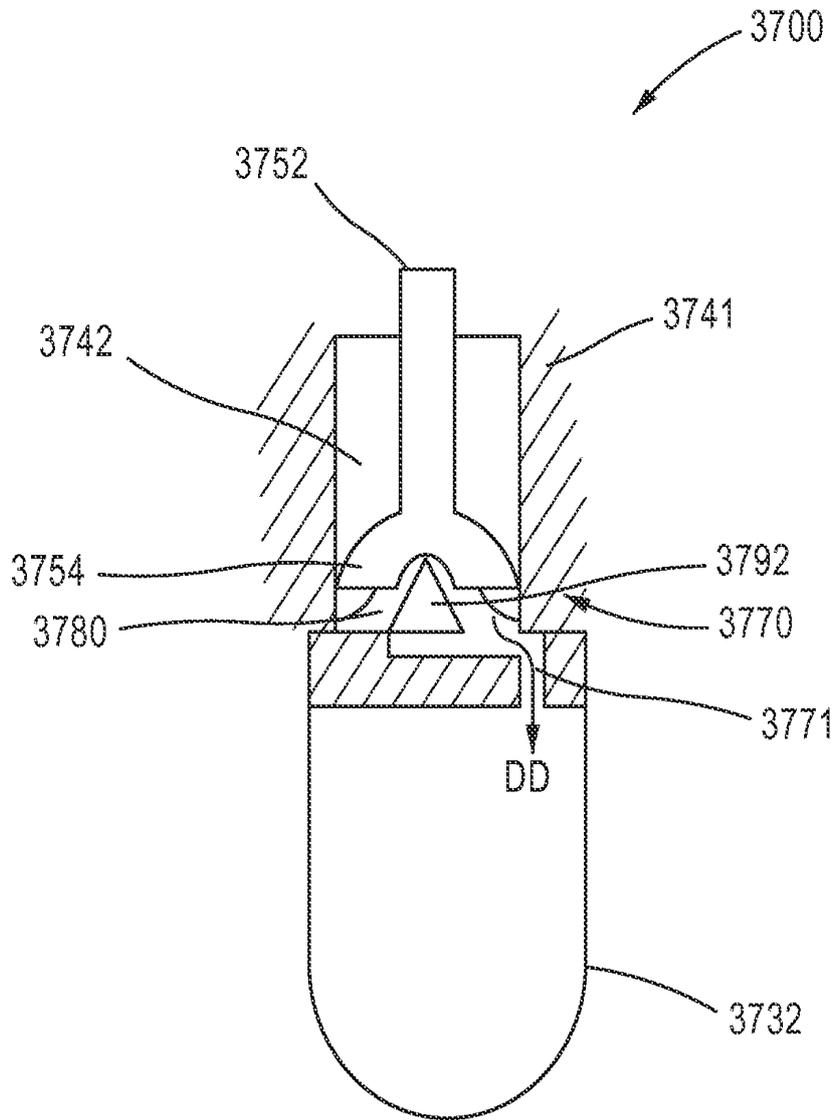


FIG.7

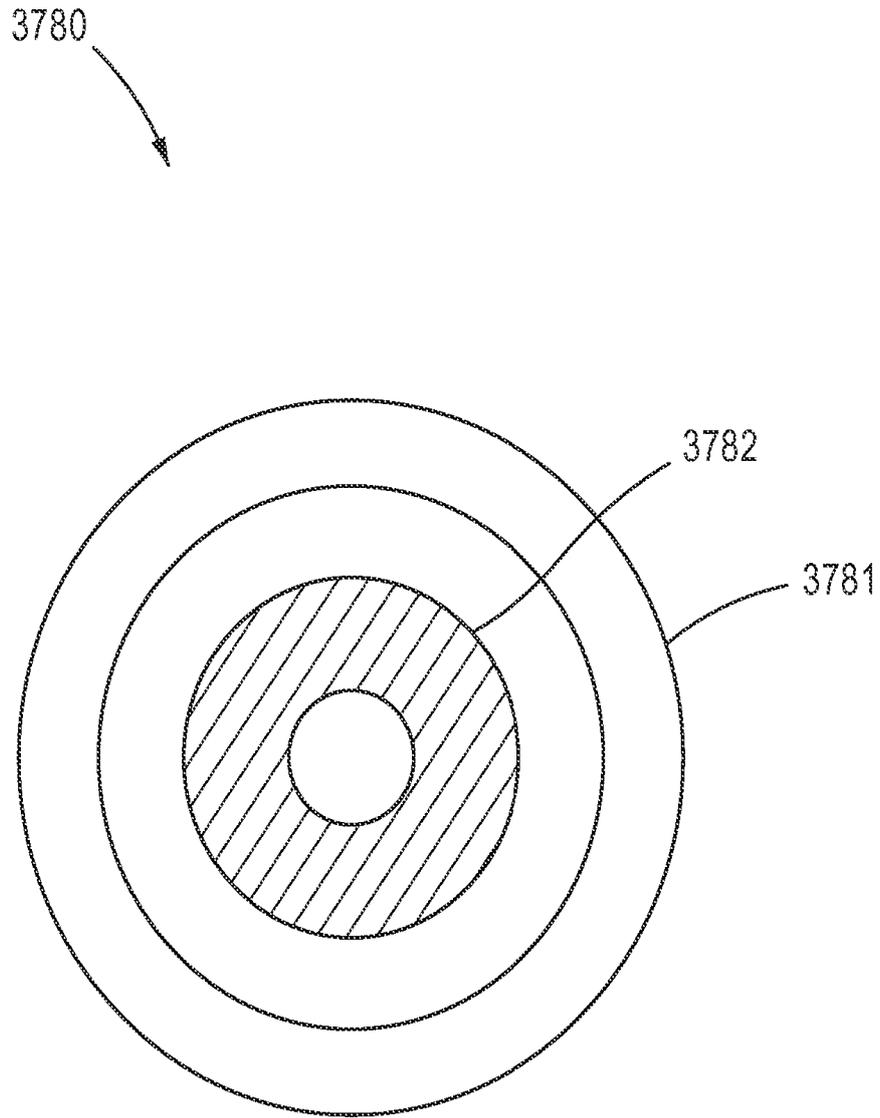


FIG.8

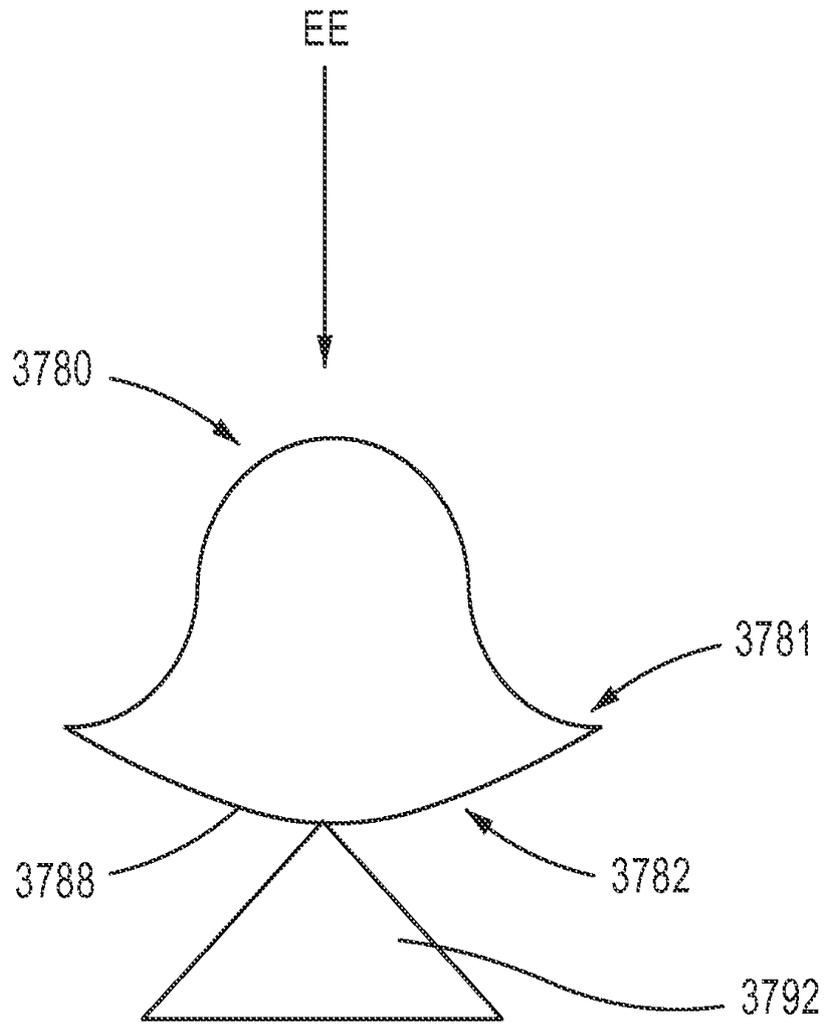


FIG.9

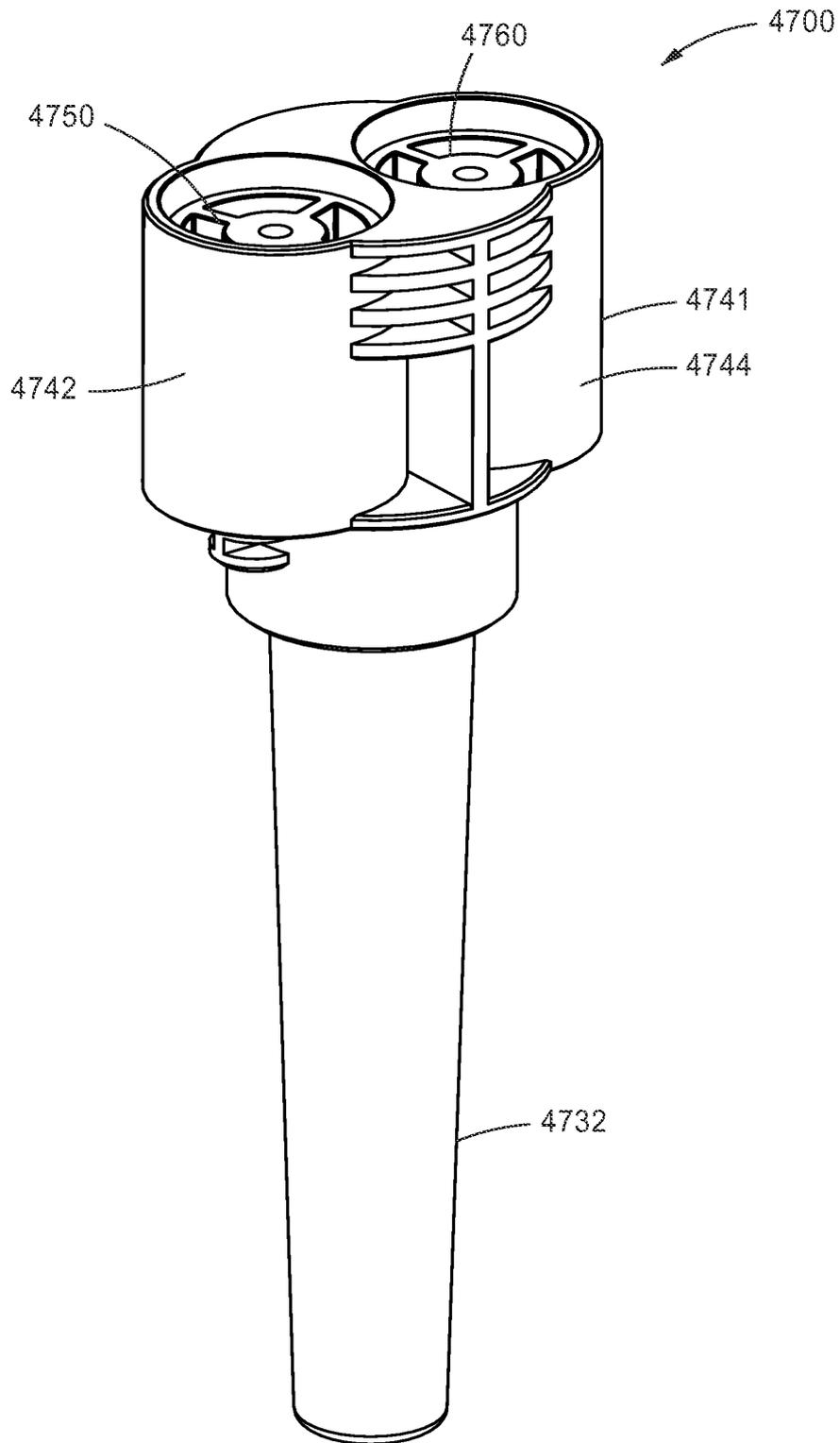


FIG.10

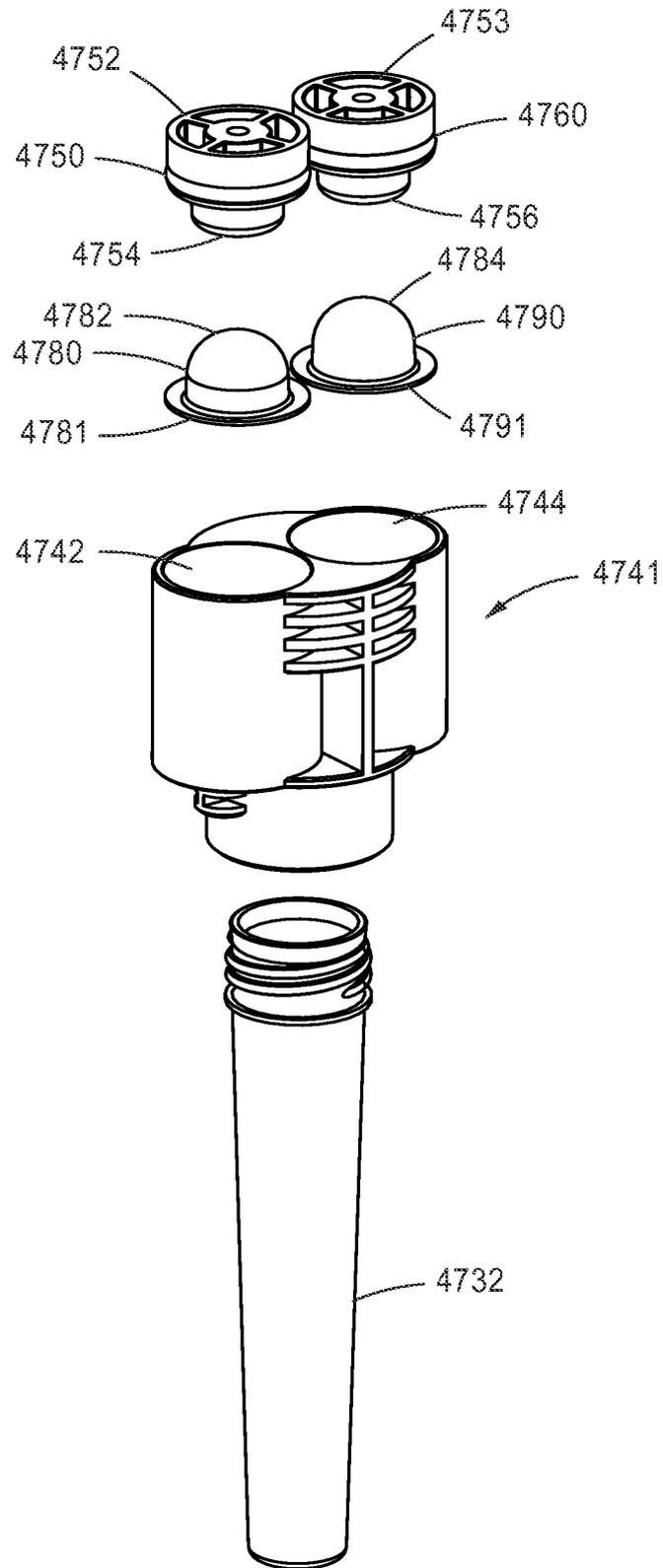


FIG.11

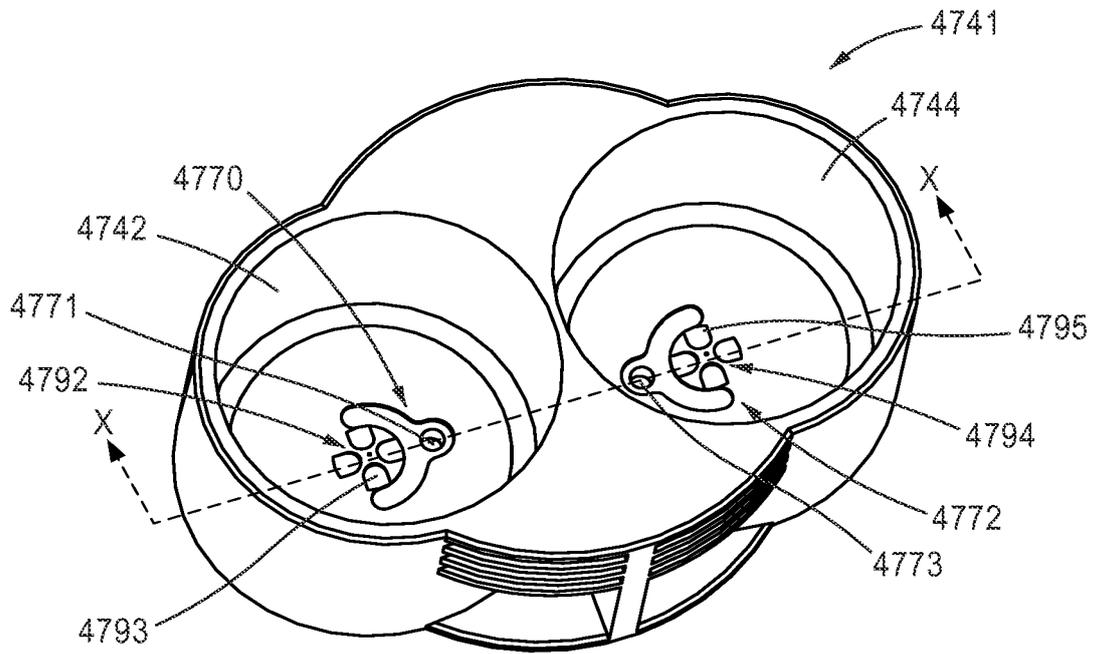


FIG. 12

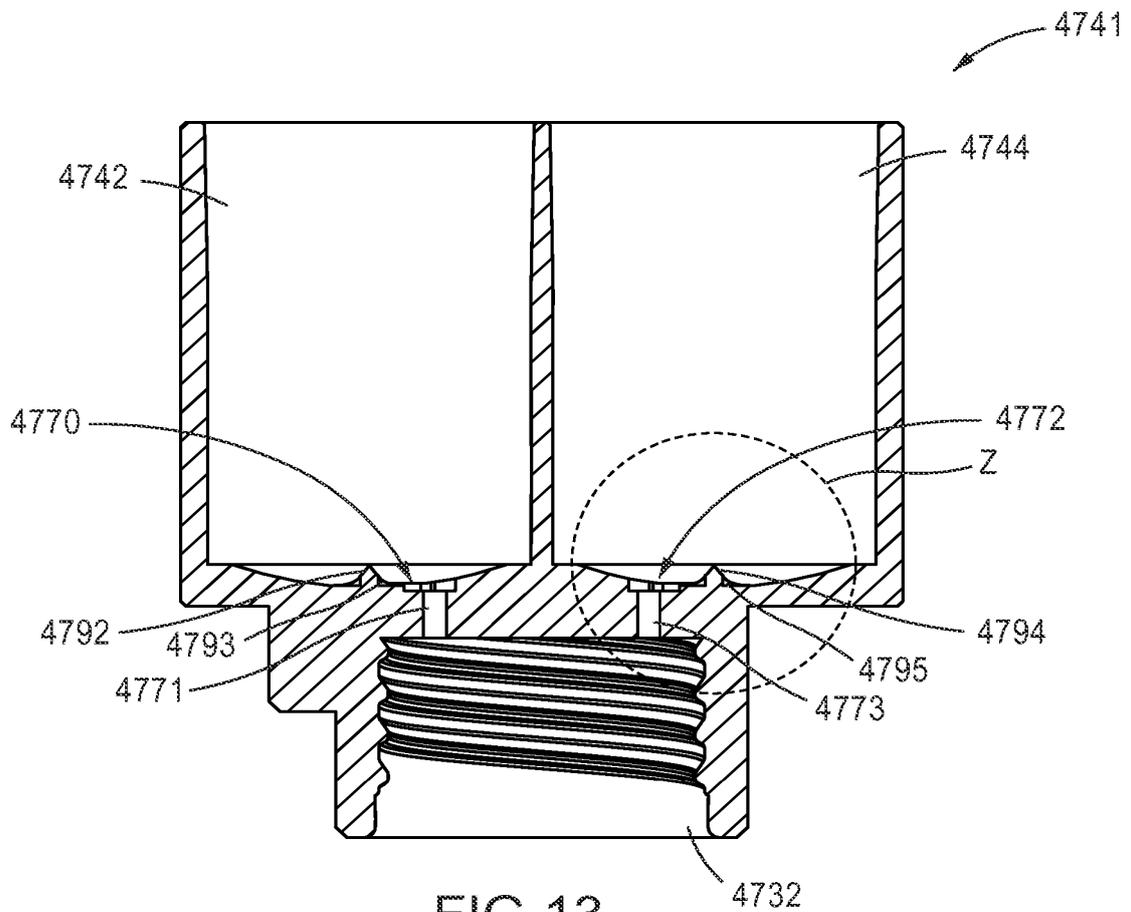


FIG. 13

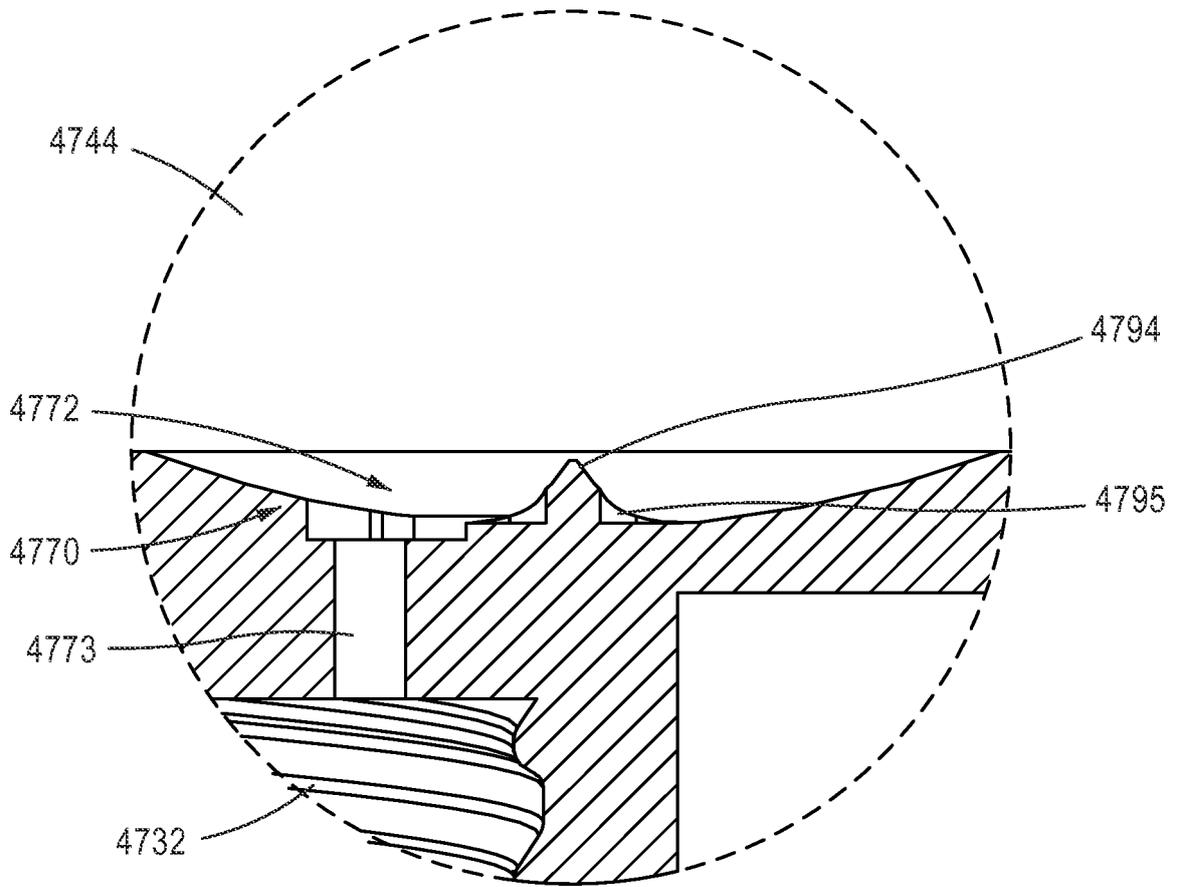


FIG. 14

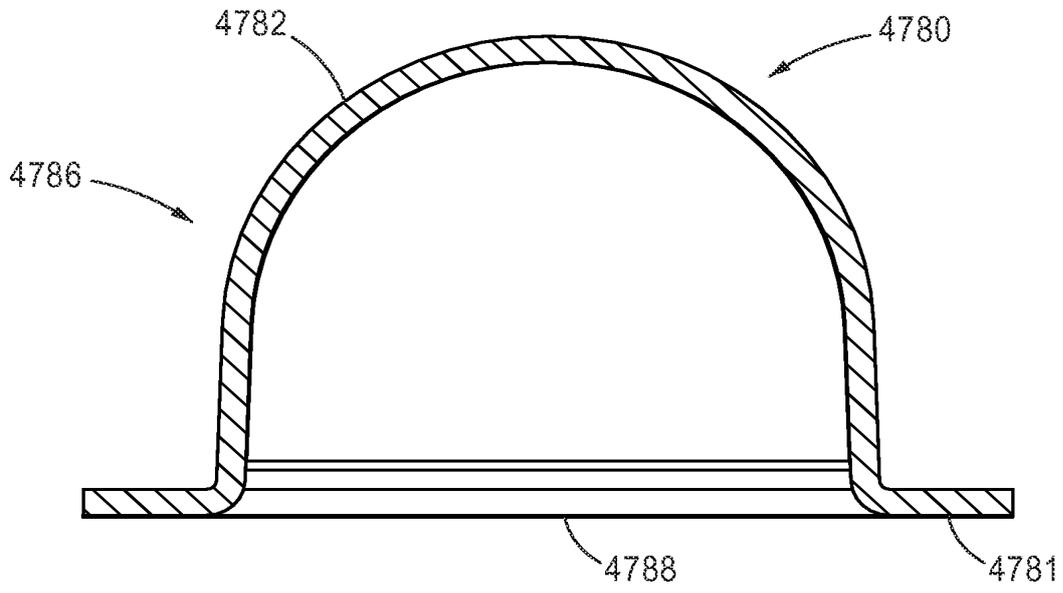


FIG.15

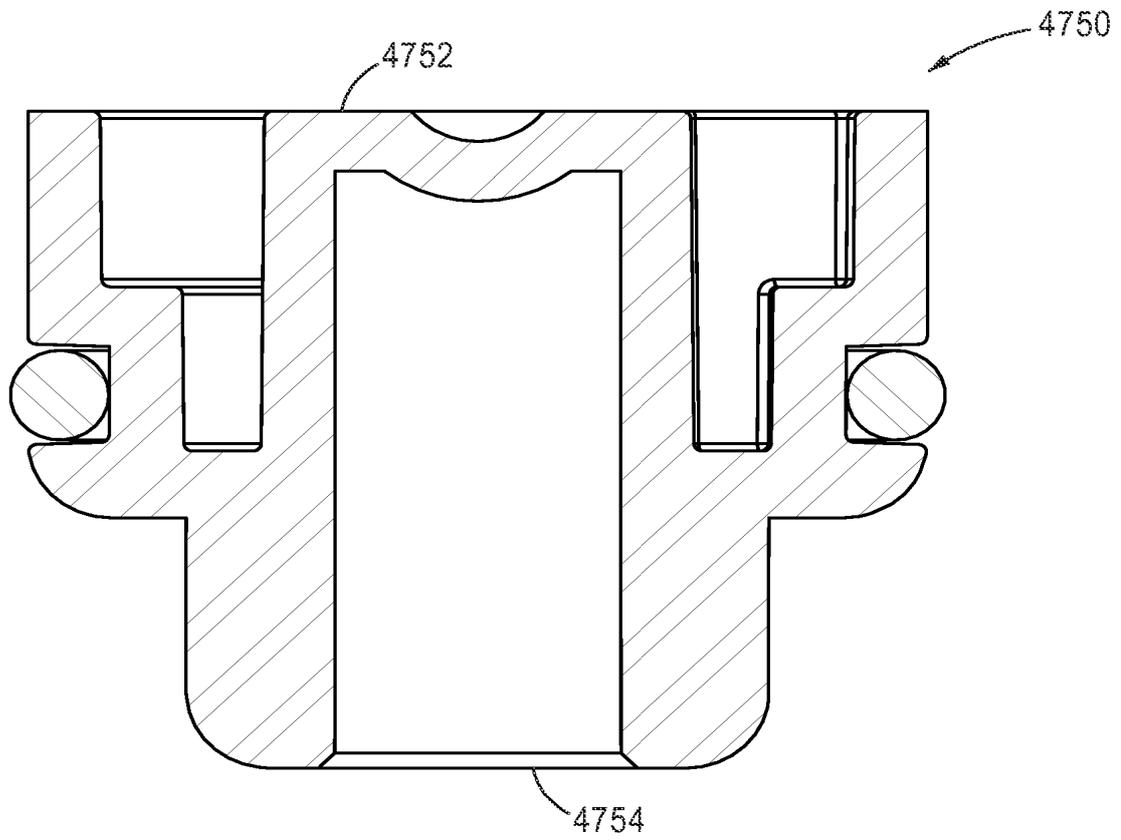


FIG.16

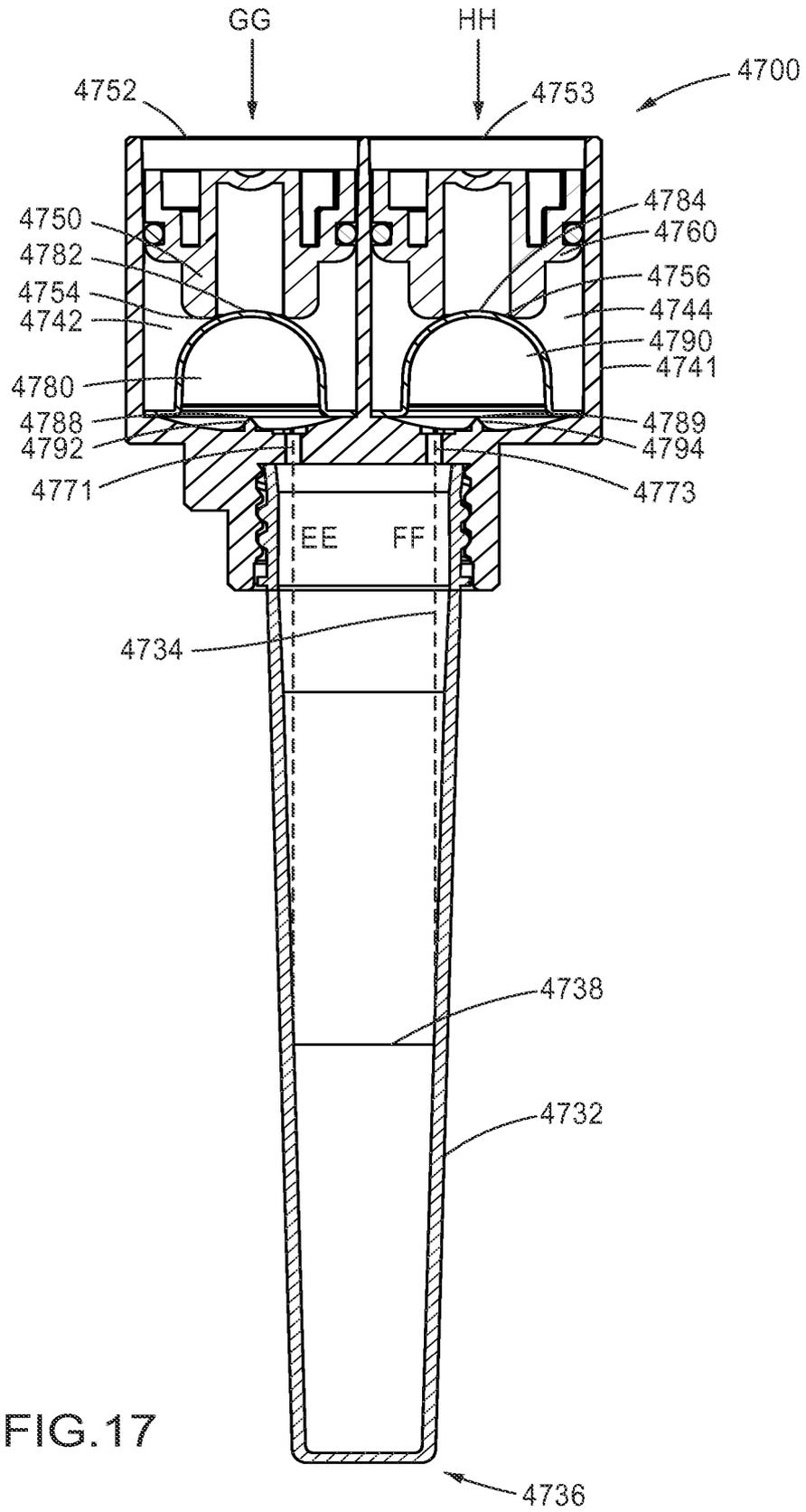


FIG.17

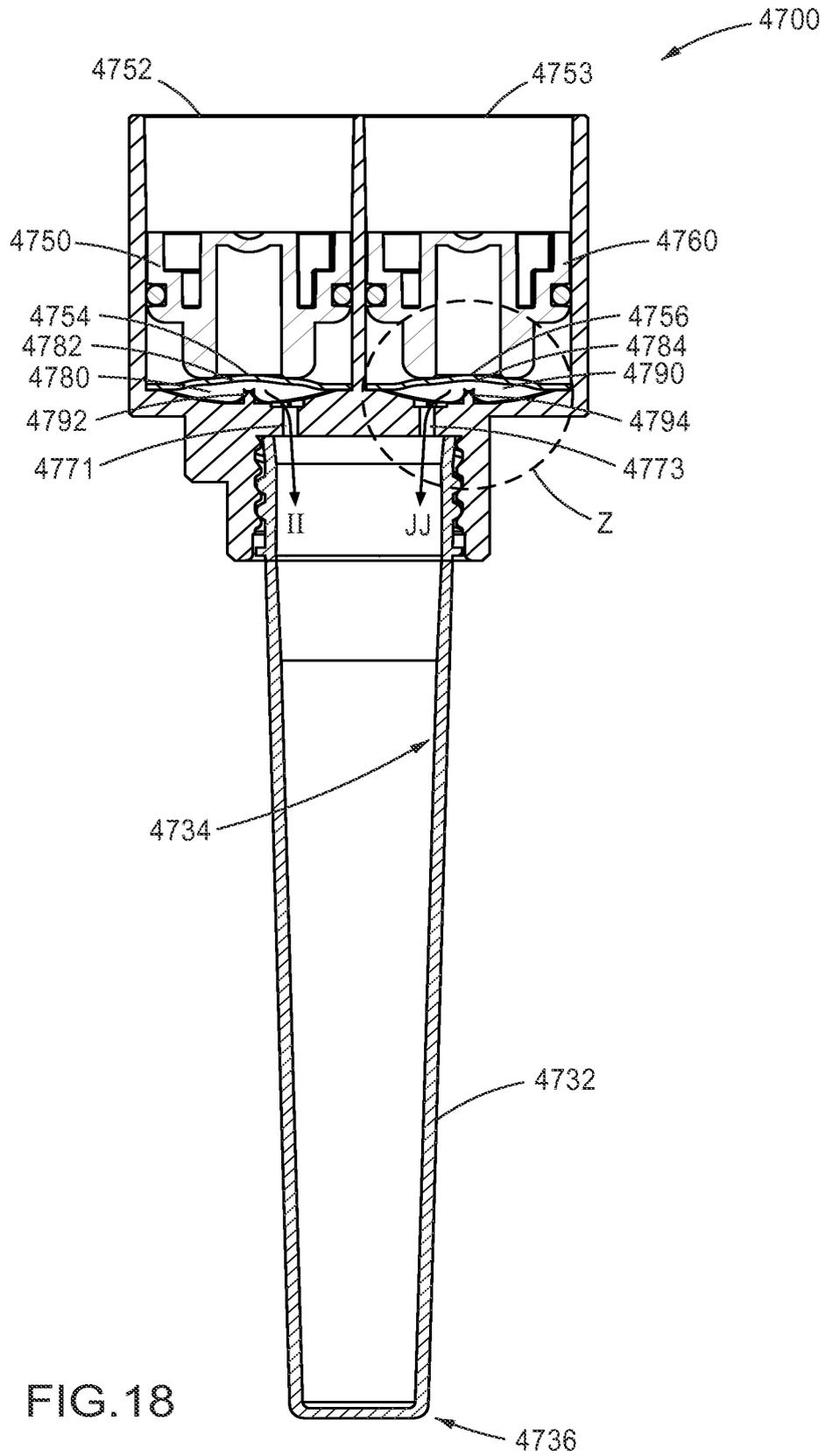


FIG. 18

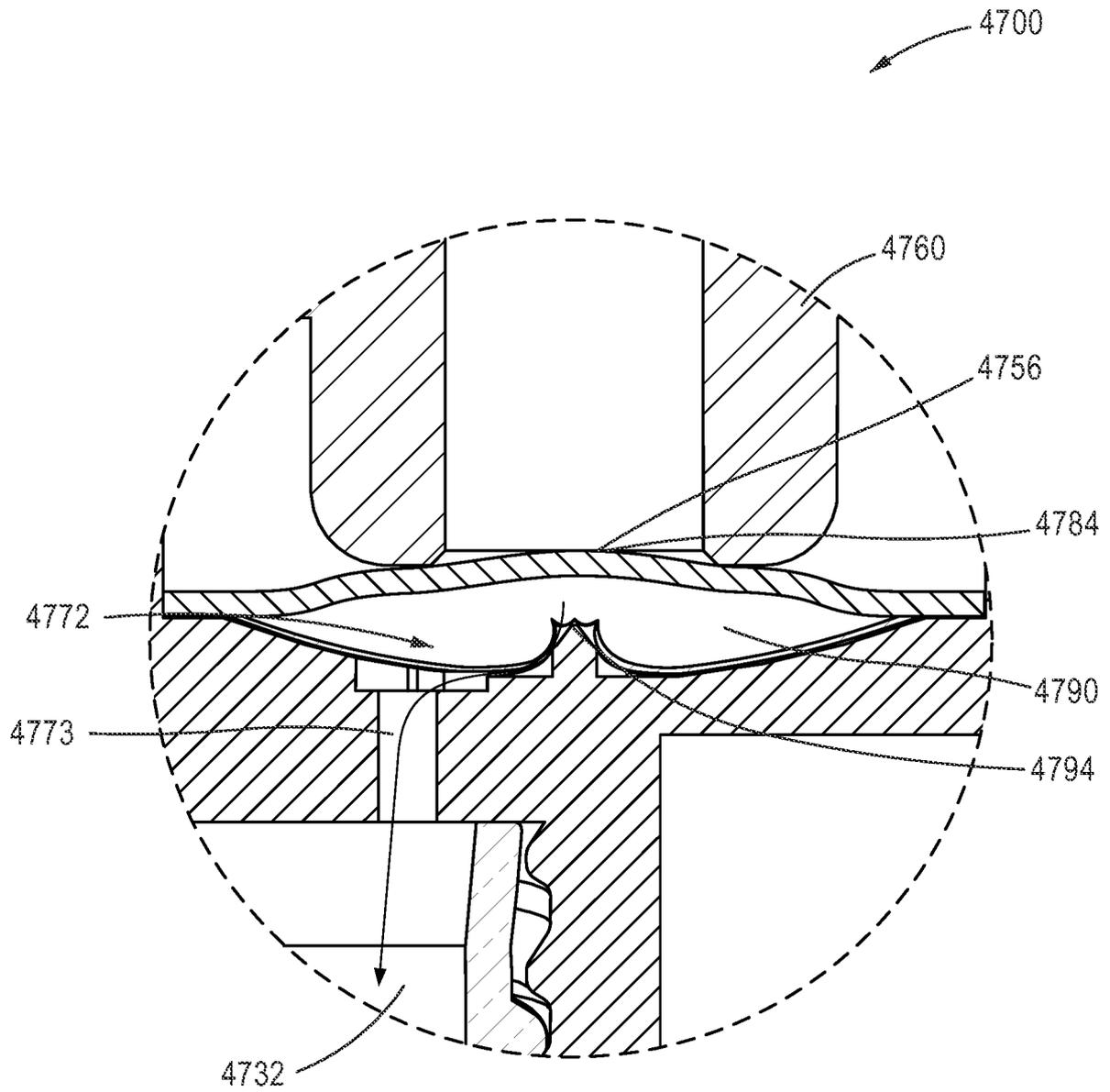


FIG. 19

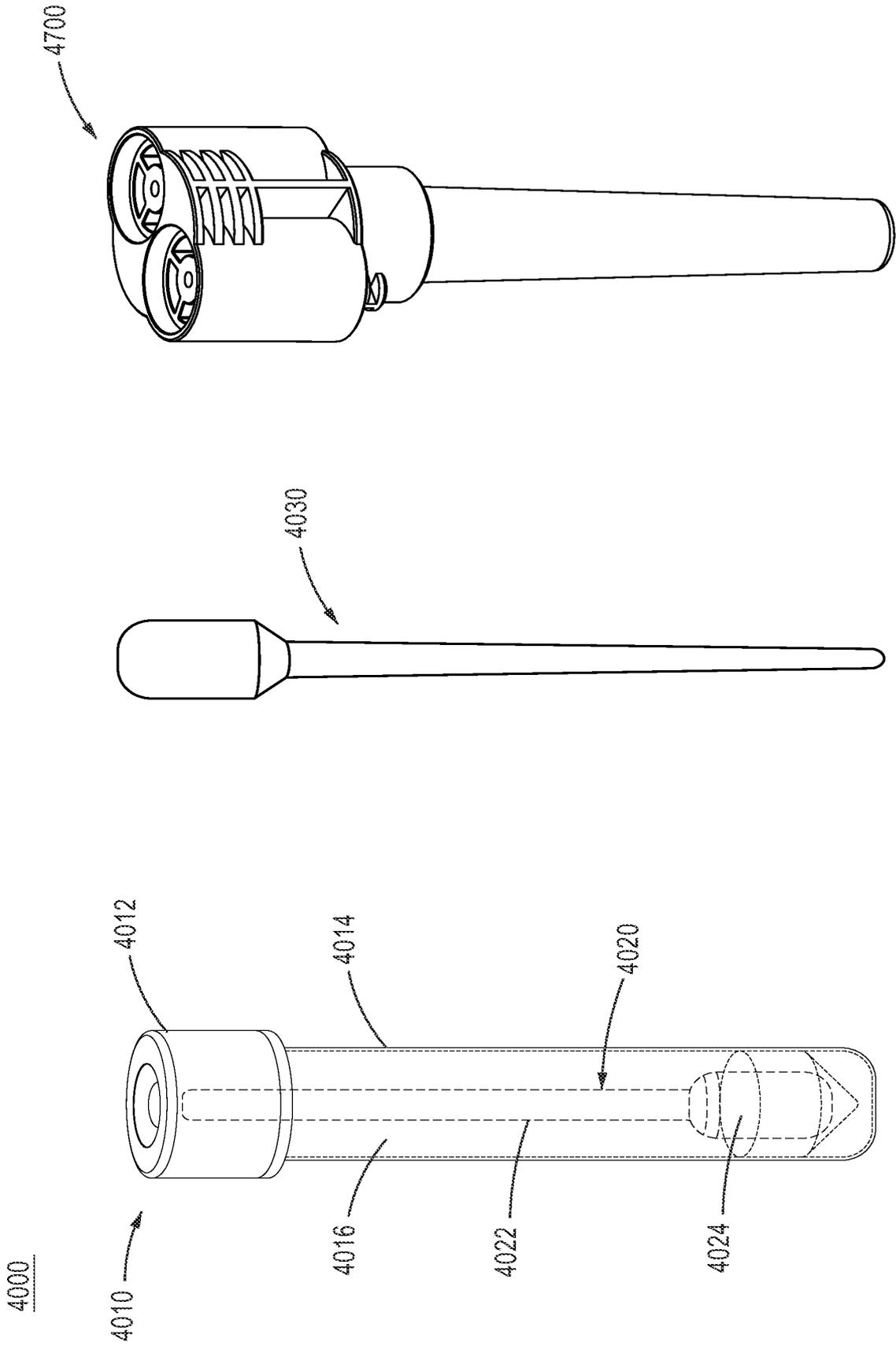


FIG. 20

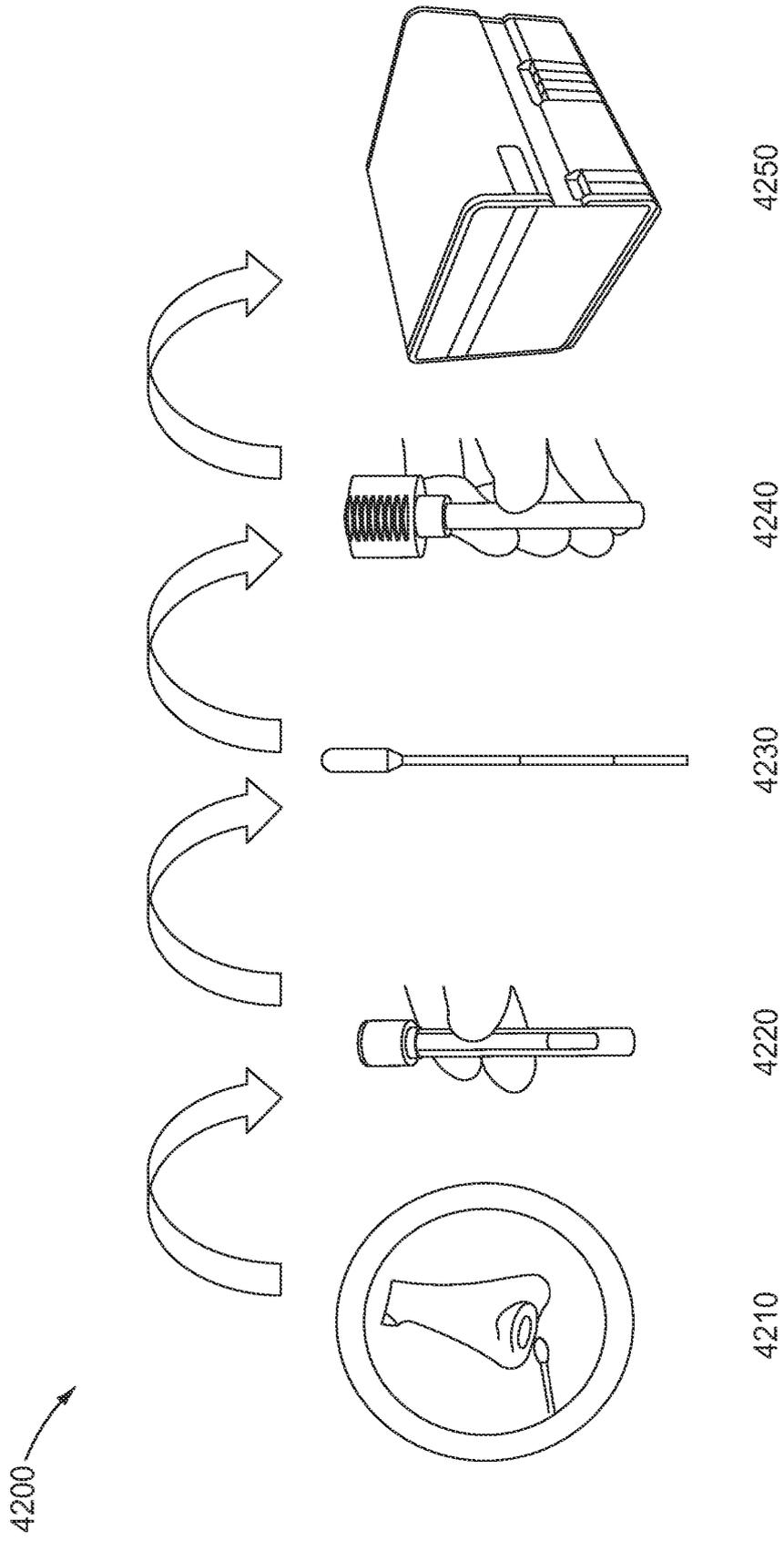


FIG.21

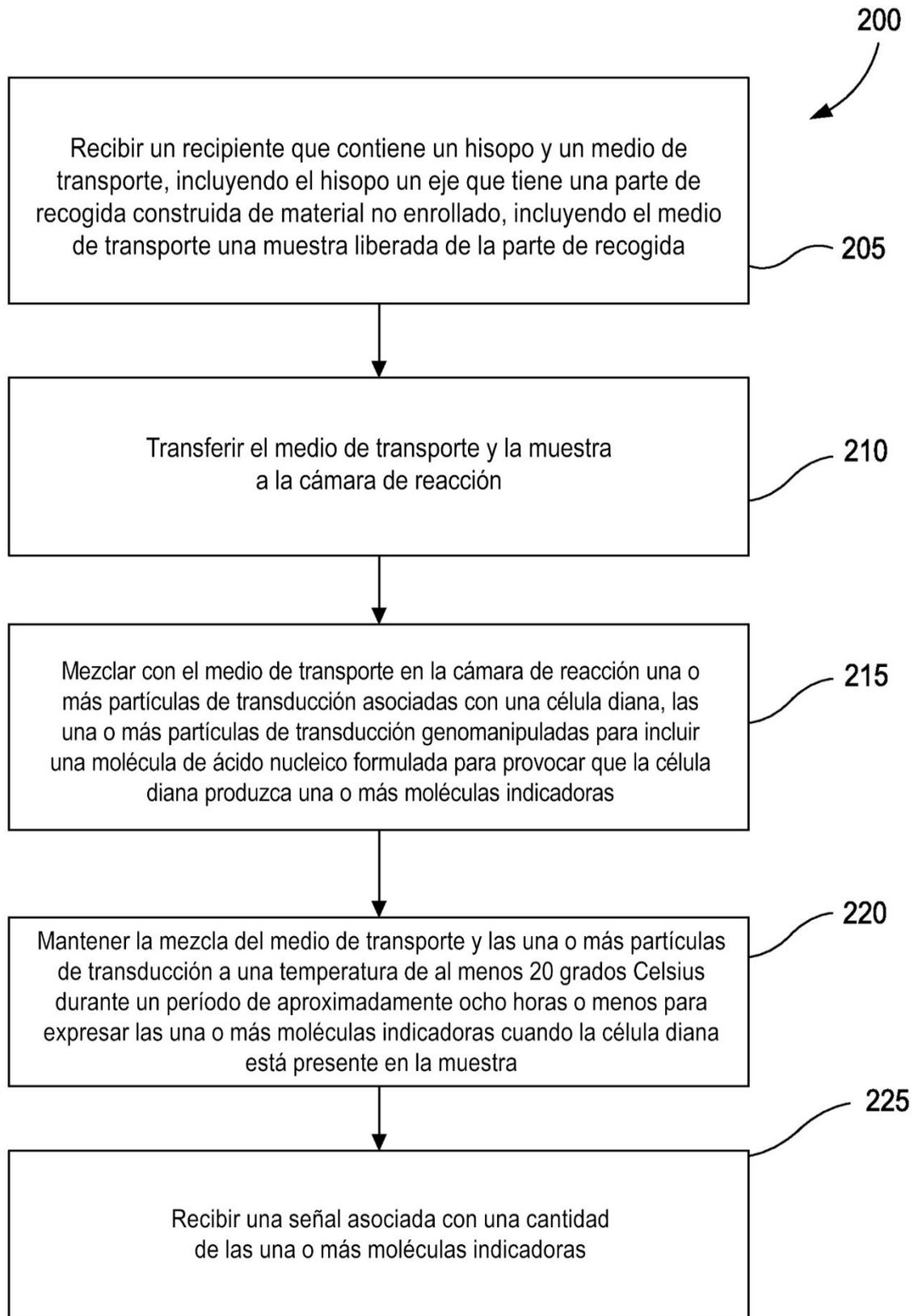


FIG.22

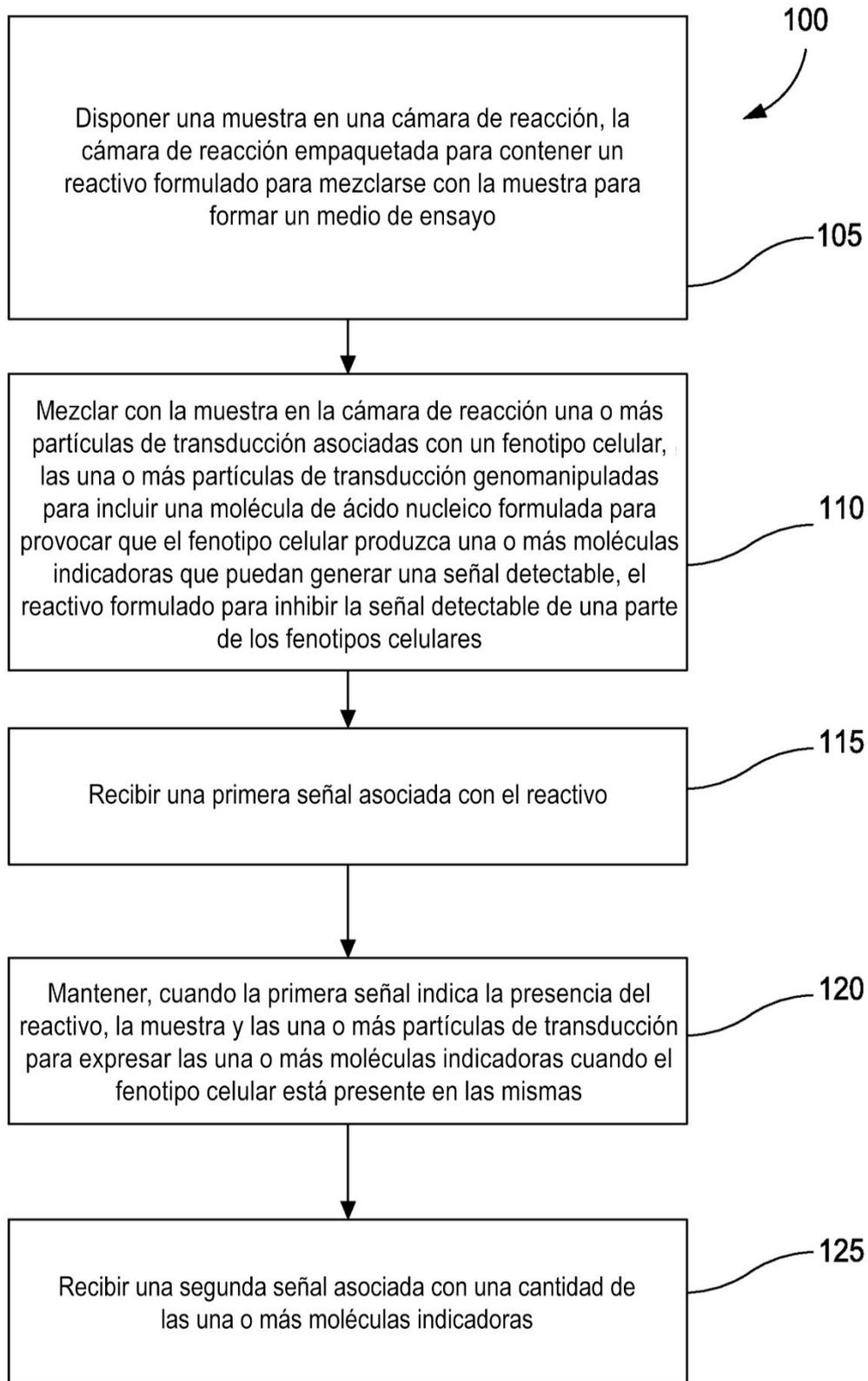


FIG.23

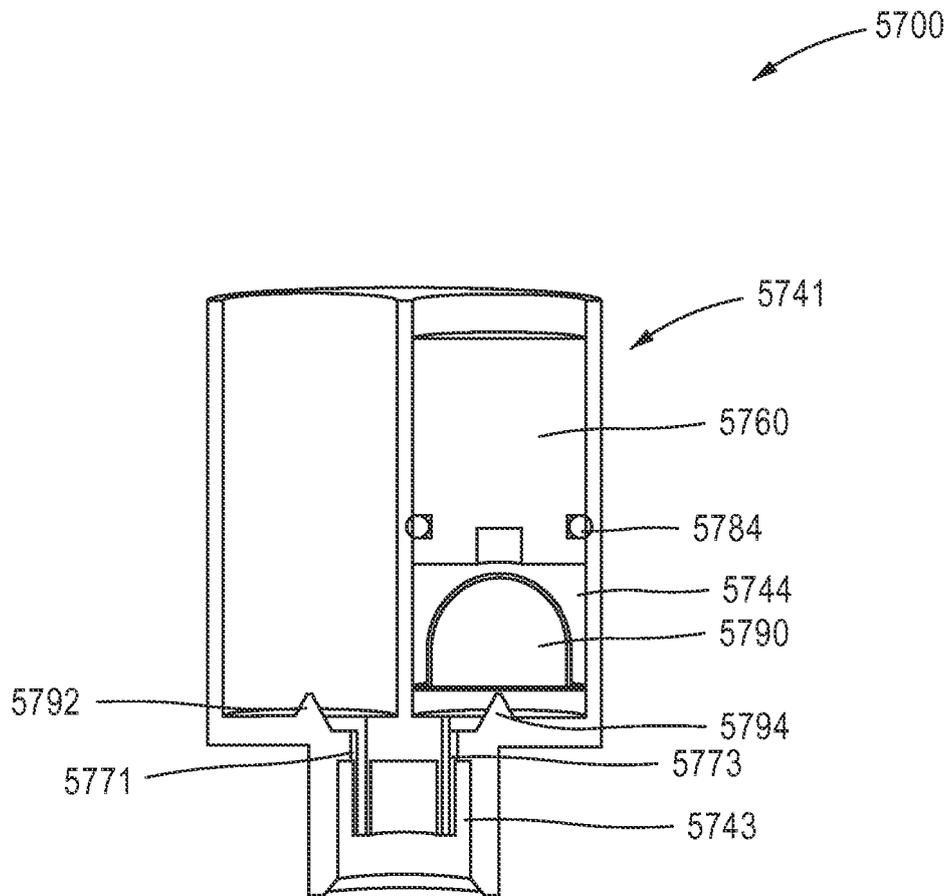


FIG.24

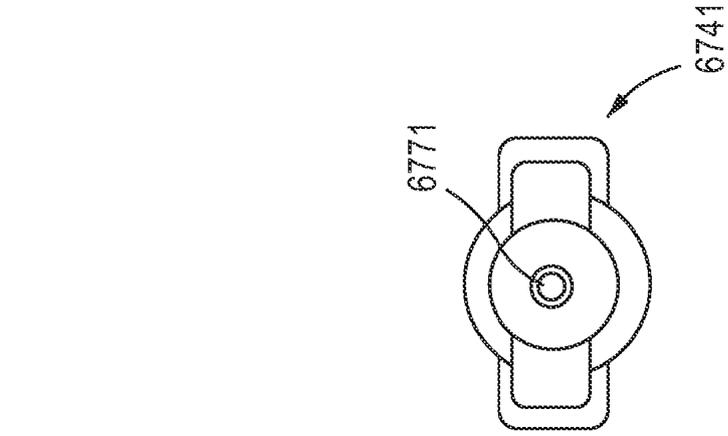


FIG. 25A

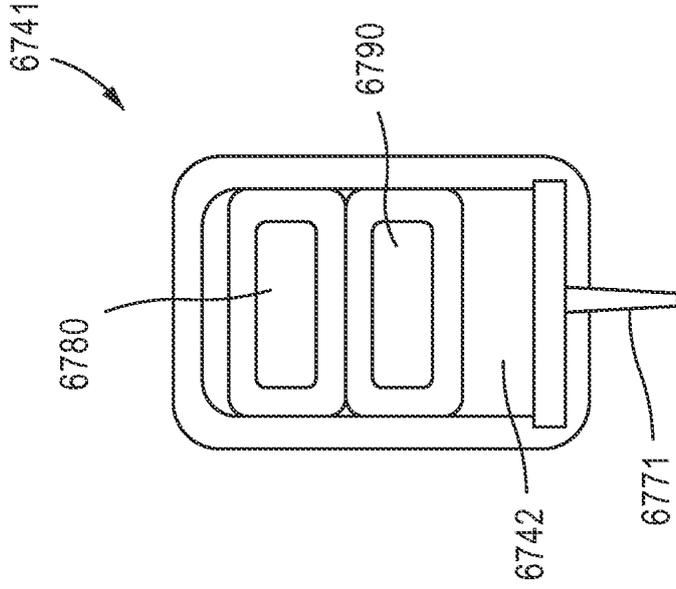


FIG. 25B

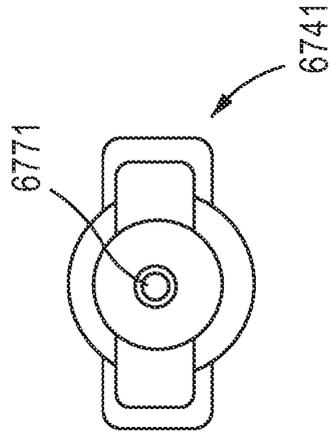


FIG. 25C

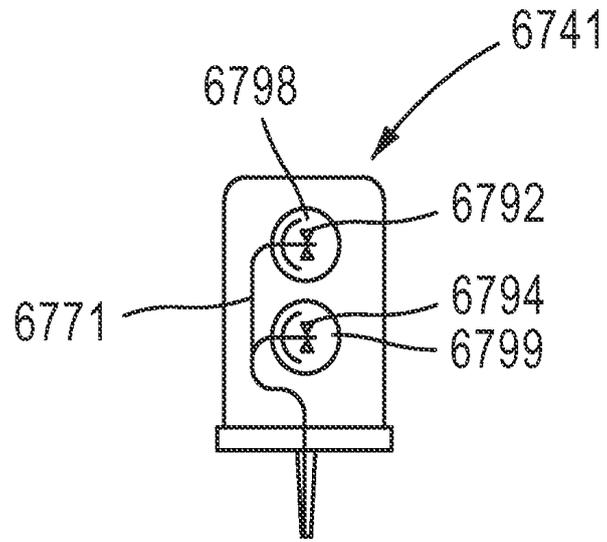


FIG. 26

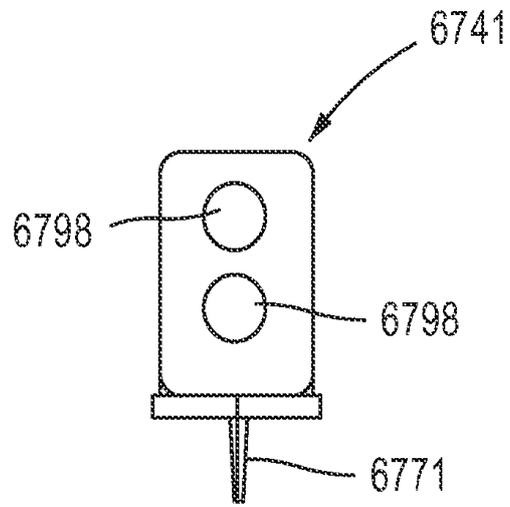


FIG. 27

### Enumeración de hisopos - rayón frente a espuma

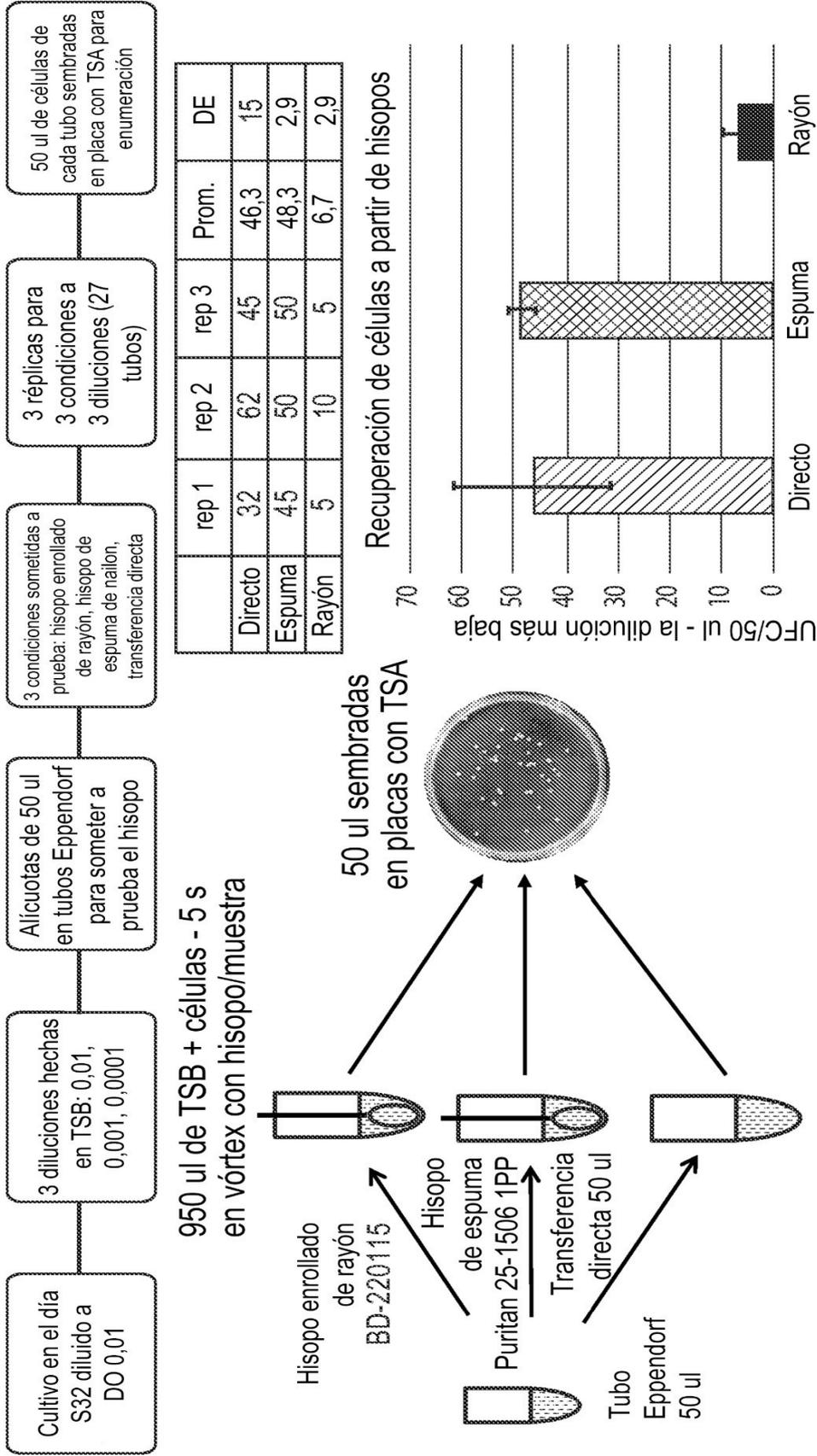


FIG.28

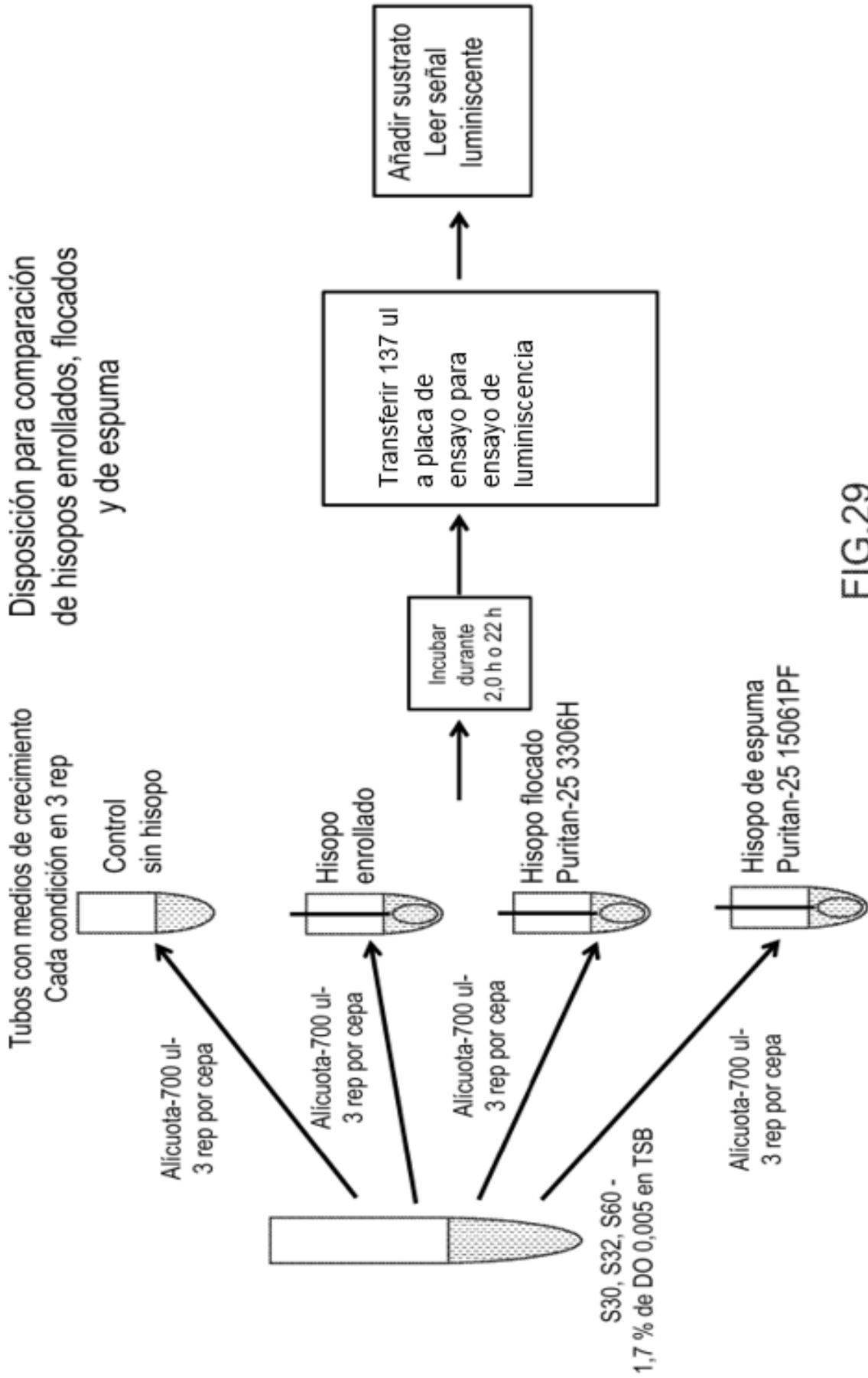


FIG.29

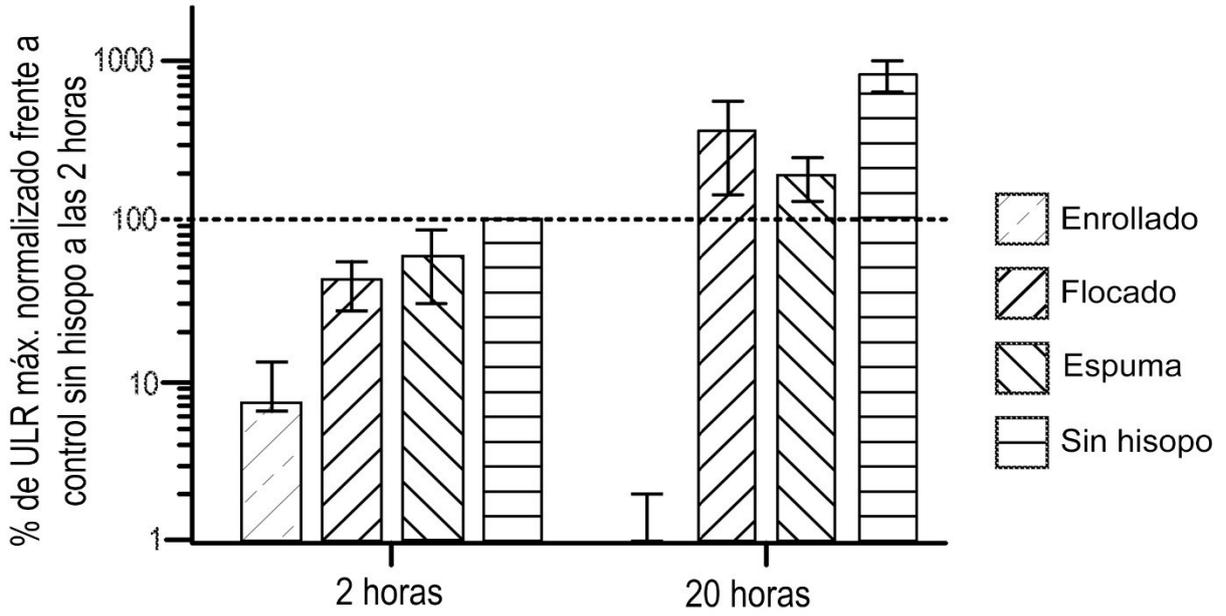


FIG.30A

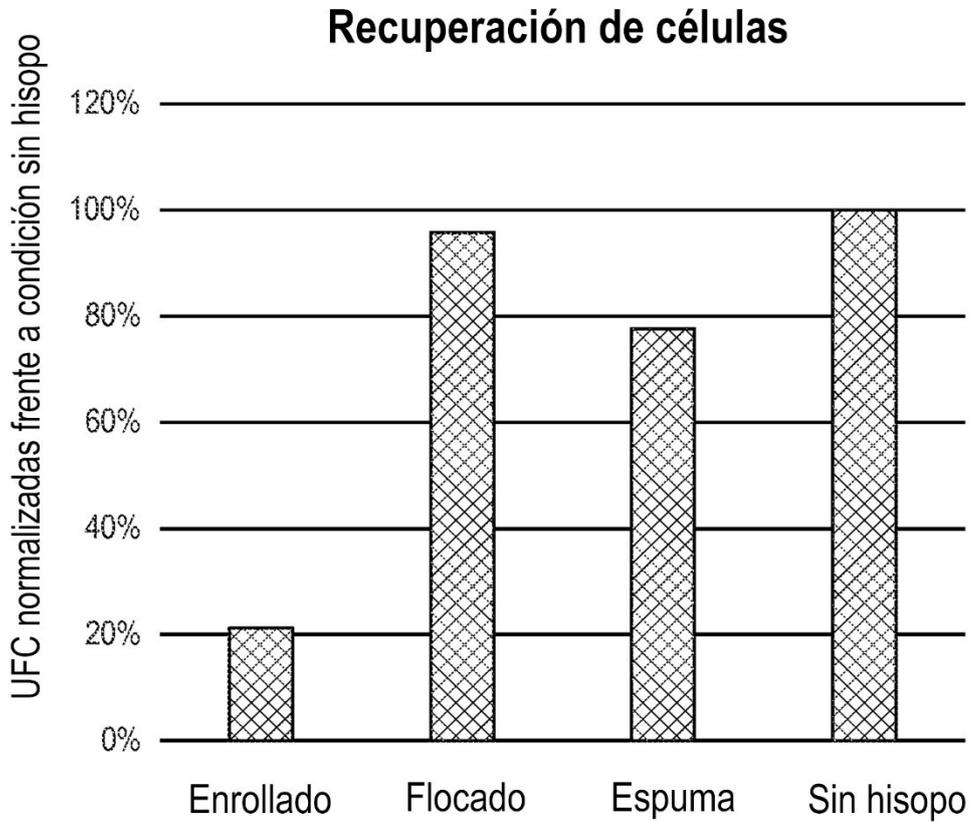


FIG.30B

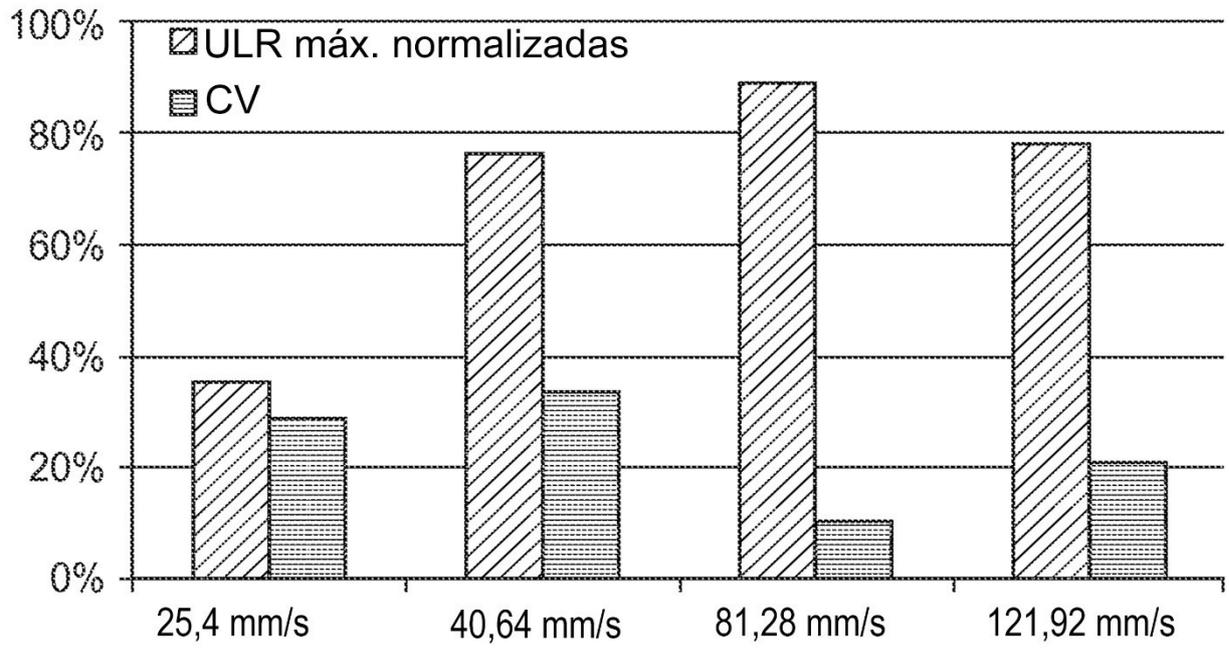


FIG.31