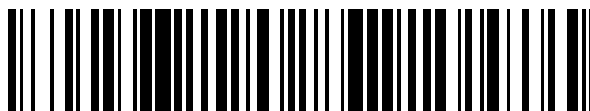


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 756 098**

51 Int. Cl.:

G01N 33/48 (2006.01)

C12M 3/00 (2006.01)

G06M 11/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.03.2014 PCT/US2014/032071**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.10.2014 WO14160891**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.03.2014 E 14775078 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.08.2019 EP 2979089**

54 Título: **Métodos, dispositivos y sistemas para el análisis de muestras**

30 Prioridad:

27.03.2013 US 201361805900 P

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

27.04.2020

73 Titular/es:

**THERANOS IP COMPANY, LLC (100.0%)
160 Foss Creek Cir 2369
Healdsburg, California 95448, US**

72 Inventor/es:

**YOUNG, DANIELQ y
HOLMES, ELIZABETH A.**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 756 098 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

Métodos, dispositivos y sistemas para el análisis de muestras

Antecedentes de la invención

5 La detección e identificación rápida y precisa de analitos y patógenos en muestras biológicas es útil en el diagnóstico de enfermedades y trastornos en los sujetos. Sin embargo, dicho análisis puede ser un proceso con múltiples etapas y puede ser ventajoso, o necesario, realizar diferentes ensayos en la secuencia. Pueden configurarse dispositivos y sistemas de análisis para un análisis necesario para conseguir un análisis completo, aunque no para todos.

10 Los documentos de la técnica anterior WO 2012/083250 A2; Lehmann H-P et al., Hep2 ANA EIA: A new fully automated assay for screening of antinuclear antibodies. ISRAEL MEDICAL ASSOCIATION JOURNAL 2000 IL, vol. 2, no. 8, 2000, páginas 646-648, XP009188103, ISSN: 1565-1088; y US 2007/111225 A1 son ejemplos de métodos de prueba de la técnica anterior para analizar muestras biológicas utilizando diferentes tipos de ensayos.

En consecuencia, se requieren métodos, dispositivos y sistemas mejorados para el análisis de muestras biológicas.

Compendio

15 La presente invención proporciona un método para analizar una muestra biológica de un paciente en un dispositivo de procesamiento de muestras que tiene una cámara según la reivindicación 1 y sus reivindicaciones dependientes. El método comprende realizar un ensayo inicial en dicha cámara de dicho dispositivo para un analito en una porción de dicha muestra biológica, en el que dicho dispositivo de procesamiento de muestra comprende una pipeta y aloja a un cartucho, por lo que se obtiene un resultado inicial, en el que dicho ensayo inicial puede proporcionar un resultado negativo que indicaría que no se detecta la presencia de dicho analito, o que se detecta a un nivel normal, en la porción de la muestra biológica, o puede proporcionar un resultado positivo que indicaría que se detecta la presencia del analito, o se detecta a un nivel anormal nivel, en la muestra biológica; y determinar otras pruebas supeditadas a dicho resultado inicial, en el que si el resultado inicial es negativo, entonces no se realiza ningún ensayo adicional; y en donde si el resultado inicial es positivo, entonces se realiza otro ensayo en dicho dispositivo en otra porción de dicha muestra biológica; en donde el ensayo inicial y el otro ensayo se realizan en porciones de la misma muestra, en donde dicha otra porción sobre la cual se realiza otro ensayo antes de obtener los resultados del ensayo inicial, y se retiene suficiente muestra en reserva en dicho dispositivo de procesamiento de muestras, en el que el cartucho se carga previamente con los reactivos requeridos por el ensayo inicial, y también se carga previamente con reactivos necesarios para otro ensayo.

30 Se proporcionan métodos, dispositivos y sistemas para el análisis de muestras biológicas que pueden configurarse para realizar múltiples ensayos en una muestra o varias muestras, que comprenden un ensayo inicial o múltiples ensayos iniciales, y que además comprenden un ensayo posterior o ensayos posteriores, el rendimiento, y/o el orden de realización de dicho ensayo o ensayos posteriores que dependen de los resultados de dicho ensayo o ensayos iniciales. Por lo tanto, un ensayo posterior o dichos ensayos posteriores se pueden realizar de manera contingente, en el que el rendimiento de un ensayo posterior depende de los resultados de uno o más ensayos anteriores. En las realizaciones, si se realiza o no un ensayo posterior puede depender de los resultados de algún ensayo previo. En las realizaciones, el orden de realización de los ensayos posteriores, o de las etapas en un ensayo posterior, puede depender de los resultados de un ensayo previo. En las realizaciones, la elección de un ensayo posterior, entre una pluralidad de ensayos posteriores posibles, puede depender de los resultados de un ensayo previo. En las realizaciones, el método de realizar un ensayo posterior puede depender de los resultados de un ensayo previo. En las realizaciones, la elección de un reactivo usado en un ensayo posterior puede depender de los resultados de un ensayo previo. En las realizaciones, la elección de un método de detección usado en un ensayo posterior puede depender de los resultados de un ensayo previo. En las realizaciones, la elección de si usar o no una segunda muestra biológica en un ensayo posterior puede depender de los resultados de un ensayo previo en el que se analizó una primera muestra biológica. En las realizaciones, la elección de obtener o no una segunda muestra biológica puede depender de los resultados de un ensayo previo de una primera muestra biológica. En las realizaciones, la elección de obtener o no una segunda muestra biológica para usar en un ensayo posterior puede depender de los resultados de un ensayo previo de una primera muestra biológica.

50 En las realizaciones, el análisis de una muestra biológica puede comprender analizar la muestra, o una parte de la muestra, para detectar la presencia de un analito. Un analito es el objeto de un análisis. Un analito puede ser un componente natural de una muestra biológica, o puede ser un elemento, compuesto, material o célula que normalmente no se encuentra en una muestra biológica que puede ser objeto de análisis. Un analito puede comprender un compuesto químico, por ejemplo, una molécula pequeña, una proteína, un ácido nucleico u otro compuesto, presente en la muestra. Un analito puede comprender una característica física o química de una muestra, o de una porción de la muestra. Un analito puede comprender un marcador o una característica física o química de una célula o virus en una muestra, o en una porción de la muestra. Un analito puede comprender una célula o virus, o una porción de estos, en una muestra o en una porción de la muestra.

En las realizaciones, dicho otro ensayo puede ser un tipo de ensayo seleccionado del grupo que consiste en ensayos basados en anticuerpos, ensayos de ácido nucleico, ensayos de química general y ensayos citométricos. En las realizaciones, el otro ensayo puede comprender un ensayo de un tipo diferente que el tipo de ensayo inicial. En las realizaciones, dichos otros ensayos pueden comprender ensayos que sean más sensibles para la detección de dicho analito que dicho ensayo inicial. En las realizaciones, el analito a detectar por dichos otros ensayos puede comprender un analito diferente que el analito a detectar por dicho ensayo inicial.

En las realizaciones, dicho ensayo inicial puede comprender el uso de un detector para obtener dicho resultado inicial, en el que dicho detector se selecciona de un detector óptico, un detector de pH, un detector electroquímico, un sensor de temperatura, un electrodo sensible a iones, una detector de la radiación y otros detectores. En las realizaciones, dicho otro ensayo puede comprender el uso de un detector para obtener otro resultado, en el que dicho detector se selecciona de un detector óptico, un detector de pH, un detector electroquímico, un sensor de temperatura, un electrodo sensible a iones, un detector de la radiación y otros detectores.

Los métodos descritos en el presente documento comprenden protocolos para la realización de una secuencia de ensayos. En las realizaciones, los protocolos pueden incluir ensayos contingentes, cuyo rendimiento depende de los resultados de ensayos anteriores, en los que el resultado de un primer ensayo, si cumple un criterio, desencadena, altera o impide el rendimiento de un ensayo posterior. En las realizaciones, dicho ensayo posterior puede no realizarse en ausencia de resultados previos que cumplan el criterio. En las realizaciones, el rendimiento de un ensayo posterior puede depender de dos, tres o más criterios. Los protocolos incluyen secuencias contingentes de ensayos, donde la consecución de un ensayo posterior está determinada por el resultado de un ensayo realizado antes de la consecución del ensayo posterior. En las realizaciones, se puede requerir un protocolo que incluya una o más secuencias contingentes de ensayos en el momento en que se ordenen los ensayos. En las realizaciones, un protocolo que incluye una o más secuencias contingentes de ensayos puede determinarse en el momento en que se ordenan los ensayos. En las realizaciones, se puede requerir un protocolo que incluya una o más secuencias contingentes de ensayos en el momento en que se ordenen los ensayos, y los detalles de la secuencia, y de las etapas contingentes, se pueden determinar en un momento posterior al momento en que se ordenan los ensayos.

En las realizaciones, un protocolo que incluye uno o más ensayos, cuyo rendimiento o secuencia de rendimiento depende del resultado de un ensayo inicial, puede incluir instrucciones, o un protocolo, para la adquisición de una muestra biológica. En las realizaciones, dicho protocolo puede dirigir o requerir que se adquiera una muestra biológica de volumen o cantidad suficiente para proporcionar una muestra biológica suficiente para la realización de un ensayo contingente, si se necesita el ensayo contingente. En las realizaciones, dicho protocolo puede dirigir o requerir que una muestra biológica se divida en partes alícuotas para la consecución de un ensayo contingente, si se necesita el ensayo contingente. En las realizaciones, dicho protocolo puede dirigir o requerir que una muestra biológica se diluya, para proporcionar una muestra biológica suficiente para la consecución de un ensayo contingente, si el ensayo contingente es necesario. En las realizaciones, dicho protocolo puede dirigir o requerir que una muestra biológica, o una porción o dilución de la misma, se conserve para su uso en la realización de un ensayo contingente, si es necesario el ensayo contingente.

Opcionalmente, debe entenderse que las realizaciones en el presente documento no excluyen protocolos en los que si se indica un ensayo contingente en el orden de prueba u otra instrucción, el ensayo contingente se ejecuta automáticamente, independientemente de los resultados de cualquier ensayo inicial. Dichos ensayos contingentes pueden ejecutarse simultáneamente o incluso antes de que los resultados estén disponibles a partir de cualquier ensayo inicial. Aunque dichos protocolos alternativos pueden dar como resultado otros usos de los reactivos, diluyentes y/u otros materiales, el flujo de trabajo del procesamiento paralelo, concurrente o continuo puede ser beneficioso en algunas situaciones, como por ejemplo, pero sin limitar el exceso de disponibilidad del sistema mientras procesa los ensayos iniciales o espera a que se completen los ensayos iniciales.

En las realizaciones, un ensayo inicial puede comprender un ensayo menos sensible, y un ensayo posterior puede comprender un ensayo más sensible; en realizaciones, la constitución de un ensayo posterior puede depender de los resultados del ensayo inicial. Por ejemplo, un ensayo inicial puede comprender un ensayo de ácido nucleico realizado bajo una primera condición, y un ensayo posterior puede comprender un ensayo de ácido nucleico realizado bajo una segunda condición, donde la segunda condición comprende condiciones de ensayo de ácido nucleico más duras que la primera condición (por ejemplo, la segunda condición comprende una temperatura más alta que la primera condición, o la segunda condición comprende una fuerza iónica más baja que la primera condición, o la segunda condición comprende un agente desnaturante (como formamida) no presente, o presente en una concentración más baja, en la primera condición). En las realizaciones, un ensayo inicial que comprende un ensayo de ácido nucleico puede realizarse en condiciones moderadamente estrictas, y un ensayo posterior puede comprender un ensayo de ácido nucleico realizado en condiciones altamente estrictas.

En las realizaciones, un ensayo inicial puede comprender un primer tipo de ensayo, y un ensayo posterior, contingente a los resultados del ensayo inicial, puede comprender un segundo tipo de ensayo; por ejemplo, un ensayo inicial puede comprender un ensayo basado en anticuerpos, y un ensayo posterior puede comprender un ensayo de ácido nucleico.

Por consiguiente, el solicitante describe además métodos para analizar una muestra biológica en un dispositivo que comprende: realizar un ensayo inicial en dicho dispositivo para un analito en dicha muestra biológica mediante el cual se obtiene un resultado inicial, en el que dicho ensayo inicial puede proporcionar un resultado negativo que indicaría que la presencia de dicho analito no se detecta, o que se detecta a un nivel normal en la muestra biológica, o puede proporcionar un resultado positivo que indicaría que la presencia del analito se detecta, o se detecta a un nivel anormal en la muestra biológica; realizar otras pruebas de dicha muestra biológica, en donde se realiza otro ensayo en dicho dispositivo en dicha muestra biológica independientemente de los resultados de dicho ensayo inicial; e informar los resultados de dicho otro ensayo de dicha muestra biológica dependiente de los resultados de dicho ensayo inicial.

5
10
15

En las realizaciones, los métodos comprenden además informar de los resultados de dicho ensayo inicial. En las realizaciones, los resultados de dicho otro ensayo no se informan si dicho ensayo inicial proporciona un resultado negativo, y en donde los resultados de dicho otro ensayo se informan si dicho ensayo inicial proporciona un resultado positivo. En las realizaciones, los resultados de dicho otro ensayo no se informan si dicho ensayo inicial proporciona un resultado positivo, y en donde los resultados de dicho otro ensayo se informan si dicho ensayo inicial proporciona un resultado negativo.

En las realizaciones, el otro ensayo es un ensayo para el mismo analito que dicho ensayo inicial, y el otro ensayo es un ensayo más sensible que dicho ensayo inicial.

En las realizaciones, la muestra biológica sobre la cual se realiza el otro ensayo se obtiene antes de que se obtengan los resultados de dicho ensayo inicial. En las realizaciones, el ensayo inicial y el otro ensayo se realizan en porciones de la misma muestra biológica. En las realizaciones, al menos una de dichas porciones de dicha muestra biológica es una porción diluida de la muestra biológica. En las realizaciones, el otro ensayo comprende un ensayo de un tipo seleccionado del grupo de tipos de ensayo que consiste en ensayos basados en anticuerpos, ensayos de ácido nucleico, ensayos de química general y ensayos citométricos. En las realizaciones, el otro ensayo comprende un tipo diferente de ensayo que el ensayo inicial. En las realizaciones, el analito a detectar por dicho otro ensayo comprende un analito diferente que el analito detectado por dicho ensayo inicial. En las realizaciones, el ensayo inicial comprende la medición de un analito, y dicho otro ensayo comprende un ensayo citométrico.

20
25

Los métodos, composiciones, dispositivos y sistemas proporcionan pruebas rápidas, que requieren solo pequeñas muestras biológicas, y por lo tanto proporcionan ventajas sobre otros métodos, composiciones, ensayos, dispositivos y sistemas. Los dispositivos y sistemas descritos en este documento están configurados para realizar ensayos rápidos que requieran solo de pequeñas cantidades de muestra como, por ej., solo pequeñas cantidades de la muestra, orina, esputo, lágrimas, material obtenido de un hisopo nasal, hisopo de garganta, hisopado de mejilla u otra muestra biológica. En consecuencia, los métodos, dispositivos y sistemas proporcionan pruebas rápidas, que requieren solo pequeñas muestras biológicas y, por lo tanto, proporcionan ventajas sobre otros métodos, composiciones, ensayos, dispositivos y sistemas.

30

En las realizaciones, una muestra biológica puede comprender una muestra seleccionada de sangre, suero, plasma, un hisopo de la garganta, un hisopo nasal, un lavado nasofaríngeo, saliva, orina, líquido gástrico, líquido cefalorraquídeo, lágrimas, heces, mucosidad, sudor, cera para los oídos, aceite, secreción glandular, semen, fluido vaginal, fluidos intersticiales derivados de tejido tumoral, fluidos oculares, aliento, cabello, uñas, piel, tejido de biopsia, fluido placentario, fluido amniótico, sangre del cordón umbilical, fluidos linfáticos, fluidos de cavidad, esputo, pus, microbiota, meconio, leche materna y otras secreciones o excreciones.

35
40

En las realizaciones, la muestra biológica sobre la cual se realiza el otro ensayo puede obtenerse antes de obtener los resultados de dicho ensayo inicial.

De acuerdo con esto, el solicitante describe en el presente documento métodos en los que se realiza otro ensayo dentro de un corto período de tiempo desde el momento en que la muestra biológica analizada por el otro ensayo se acepta dentro del dispositivo. En las realizaciones, el ensayo inicial y el otro ensayo se realizan cada uno en al menos una porción de la misma muestra biológica; en tales realizaciones, el otro ensayo se realiza dentro de un corto período de tiempo desde el momento en que se acepta la muestra biológica inicial dentro del dispositivo.

45

En las realizaciones, se realiza otro ensayo si se realiza un ensayo inicial. En las realizaciones de los métodos descritos en este documento, si el resultado de dicho ensayo inicial realizado en un dispositivo es positivo, entonces se realiza otro ensayo en la muestra biológica en el mismo dispositivo en un corto período de tiempo desde el momento de aceptar una muestra dentro de dicho dispositivo, en el que dicha breve cantidad de tiempo es un tiempo anterior a la realización del otro ensayo. En las realizaciones, la misma muestra se usa para el desempeño tanto del ensayo inicial como del otro ensayo, o porciones de la misma muestra se usan para el desempeño tanto del ensayo inicial como del otro ensayo. Un período de tiempo tan corto puede ser, por ejemplo, un período de tiempo corto que consiste en aproximadamente 3 horas o menos; aproximadamente 2 horas o menos; aproximadamente 1 hora o menos; aproximadamente 50 minutos o menos; aproximadamente 45 minutos o menos; aproximadamente 40 minutos o menos; aproximadamente 35 minutos o menos; aproximadamente 30 minutos o menos; aproximadamente 25 minutos o menos; aproximadamente 20 minutos o menos; aproximadamente 15 minutos o menos; aproximadamente 10 minutos o menos; aproximadamente 5 minutos o menos; aproximadamente

50
55

4 minutos o menos; aproximadamente 3 minutos o menos; aproximadamente 2 minutos o menos; y aproximadamente 1 minuto o menos.

5 Los ensayos y métodos descritos en este documento pueden realizarse en un dispositivo, o en un sistema, para procesar una muestra. Los ensayos y métodos descritos en este documento pueden incorporarse fácilmente y usarse en un dispositivo de ensayo automatizado y en un sistema de ensayo automatizado. En los ejemplos, un dispositivo como se describe en el presente documento puede ser adecuado para la detección, identificación o medición de un analito en una muestra biológica.

10 En los ejemplos, el dispositivo para analizar una muestra para detectar la presencia de analito en una muestra puede comprender: un sistema de manejo de fluidos para transportar al menos una porción de la muestra biológica; y un detector efectivo para detectar o medir el analito. En los ejemplos, el detector puede comprender uno o más de un detector óptico, un sensor de pH, un detector electroquímico, un detector de radiación, un sensor de temperaturas y otros sensores. Un detector óptico puede comprender uno o más de una cámara, un fotomultiplicador, un fotodiodo, un espectrofotómetro y otros elementos ópticos. En los ejemplos, el dispositivo para analizar la muestra y detectar la presencia del analito en la muestra puede comprender un sistema para transportar al menos una parte de la muestra. En los ejemplos, el dispositivo para analizar la muestra y detectar la presencia del analito en la muestra puede comprender un sistema para transportar un reactivo. En los ejemplos, el sistema para transportar al menos una porción de la muestra, o para transportar un reactivo, puede comprender un sistema de manejo de fluidos. En las realizaciones, el sistema de manejo de fluidos de un dispositivo para analizar la muestra y detectar la presencia de analito en la muestra puede configurarse para transportar al menos una porción de una muestra biológica y también puede configurarse para transportar un reactivo. En los ejemplos, el dispositivo para analizar la muestra y detectar la presencia del analito en la muestra puede configurarse para diluir al menos una porción de la muestra con el reactivo. En los ejemplos, el dispositivo para analizar la muestra y detectar la presencia del analito en la muestra puede configurarse para mezclar el reactivo con al menos una porción de la muestra.

25 En los ejemplos, el dispositivo que comprende un sistema de manejo de fluidos para transportar al menos una porción de una muestra biológica puede comprender un medio para poner en contacto una muestra biológica; o puede comprender un medio para aceptar una muestra biológica; o puede comprender medios para almacenar una muestra biológica. En los ejemplos, la muestra biológica puede ser proporcionada por un cartucho. En los ejemplos, el cartucho puede contener un recipiente en el que está contenida la muestra biológica. Un recipiente configurado para alojar una muestra biológica puede configurarse para almacenar una muestra biológica, y puede configurarse para permitir el acceso a dicha muestra biológica mediante un sistema de manejo de fluidos. El acceso de un sistema de manejo de fluidos a una muestra biológica puede ser efectivo para permitir el transporte de al menos una parte de la muestra biológica; para permitir la mezcla de la muestra biológica; para permitir la adición de un reactivo a al menos una porción de la muestra biológica; o para permitir la división de dicha muestra biológica en dos o más porciones.

35 En los ejemplos, se proporcionan sistemas que incluyen dispositivos configurados para detectar la presencia de un analito en una muestra biológica. En los ejemplos, el dispositivo o sistema puede comprender además una estructura de comunicaciones, que puede comprender un elemento de visualización y/o un elemento de comunicación eficaz para informar de los resultados de dicha detección y/o medición. En los ejemplos, una estructura de comunicaciones, tal como un elemento de visualización y/o un elemento de comunicaciones, puede ser adecuado para la comunicación bidireccional. En los ejemplos, un estructura de comunicaciones puede configurarse para comunicar los datos obtenidos al analizar la muestra. En los ejemplos, el dispositivo para analizar la muestra y detectar la presencia del analito en la muestra puede comprender otros elementos y conjuntos, que incluyen, entre otros, una estructura de calentamiento, una estructura de enfriamiento, un sonicador y otros elementos y conjuntos.

45 Por ejemplo, los sistemas descritos en este documento pueden incluir una estructura de comunicaciones para transmitir o recibir un protocolo basado en el analito a detectar o en otros analitos a detectar por el dispositivo o sistema. En los ejemplos, el protocolo de ensayo puede cambiarse en función de los resultados obtenidos previamente de una muestra de un sujeto, o en función de los resultados obtenidos previamente de una muestra diferente del sujeto. En las realizaciones, la estructura de comunicaciones puede comprender un canal para comunicar la información desde dicho dispositivo a una computadora, en el que dicho canal se selecciona de una red informática, una red telefónica, un enlace de comunicación metálico, un enlace de comunicación óptico y un enlace de comunicación inalámbrico. En las realizaciones, los sistemas descritos en este documento pueden transmitir señales a una ubicación central, o a un usuario final, y pueden incluir una estructura de comunicaciones para transmitir tales señales. Los sistemas descritos en este documento pueden configurarse para actualizar un protocolo según sea necesario o de forma regular.

50 En consecuencia, el solicitante describe dispositivos configurados para medir un analito en una muestra biológica de acuerdo con el método descrito en el presente documento. Los dispositivos configurados para medir analitos en una muestra biológica de acuerdo con el método descrito en este documento pueden configurarse para medir analitos de una muestra biológica que comprenden no más de aproximadamente 1000 μL de la muestra, o no más de aproximadamente 500 μL de la muestra, no más de aproximadamente 250 μL de la muestra, o no más de aproximadamente 150 μL de la muestra, o no más de aproximadamente 100 μL de la muestra, o no más de

aproximadamente 50 μL de la muestra, o, en realizaciones, en donde dicha muestra biológica comprende no más de aproximadamente 25 μL de la muestra, o en donde dicha muestra biológica comprende no más de aproximadamente 10 μL de la muestra, o en donde dicha muestra biológica comprende menos de aproximadamente 10 μL de la muestra. Dichos dispositivos pueden configurarse para medir un analito en una muestra biológica en menos de aproximadamente una hora, o, en realizaciones, en menos de aproximadamente 40 minutos, o en menos de aproximadamente 30 minutos.

Los dispositivos descritos en este documento pueden configurarse para realizar un ensayo para la medición de un primer analito y también para realizar un ensayo para la medición de un segundo analito en la muestra biológica. En las realizaciones, la consecución de un ensayo para la medición de un segundo analito en la muestra biológica puede depender de los resultados de un ensayo para la medición de un primer analito en la muestra biológica. Por ejemplo, los dispositivos descritos en este documento pueden configurarse para realizar un ensayo para la medición de un analito y también para realizar un ensayo que comprenda la medición de una característica morfológica de una célula sanguínea en la muestra de sangre. Los dispositivos descritos en este documento pueden configurarse para realizar un ensayo para la medición de un primer analito y también para realizar un ensayo que comprenda la medición de otro analito sanguíneo, por ejemplo, una vitamina, una hormona, un fármaco o metabolito de un fármaco u otro analito. Dichos dispositivos pueden configurarse tal que los ensayos, o el orden de realización de los ensayos, que realiza dicho dispositivo, pueden alterarse mediante la comunicación con otro dispositivo.

El solicitante también describe sistemas que comprenden un dispositivo como se describe en este documento. En los ejemplos, el sistema comprende un dispositivo que está configurado para realizar un ensayo para la medición de un primer analito y también para realizar un ensayo para la medición de otro analito en la muestra de sangre. En los ejemplos, el sistema comprende un dispositivo que está configurado para realizar un ensayo para la medición de un analito y también para realizar un ensayo para la medición de una característica morfológica de una célula sanguínea en la muestra de sangre. En los ejemplos de dicho sistema, los ensayos o el orden de realización de los ensayos, que realiza dicho dispositivo, pueden alterarse mediante la comunicación con otro dispositivo.

Este Compendio se proporciona para presentar una selección de conceptos en una forma simplificada que se describe más adelante en la Descripción Detallada. Este Compendio no pretende identificar características clave o características esenciales del tema reivindicado, ni pretende ser utilizado para limitar el alcance del tema reivindicado.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra imágenes representativas de células sanguíneas de una muestra de sangre completa que ilustran varios tipos de imágenes que se pueden obtener utilizando diferentes técnicas de visualización de imágenes y tintes.

La Figura 2 muestra una imagen compuesta representativa de varios tipos de células en sangre completa que incluye imágenes de un monocito, un linfocito, un eosinófilo y un neutrófilo.

La Figura 3 muestra gráficos de varios tipos de células identificados y cuantificados por los ensayos citométricos descritos en este ejemplo, que incluyen monocitos (Figura 3A), basófilos (Figura 3B), linfocitos (Figura 3C), y neutrófilos y eosinófilos (Figura 3D)

La Figura 4 muestra gráficos que demuestran que los métodos citométricos descritos en este documento identifican diferentes tipos de células consistentes con dicha identificación por otros métodos. La Figura 4A muestra gráficas de números de glóbulos blancos ("WBC"); la Figura 4B muestra gráficas de números de glóbulos rojos ("RBC"); la Figura 4C muestra gráficos de números de plaquetas; la Figura 4D muestra gráficos de números de neutrófilos; la Figura 4E muestra gráficos de números de monocitos; y la Figura 4F muestra gráficas de números de linfocitos.

Descripción detallada

La descripción e ilustración de los ejemplos de reactivos, ensayos, métodos, kits, dispositivos y sistemas que pueden usar, o pueden usarse, con los métodos, dispositivos y sistemas descritos en este documento pueden encontrarse, por ejemplo, en la patente de EE.UU. N° 8.088.593; Pat. N° 8.380.541; Solicitud de patente de EE.UU. No. 13/769.798, presentada el 18 de febrero de 2013; Solicitud de patente de EE.UU. No. 13/769.779, presentado el 18 de febrero de 2013; solicitud de patente de EE.UU. No. 13/769.817, presentada el 18 de febrero de 2013; Solicitud de patente de EE.UU. No. 13/769.818, presentada el 18 de febrero de 2013; Solicitud de patente de EE.UU. No. 13/769.820, presentada el 18 de febrero de 2013; Solicitud de patente de EE.UU. No. 13/244.947 presentada el 26 de septiembre de 2011; PCT/US2012/57155, presentada el 25 de septiembre de 2012; Solicitud de patente de EE.UU. No. 13/244.946, presentada el 26 de septiembre de 2011; solicitud de patente de EE.UU. No. 13/244.949, presentada el 26 de septiembre de 2011; solicitud de Patente de EE.UU. 61/805.900, presentada el 27 de marzo de 2013; y la Solicitud de patente de EE.UU. 61/673.245, presentada el 26 de septiembre de 2011.

Definiciones

Antes de que se describan y e ilustren los métodos, dispositivos y sistemas presentes, debe entenderse que la terminología utilizada en el presente documento tiene el propósito de describir realizaciones particulares solamente sin pretender ser limitante. También debe entenderse que la presente descripción proporciona descripciones y ejemplos explicativos y ejemplares, de modo que, a menos que se indique lo contrario, los dispositivos, sistemas y métodos descritos en este documento no se limitan a las realizaciones específicas descritas en este documento.

Debe notarse que, como se usa en la memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una/uno" y "la/el" incluyen sus referentes en plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Así, por ejemplo, cuando se hace referencia a "una sal", se entiende una sola sal o mezclas de diferentes sales, etc.

En esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones que siguen, se hará referencia a una serie de términos, que se definirán según los siguientes significados:

Acrónimos y abreviaturas, como "rpm" (revoluciones por minuto), "min" (minuto), "s" (segundo), etc., tienen sus significados habituales.

Como se usa en el presente documento, el término "ensayo", y sus equivalentes gramaticales, se refiere a pruebas, mediciones, observaciones y otros procedimientos experimentales que pueden aplicarse a una muestra para la detección de un analito, identificación de un analito y medición de las cantidades de un analito en una muestra. Los ensayos pueden ser ensayos físicos que detectan, identifican o miden una propiedad física de una muestra; los ensayos pueden ser ensayos químicos, que detectan, identifican o miden una propiedad química de una muestra, o realizan reacciones químicas en la muestra o con ésta; e incluye ensayos que utilizan medios ópticos, eléctricos o electrónicos, químicos u otros medios de detección y medición.

Como se usa en este documento, un "analito" es el objeto de un ensayo o análisis, cuya presencia o cantidades se determinarán por el rendimiento del ensayo. El analito puede ser un componente natural de una muestra biológica; un analito puede estar libre en una muestra o solución de fluido, o puede estar unido a otro compuesto (por ejemplo, a una proteína transportadora), puede estar presente en una célula o puede estar presente en una célula; un analito puede ser un compuesto que normalmente no se encuentre en la muestra biológica, como, por ej., un medicamento; un metabolito de un fármaco u otro compuesto; un agente infeccioso (por ejemplo, un virus, bacteria u otro organismo o material extraño); una toxina u otro compuesto, elemento, célula o marcador celular que puede ser objeto de análisis. Un analito puede comprender una célula, o virus, o una porción del mismo; y puede comprender una característica física o química de una célula, virus, tejido o porción del mismo.

Un ensayo para un analito es una prueba o procedimiento dirigido a detectar la presencia de ese analito, o determinar la cantidad de ese analito, o identificar ese analito, o caracterizar ese analito, u obtener información sobre ese analito en una muestra.

Como se usa en el presente documento, la expresión "resultado negativo" y sus equivalentes gramaticales se refieren a un resultado de un ensayo en el que la presencia del analito diana no se detecta, o se detecta a un nivel normal en la muestra biológica.

Como se usa en el presente documento, la expresión "resultado positivo" y sus equivalentes gramaticales se refieren a un resultado de un ensayo en el que se detecta la presencia del analito diana, o se detecta a un nivel anormal en la muestra biológica.

Como se usa en este documento, los términos "prueba refleja" y "ensayo reflejo" se refieren a un ensayo (equivalentemente, una prueba) cuyo rendimiento depende de un resultado de la prueba previa (que puede denominarse "prueba inicial" o "ensayo inicial"). El resultado de la prueba inicial determina si se realiza o no la prueba refleja, o el momento u orden en el que se realiza la prueba refleja.

Como se usa en este documento, el término "contingente" se refiere a la dependencia de un evento, resultado, condición o estado anterior. Por lo tanto, cuando un acto depende de un criterio (por ejemplo, la aparición de un acto; el resultado de una prueba; la existencia de un estado o condición; o el cumplimiento de un criterio de cualquier tipo) la consecución de ese acto es condicional según el criterio, y ese acto ocurrirá o se realizará, o no, o bien ocurrirá o se realizará de una manera particular, dependiendo de ese criterio. Por ejemplo, una forma de prueba refleja es aquella en la que un resultado positivo de una prueba general desencadena una prueba automática de una naturaleza más específica; por ejemplo, una prueba refleja de influenza que es positiva con respecto a la presencia del virus de la influenza puede desencadenar automáticamente una prueba más específica que identificará la cepa particular de influenza presente en una muestra del sujeto, o determinará si una cepa particular de influenza es o no está presente en una muestra del sujeto.

Como se usa en este documento, la expresión "ensayo contingente" se refiere a un ensayo cuyo rendimiento (o incumplimiento) depende de un evento o condición anterior. Por ejemplo, un ensayo contingente puede ser uno que se realice solo si el resultado de un ensayo previo satisface un criterio (o criterios); un ensayo contingente puede ser uno que no se realice si el resultado de un ensayo previo satisface un criterio (o criterios); un ensayo contingente

puede ser uno que se realice de una manera si el resultado del ensayo anterior satisface un criterio (o criterios), pero se realiza de una manera diferente si el criterio (o criterios) no se cumple. Por lo tanto, un único ensayo contingente puede depender de un único criterio; o un único ensayo contingente puede depender de múltiples criterios. Los ensayos contingentes múltiples pueden depender de un solo criterio; o múltiples ensayos contingentes pueden depender de múltiples criterios.

De manera similar, un etapa en un ensayo puede ser una "etapa contingente", es decir, una que dependa de la aparición o resultado de un ensayo anterior, o una etapa previa de un ensayo (incluido el ensayo en el que se realiza una etapa contingente).

Como se usa en el presente documento, la expresión "ensayo basado en anticuerpos" se refiere a un ensayo para determinar un analito que se puede encontrar en una muestra biológica, usando la unión específica del analito por un anticuerpo, fragmento de anticuerpo o mimético de anticuerpo (por ejemplo, inmunoadhesina, aptámero u otro constructo que se una específicamente a una diana con poca o ninguna reactividad cruzada con otros compuestos) para detectar la presencia y, si se desea, cuantificar las cantidades del analito en la muestra. Por lo tanto, como se usa en este documento, la expresión "ensayo basado en anticuerpos" incluye inmunoensayos (incluidos ELISA), ensayos basados en receptores y otros ensayos que utilizan la unión específica entre un receptor y un ligando para detectar, identificar o cuantificar un analito. Una transferencia Western puede denominarse un ensayo basado en anticuerpos.

Un aptámero es una molécula de ácido nucleico capaz de unirse a una molécula diana. El ácido nucleico puede ser un ácido desoxirribonucleico, un ácido ribonucleico, un ácido nucleico peptídico unido u otro ácido nucleico, análogo o derivado del mismo. La generación y uso de aptámeros es conocida en la técnica; véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. N° 5.475.096.

El término "inmunoadhesina" designa a una molécula similar a un anticuerpo que combina la especificidad de unión de una proteína heteróloga (una "adhesina") con las funciones efectoras de los dominios constantes de inmunoglobulina. Estructuralmente, las inmunoadhesinas comprenden una fusión de una secuencia de aminoácidos con la especificidad de unión deseada que no es el reconocimiento de antígeno y el sitio de unión de un anticuerpo (es decir, es "heterólogo"), y una secuencia de dominio constante de inmunoglobulina. La parte de adhesina de una molécula de inmunoadhesina es típicamente una secuencia de aminoácidos contigua que comprende al menos el sitio de unión de un receptor o un ligando. La secuencia del dominio constante de inmunoglobulina en la inmunoadhesina se puede obtener de cualquier inmunoglobulina, como los subtipos IgG-1, IgG-2, IgG-3 o IgG4, IgA (incluyendo IgA-1 e IgA-2), IgE, IgD o IgM. Las inmunoadhesinas reportadas en la literatura incluyen fusiones del receptor de células T (Gascoigne et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84: 2936-2940 [1987]), CD4 (Capon et al., Nature 337: 525-531 [1989]), CD44 (Aruffo et al., Cell 61: 1303-1313 [1990]) y receptor de IgE alfa (Ridgway et al., J. Cell. Biol. 115: resumen 1448 [1991]). Para la producción de fusiones de inmunoglobulina, véase también la patente de EE.UU. No. 5.428.130 expedida el 27 de jun., 1995.

Como se usa en el presente documento, la expresión "ensayo citométrico" se refiere a un ensayo que detecta, identifica o cuantifica células o partículas en una muestra, típicamente por medios ópticos (por ejemplo, por microscopía). Por ejemplo, las células o partículas pueden contarse en una muestra o en un campo de visión dentro de una muestra para proporcionar un número, densidad u otro valor numérico con respecto a las células o partículas en una muestra. Se puede medir o caracterizar el tamaño, la intensidad óptica u otra característica de las células o partículas en una muestra. Las células en una muestra analizada en un ensayo citométrico pueden marcarse o tratarse de otro modo para mejorar su identificación o para facilitar la diferenciación entre células y tipos de células. Así, por ejemplo, los marcadores de la superficie celular pueden marcarse e identificarse ópticamente mediante la exposición de las células a anticuerpos o fragmentos de anticuerpos dirigidos a antígenos de la superficie celular particulares, donde los anticuerpos o fragmentos de anticuerpos están marcados con tintes fluorescentes u otros marcadores identificables. Además de los anticuerpos y fragmentos de anticuerpos (y miméticos de los mismos), también pueden usarse aptámeros, inmunoadhesinas, moléculas de ácido nucleico, miméticos de ácido nucleico, colorantes y otras sondas o marcadores específicos para detectar características celulares, orgánulos, moléculas o las características se pueden usar para identificar y caracterizar las células en un ensayo citométrico.

Como se usa en el presente documento, "medición de una característica morfológica" de una célula o partícula y sus variantes gramaticales se refiere a un ensayo citométrico dirigido a identificar, cuantificar o caracterizar el tamaño, la forma u otra característica física de una célula, partícula, o grupo de células o partículas en una muestra. La observación, medición o caracterización de la apariencia de una célula o partícula es un tipo de medición de una característica morfológica. La medición o caracterización del tamaño de una célula o partícula puede referirse a la medición o caracterización del diámetro, área de sección transversal, volumen u otra característica de una célula o partícula. La medición o caracterización de la forma de una célula o partícula puede referirse a la medición o caracterización de la simetría (o asimetría), o presencia o número de protuberancias, suavidad (o aspereza) de una superficie celular, u otra característica de una célula o partícula. La medición o caracterización del brillo, u otra propiedad óptica, a través de una dimensión de una célula o partícula, comprende la medición de una característica morfológica de una célula o partícula. También se pueden observar, medir y caracterizar otras características morfológicas.

La palabra "marcador" o las frases "marcador detectable" y "resto marcador", cuando se usan en el presente documento, se refieren a un compuesto o una composición detectable que se conjuga directa o indirectamente al anticuerpo para generar un anticuerpo "marcado". El marcador puede ser detectable por sí mismo (por ejemplo, marcadores de radioisótopos o marcadores fluorescentes) o, en el caso de un marcador enzimático puede catalizar la alteración química de un compuesto o composición de sustrato que es detectable (un marcador puede ser, por ejemplo, un tinte, una fracción fluorescente, una fracción luminiscente, una fracción quimioluminiscente, un marcador enzimático, un marcador magnético, un marcador paramagnético, un agente de contraste, una nanopartícula, un radioisótopo, un marcador de epitopo, biotina, estreptavidina o un inhibidor). Los tintes incluyen, por ejemplo, tintes fluorescentes que se intercalan con ADN bicatenario incluyen, por ejemplo, SYBR Gold™, SYBR Green I™, SYBR Green II™, bromuro de etidio, BlueView™, azul de metileno, DAPI y naranja de acridina. Otros colorantes fluorescentes incluyen, por ejemplo, CAL Fluor Gold, CAL Fluor Orange, Quasar 570, CAL Fluor Red 590, CAL Fluor Red 610, CAL Fluor Red 610, CAL Fluor Red 635, Quasar 670 (Biosearch Technologies), VIC, NED (Life Technologies), Cy3, Cy5, Cy5.5 (GE Healthcare Life Sciences), Oyster 556, Oyster 645 (Integrated DNA Technologies), LC red 610, LC red 610, LC red 640, LC red 670, LC red 705 (Roche Applies Science), rojo de Texas, FAM, TET, HEX, JOE, TMR y ROX. Los atenuadores que se pueden utilizar incluyen, por ejemplo, DDQ-I, DDQ-II (Eurogentec), Eclipse (Epoch Biosciences), Iowa Black FQ, Iowa Black RQ (Integrated DNA Technologies), BHQ-1, BHQ-2, BHQ-3 (Biosearch Technologies), QSY-7, QSY-21 (Molecular Probes) y Dabcyl.

Como se usa en el presente documento, la expresión "molécula pequeña" se refiere a un compuesto, típicamente un compuesto orgánico no polimérico, que es más pequeño que una proteína típica. Los ejemplos de moléculas pequeñas incluyen ácido acetilsalicílico (aspirina), cafeína, colesterol, vitamina D y otras moléculas. Una molécula pequeña típicamente tiene un peso molecular inferior a aproximadamente 500 Daltons. Como se usa en este documento, las moléculas pequeñas pueden ser moléculas orgánicas pequeñas y pueden ser moléculas inorgánicas pequeñas.

Como se usa en este documento, la expresión "ensayo de química general" se refiere a un ensayo para un elemento o compuesto que se puede encontrar en una muestra biológica, usando reacciones químicas o físicas para detectar la presencia de la cantidad del analito en la muestra y, si se desea, de cuantificarlo. Como se usa en el presente documento, el "ensayo de química general" puede estar dirigido a detectar un analito de molécula pequeña (incluidos iones y elementos, tales como, por ej., sodio o potasio), o dirigido a una característica química de una muestra (por ejemplo, pH, saturación de O₂ u otro muestra característica determinada por medios químicos).

Como se usa en el presente documento, la expresión "ensayo de ácido nucleico" se refiere a un ensayo para un ácido nucleico (ya sea ácido desoxirribonucleico (ADN) o ácido ribonucleico (ARN)) que se puede encontrar en una muestra biológica; tales ensayos típicamente usan la hibridación entre una sonda y el ácido nucleico diana para detectar la presencia y, si se desea, cuantificar la cantidad del analito en la muestra. Los ensayos de ácido nucleico incluyen, por ejemplo, ensayos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de todos los tipos, transferencias Northern, transferencias Southern y otros ensayos.

La "rigurosidad" de las reacciones de hibridación es fácilmente determinable por cualquier experto en la materia y, generalmente, es un cálculo empírico que depende de la sonda, la longitud, la temperatura de lavado y la concentración de la sal. En general, las sondas más largas requieren temperaturas más altas para un recocado adecuado, mientras que las sondas más cortas necesitan temperaturas más bajas. La hibridación generalmente depende de la capacidad del ADN desnaturalizado para volverse a unir cuando las cadenas complementarias están presentes en un entorno por debajo de su temperatura de fusión. Cuanto mayor sea el grado de homología deseada entre la sonda y la secuencia hibridable, mayor será la temperatura relativa que se puede usar. Como consecuencia, se deduce que las temperaturas relativas más altas tenderían a hacer que las condiciones de reacción fueran más estrictas, mientras que las temperaturas más bajas las harían menos estrictas. Otros detalles y explicaciones de la rigurosidad de las reacciones de hibridación se describen en Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, Wiley Interscience Publishers, (1995).

Unas "condiciones rigurosas" o unas "condiciones de alta rigurosidad", como se definen en el presente documento, pueden identificarse por aquellas que: (1) emplean una baja fuerza iónica y altas temperaturas para el lavado, por ejemplo, cloruro de sodio 0,015 M/citrato de sodio 0,0015 M/dodecil sulfato de sodio al 0,1% a 50°C; (2) emplear durante la hibridación un agente desnaturalizante, como formamida, por ejemplo, formamida al 50% (v/v) con albúmina de suero bovino al 0,1%/FicolI al 0,1%/polivinilpirrolidona al 0,1%/tampón fosfato de sodio 50 mM a pH 6,5 con cloruro de sodio 750 mM, citrato de sodio 75 mM a 42°C; o (3) emplean formamida al 50%, 5 x SSC (NaCl 0,75 M, citrato de sodio 0,075 M), fosfato de sodio 50 mM (pH 6,8), pirofosfato de sodio al 0,1%, solución de 5 x Denhardt, ADN de esperma de salmón sonicado (50 µg/ml), SDS al 0,1% y sulfato de dextrano al 10% a 42°C con lavados a 42°C en 0,2 x SSC (cloruro de sodio/citrato de sodio) y 50% de formamida a 55°C, seguido de un lavado de alta rigurosidad que consiste en EDTA que contiene 0,1 x SSC a 55°C.

Unas "condiciones moderadamente estrictas" pueden identificarse según lo descrito por Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, New York: Cold Spring Harbor Press, 1989, e incluyen el uso de una solución de lavado y condiciones de hibridación (p. ej., temperatura, fuerza iónica y % SDS) menos estrictas que las descritas anteriormente. Un ejemplo de condiciones moderadamente estrictas es la incubación durante la noche a 37°C en una solución que comprende: 20% de formamida, 5 x SSC (NaCl 150 mM, citrato trisódico 15 mM). Fosfato de sodio

50 mM (pH 7,6). solución de Denhardt 5 x, 10% de sulfato de dextrano y 20 mg/ml de ADN desnudo desnaturalizado de esperma de salmón, seguido del lavado de los filtros en $1 \times$ SSC a aproximadamente 37-50°C. Cualquier experto en la técnica reconocerá cómo ajustar la temperatura, la fuerza iónica, etc. necesarias para acomodar factores tales como la longitud de la sonda y similares.

- 5 El término "sangre" y la expresión "sangre completa" se refieren a la sangre tal como existe dentro de un animal y como se obtiene directamente de un sujeto en una muestra de sangre. La sangre contiene glóbulos rojos, glóbulos blancos, proteínas como la albúmina, globulinas y factores de coagulación, sales, agua y otros componentes.

10 El término "plasma" y la expresión "plasma sanguíneo" se refieren a la porción líquida de sangre (por ejemplo, una muestra de sangre) que queda después de la extracción de las células sanguíneas. Los glóbulos rojos y los glóbulos blancos se pueden extraer mediante la centrifugación de una muestra de sangre, dejando el plasma por encima de las células granuladas en el fondo del tubo de centrifuga. El plasma retiene los factores de coagulación de la sangre y se obtiene de muestras de sangre anticoaguladas.

15 El término "suero" y la expresión "suero sanguíneo" se refieren a la porción líquida de sangre que queda después de que se deja coagular la sangre y se retira el coágulo. El suero difiere del plasma en que el suero carece de factores de coagulación: dado que la coagulación requiere fibrina, trombina y otras proteínas, que forman y siguen siendo parte de un coágulo sanguíneo, el suero carece de estas proteínas mientras que el plasma las contiene.

20 Como se usa en este documento, un "pinchazo" se refiere a: i) el acto de hacer una pequeña punción en la piel de un sujeto, permitiendo que una pequeña cantidad (por ejemplo, una gota, o dos gotas o unas pocas) de sangre fluyan y esté disponible para su recolección; ii) la punción misma; y iii) la sangre recogida de ese modo. La sangre se puede liberar en un dedo, por ejemplo, mediante el uso de una lanceta u otro implemento afilado efectivo para perforar la piel de un sujeto. Por lo general, solo se recolecta una pequeña cantidad de sangre de esta manera (por ejemplo, la cantidad de sangre puede ser de aproximadamente 250 μ L o menos, o aproximadamente 200 μ L o menos, o aproximadamente 150 μ L o menos, o aproximadamente 100 μ L o menos, o aproximadamente 50 μ L o menos, o aproximadamente 25 μ L o menos, o aproximadamente 15 μ L o menos, o aproximadamente 10 μ L o menos, o aproximadamente 5 μ L o menos, o aproximadamente 3 μ L o menos, o aproximadamente 1 μ L o menos). Se puede recoger sangre de un dedo, por ejemplo, con una aguja, jeringa, tubo capilar u otros métodos. Se puede recoger sangre de un dedo para transportarla a otro lugar; para su almacenamiento antes de su uso o análisis; para un uso inmediato; o para una combinación de los mismos.

30 Como se usa en este documento, la expresión "muestra biológica" se refiere a un fluido, tejido u otro material recogido de un sujeto. Los ejemplos de muestras biológicas pueden incluir, entre otras, sangre, suero, plasma, un hisopo de garganta, un hisopo nasal, un lavado nasofaríngeo, saliva, orina, líquido gástrico, líquido cefalorraquídeo, lágrimas, heces, mucosidad, sudor, cerumen, aceite, secreción glandular, semen, fluido vaginal, fluidos intersticiales derivados de tejido tumoral, fluidos oculares, aliento, cabello, uñas, piel, tejido de biopsia, fluido placentario, fluido amniótico, sangre del cordón umbilical, fluidos linfáticos, fluidos de cavidad, esputo, pus, microbiota, meconio, leche materna y otras secreciones o excreciones. Las muestras biológicas pueden incluir un lavado nasofaríngeo u otro fluido obtenido lavando una cavidad corporal o superficie de un sujeto, o lavando un hisopo después de la aplicación del hisopo a una cavidad corporal o superficie de un sujeto. Los hisopos nasales, los hisopos de garganta, las muestras de heces, el cabello, las uñas, la cera de los oídos, el aliento y otras muestras sólidas, semisólidas o gaseosas pueden procesarse en un tampón de extracción, por ejemplo, durante un período de tiempo fijo o variable, antes a su análisis. El tampón de extracción o una parte alícuota del mismo puede procesarse de manera similar a otras muestras de fluido, si se desea. Los ejemplos de muestras de tejido del sujeto pueden incluir, entre otros, tejido conectivo, tejido muscular, tejido nervioso, tejido epitelial, cartílago, muestra cancerosa o hueso. La muestra puede obtenerse de un ser humano o animal. La muestra se puede obtener de un mamífero, vertebrado, como murinos, simios, humanos, animales de granja, animales para actividades deportivas o mascotas. La muestra puede obtenerse de un sujeto vivo o muerto. La muestra puede obtenerse sin preparación de un sujeto o puede haber sido sometida a algún tipo de procesamiento previo, almacenamiento o transporte.

50 Como se usa en el presente documento, "porción" y "porciones" (por ejemplo, de muestras biológicas) incluyen, entre otras, alícuotas (que pueden ser de igual volumen, o pueden ser de volumen desigual); diluciones (en las que una muestra, o una porción de la misma, se mezcla con un diluyente para formar una dilución de la muestra); fracciones (p. ej., una fracción de sangre completa, como suero o plasma, o un sedimento formado por centrifugación); y combinaciones de los mismos.

Prueba de reflejos

55 Los métodos, dispositivos y sistemas descritos en este documento pueden usarse para proporcionar y realizar una "prueba refleja" en la que se realiza un segundo ensayo, o ensayos posteriores, dependiendo de los resultados de la prueba o pruebas iniciales.

En las realizaciones, se puede realizar una prueba refleja al obtener resultados negativos de una prueba inicial. Por ejemplo, un resultado negativo puede indicar que un sujeto no padezca una enfermedad o condición sospechada que fue sugerida por un síntoma particular e indica que se debe realizar un ensayo diferente dirigido a una

enfermedad o condición sospechosa diferente. En tales realizaciones, se puede realizar una prueba refleja para la diferente enfermedad o afección sospechosa, como resultado de obtener los resultados negativos de la prueba inicial.

5 En las realizaciones, se puede realizar una prueba refleja al obtener resultados positivos de una prueba inicial. Por ejemplo, una prueba inicial puede ser, por ejemplo, una prueba de VIH. En tal ejemplo, los resultados positivos de un análisis de VIH basado en anticuerpos (por ejemplo, una prueba de VIH-1 o una prueba de VIH-2) en una muestra de un sujeto pueden desencadenar la prueba de una muestra del mismo sujeto usando un ensayo de ácido nucleico para VIH (por ejemplo, un ensayo de ácido nucleico para la prueba de VIH-1, o un ensayo de ácido nucleico para la prueba de VIH-2). En las realizaciones, un resultado positivo en un ensayo de VIH basado en anticuerpos para VIH
10 puede desencadenar la prueba de una muestra del mismo sujeto en un ensayo de ácido nucleico. En las realizaciones, un resultado positivo en un ensayo inicial de ácido nucleico para VIH puede desencadenar la prueba de una muestra del mismo sujeto mediante un ensayo posterior de ácido nucleico de mayor rigurosidad para VIH. En las realizaciones, un resultado positivo en un ensayo de VIH basado en anticuerpos (por ejemplo, un ELISA u otro ensayo) puede desencadenar la prueba de una muestra del mismo sujeto mediante transferencia Western (también un ensayo basado en anticuerpos) para el VIH. En las realizaciones, un resultado positivo en un ensayo de VIH basado en anticuerpos puede desencadenar la prueba de una muestra del mismo sujeto en un ensayo citométrico. En las realizaciones, un resultado positivo en un ensayo de ácido nucleico para VIH puede desencadenar la prueba de una muestra del mismo sujeto en un ensayo citométrico. En las realizaciones, un resultado positivo en un ensayo de VIH basado en anticuerpos para VIH puede desencadenar la prueba de una muestra del mismo sujeto en un ensayo de química general. En las realizaciones, un resultado positivo en un ensayo de VIH basado en un ensayo de ácido nucleico para VIH puede desencadenar la prueba de una muestra del mismo sujeto en un ensayo de química general. En las realizaciones, un resultado positivo en un ensayo citométrico indicativo de síntomas de VIH puede desencadenar la prueba de una muestra del mismo sujeto en un ensayo basado en anticuerpos, o un ensayo de ácido nucleico, o en un ensayo de química general, o una combinación de uno o más de estos ensayos. En las realizaciones, un resultado positivo en cualquier ensayo indicativo de síntomas de VIH puede desencadenar la prueba de una muestra del mismo sujeto en un ensayo citométrico, un ensayo basado en anticuerpos o un ensayo de ácido nucleico, o en un ensayo de química general, o una combinación de uno o más de estos ensayos.

30 Se entenderá que las realizaciones discutidas anteriormente son ejemplares, usando el VIH como ejemplo, pero que una muestra biológica también puede analizarse y probarse de manera análoga para detectar cualquier enfermedad o afección mediante los métodos, dispositivos y sistemas descritos en este documento.

35 En otro ejemplo, un ensayo inicial puede comprender una prueba completa de un recuento de glóbulos sanguíneos, que comprende analizar una muestra de sangre para detectar glóbulos blancos, donde un recuento de glóbulos blancos fuera del rango normal (por ejemplo, por debajo de aproximadamente 2000 células por microlitro (μL) para hombres mayores de 12 años se está fuera del rango normal) puede desencadenar una prueba refleja que comprende otras pruebas de la sangre del sujeto. En las realizaciones, dicha prueba adicional de la sangre puede ser una prueba automática realizada por un citómetro en un dispositivo como se describe en este documento. Por ejemplo, tal prueba citométrica refleja puede comprender identificar y/o cuantificar glóbulos blancos en la muestra por cada tipo de célula, usando un citómetro. Tal prueba del citómetro puede ser una prueba del citómetro automática, y puede no requerir la intervención de ninguna persona para realizar el ensayo citométrico. En las realizaciones, dicha prueba adicional de la sangre puede ser una prueba "manual" realizada por una persona entrenada. En las realizaciones, dicha prueba refleja que comprende otras pruebas de la sangre puede comprender tanto una prueba automática realizada por un citómetro en un dispositivo como una prueba "manual" realizada por una persona entrenada.

45 En otro ejemplo, una prueba positiva de la hepatitis puede desencadenar la posterior prueba de una muestra del mismo sujeto. En las realizaciones, una prueba inicial para la hepatitis puede comprender una prueba para análisis indicativos de una función hepática comprometida, por ejemplo, niveles aumentados de aminotransferasa sérica, o niveles aumentados de fosfatasa alcalina, o niveles aumentados de gamma-glutamil transpeptidasa, o un aumento de la bilirrubina u otro marcador sanguíneo que pueda ser alterado por la hepatitis. En las realizaciones, dicha prueba adicional de una muestra del sujeto puede comprender un ensayo basado en anticuerpos. En las realizaciones, dicha prueba adicional de una muestra del sujeto puede comprender un ensayo de ácido nucleico. En las realizaciones, dicha prueba adicional de una muestra del sujeto puede comprender una prueba automática realizada por un citómetro en un dispositivo como se describe en este documento.

55 En otro ejemplo, una prueba positiva para la hepatitis C puede desencadenar otra prueba de una muestra del mismo sujeto. En las realizaciones, una prueba inicial para la hepatitis C puede comprender una prueba para detectar la presencia de anticuerpos contra el virus de la hepatitis C. En las realizaciones, dicha prueba adicional de una muestra del sujeto puede ser un ensayo de ácido nucleico para detectar la presencia de ácidos nucleicos indicativos del virus de la hepatitis C. En las realizaciones, una prueba inicial para la hepatitis C puede comprender un ensayo basado en anticuerpos para detectar la presencia de epítomos (dianas de anticuerpos) indicativos de la presencia del virus de la hepatitis C en la muestra. En las realizaciones, dicha prueba adicional de una muestra del sujeto puede ser un ensayo de ácido nucleico para detectar la presencia de ácidos nucleicos indicativos del virus de la hepatitis C. En las realizaciones, una prueba inicial para la hepatitis C puede comprender una prueba para detectar la presencia de ácidos nucleicos indicativos del virus de la hepatitis C. En las realizaciones, dicha prueba adicional de una

muestra del sujeto puede ser un ensayo de ácido nucleico para detectar la presencia de anticuerpos contra el virus de la hepatitis C.

En otro ejemplo, una prueba positiva con respecto a la presencia de sífilis puede desencadenar otra prueba de una muestra del mismo sujeto. En las realizaciones, una prueba inicial con respecto a la presencia de sífilis puede comprender una prueba de ácido nucleico para detectar la presencia de ácidos nucleicos indicativos de la bacteria de la sífilis. En las realizaciones, una prueba posterior para detectar la presencia de sífilis puede comprender una prueba de ácido nucleico de rigurosidad más alta para detectar la presencia de bacterias de la sífilis (en comparación con la rigurosidad de la prueba de ácido nucleico inicial para detectar la sífilis). En las realizaciones, una prueba posterior para detectar la presencia de la sífilis puede comprender una prueba de transferencia Western para detectar la presencia de bacterias de la sífilis.

En las realizaciones, una prueba inicial para detectar la presencia de la sífilis puede comprender una prueba para detectar la presencia de anticuerpos contra la bacteria de la sífilis. En las realizaciones, dicha prueba adicional de una muestra del sujeto puede ser una prueba automática realizada por un citómetro en un dispositivo como se describe en este documento. En las realizaciones, una prueba automática realizada por un citómetro en un dispositivo como se describe en el presente documento puede ser una prueba citométrica que usa iluminación de campo oscuro de una muestra de sangre del paciente, para determinar y/o cuantificar la presencia de bacterias de la sífilis. En las realizaciones, tales otras pruebas pueden ser una prueba "manual" realizada por alguna persona capacitada.

Un ensayo inicial puede comprender un ensayo para detectar la presencia de la hepatitis B. Por ejemplo, una muestra obtenida de una mujer embarazada puede analizarse para detectar el antígeno de superficie de la hepatitis B (un ensayo basado en anticuerpos). Si se encuentra que esta prueba inicial es positiva respecto a la presencia del antígeno de superficie de la hepatitis B, se puede realizar una prueba refleja de ácido nucleico para realizar una prueba más sensible y específica para el virus de la hepatitis B; la prueba refleja también puede proporcionar la cuantificación de la carga viral en la muestra. La prueba refleja de ácido nucleico puede realizarse en una muestra diferente que el análisis de antígeno de superficie de la hepatitis B basado en anticuerpos; esta muestra diferente puede ser una porción de la muestra original, obtenida dividiendo la muestra original en porciones, y retenida para su uso futuro si fuera necesario; esta muestra diferente puede ser una muestra separada, obtenida al mismo tiempo, o casi al mismo tiempo, que la muestra original, y retenida para su uso futuro, si fuera necesario.

En otro ejemplo, una muestra obtenida de una mujer embarazada puede analizarse para detectar el antígeno de superficie de la hepatitis B (un ensayo basado en anticuerpos). Si se determina que esta prueba inicial es positiva para detectar la presencia del antígeno de superficie de la hepatitis B, se puede realizar un ensayo reflejo para detectar la presencia de sífilis. Tal ensayo de la sífilis refleja puede ser, por ejemplo, una prueba refleja de ácido nucleico para detectar la presencia de ácidos nucleicos indicativos de la presencia de bacterias de sífilis en la muestra. En las realizaciones, dicho ensayo de sífilis refleja puede ser una prueba refleja basada en anticuerpos para detectar la presencia de proteínas indicativas de la presencia de bacterias de la sífilis en la muestra. En las realizaciones, dicho ensayo de sífilis refleja puede ser, por ejemplo, un ensayo citométrico para detectar la presencia de bacterias de la sífilis en la muestra. La prueba refleja se puede realizar en una muestra diferente que el análisis de antígeno de superficie de la hepatitis B basado en anticuerpos; esta muestra diferente puede ser una porción de la muestra original, obtenida dividiendo la muestra original en porciones, y retenida para su uso futuro si fuera necesario; esta muestra diferente puede ser una muestra separada, obtenida al mismo tiempo, o casi al mismo tiempo, que la muestra original, y retenida para uso futuro, si fuera necesario.

En otro ejemplo, se puede analizar una muestra de orina para determinar la presencia de sangre, la presencia de nitrito, la presencia de más que trazas de proteínas o la presencia de glóbulos blancos (por ejemplo, leucocitos) en la orina. En las realizaciones, un ensayo inicial realizado en una muestra de orina puede ser un ensayo basado en anticuerpos. Si se descubre que los resultados de dicho ensayo basado en anticuerpos son positivos, entonces se puede realizar una prueba refleja, en la que una muestra de orina se somete a pruebas citométricas. Dichas pruebas citométricas pueden ser automáticas, o pueden ser manuales (es decir, que implican la observación de la muestra por un técnico utilizando un microscopio, una cámara o ambas) o una combinación de ambas. La prueba refleja citométrica se puede realizar en una muestra diferente a la prueba inicial basada en anticuerpos; esta muestra diferente puede ser una porción de la muestra original, obtenida dividiendo la muestra original en porciones, y retenida para su uso futuro si fuera necesario; esta muestra diferente puede ser una muestra separada, obtenida al mismo tiempo, o casi al mismo tiempo, que la muestra original, y retenida para su uso futuro, si fuera necesario.

En otro ejemplo, se puede analizar una muestra de orina para determinar la presencia de sangre, la presencia de nitrito, la presencia de más que trazas de proteínas o la presencia de glóbulos blancos (por ejemplo, leucocitos) en la orina, como se discutió anteriormente. En las realizaciones, un ensayo inicial realizado en una muestra de orina puede ser un ensayo basado en anticuerpos. Si los resultados de un ensayo basado en anticuerpos son positivos, se puede realizar un examen reflejo, en el que se realiza un ensayo para detectar la presencia de bacterias utilizando una muestra de orina. En las realizaciones, dicho ensayo para detectar la presencia de bacterias en la orina comprende un cultivo bacteriano, en el que la orina se aplica a un sustrato adecuado para el cultivo de bacterias y el sustrato se incuba en condiciones propicias para el crecimiento bacteriano. Dicha prueba refleja de cultivo bacteriano se puede realizar en una muestra diferente que el ensayo inicial basado en anticuerpos; esta

muestra diferente puede ser una porción de la muestra original, obtenida dividiendo la muestra original en porciones, y retenida para su uso futuro si fuera necesario; esta muestra diferente puede ser una muestra separada, obtenida al mismo tiempo, o casi al mismo tiempo, que la muestra original, y retenida para su uso futuro si fuera necesario.

5 En las realizaciones, después de proporcionar una muestra biológica a un dispositivo, todos los ensayos se realizan automáticamente por un dispositivo o sistema, por ejemplo, por un dispositivo o sistema como se describe en este documento. En las realizaciones, después de proporcionar una única muestra biológica a un dispositivo, todos los ensayos se realizan automáticamente por un dispositivo o sistema, por ejemplo, por un dispositivo o sistema como se describe en este documento. En las realizaciones, después de proporcionar una pluralidad de muestras biológicas a un dispositivo, todos los ensayos se realizan automáticamente por un dispositivo o sistema, por ejemplo, por un dispositivo o sistema como se describe en este documento. En las realizaciones, después de proporcionar una muestra biológica a un dispositivo, un dispositivo o sistema realiza automáticamente un ensayo inicial, por ejemplo, un dispositivo o sistema como se describe en este documento, y se solicita una muestra adicional; al cargar dicha muestra adicional en un dispositivo, al menos un ensayo posterior se realiza automáticamente en la muestra posterior por un dispositivo o sistema, por ejemplo, por un dispositivo o sistema como se describe en este documento. En las realizaciones, después de proporcionar una muestra biológica a un dispositivo, un dispositivo o sistema realiza automáticamente un ensayo inicial, por ejemplo, un dispositivo o sistema como se describe en este documento, y se solicita una muestra adicional; al cargar dicha muestra adicional en un dispositivo, todos los ensayos posteriores se realizan automáticamente en la muestra posterior por un dispositivo o sistema, por ejemplo, por un dispositivo o sistema como se describe en este documento.

20 En las realizaciones, después de proporcionar una muestra biológica a un dispositivo, el dispositivo o sistema realiza automáticamente un ensayo inicial, por ejemplo, un dispositivo o sistema como se describe en el presente documento, y se obtiene automáticamente una muestra adicional; al menos se realiza un ensayo posterior en dicha muestra posterior automáticamente por un dispositivo o sistema, por ejemplo, por un dispositivo o sistema como se describe en este documento. En las realizaciones, después de proporcionar una muestra biológica a un dispositivo, el dispositivo o sistema realiza automáticamente un ensayo inicial, por ejemplo, el dispositivo o sistema como se describe en el presente documento, y se obtiene automáticamente una muestra adicional; todos los ensayos posteriores se realizan en dicha muestra posterior automáticamente por un dispositivo o sistema, por ejemplo, por el dispositivo o sistema como se describe en este documento.

30 Por lo tanto, en las realizaciones, la prueba refleja se puede realizar en respuesta a un resultado de ensayo. Por ejemplo, los resultados de un primer ensayo A pueden determinar si se debe ejecutar o no un segundo ensayo B; en este ejemplo, el ensayo A es el ensayo inicial, y el ensayo B, que depende de los resultados del ensayo A, es el ensayo reflejo. Así, por ejemplo, cuando se ordena un ensayo A, un cartucho puede cargarse previamente con los reactivos requeridos por el ensayo A, y también precargarse con los reactivos necesarios para el ensayo B. Si el resultado del ensayo A cumple con un criterio predefinido que inicia el ensayo reflejo, luego el ensayo B se ejecuta con la misma muestra en el dispositivo. El protocolo del dispositivo está planeado para tener en cuenta la posibilidad de ejecutar la prueba refleja (es decir, los reactivos necesarios se cargan en el cartucho, se obtiene una muestra suficiente para realizar el ensayo A y el ensayo B, y se retiene suficiente muestra en reserva para realizar el ensayo B, si fuera necesario).

40 En las realizaciones, algunas etapas de protocolo del ensayo B pueden realizarse antes de que se completen los resultados para el ensayo A. Por ejemplo, la preparación de la muestra se puede completar de antemano en el dispositivo.

45 En las realizaciones, se puede obtener una muestra del sujeto suficiente del tamaño suficiente para realizar el ensayo A y para realizar el ensayo B. En las realizaciones, se puede obtener una muestra del sujeto y se puede diluir con un reactivo (por ejemplo, un diluyente tal como agua, solución salina, una solución tamponada u otro diluyente) para proporcionar un volumen suficiente de muestra diluida para realizar el ensayo A y para realizar el ensayo B. En las realizaciones, se puede obtener una muestra del sujeto, utilizada para realizar el ensayo A, y ser almacenada para estar disponibles para la realización del ensayo B, si estuviera indicado. En las realizaciones, se puede obtener una muestra del sujeto y dividirla en dos porciones, una de las cuales se puede usar para realizar el ensayo A y la otra se puede almacenar para estar disponible para la realización del ensayo B si estuviera indicado. En las realizaciones, ambas porciones de una muestra dividida en dos porciones (una de las cuales puede usarse para realizar el ensayo A y la otra de las cuales puede usarse para realizar el ensayo B) pueden tratarse de manera equivalente. En las realizaciones, las porciones de una muestra divididas en dos porciones (una de las cuales puede usarse para realizar el ensayo A y la otra de las cuales puede usarse para realizar el ensayo B) pueden tratarse de manera diferente entre sí.

55 Alternativamente, en las realizaciones, se puede obtener una segunda muestra del sujeto antes del cumplimiento del criterio o criterios por los resultados del ensayo A; por ejemplo, se pueden obtener dos muestras de un sujeto al mismo tiempo, o se pueden obtener en diferentes momentos antes de obtener los resultados del ensayo inicial A. En las realizaciones, ambas muestras se pueden tratar de manera equivalente. En las realizaciones, ambas muestras pueden tratarse de manera diferente entre sí.

- Los ensayos y métodos descritos en este documento pueden realizarse en un dispositivo, o en un sistema, para procesar una muestra. Los ensayos y métodos descritos en este documento pueden incorporarse fácilmente y utilizarse en un dispositivo para procesar una muestra, o un sistema para procesar una muestra, que puede ser un dispositivo de ensayo automatizado, o puede ser un sistema de ensayo automatizado. Tal dispositivo y tal sistema pueden ser útiles para la práctica de los métodos descritos en este documento. Por ejemplo, un dispositivo puede ser útil para alojar una muestra. Un dispositivo puede ser útil para preparar o procesar una muestra. Un dispositivo puede ser útil para realizar un ensayo en una muestra. Un dispositivo puede ser útil para obtener datos de una muestra. Un dispositivo puede ser útil para transmitir los datos obtenidos de una muestra. Un dispositivo puede ser útil para eliminar una muestra después del procesamiento o ensayo de una muestra.
- Un dispositivo puede ser parte de un sistema, un componente del cual puede ser un dispositivo de procesamiento de muestras. Un dispositivo puede ser un dispositivo de procesamiento de muestras. Se puede configurar un dispositivo de procesamiento de muestras para facilitar la recolección de una muestra, preparar una muestra para una prueba clínica o efectuar una reacción química con uno o más reactivos u otro procesamiento químico o físico, como se describe en este documento. Se puede configurar un dispositivo de procesamiento de muestras para obtener datos de una muestra. Se puede configurar un dispositivo de procesamiento de muestras para transmitir los datos obtenidos de una muestra. Se puede configurar un dispositivo de procesamiento de muestras para analizar los datos de una muestra. Un dispositivo de procesamiento de muestras puede configurarse para comunicarse con otro dispositivo, o un laboratorio, o un individuo afiliado a un laboratorio, para analizar los datos obtenidos de una muestra.
- Un dispositivo de procesamiento de muestras puede configurarse para ingresar una muestra de un sujeto, ya sea directa o indirectamente. Una muestra puede ser, por ejemplo, una muestra de sangre (por ejemplo, una muestra obtenida de una punción en el dedo, o de una punción venosa, o una muestra de sangre arterial), una muestra de orina, una muestra de biopsia, un corte de tejido, una muestra de heces u otra muestra; una muestra de agua, una muestra de suelo, una muestra de alimentos, una muestra de aire; u otra muestra. Una muestra de sangre puede comprender, por ejemplo, sangre completa, plasma o suero. Un dispositivo de procesamiento de muestras puede recibir una muestra del sujeto a través de una carcasa del dispositivo. La recolección de muestras puede ocurrir en un sitio de recolección de muestras o en otro lugar. La muestra se puede proporcionar al dispositivo en un sitio de recolección de muestras.
- Los ejemplos de muestras pueden incluir varias muestras fluidas o sólidas. En algunos casos, la muestra puede ser una muestra de fluido corporal del sujeto. La muestra puede ser una muestra acuosa o gaseosa. En algunos casos, se pueden proporcionar muestras sólidas o semisólidas. La muestra puede incluir tejidos y/o células recogidas del sujeto. La muestra puede ser una muestra biológica.
- Se puede obtener cualquier volumen de muestra de un sujeto. Los ejemplos de volúmenes pueden incluir, entre otros, aproximadamente 10 ml o menos, 5 ml o menos, 3 ml o menos, 1 microlitro (μL , también "uL" en este documento) o menos, 500 μL o menos, 300 μL o menos, 250 μL o menos, 200 μL o menos, 170 μL o menos, 150 μL o menos, 125 μL o menos, 100 μL o menos, 75 μL o menos, 50 μL o menos, 25 μL o menos, 20 μL o menos, 15 μL o menos, 10 μL o menos, 5 μL o menos, 3 μL o menos, 1 μL o menos, 500 nL o menos, 250 nL o menos, 100 nL o menos, 50 nL o menos, 20 nL o menos, 10 nL o menos, 5 nL o menos, 1 nL o menos, 500 pL o menos, 100 pL o menos, 50 pL o menos, o 1 pL o menos. En las realizaciones, una muestra biológica puede tener un volumen de 250 μL o menos. En las realizaciones, una muestra biológica puede tener un volumen de 100 μL o menos. En las realizaciones, una muestra biológica puede tener un volumen de 50 μL o menos. La cantidad de muestra puede ser aproximadamente una gota de una muestra. La cantidad de muestra puede ser la cantidad recolectada de un dedo pinchado o una punción digital. La cantidad de muestra puede ser la cantidad recolectada de una microaguja o una extracción venosa. Se puede proporcionar al dispositivo cualquier volumen, incluidos los descritos en este documento.
- En las realizaciones, una muestra biológica puede incluir células.
- En algunas realizaciones, un dispositivo de procesamiento de muestras puede configurarse para insertar o sujetar un cartucho. En algunas realizaciones, el dispositivo de procesamiento de muestras puede comprender un cartucho. El cartucho puede ser extraíble del dispositivo de procesamiento de muestras. En algunas realizaciones, se puede proporcionar una muestra al cartucho del dispositivo de procesamiento de muestras. Alternativamente, se puede proporcionar una muestra a otra parte de un dispositivo de procesamiento de muestras. El cartucho y/o dispositivo puede comprender una unidad de recogida de muestras que puede configurarse para alojar una muestra.
- Un cartucho puede incluir una muestra, y puede incluir reactivos para su uso en el procesamiento o prueba de una muestra, desechables para su uso en el procesamiento o prueba de una muestra u otros materiales. Tras la colocación de un cartucho o la inserción de un cartucho en un dispositivo de procesamiento de muestras, uno o más componentes del cartucho pueden ponerse en comunicación fluida con otros componentes del dispositivo de procesamiento de muestras. Por ejemplo, si se recoge una muestra en un cartucho, la muestra puede transferirse a otras partes del dispositivo de procesamiento de muestras. De manera similar, si se proporcionan uno o más reactivos en un cartucho, los reactivos pueden transferirse a otras partes del dispositivo de procesamiento de muestras, o pueden llevarse otros componentes del dispositivo de procesamiento de muestras a los reactivos. En

algunas realizaciones, los reactivos o componentes de un cartucho pueden permanecer incorporado en el cartucho. En algunas realizaciones, no se incluyen fluidos que requieran tubos o que requieran mantenimiento (por ejemplo, un mantenimiento manual o automatizado).

5 En las realizaciones, un cartucho puede incluir una muestra biológica o puede incluir dos o más muestras biológicas. En las realizaciones, una muestra biológica es de un sujeto y múltiples muestras biológicas pueden ser de un solo sujeto. En realizaciones alternativas, múltiples muestras biológicas pueden ser de múltiples sujetos. Un cartucho que tiene uno o más identificadores que el dispositivo puede leer. El dispositivo puede incluir un cartucho de punción automatizado. El cartucho puede ser desechable. Se pueden usar uno o más componentes desechables para recolectar una muestra de un sujeto. El componente desechable puede proporcionar la muestra a un dispositivo no desechable. Alternativamente, el componente desechable puede ser el dispositivo de procesamiento de muestras.

10 En las realizaciones, un cartucho puede incluir un reactivo o una pluralidad de reactivos y puede configurarse para permitir el suministro de dicho reactivo o reactivos a dicho dispositivo. Se puede configurar un cartucho para entregar una muestra biológica y un reactivo al dispositivo. Se puede configurar un cartucho para suministrar una pluralidad de muestras biológicas y un reactivo al dispositivo. Se puede configurar un cartucho para suministrar una muestra biológica y una pluralidad de reactivos al dispositivo. Un cartucho puede estar configurado para suministrar una pluralidad de muestras biológicas y una pluralidad de reactivos al dispositivo. La información de identificación puede incluir información de identificación del sujeto, información basada en señales generadas relacionadas con la muestra, información basada en señales generadas relacionadas con reacciones realizadas con la muestra, información de identificación del dispositivo, información de identificación del cartucho, información de identificación del componente y otras informaciones transmitidas desde el dispositivo.

15 Una muestra o reactivo transportado por un cartucho puede transferirse a un dispositivo, tal como un dispositivo de procesamiento de muestras. Se puede transferir una muestra o reactivo dentro de un dispositivo. Dicha transferencia de muestra o reactivo se puede lograr sin proporcionar una vía de fluido continua desde el cartucho al dispositivo. Tal transferencia de muestra o reactivo se puede lograr sin proporcionar una vía de fluido continua dentro del dispositivo. En las realizaciones, dicha transferencia de muestra o reactivo puede realizarse mediante un sistema de manejo de fluidos (por ejemplo, una pipeta); por ejemplo, una muestra, reactivo o alícuota del mismo se puede aspirar dentro de un componente de transferencia con punta abierta, como una punta de pipeta, que se puede conectar operativamente a un sistema de manejo de fluidos que transfiere la punta, con la muestra, el reactivo o parte alícuota del mismo contenida dentro de la punta, a una ubicación en el dispositivo de procesamiento de muestras o dentro de éste. La muestra, el reactivo o la parte alícuota del mismo pueden depositarse en una ubicación en el dispositivo de procesamiento de muestras o dentro de éste. La muestra y el reactivo, o múltiples reactivos, se pueden mezclar usando un sistema de manejo de fluidos de manera similar. Uno o más componentes del cartucho pueden transferirse de manera automatizada a otras partes del dispositivo de procesamiento de muestras, y viceversa.

20 En las realizaciones de los métodos descritos en este documento, se puede usar un sistema de manejo de fluidos para transportar y suministrar una solución de muestra a un recipiente, y para llenar un recipiente (parcial o totalmente) con una solución de muestra. En los ejemplos, una pipeta comprende una boquilla configurada para insertar una punta de pipeta. La pipeta puede configurarse para aspirar un fluido, tal como una solución de muestra, en una punta de pipeta unida a la pipeta (por ejemplo, una punta de pipeta que está unida a una boquilla de la pipeta). En las realizaciones, la pipeta puede configurarse para dispensar un fluido, tal como una solución de muestra, desde una punta de pipeta unida a la pipeta (por ejemplo, a una boquilla de la pipeta). Se puede configurar una pipeta para transmitir fuerza a una superficie o componente de un dispositivo. En los ejemplos, la boquilla de pipeta puede ponerse en contacto con la superficie o componente del dispositivo eficaz para transmitir fuerza a esa superficie o componente. En los ejemplos, una boquilla de pipeta puede poner en contacto una cavidad de estera de un recipiente, y, en realizaciones, puede acoplarse a una cavidad de estera de un recipiente. En los ejemplos, dos o más boquillas de pipeta pueden poner en contacto las cavidades de estera de un recipiente, y, en las realizaciones, pueden acoplarse con las cavidades de estera de un recipiente. En los ejemplos, la pipeta de un sistema de manejo de fluidos puede ser móvil, y es preferiblemente móvil en al menos dos y, más preferiblemente, en tres dimensiones (por ejemplo, es móvil en una, dos o las tres direcciones horizontal, lateral y vertical).

25 Un dispositivo como, por ej., un dispositivo de procesamiento de muestras puede tener un sistema de manejo de fluidos. Un sistema de manejo de fluidos puede realizar o puede ayudar a realizar, transportar, diluir, extraer, dividir en partes alícuotas, mezclar y realizar otras acciones con un fluido, tal como una muestra. En algunas realizaciones, el sistema de manejo de fluidos puede estar contenido dentro de una carcasa del dispositivo. El sistema de manejo de fluidos puede permitir la recolección, entrega, procesamiento y/o transporte de un fluido, disolución de reactivos secos, mezcla de líquidos y/o reactivos secos con un líquido, así como la recolección, entrega, procesamiento y/o transporte de componentes no fluidos, muestras o materiales. El fluido puede ser una muestra, un reactivo, diluyente, lavado, tinte o cualquier otro fluido que pueda usar el dispositivo, y puede incluir, entre otros, fluidos homogéneos, diferentes líquidos, emulsiones, suspensiones y otros fluidos. También se puede usar un sistema de manejo de fluidos, que incluya, entre otros, una pipeta para transportar recipientes (con o sin fluido contenido) alrededor del dispositivo. El sistema de manejo de fluidos puede dispensar o aspirar un fluido. La muestra puede incluir una o más partículas o materias sólidas que floten dentro de un fluido.

En los ejemplos, el sistema de manejo de fluidos puede comprender una pipeta, punta de pipeta, jeringa, capilar u otro componente. El sistema de manejo de fluidos puede tener una porción con una superficie interior y una superficie exterior y un extremo abierto. El sistema de manejo de fluidos puede comprender una pipeta, que puede incluir un cuerpo de pipeta y una boquilla de pipeta, y puede comprender una punta de pipeta. Una punta de pipeta puede o no ser extraíble de una boquilla de pipeta. En los ejemplos, el sistema de manejo de fluidos puede usar una pipeta acoplada con una punta de pipeta; la punta de pipeta puede ser desechable. La punta puede formar un sello hermético cuando se combine con una pipeta. Se puede usar una punta de pipeta una, dos o más veces. En los ejemplos, el sistema de manejo de fluidos puede usar una pipeta o dispositivo similar, con o sin punta de pipeta, para aspirar, dispensar, mezclar, transportar o manejar el fluido. El fluido puede dispensarse desde el sistema de manejo de fluido cuando se desee. El fluido puede estar contenido dentro de una punta de pipeta antes de ser dispensado, por ejemplo, desde un orificio en la punta de la pipeta. En las realizaciones, o casos durante el uso, se puede dispensar todo el fluido; en otras realizaciones, o casos durante el uso, se puede dispensar una porción del fluido dentro de una punta. Una pipeta puede aspirar selectivamente un fluido. La pipeta puede aspirar una cantidad seleccionada de fluido. La pipeta puede ser capaz de accionar mecanismos de agitación para mezclar el fluido dentro de la punta o dentro de un recipiente. La pipeta puede incorporar puntas o recipientes que crean bucles de flujo continuo para mezclar, incluidos materiales o reactivos que están en forma no líquida. Una punta de pipeta también puede facilitar la mezcla mediante el suministro medido de múltiples fluidos simultáneamente o en secuencia, como en reacciones de sustrato de dos partes.

El sistema de manejo de fluidos puede incluir una o más unidades aisladas fluida o hidráulicamente independientes. Por ejemplo, el sistema de manejo de fluidos puede incluir una, dos o más puntas de pipeta. Las puntas de pipeta se pueden configurar para alojar y confinar un fluido. Las puntas pueden estar aisladas herméticamente o ser hidráulicamente independientes entre sí. El fluido contenido dentro de cada punta puede aislarse de manera fluida o hidráulicamente independiente de uno de los fluidos en otras puntas y de otros fluidos dentro del dispositivo. Las unidades aisladas fluida o hidráulicamente independientes pueden ser móviles en relación con otras partes del dispositivo y/o entre sí. Las unidades aisladas de forma fluida o hidráulicamente independientes pueden ser móviles individualmente. Un sistema de manejo de fluidos puede comprender una o más bases o soportes. Una base o soporte puede soportar una o más pipetas o unidades de pipetas. Una base o soporte puede conectar una o más pipetas del sistema de manejo de fluidos entre sí.

Se puede configurar un dispositivo de procesamiento de muestras para realizar etapas de procesamiento o acciones en una muestra obtenida a partir de un sujeto. El procesamiento de la muestra puede incluir la preparación de la muestra, que incluye, por ejemplo, la dilución de la muestra, división de la muestra en alícuotas, extracción, puesta en contacto con un reactivo, filtración, separación, centrifugación u otras acciones o etapas preparatorias o de procesamiento. Se puede configurar un dispositivo de procesamiento de muestras para realizar una o más acciones de preparación de muestras o etapas sobre la muestra. Opcionalmente, se puede preparar una muestra para una reacción química y/o una etapa de procesamiento físico. Una acción o etapa de preparación de la muestra puede incluir uno o más de los siguientes: centrifugación, separación, filtración, dilución, enriquecimiento, purificación, precipitación, incubación, pipeteo, transporte, cromatografía, lisis celular, citometría, pulverización, molienda, activación, ultrasonidos, procesamiento en micro columnas, procesamiento con perlas magnéticas, procesamiento con nanopartículas u otras acciones o etapas de preparación de las muestras. Por ejemplo, la preparación de la muestra puede incluir una o más etapas para separar la sangre en fracciones de suero y/o partículas, o para separar cualquier otra muestra en varios componentes. La preparación de la muestra puede incluir una o más etapas para diluir y/o concentrar una muestra, como una muestra de sangre u otras muestras biológicas. La preparación de la muestra puede incluir agregar un anticoagulante u otros ingredientes a una muestra. La preparación de la muestra también puede incluir la purificación de una muestra. En las realizaciones, todas las acciones o etapas de procesamiento de la muestra, preparación o ensayo se realizan mediante un solo dispositivo. En las realizaciones, todas las acciones o etapas de procesamiento, preparación o ensayo de la muestra se realizan dentro de una carcasa de un solo dispositivo. En las realizaciones, la mayoría de las acciones o etapas de procesamiento, preparación o ensayo de la muestra son realizadas por un solo dispositivo, y pueden realizarse dentro de una carcasa de un solo dispositivo. En las realizaciones, muchas acciones o etapas de procesamiento de la muestra, preparación o ensayo son realizadas por un solo dispositivo, y pueden realizarse dentro de una carcasa de un solo dispositivo.

Se puede configurar un dispositivo de procesamiento de muestras para realizar uno o más ensayos en una muestra y obtener datos de la muestra. Un ensayo puede incluir uno o más tratamientos físicos o químicos, y puede incluir realizar una o más reacciones químicas o físicas. Se puede configurar un dispositivo de procesamiento de muestras para realizar uno, dos o más ensayos en una pequeña muestra de fluido corporal. Una o más reacciones químicas pueden tener lugar en una muestra que tiene un volumen, como se describe en otra parte del presente documento. Por ejemplo, una o más reacciones químicas pueden tener lugar en una píldora que tiene menos de un volumen de femtolitro. En un caso, la unidad de recogida de muestras está configurada para alojar un volumen de la muestra de fluido corporal equivalente a una sola gota o menos de muestra o fluido intersticial. En las realizaciones, el volumen de una muestra puede ser un volumen pequeño, donde un volumen pequeño puede ser un volumen que sea menor que aproximadamente 1000 μL , o menor que aproximadamente 500 μL , o menor que aproximadamente 250 μL , o menor que aproximadamente 150 μL , o menor que aproximadamente 100 μL , o menor que aproximadamente 75 μL , o menor que aproximadamente 50 μL , o menor que aproximadamente 40 μL , o menor que aproximadamente 20 μL ,

o menor que aproximadamente 10 μL , u otro volumen pequeño. En las realizaciones, todas las acciones o etapas de ensayo de muestra son realizadas por un solo dispositivo.

Un dispositivo de procesamiento de muestras puede configurarse para realizar una pluralidad de ensayos en una muestra. En los ejemplos, un dispositivo de procesamiento de muestras puede configurarse para realizar una pluralidad de ensayos en una sola muestra. Se pueden realizar una pluralidad de ensayos simultáneamente; puede realizarse secuencialmente; o algunos ensayos pueden realizarse simultáneamente mientras que otros se realizan secuencialmente. También se pueden incorporar al dispositivo uno o más ensayos de control y/o calibradores (por ejemplo, incluyendo una configuración con un control de un calibrador para el ensayo/las pruebas); los ensayos de control y los ensayos en calibradores pueden realizarse simultáneamente con los ensayos realizados en una muestra, o pueden realizarse antes o después de los ensayos realizados en una muestra, o cualquier combinación de los mismos. En las realizaciones, muchas acciones o etapas de ensayo de muestra, de una pluralidad de ensayos, se realizan mediante un solo dispositivo, y pueden realizarse dentro de una carcasa de un único dispositivo.

En las realizaciones, los métodos que comprenden o usan tales dispositivos pueden comprender un detector configurado para detectar un analito en una muestra. Un detector puede ser, por ejemplo, un detector óptico, como un espectrofotómetro, un fotomultiplicador, un dispositivo acoplado a carga, una cámara u otro dispositivo o sistema configurado para detectar una señal luminica indicativa de la presencia de un analito. En las realizaciones, el detector puede configurarse para detectar o servir para detectar una señal que comprenda quimioluminiscencia, luminiscencia, fluorescencia, absorbancia, transmitancia, turbidez, un cambio de color u otro cambio en la luz, ya sea emitida, transmitida o absorbida, efectiva para indicar la presencia de un analito en una muestra. En las realizaciones, el detector puede comprender un detector electroquímico, o un sensor de temperatura, o un sensor de pH, o un sensor de radiación, o un electrodo sensible a iones, u otro sensor capaz de detectar la presencia de un analito en una muestra.

Los métodos para detectar analitos incluyen ensayos para detectar ácidos nucleicos (p. ej., ADN o ARN), ensayos para detectar péptidos y proteínas (incluidas las glucoproteínas), ensayos para detectar otras moléculas relacionadas con patógenos, ensayos de fijación de complemento, ensayos de hemaglutinación (p. ej., para la gripe), y otros ensayos. Los métodos para detectar ácidos nucleicos pueden denominarse "ensayos de ácido nucleico" e incluyen métodos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (incluyendo PCR cuantitativa (qPCR), PCD con transcriptasa inversa (RT-PCR), PCR "a tiempo real", PCR de una sola etapa, PCR en dos etapas y otros métodos conocidos en la técnica. Los métodos para detectar péptidos y proteínas incluyen "ensayos basados en anticuerpos" tales como, por ejemplo, inmunoensayos enzimáticos tales como Ensayos Inmunoabsorbentes Enzimáticos (ELISA) y otros ensayos que utilizan anticuerpos o fragmentos de anticuerpos, reacciones basadas en el complemento, medidas de la absorbancia de rayos ultravioleta u otra frecuencia de luz, ensayos que utilizan interacciones específicas de receptor-ligando y otros ensayos conocidos en la técnica. Los ensayos para detectar otras moléculas relacionadas con patógenos incluyen ensayos para azúcares y lípidos bacterianos (por ejemplo, lipopolisacárido bacteriano (LPS)) y otros ensayos conocidos en la técnica. Un detector para usar con tales ensayos puede ser un detector óptico, un detector de pH, un detector electroquímico, un sensor de temperatura, un electrodo sensible a iones, un detector de radiación u otro detector.

Se puede configurar un dispositivo de procesamiento de muestras para detectar una o más señales relacionadas con la muestra. Se puede configurar un dispositivo de procesamiento de muestras para identificar una o más propiedades de la muestra. Por ejemplo, el dispositivo de procesamiento de muestras puede configurarse para detectar la presencia o concentración de un analito o una pluralidad de analitos o una enfermedad en la muestra (por ejemplo, en un fluido corporal o a través de éste, secreción, tejido u otra muestra). Alternativamente, el dispositivo de procesamiento de muestras puede configurarse para detectar una señal o señales que puedan analizarse para detectar la presencia o concentración de uno o más analitos (que pueden ser indicativos de una condición de enfermedad) o una condición de enfermedad en la muestra. Las señales pueden analizarse a bordo del dispositivo o en otra ubicación. La realización de una prueba clínica puede incluir o no cualquier análisis o comparación de los datos recopilados.

Se puede realizar una reacción química u otro etapa de procesamiento, con o sin la muestra. Los ejemplos de etapas, pruebas o ensayos que puede preparar o realizar el dispositivo pueden incluir, entre otros, inmunoensayo, ensayo de ácido nucleico, ensayo basado en receptores, ensayo citométrico, ensayo colorimétrico, ensayo enzimático, ensayo electroforético, ensayo electroquímico, ensayo espectroscópico, ensayo cromatográfico, ensayo microscópico, ensayo topográfico, ensayo calorimétrico, ensayo turbidimétrico, ensayo de aglutinación, ensayo de radioisótopos, ensayo viscosimétrico, ensayo de coagulación, ensayo de tiempo de coagulación, ensayo de síntesis de proteínas, ensayo histológico, ensayo de cultivo, ensayo de osmolaridad, y/u otros tipos de ensayos, centrifugación, separación, filtración, dilución, enriquecimiento, purificación, precipitación, pulverización, incubación, pipeteo, transporte, lisis celular u otra acción o etapas de preparación de muestras, o combinaciones de los mismos. Los etapas, las pruebas o los ensayos que el dispositivo puede preparar o realizar pueden incluir la producción de imágenes, como microscopía, citometría y otras técnicas que preparan o utilizan imágenes. Las etapas, las pruebas o los ensayos que puede preparar o realizar el dispositivo pueden incluir además una evaluación de la histología, morfología, cinemática, dinámica y/o estado de una muestra, que puede incluir dicha evaluación para las células.

Un dispositivo puede ser capaz de realizar todas las etapas incorporadas (p. ej., etapas o acciones realizadas por un solo dispositivo) antes de realizar una prueba refleja en un corto período de tiempo. Un dispositivo puede ser capaz de realizar todos los etapas incorporadas en una sola muestra en un corto período de tiempo antes de realizar una prueba refleja. Por ejemplo, desde la recogida de las muestras de un sujeto hasta la transmisión de los datos y/o su análisis antes de la realización de una prueba refleja se puede tardar aproximadamente 3 horas o menos, aproximadamente 2 horas o menos, aproximadamente 1 hora o menos, aproximadamente 50 minutos o menos, aproximadamente 45 minutos o menos, aproximadamente 40 minutos o menos, aproximadamente 30 minutos o menos, aproximadamente 20 minutos o menos, aproximadamente 15 minutos o menos, aproximadamente 10 minutos o menos, aproximadamente 5 minutos o menos, aproximadamente 4 minutos o menos, aproximadamente 3 minutos o menos, aproximadamente 2 minutos o menos, o aproximadamente 1 minuto o menos. La cantidad de tiempo desde la introducción de una muestra dentro del dispositivo hasta la transmisión de datos y/o el análisis del dispositivo con respecto a dicha muestra puede depender del tipo o número de etapas, pruebas o ensayos realizados en la muestra. La cantidad de tiempo desde la introducción de una muestra dentro del dispositivo hasta la transmisión de datos y/o el análisis del dispositivo con respecto a dicha muestra, antes de realizar la prueba refleja, puede durar aproximadamente 3 horas o menos, aproximadamente 2 horas o menos, aproximadamente 1 hora o menos, aproximadamente 50 minutos o menos, aproximadamente 45 minutos o menos, aproximadamente 40 minutos o menos, aproximadamente 30 minutos o menos, aproximadamente 20 minutos o menos, aproximadamente 15 minutos o menos, aproximadamente 10 minutos o menos, aproximadamente 5 minutos o menos, aproximadamente 4 minutos o menos, aproximadamente 3 minutos o menos, aproximadamente 2 minutos o menos, o aproximadamente 1 minuto o menos.

Se puede configurar un dispositivo para preparar una muestra para su eliminación, o para eliminar una muestra, como, por ej., una muestra biológica, después del procesamiento o análisis de la muestra.

En los ejemplos, el dispositivo de procesamiento de muestras puede configurarse para transmitir los datos obtenidos a partir de una muestra. En los ejemplos, el dispositivo de procesamiento de muestras puede configurarse para comunicarse a través de una red. El dispositivo de procesamiento de muestras puede incluir un módulo de comunicación que puede interactuar con la red. Se puede conectar un dispositivo de procesamiento de muestras a la red a través de una conexión por cable o de forma inalámbrica. La red puede ser una red de área local (LAN) o una red de área amplia (WAN) como Internet. En algunas realizaciones, la red puede ser una red de área personal. La red puede incluir la nube. El dispositivo de procesamiento de muestras puede estar conectado a la red sin requerir un dispositivo intermediario, o puede requerirse un dispositivo intermediario para conectar un dispositivo de procesamiento de muestras a una red. El dispositivo de procesamiento de muestras puede comunicarse a través de una red con otro dispositivo, que puede ser cualquier tipo de dispositivo en red, que incluye, entre otros, una computadora personal, una computadora de servidor o una computadora portátil; asistentes digitales personales (PDA) como un dispositivo Windows CE; teléfonos como teléfonos celulares, teléfonos inteligentes (por ejemplo, iPhone, Android, Blackberry, etc.) o teléfonos portátiles con reconocimiento de ubicación (como GPS); un dispositivo móvil, como un dispositivo móvil conectado a la red; un dispositivo inalámbrico como un dispositivo de correo electrónico inalámbrico u otro dispositivo capaz de comunicarse de forma inalámbrica con una red informática; o cualquier otro tipo de dispositivo de red que pueda comunicarse posiblemente a través de una red y manejar transacciones electrónicas. Dicha comunicación puede incluir proporcionar datos a una infraestructura de computación en la nube o cualquier otro tipo de infraestructura de almacenamiento de datos a la que puedan acceder otros dispositivos.

Un dispositivo de procesamiento de muestras puede proporcionar datos sobre una muestra, por ejemplo, a un profesional de la salud, una ubicación profesional de la salud, como un laboratorio o una filial de la misma. Uno o más de un laboratorio, profesional de la salud o sujeto pueden tener un dispositivo de red capaz de recibir o acceder a los datos proporcionados por el dispositivo de procesamiento de muestras. Se puede configurar un dispositivo de procesamiento de muestras para proporcionar datos sobre una muestra a una base de datos. Se puede configurar un dispositivo de procesamiento de muestras para proporcionar datos con respecto a una muestra a un sistema electrónico de registros médicos, a un sistema de información de laboratorio, a un sistema de automatización de laboratorio u otros sistemas o softwares. Un dispositivo de procesamiento de muestras puede proporcionar datos en la forma de un informe.

En las realizaciones, los métodos que comprenden o usan tales dispositivos pueden comprender un controlador. En las realizaciones, el controlador puede comprender un procesador. En las realizaciones, el controlador puede estar conectado a los componentes de un dispositivo y puede controlar el funcionamiento de estos; tales componentes están dispuestos típicamente dentro de una carcasa del dispositivo. En las realizaciones, el controlador puede controlar el funcionamiento de un sistema de manejo de fluidos. En las realizaciones, el controlador puede controlar el funcionamiento de un detector. En las realizaciones, el controlador puede controlar el funcionamiento de cualquier componente o unidad del dispositivo. Otros componentes pueden incluir, por ejemplo, una cámara, una unidad de ensayos químicos, una unidad de ensayos de ácido nucleico, una unidad de calentamiento, una unidad de comunicación, una unidad de química de proteínas u otro componente o unidad. En las realizaciones, el controlador puede controlar el funcionamiento de uno o más componentes de un dispositivo de acuerdo con un protocolo. En las realizaciones, el protocolo mediante el cual el controlador controla el funcionamiento de uno o más componentes o unidades de un dispositivo puede preprogramarse, por ejemplo, puede alojarse en el dispositivo. En las realizaciones, el protocolo mediante el cual el controlador controla el funcionamiento de uno o más componentes o

unidades de un dispositivo puede obtenerse de otro dispositivo, de un usuario, de un laboratorio, de una red o de la nube. En las realizaciones, el protocolo mediante el cual el controlador gobierna el funcionamiento de uno o más componentes o unidades de un dispositivo puede actualizarse, o puede actualizarse, de acuerdo con información o instrucciones de otro dispositivo, o de un usuario, o de un laboratorio, o desde una red, o desde la nube. En las realizaciones, el dispositivo puede recibir información, o instrucciones, o actualizaciones, o protocolos, a través de una interfaz de usuario. En las realizaciones, el dispositivo puede recibir información, o instrucciones, o actualizaciones, o protocolos, a través de una estructura de comunicaciones.

En las realizaciones, los métodos que comprenden o usan dichos dispositivos pueden comprender una pantalla eficaz para proporcionar al usuario información sobre el funcionamiento del dispositivo, información sobre el progreso de un ensayo realizado por el dispositivo o información sobre los resultados de un ensayo realizado por el dispositivo. En las realizaciones, la pantalla puede comprender una pantalla visual, o puede comprender una pantalla impresa, o puede comprender una señal de audio, que puede incluir una señal de audio comprensible, tal como una instrucción de un usuario, o puede comprender cualquier combinación o la totalidad de tales pantallas. En las realizaciones, una pantalla puede comprender una interfaz de usuario. En las realizaciones en las que una pantalla comprende una interfaz de usuario, el dispositivo puede recibir, por ejemplo, información, comandos, protocolos u otras entradas. Por ejemplo, la interfaz del usuario puede comunicar una consulta de una segunda muestra biológica, o posterior. Por ejemplo, la interfaz del usuario puede comunicar instrucciones sobre cómo obtener una segunda muestra biológica o una posterior.

En las realizaciones, los métodos que comprenden o usan dichos dispositivos pueden comprender una estructura de comunicaciones eficaz para comunicarse con un usuario o más de uno, otro dispositivo, un laboratorio, una red, la nube u otro objetivo de comunicación. En las realizaciones, la estructura de comunicaciones puede proporcionar un objetivo de comunicación con información con respecto al funcionamiento del dispositivo, información con respecto al progreso de un ensayo realizado por el dispositivo o información con respecto a los resultados de un ensayo realizado por el dispositivo. En las realizaciones, la estructura de comunicaciones puede configurarse para permitir que el dispositivo reciba, por ejemplo, información, órdenes, protocolos u otras entradas de una fuente externa, tal como, por ejemplo, un usuario, otro dispositivo, un laboratorio, una red, la nube u otra fuente de comunicación.

En las realizaciones, el protocolo puede incluir instrucciones con respecto a uno o más de: preparación de una muestra; preparación de una pluralidad de muestras; la realización de una reacción química; la realización de una pluralidad de reacciones químicas; la secuencia de realizar una pluralidad de reacciones químicas; realizar una prueba clínica; realizar una pluralidad de pruebas clínicas; secuencia de realizar una pluralidad de pruebas clínicas; detectar la presencia de un analito; detectar las presencias de una pluralidad de analitos; secuencia de detección de las presencias de una pluralidad de analitos; detectar la concentración de un analito; detectar las concentraciones de una pluralidad de analitos; secuencia de detección de las concentraciones de una pluralidad de analitos; procesamiento previo de datos; y secuencia de etapas en el procesamiento de datos. En las realizaciones, la información de protocolo puede cambiarse de acuerdo con los datos transmitidos obtenidos de dicha muestra biológica dentro de dicho cámara de dicho dispositivo de acuerdo con dicho protocolo.

Las realizaciones de los métodos y ensayos descritos en este documento se describen adicionalmente en los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1 - Ensayos de VIH

Los ensayos para la detección del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) en una muestra biológica generalmente reportan resultados negativos, es decir, no se detecta VIH en la muestra. Sin embargo, dado que la detección del virus en una muestra biológica es tan importante y puede tener consecuencias tan graves para el sujeto de quien se obtuvo la muestra, el solicitante describe métodos para realizar pruebas de seguimiento confirmatorias sobre la base de resultados positivos a un ensayo inicial. En las realizaciones, tales pruebas de seguimiento confirmatorias pueden realizarse antes de reportar los resultados positivos del ensayo a un proveedor de atención médica o a un sujeto. En las realizaciones, tales pruebas de seguimiento confirmatorias pueden realizarse simultáneamente o después de reportar los resultados de los análisis positivos a un proveedor de atención médica o a un sujeto.

En las realizaciones, se puede realizar una prueba de detección de anticuerpos anti-VIH en una muestra biológica obtenida de un sujeto; por ejemplo, se puede realizar una prueba de detección de anticuerpos anti-VIH en una muestra de sangre obtenida de un sujeto. En las realizaciones, se puede realizar una prueba de detección de anticuerpos anti-VIH en una muestra de un fluido corporal obtenido de un sujeto que no sea una muestra de sangre; dicha muestra puede ser, por ejemplo, una muestra de orina, esputo, semen, lágrimas, líquido intersticial, una muestra obtenida de un hisopo nasal, una muestra obtenida de un hisopo de garganta, una muestra obtenida de un hisopo vaginal u otras muestras. En las realizaciones, se obtiene una cantidad suficiente de una muestra biológica para permitir la prueba refleja automática de la muestra, o de una porción de la muestra, sin necesidad de obtener una muestra adicional para realizar otros ensayos.

Por ejemplo, el ensayo basado en anticuerpos puede comprender poner en contacto una muestra con un sustrato al que se unen anticuerpos específicos para un antígeno diana. En las realizaciones de dicho ensayo basado en

anticuerpos, la muestra se puede mezclar o diluir con un reactivo que contiene una cantidad conocida de conjugado marcado, donde el conjugado marcado se une a los anticuerpos unidos. Por ejemplo, el conjugado marcado puede ser un conjugado que comprenda el analito diana unido covalentemente con un marcador detectable. La mezcla de muestra y reactivo se puede agregar luego a una cámara que contiene el sustrato al que se unen los anticuerpos, y se deja incubar durante un tiempo suficiente para que el analito diana y el analito conjugado se unan al sustrato. Después del período de incubación, la cámara se puede lavar con una solución de lavado para eliminar cualquier analito no unido y conjugado de analito no unido. Después del lavado, se puede determinar la cantidad de conjugado marcado unido al sustrato, y se puede determinar la cantidad de analito diana en la muestra. Tal determinación puede hacerse, por ejemplo, por comparación con la cantidad de conjugado marcado unido en ausencia de cualquier diana y, opcionalmente, por comparación con la cantidad de conjugado marcado unido en presencia de una o más cantidades conocidas o, de otro modo, por comparación con valores de control, como, por ej., con una curva de control. Por ejemplo, después del lavado, puede agregarse a la cámara un reactivo que permita la detección del marcador (por ejemplo, cuando el marcador es un marcador quimioluminiscente que emite luz en presencia de un sustrato, el reactivo que permite la detección del marcador puede comprender el sustrato requerido).

En las realizaciones, la prueba de detección de anticuerpos anti-VIH puede comprender una prueba de detección de anticuerpos anti-VIH-1. En las realizaciones, la prueba de detección de anticuerpos anti-VIH puede comprender una prueba de detección de anticuerpos anti-VIH-2. En las realizaciones, la prueba de detección de anticuerpos anti-VIH puede comprender una prueba de detección de anticuerpos anti-VIH-1 y anti-VIH-2. En las realizaciones, los posibles resultados de dicho ensayo pueden comprender un resultado que informe que la muestra es negativa respecto a la presencia de VIH-1, y puede comprender un resultado que informe que la muestra es positiva con respecto a la presencia de VIH-1; en tales realizaciones, un resultado normal comprende un resultado que informe que la muestra es negativa respecto a la presencia de VIH-1. En las realizaciones, los posibles resultados de dicho ensayo pueden comprender un resultado que informe que la muestra es negativa con respecto a la presencia de VIH-2, y puede comprender un resultado que informe que la muestra es positiva con respecto a la presencia de VIH-2; en tales realizaciones, un resultado normal comprende un resultado que informe que la muestra es negativa con respecto a la presencia de VIH-2.

Como se describe en este documento, cuando el resultado de tal prueba comprende un resultado de que la muestra es negativa con respecto a la presencia de VIH-1, o negativa con respecto a la presencia de VIH-2, no se realiza automáticamente ninguna otra prueba de VIH. Como se describe en este documento, cuando la prueba de VIH comprende la prueba con respecto a la presencia de VIH-1 y VIH-2, y el resultado de dicha prueba comprende un resultado de que la muestra es negativa con respecto a la presencia de VIH-1 y es negativa con respecto a la presencia de VIH-2, no se realiza automáticamente ninguna otra prueba de VIH.

Como se describe en el presente documento, cuando el resultado de dicha prueba comprende un resultado de que la muestra es positiva con respecto a la presencia de VIH-1, o es positiva con respecto a la presencia de VIH-2, o es positiva con respecto a la presencia de VIH-1 y VIH-2, se realiza automáticamente otra prueba de VIH. Tal prueba adicional de VIH se puede realizar en la misma muestra o en otra muestra. En las realizaciones en las que la otra prueba de VIH se realiza en otra muestra, la otra muestra puede ser una muestra, o puede obtenerse a partir de ésta, que se obtuvo originalmente del sujeto.

En las realizaciones, cuando otra prueba de VIH se realiza automáticamente después de un resultado positivo obtenido a partir de una prueba inicial de VIH, la otra prueba de VIH puede comprender un ensayo de ácido nucleico. Por ejemplo, en las realizaciones, cuando la otra prueba de VIH se realiza automáticamente después de un resultado positivo obtenido a partir de la prueba inicial de VIH, la otra prueba de VIH puede comprender una prueba de VIH de transferencia Western.

En las realizaciones, los posibles resultados de dicha otra prueba de VIH pueden comprender un resultado que informe que la muestra es negativa con respecto a la presencia de VIH-1, o es negativa con respecto a la presencia de VIH-2, o es negativa con respecto a la presencia de ambos VIH-1 y VIH-2. En tales realizaciones, un resultado normal comprende un resultado que informa que la muestra es negativa con respecto a la presencia de VIH. Como se describe en este documento, cuando el resultado de la otra prueba de VIH comprende un resultado de que la muestra es negativa con respecto a la presencia de VIH-1, o negativa con respecto a la presencia de VIH-2, no se realiza automáticamente otra prueba de VIH. Dichos resultados se pueden reportar a un proveedor de atención médica o a un sujeto, si corresponde, y serían indicativos de que la muestra biológica obtenida del sujeto estaría libre de VIH.

Sin embargo, en las realizaciones, los resultados de dicha prueba adicional de VIH pueden comprender un resultado que informe que la muestra es positiva con respecto a la presencia de VIH-1, o positiva con respecto a la presencia de VIH-2, o positiva con respecto a la presencia de ambos VIH-1 y VIH-2.

Sin embargo, cuando el resultado de la otra prueba de VIH comprende un resultado de que la muestra es positiva con respecto a la presencia de VIH-1, o positiva con respecto a la presencia de VIH-2, dicho resultado indica que el VIH estaba presente en la muestra biológica obtenida del sujeto. En consecuencia, tales resultados indican que el

sujeto puede sufrir de VIH. Dichos resultados pueden reportarse a un proveedor de atención médica, o a un sujeto, si corresponde, y son indicativos de que la muestra biológica obtenida del sujeto contiene VIH.

5 Se pueden indicar otras pruebas en caso de un resultado positivo para VIH-1 o VIH-2. Por ejemplo, dado que el VIH es un trastorno del sistema inmune, las pruebas citométricas realizadas con la sangre, y particularmente a los glóbulos blancos, en los que las células sanguíneas en la muestra de sangre se obtienen de un paciente, pueden realizarse dependiendo de los resultados positivos del VIH. Ejemplos de pruebas citométricas se proporcionan en este documento en un ejemplo posterior.

Ejemplo 2 - Ensayos de recuento de glóbulos blancos

10 En las realizaciones, un ensayo inicial puede ser un ensayo para la determinación del recuento de glóbulos blancos de una muestra de sangre obtenida de un sujeto. Por ejemplo, el recuento de glóbulos blancos se puede obtener como parte de un recuento completo de glóbulos sanguíneos. Un ensayo de recuento de glóbulos blancos puede determinar que el recuento de glóbulos blancos de la sangre obtenida de un sujeto caiga fuera de un intervalo normal, por ejemplo, puede estar por debajo de aproximadamente 2000 células por microlitro (μL). Cuando el resultado de un ensayo inicial de recuento de glóbulos blancos determina que el recuento de glóbulos blancos de una muestra de sangre está fuera del intervalo normal, puede ser necesario un análisis de sangre refleja. En consecuencia, el solicitante describe métodos para realizar pruebas de seguimiento confirmatorias con respecto a los resultados del recuento de glóbulos blancos que se encuentran fuera del intervalo predeterminado. En las realizaciones, tales pruebas de seguimiento confirmatorias pueden realizarse antes de reportar los resultados iniciales del recuento de glóbulos blancos a un proveedor de atención médica o a un sujeto.

20 Por ejemplo, un intervalo normal para un sujeto masculino adulto (por ejemplo, un sujeto masculino mayor de 12 años) puede estar entre 3200 glóbulos blancos/ μL y 10.600 glóbulos blancos/ μL . Si el resultado de una prueba inicial es que una muestra de sangre tiene un recuento de glóbulos blancos de menos de 2000 glóbulos blancos/ μL (por ejemplo, un recuento de glóbulos blancos de 1800 células/ μL), entonces se puede realizar un examen de sangre refleja. Tal análisis de sangre refleja puede comprender un examen citométrico de la sangre del sujeto, tal como un examen citométrico de glóbulos blancos en una muestra de sangre del sujeto. En las realizaciones, la muestra de sangre examinada en el ensayo refleja puede ser una porción de la muestra de sangre que se examinó en la prueba inicial, por ejemplo, cuando se retuvo una porción de la muestra para otras pruebas. En las realizaciones, la muestra de sangre examinada en el ensayo refleja puede ser una muestra de sangre que se obtuvo al mismo tiempo que la muestra de sangre que se examinó en la prueba inicial, por ejemplo, cuando se obtuvo una segunda muestra de sangre y se retuvo para otras pruebas.

30 Como se describe con más detalle en el siguiente Ejemplo, se puede usar un ensayo citométrico automático para identificar, cuantificar y clasificar los glóbulos blancos en una muestra. Las muestras de sangre se pueden tratar previamente para evitar la interferencia de los glóbulos rojos y las plaquetas, por ejemplo, causando hinchazón y lisis de los glóbulos rojos y las plaquetas, permitiendo que los glóbulos blancos se asienten y se adhieran a un sustrato, o por otros medios. Los glóbulos blancos pueden ponerse en contacto con uno o más marcadores específicos para marcadores celulares, que sean útiles para identificar y clasificar los glóbulos blancos. Dichos marcadores pueden incluir marcadores, tales como marcadores fluorescentes, para facilitar la detección de los marcadores y de las células marcadas con estos.

Ejemplo 3 - Citometría

40 Los ensayos y las pruebas que pueden depender de los resultados de una prueba inicial pueden incluir ensayos y pruebas que observan y describen células en una muestra biológica, incluidos los ensayos y pruebas que identifican células, que determinan el número de células de una o más poblaciones de células, o que determinan si hay células anormales o no, o si hay números anormales de un tipo de célula o tipos de células. Dichas pruebas y ensayos pueden utilizar citometría.

45 La citometría puede incluir la preparación y el análisis de imágenes bidimensionales de células en una muestra biológica, donde las células se marcan (por ejemplo, con marcadores fluorescentes, quimioluminiscentes, enzimáticos u otros) y se colocan en placas (por ejemplo, se dejan asentar en un sustrato) y se toman imágenes con una cámara. La cámara puede incluir una lente y se puede conectar o usar junto con un microscopio. Las células pueden identificarse en las imágenes bidimensionales por sus marcadores adjuntos (por ejemplo, a partir de la luz emitida por los marcadores).

50 Se cargaron 80 microlitros de sangre completa obtenida de una punción digital en un recipiente tapado precargado con 2 mg/ml de EDTA. El recipiente tapado se centrifugó a $1200 \times g$ durante 5 minutos para separar las células sanguíneas del plasma sanguíneo. La centrifugación del vaso tapado dio como resultado la separación de la muestra de sangre en el vaso tapado en dos componentes principales (desde la parte superior del vaso tapado hasta el fondo): 1) plasma sanguíneo y 2) células sanguíneas empaquetadas. Este procedimiento asegura que no queden gotas de sangre aisladas, sino que se unan con el cuerpo principal del líquido. Además, este procedimiento separa las células de los elementos del plasma, lo que reduce el metabolismo y permite un almacenamiento más prolongado de la muestra.

El recipiente tapado centrifugado se cargó en un cartucho que contenía múltiples reactivos aislados de forma fluida, puntas y una cubeta de citometría. El cartucho contenía todos los reactivos necesarios para el ensayo. El cartucho se cargó en un dispositivo equipado con al menos una centrífuga, una pipeta y una plataforma para cargar la cubeta. La pipeta en el dispositivo tiene una pluralidad de boquillas, siendo algunas boquillas de un tamaño diferente que otras boquillas.

Dentro del dispositivo, se bajó una boquilla de la pipeta sobre una herramienta portadora de cubetas haciendo que ésta se enganchara en un orificio correspondiente en la herramienta portadora. Esta herramienta se trasladó posteriormente al cartucho y se bajó sobre la cubeta del citómetro. Las clavijas de la herramienta pudieron enganchar los agujeros correspondientes en la cubeta y recogerla. La cubeta se transfirió a una estación de carga en otra parte del dispositivo.

A continuación, dentro del dispositivo, se bajó una boquilla más grande de la pipeta en el cartucho para engancharla a una punta de pipeta almacenada en el cartucho. La pipeta y la punta juntas se usaron para mezclar las células y el plasma en el recipiente tapado colocando la punta de la pipeta dentro de la muestra en el recipiente tapado y aspirando el material repetidamente y dispensándolo desde la punta. Una vez que las células se resuspendieron en el plasma para que la muestra de sangre completa se mezclara completamente, se aspiraron 5 microlitros de la sangre completa mezclada para proporcionar una alícuota para medir las propiedades de la muestra de sangre. Esta alícuota de 5 microlitros se utilizó para mediciones dirigidas a los glóbulos rojos y las plaquetas de la muestra. Como se discute a continuación, una porción de la muestra restante después de la extracción de esta alícuota de 5 microlitros se usó para las mediciones dirigidas a los glóbulos blancos en la muestra.

Los 5 microlitros de sangre completa se dispensaron en un recipiente que contenía una mezcla de solución salina tamponada con fosfato y 2% en peso de albúmina de suero bovino para diluir la sangre completa veinte veces (lo que dio como resultado 100 microlitros de muestra diluida). Después de mezclar fuertemente, 5 microlitros de esta muestra se transfirieron a otro recipiente que contenía un cóctel de reactivos de anticuerpos de marcado: anti-CD235a conjugado con alexa-fluor 647 (AF647), anti-CD41 y anti-CD61 conjugado con ficoeritrina (PE). La mezcla se incubó durante 5 minutos. Posteriormente, se mezclaron 10 microlitros de esta mezcla con 90 microlitros de un tampón que contenía un tensioactivo de ion híbrido a <0,1% en peso. Las moléculas de tensioactivo modifican las propiedades de flexión de la membrana de los glóbulos rojos de modo que todas las células adquieren una forma esférica estable. Esta transformación es isovolumétrica ya que el tampón utilizado es isotónico con citoplasma y no puede producirse ningún intercambio de líquidos a través de la membrana celular. Después de incubar esto durante otros 2 minutos, se mezclaron 30 microlitros de esta solución con una solución que contenía glutaraldehído, perlas fijas y no fluorescentes de 10 μm de diámetro. La mezcla tenía una concentración final de glutaraldehído al 0,1% y 1000 perlas por microlitro. El glutaraldehído fija rápidamente las células, evitando así la lisis celular y otros procesos biológicos activos.

Luego, la pipeta se enganchó en una punta en el cartucho, aspiró 7 microlitros de la mezcla anterior y cargó los 7 microlitros en un canal dentro de la cubeta colocada en una plataforma con la herramienta portadora. Después de cargar la mezcla en la cubeta, la pipeta aspiró 10 microlitros de aceite mineral de un recipiente en el cartucho y colocó una gota de aceite mineral en ambos extremos abiertos del canal cargado de la cubeta. Se añadió aceite mineral a los extremos del canal abierto para evitar la evaporación del líquido del canal de la cubeta cargada. A continuación, el aparato de manipulación de muestras a nivel de dispositivo enganchó la combinación de portador de cubeta/cubeta, y transportó la combinación de portador de cubeta/cubeta desde el módulo que contenía el cartucho al módulo de citometría del dispositivo. En el módulo de citometría, el aparato de manejo de muestras a nivel de dispositivo colocó la combinación de portador de cubeta/cubeta en la etapa de microscopía del módulo de citometría. El tiempo requerido para estas operaciones, además de un tiempo de espera de 2 minutos, permitió que las células hinchadas se asentaran en el fondo de la cubeta antes de obtener la imagen.

Después de colocar el portador de cubeta/cubeta en la platina de microscopía, la platina se movió a una ubicación predeterminada para que el sistema óptico del citómetro pudiera ver un extremo del canal que contenía la muestra. En esta ubicación, el sistema óptico transmitió imágenes de la muestra obtenida con iluminación de campo oscuro desde una luz de anillo. Estas imágenes, junto con la actuación del sistema óptico en un eje perpendicular al plano de la cubeta, se utilizaron para encontrar el plano de mejor enfoque. Una vez enfocado, el sistema óptico se usó para adquirir imágenes de fluorescencia de la muestra a diferentes longitudes de onda, proporcionales a los fluoróforos que se estaban utilizando. Por ejemplo, para visualizar los glóbulos rojos que habían sido marcados con anti-CD235 conjugado con alexa fluor 647, se utilizó una fuente de luz roja (longitud de onda de 630 nm) para excitar la muestra y se utilizaron longitudes de onda entre 650 nm y 700 nm para obtener imágenes de muestra. Se usó una combinación de un espejo policrómico y un filtro de emisión de banda para filtrar las longitudes de onda no deseadas de la señal óptica. Como las células se habían sedimentado en el fondo de la cubeta, las imágenes en un solo plano de enfoque fueron suficientes para visualizar todas las células de la región.

Los datos de las imágenes fueron procesados por un controlador asociado con el dispositivo de procesamiento de muestras. Los algoritmos de procesamiento de imágenes empleados en este documento utilizaron imágenes de fluorescencia de células para detectarlas usando una combinación de umbral adaptativo y detección de bordes. En función de la intensidad local y los gradientes de intensidad, se crearon regiones de interés (ROI) alrededor de cada célula. Usando imágenes de campo oscuro, también se identificaron cuentas en la muestra y se crearon ROIs

alrededor de las cuentas. Se enumeraron todas las ROI en cada campo de visión y se calculó su intensidad en cada imagen de ese campo de visión. La información emitida por el algoritmo de procesamiento de imágenes consistió en mediciones de forma o morfométricas e intensidades de fluorescencia y campo oscuro para cada ROI. Esta información se analizó utilizando métodos estadísticos para clasificar cada objeto como un glóbulo rojo (positivo para CD235a, pero negativo para CD41/CD61), una plaqueta (positivo para CD41/CD61 y CD235a negativo) o una cuenta. Los descriptores de forma, como el perímetro, el diámetro y la circularidad, se usaron para calcular el volumen de cada glóbulo rojo y plaqueta. Como las perlas se agregaban a una concentración conocida, se usó la relación promedio de perlas con respecto a la células sobre todo el canal para calcular la concentración celular en términos de células/microlitro. En base a las etapas realizadas para procesar la muestra, esta concentración se corrigió por dilución para llegar a la concentración de células en la muestra de sangre completa original. Las siguientes cantidades se calcularon a partir de una muestra: 1) número de glóbulos rojos en la cubeta; 2) volumen promedio de glóbulos rojos en la cubeta; 3) ancho de distribución de glóbulos rojos (RDW) de los glóbulos rojos en la cubeta; 4) número de plaquetas en la cubeta; y 5) volumen promedio de plaquetas en la cubeta. En base a estos cálculos, se calculó lo siguiente para la muestra de sangre original.

Valor medido	Resultado	Intervalo ejemplar
Concentración de glóbulos rojos (millones de células por microlitro)	4,8	4-6
Volumen medio de glóbulos rojos, femtolitros	88	80-100
Ancho de distribución de los glóbulos rojos (RDW), (%)	12	11-14,6
Concentración de plaquetas (mil células por microlitro)	254	150-400
Volumen medio de plaquetas, femtolitros	10,4	7,5-11,5

Después de retirar la alícuota de 5 microlitros utilizada para el análisis de la información de glóbulos rojos y plaquetas, los 75 microlitros restantes de muestra se usaron para analizar la población de glóbulos blancos de la muestra de sangre completa. Los 75 microlitros restantes de sangre completa también se mezclaron al aspirar y dispensar repetidamente la muestra dentro del mismo recipiente mediante la pipeta. Aproximadamente 40 microlitros de los 75 microlitros restantes de sangre entera mezclada se aspiraron en una punta de pipeta, y se transfirieron mediante la pipeta a un tubo de centrifuga en el cartucho. El tubo de centrifuga que contenía la muestra de sangre se enganchó con la pipeta y se transfirió y depositó en un cubo oscilante en una centrifuga dentro del módulo. La centrifugadora se hizo girar para proporcionar 1200 xg durante 3 minutos, separando la sangre en plasma que contenía EDTA como el sobrenadante y las células empaquetadas en el sedimento.

Después de la centrifugación, el tubo de centrifuga se retiró de la centrifuga y se devolvió al cartucho. El sobrenadante de plasma se eliminó mediante la pipeta y se transfirió a un recipiente de reacción separado en el cartucho. Desde un recipiente de reactivo en el cartucho, la pipeta aspiró 16 microlitros de tampón de resuspensión y se añadió al sedimento celular en el tubo de centrifuga. La pipeta luego resuspendió el sedimento celular en el tampón de resuspensión aspirando y dispensando repetidamente la mezcla en el tubo de centrifuga. Luego, la pipeta aspiró 21 microlitros de sangre entera resuspendida y la agregó a otro recipiente que contenía 2 microlitros de azul anti-CD14-pacífico y DRAQ5®, se mezcló y se incubó durante 2 minutos. Luego se añadieron veinte microlitros de esta mezcla a 80 microlitros de un tampón de lisis. El tampón de lisis es una solución de un agente tensioactivo suave como una saponina junto con un fijador como el paraformaldehído. El detergente hace que se formen una gran cantidad de agujeros en las membranas de las células. Los glóbulos rojos, debido a sus propiedades únicas de membrana, son particularmente susceptibles a la formación de este agujero y se lisan por completo, y su contenido se escapa al líquido que lo rodea. La presencia del fijador previene la lisis involuntaria de los glóbulos blancos. Las plaquetas también permanecen sin lisar. El propósito de esta etapa es eliminar los glóbulos rojos de la mezcla ya que superan en número a los glóbulos blancos en aproximadamente 1000:1. Las plaquetas no interfieren con las imágenes y, por lo tanto, son irrelevantes para este proceso. El tampón de lisis también contenía perlas no fluorescentes 10 µM a una concentración conocida.

Después de una incubación de 5 minutos, el recipiente se hizo girar nuevamente a 1200 xg durante 3 minutos. El sobrenadante fue aspirado por una punta de pipeta, eliminando los restos de glóbulos rojos y otros desechos, y fue depositado en un área de residuos en el cartucho. Aproximadamente 15 microlitros de líquido con glóbulos blancos empaquetados estaban presentes en el sedimento celular.

Para determinar una aproximación grosera del número de glóbulos blancos presentes en el sedimento celular, la pipeta primero resuspendió los glóbulos blancos en el vaso y luego aspiró el líquido, lo transfirió al espectrofotómetro en la cuchilla. La suspensión de glóbulos blancos fue iluminada con luz a una longitud de onda de 632 nm, que es la longitud de onda de excitación para el tinte alexa fluor 647 y DRAQ5®. La luz emitida por la suspensión celular se filtró mediante un filtro de etapa largo de 650 nm y se midió en el espectrofotómetro. Esta medida se correlacionó con la curva de calibración generada previamente para estimar una concentración aproximada de glóbulos blancos en la suspensión celular. Típicamente, las concentraciones celulares variaron de aproximadamente 1000 células por microlitro a aproximadamente 100.000 células por microlitro. Esta estimación se usó para calcular un factor de dilución apropiado para asegurar que la concentración de células en la cubeta se restringiera dentro de un intervalo

doble alrededor de una concentración diana predefinida. El propósito de esta etapa fue asegurar que las células no estuvieran presentes a una densidad demasiado alta o demasiado baja en la cubeta. Si la densidad celular era demasiado alta, la precisión de los algoritmos de procesamiento de imágenes se veía comprometida, y si la densidad celular era demasiado baja, se procesaba como muestra un número insuficiente de células.

- 5 Basado en el factor de dilución calculado en la etapa anterior, se añadió a la suspensión celular un diluyente que contenía anticuerpos marcados contra CD45 (marcador de pan-leucocitos), CD16 (marcador de neutrófilos) y CD123 (marcador de basófilos) y se mezcló.

Una vez que la cubeta en complejo con el soporte de la cubeta se colocó en el bloque del portador de la cubeta, se cargaron 10 microlitros de la mezcla de glóbulos blancos resuspendidos en tampón de citometría en cada uno de los dos canales en la cubeta. Después de cargar la mezcla en los canales de la cubeta, la pipeta aspiró 10 µl de aceite mineral de un recipiente en el cartucho y colocó una gota de aceite mineral en ambos extremos abiertos de ambos canales en la cubeta cargada de glóbulos blancos.

15 A continuación, el aparato de manipulación de muestras a nivel de dispositivo enganchó la combinación de portador de cubeta/cubeta, y transportó la combinación de portador de cubeta/cubeta desde el módulo que contenía el cartucho al módulo de citometría del dispositivo. En el módulo de citometría, el aparato de manejo de muestras a nivel de dispositivo colocó la combinación de portador de cubeta/cubeta en la etapa de microscopía del módulo de citometría. Después de colocar el portador de cubeta/cubeta en la etapa de microscopía, se tomaron imágenes de los dos canales de la cubeta que contenía glóbulos blancos como se describió anteriormente para la mezcla de glóbulos rojos/plaquetas.

20 Las imágenes de campo oscuro de los glóbulos blancos se usaron para contar el número de células en un campo (como se muestra en la Figura 1A). Se usaron marcadores de superficie celular para determinar el tipo de célula de glóbulos blancos individuales en una imagen; por ejemplo, CD14 marca monocitos; CD123 marca basófilos; CD16 marca neutrófilos; y CD45-AF647 se usaron para marcar todos los leucocitos (Figuras 1B-1E). La tinción nuclear DRAQ5® se utilizó para marcar los núcleos celulares, y así diferenciar las células nucleadas (como los glóbulos blancos) de los glóbulos rojos maduros, que no tenían núcleo.

25 Los algoritmos de procesamiento de imágenes empleados en este documento utilizaron imágenes de fluorescencia de células para detectarlas usando una combinación de umbral adaptativo y detección de bordes. Con base en la intensidad local y los gradientes de intensidad, se crearon límites de regiones de interés (RoI) alrededor de cada célula. Usando imágenes de campo oscuro, también se identificaron cuentas en la muestra y se crearon límites de RoI alrededor de las cuentas. Se enumeraron todas las RoI en cada campo de visión y se calculó su intensidad en cada imagen de ese campo de visión. La información emitida por el algoritmo de procesamiento de imágenes consistió en mediciones de forma o morfométricas e intensidades de fluorescencia y campo oscuro para cada RoI. Esta información se analizó utilizando métodos estadísticos para clasificar cada objeto como linfocitos, monocitos, basófilos, eosinófilos, neutrófilos o cuentas. Sobre la base de la enumeración de células de diferentes tipos, el recuento de cuentas correspondiente y la relación de dilución implementada durante el procesamiento de la muestra, se calculó una concentración absoluta de células por microlitro de sangre completa original. Esto se calculó para todos los glóbulos blancos y cada subtipo, y se informó como concentración absoluta (células por microlitro) y proporción (%).

Ejemplos de imágenes y gráficos de resultados de tales mediciones se presentan en las Figs. 1, 2 y 3.

40 La Figura 1 muestra imágenes representativas de células sanguíneas de una muestra de sangre completa; estas imágenes fueron tomadas utilizando diferentes técnicas de visualización de imágenes y tintes. La imagen mostrada en la Figura 1A se tomó de células de sangre completa usando iluminación de campo oscuro. La imagen mostrada en la Figura 1B se tomó de células de sangre completa que mostraban fluorescencia de anticuerpos anti-CD14 marcados con colorante azul PAC; las células fluorescentes son monocitos. La imagen mostrada en la Figura 1C se tomó de células de sangre completa que mostraban fluorescencia de anticuerpos anti-CD123 marcados con colorante PECy5; las células fluorescentes son basófilos. La imagen mostrada en la Figura 1D se tomó de células de sangre completa que mostraban fluorescencia de anticuerpos anti-CD16 marcados con tinte PE; las células fluorescentes eran neutrófilos. La imagen mostrada en la Figura 1E se tomó de células de sangre completa que mostraban fluorescencia de anticuerpos anti-CD45 marcados con colorante AF647; todos los leucocitos emitían fluorescencia bajo estas condiciones. La imagen mostrada en la Figura 1F se tomó de células de sangre completa teñidas con DRAQ5® para teñir los núcleos celulares. Por lo tanto, los leucocitos y las plaquetas se tiñeron y emitieron fluorescencia en estas condiciones, pero los glóbulos rojos (que carecían de núcleos) ni se tiñeron ni emitieron fluorescencia.

55 La Figura 2 muestra una imagen compuesta representativa de tipos de células en sangre completa a partir de imágenes adquiridas de acuerdo con los métodos descritos en este documento. Se muestran en la Figura imágenes de un monocito (marcado y visto en el cuadrante superior izquierdo de la Figura con un centro rojizo rodeado por un anillo azul-púrpura), un linfocito (marcado y visto en el centro de la Figura con un centro rojo brillante rodeado por un anillo rojo más tenue), un eosinófilo (marcado y visto en el cuadrante inferior izquierdo de la Figura con un centro

verde rodeado por un borde rojo) y un neutrófilo (marcado y visto en el cuadrante inferior derecho de la Figura con un centro verde rodeado por un borde amarillo y verde).

5 Tiene interés identificar y cuantificar los diversos tipos de células que se encuentran en tales muestras de sangre. Puede haber múltiples formas de abordar dicho proceso de clasificación que, en algunas realizaciones, puede considerarse como un problema estadístico para la clasificación multidimensional. Se entenderá que hay una gran variedad de métodos disponibles en el campo para resolver este tipo de problemas de clasificación. A continuación se proporciona una realización particular de dicho análisis.

10 La Figura 3 muestra gráficos de varios tipos de células identificados y cuantificados por los ensayos citométricos descritos en este ejemplo. La Figura 3A muestra un gráfico de puntos (células) por la intensidad del marcador FL-17 frente a la intensidad del marcador FL-9 para identificar monocitos. La Figura 3B muestra una gráfica de puntos (células) por intensidad del marcador FL-19 versus la intensidad del marcador FL-15 para identificar basófilos. La Figura 3C muestra un gráfico de puntos (células) por la intensidad del marcador FL-15 frente a la intensidad del marcador FL-11 para identificar linfocitos. La Figura 3D muestra una gráfica de puntos (células) por la intensidad del marcador FL-15 versus la intensidad del marcador FL-9 para identificar neutrófilos y eosinófilos.

15 La identificación inicial de monocitos (9,6%, como se muestra en la Figura 3A) se usa para guiar la identificación posterior de basófilos (0,68%, como se muestra en la Figura 3B). La identificación de monocitos y basófilos como se muestra en las Figs. 3A y 3B se usa para guiar la identificación posterior de neutrófilos y eosinófilos (68% de neutrófilos, 3,2% de eosinófilos de los WBC mostrados en la Figura 3D). Finalmente, los linfocitos se identifican como se muestra en la Figura 3C (93% de los WBC trazados en la Figura 3D, correspondientes al 18% de las células en la muestra original).

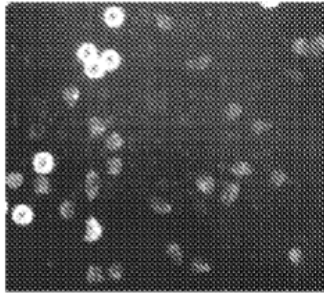
20 Los métodos actuales se correlacionan bien con otros métodos. Se hicieron recuentos de glóbulos blancos, glóbulos rojos y plaquetas con muestras de sangre completa anti-coagulada con EDTA. Los glóbulos blancos se contaron para determinar el número de neutrófilos, monocitos y linfocitos en la muestra. En las medidas mostradas en la Figura 9, las muestras de sangre completa anti-coagulada con EDTA se dividieron en dos, y una parte de las muestras se procesó en el sistema descrito en este documento, usando los métodos descritos en este documento. La otra parte de las muestras se procesó en un sistema CELL-DYN Ruby de Abbott (Abbott Diagnostics, Lake Forest, Ill., EE.UU.), un analizador de hematología automatizado multiparamétrico comercial. Una comparación de los resultados obtenidos con ambos métodos se muestra en la Figura 4.

30 Como se muestra en las Figs. 4A-4C, los números de glóbulos blancos ("WBC", Figura 4A), glóbulos rojos ("RBC", Figura 4B) y plaquetas (Figura 4C) medidos por los presentes métodos se correlacionan bien con los números de WBC, RBC y plaquetas medidos por otros métodos en partes alícuotas correspondientes de las mismas muestras que fueron analizadas por los métodos actuales. Como se muestra en las Figs. 4D-4F, los números de neutrófilos, monocitos y linfocitos medidos por cualquiera de los métodos fueron muy similares y se correlacionaron bien entre sí.

35

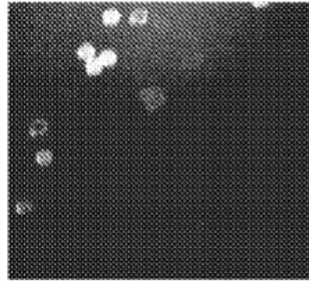
REIVINDICACIONES

1. Un método para analizar una muestra biológica de un paciente en un dispositivo de procesamiento de muestras que tiene una carcasa, que comprende:
- 5 realizar un ensayo inicial en dicha cámara de dicho dispositivo para determinar un analito en una porción de dicha muestra biológica, en el que dicho dispositivo de procesamiento de muestra comprende una pipeta y aloja un cartucho mediante el cual se obtiene un resultado inicial, en el que dicho ensayo inicial puede proporcionar un resultado negativo, indicando que la presencia de dicho analito no se detecta, o se detecta a un nivel normal en la porción de muestra biológica, o puede proporcionar un resultado positivo que indique que la presencia del analito se detecta o que se detecta a un nivel anormal en la muestra biológica y
- 10 determinar otras pruebas supeditadas a dicho resultado inicial, en el que si el resultado inicial es negativo, entonces no se realiza ningún otro ensayo; y en el que si el resultado inicial es positivo, entonces se realiza un otro ensayo en dicho dispositivo en otra porción de dicha muestra biológica;
- 15 en donde el ensayo inicial y el otro ensayo se realizan en porciones de la misma muestra, en donde dicha otra porción sobre la cual se realiza el otro ensayo se obtiene antes de que se obtengan los resultados del ensayo inicial, y se retiene suficiente muestra en reserva en dicho dispositivo de procesamiento de muestras, en el que el cartucho está precargado con los reactivos requeridos por el ensayo inicial, y también está precargado con reactivos necesarios para el otro ensayo.
2. El método de la reivindicación 1, en el que dicho otro ensayo comprende un ensayo de un tipo seleccionado del grupo de tipos de ensayo que consisten en ensayos basados en anticuerpos, ensayos de ácido nucleico, ensayos de química general y ensayos citométricos.
- 20 3. El método de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que dicho otro ensayo comprende un tipo diferente de ensayo al de dicho ensayo inicial.
4. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el analito a ser detectado por dicho otro ensayo comprende un analito diferente al analito detectado por dicho ensayo inicial, o en el que el ensayo inicial comprende la medición de un analito, y dicho otro ensayo comprende un ensayo citométrico.
- 25 5. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que dicho ensayo inicial comprende el uso de un detector para obtener dicho resultado inicial, en el que dicho detector se selecciona de un detector óptico, un detector de pH, un detector electroquímico, un sensor de temperatura, un electrodo sensible a iones y un detector de radiación.
- 30 6. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que dicha muestra biológica comprende una muestra seleccionada de sangre, suero, plasma, un hisopo de garganta, un hisopo nasal, un lavado nasofaríngeo, saliva, orina, líquido gástrico, líquido cefalorraquídeo, lágrimas, heces, moco, sudor, cerumen, aceite, secreción glandular, semen, fluido vaginal, fluidos intersticiales derivados de tejido tumoral, fluidos oculares, aliento, cabello, uñas, piel, tejido de biopsia, líquido placentario, líquido amniótico, sangre de cordón umbilical, fluidos linfáticos, fluidos de la
- 35 cavidad, esputo, pus, microbiota, meconio, leche materna y otras secreciones o excreciones.
7. El método de la reivindicación 1, en el que dicho otro ensayo se realiza dentro de un corto período de tiempo desde el momento en que la segunda porción de muestra biológica probada por dicho otro ensayo es aceptada dentro de dicho dispositivo.
- 40 8. El método de la reivindicación 1, en el que al menos una de dichas porciones de dicha muestra biológica es una porción diluida de la muestra biológica.
9. El método de la reivindicación 7, en el que dicha cantidad corta de tiempo se selecciona del grupo de cantidades de tiempo cortas que consisten en 3 horas o menos; 2 horas o menos; 1 hora o menos; 50 minutos o menos; 45 minutos o menos; 40 minutos o menos; 35 minutos o menos; 30 minutos o menos; 25 minutos o menos; 20 minutos o menos; 15 minutos o menos; 10 minutos o menos; 5 minutos o menos; 4 minutos o menos; 3 minutos o menos; 2
- 45 minutos o menos; y 1 minuto o menos.



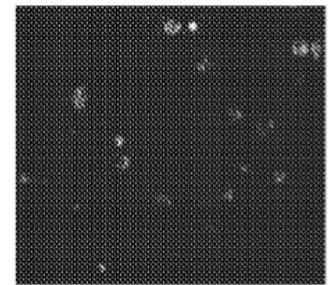
Distribución

1A



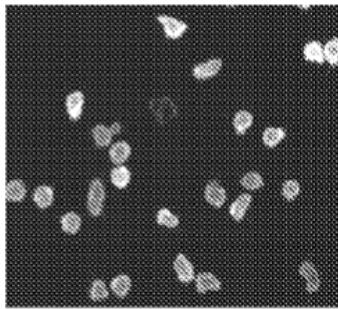
CD14 Pac Blue para monocitos

1B



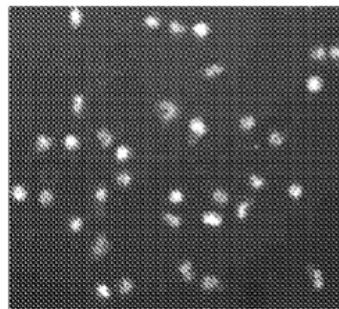
CD123 PECy5 para basófilos

1C



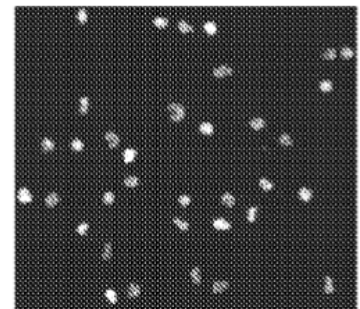
CD16 PE para neutrófilos

1D



CD45-AF647 para todos los leucocitos

1E



DRAQ5® como colorante nuclear

1F

Fig. 1

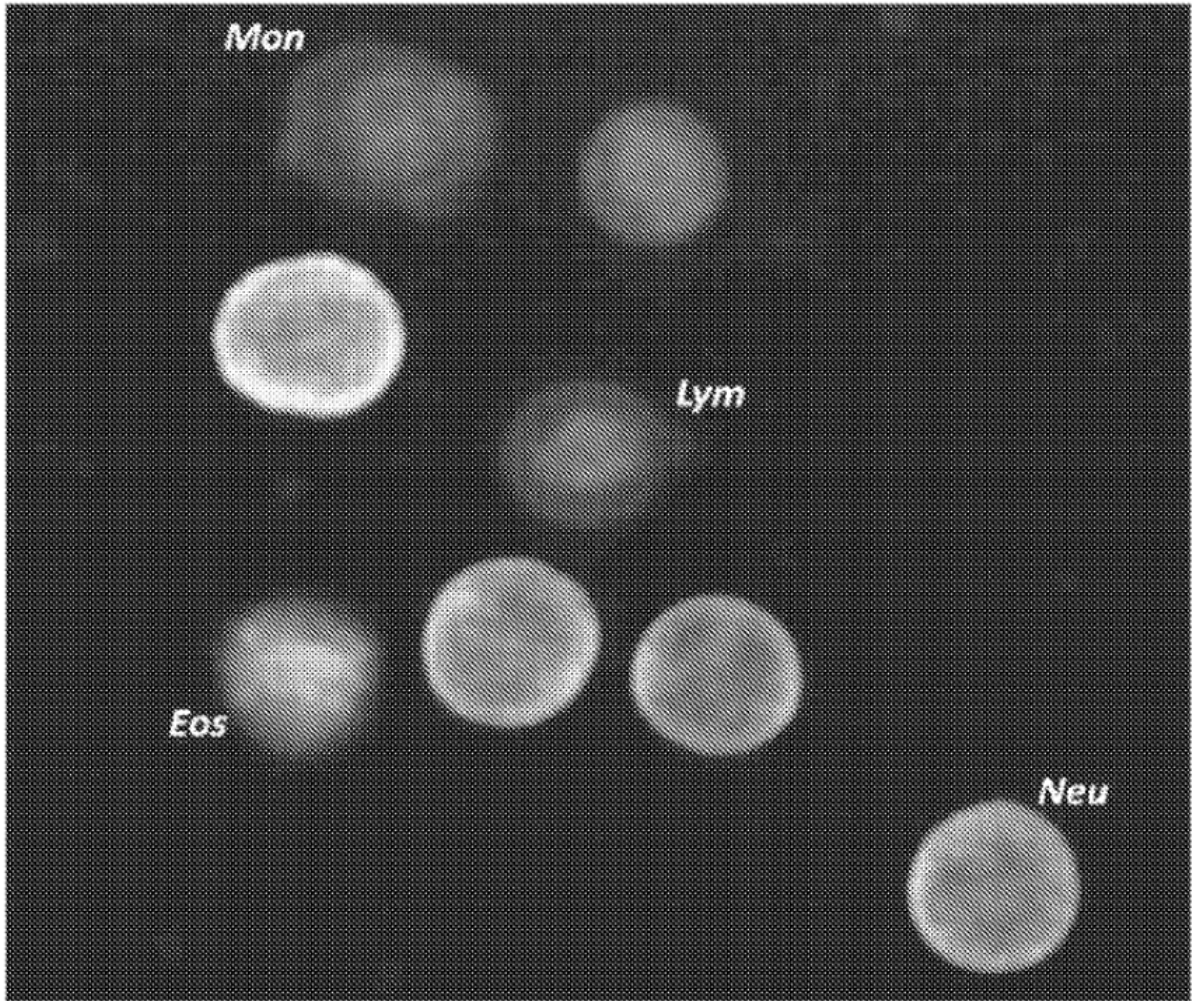
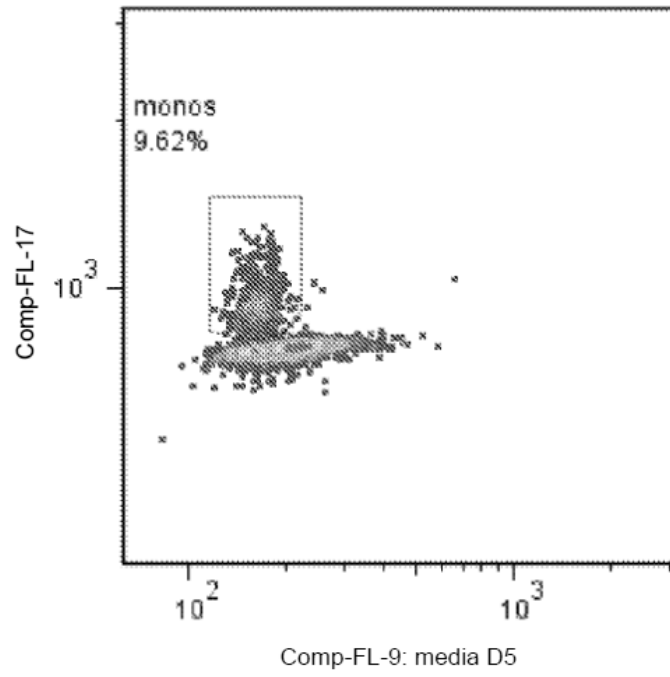
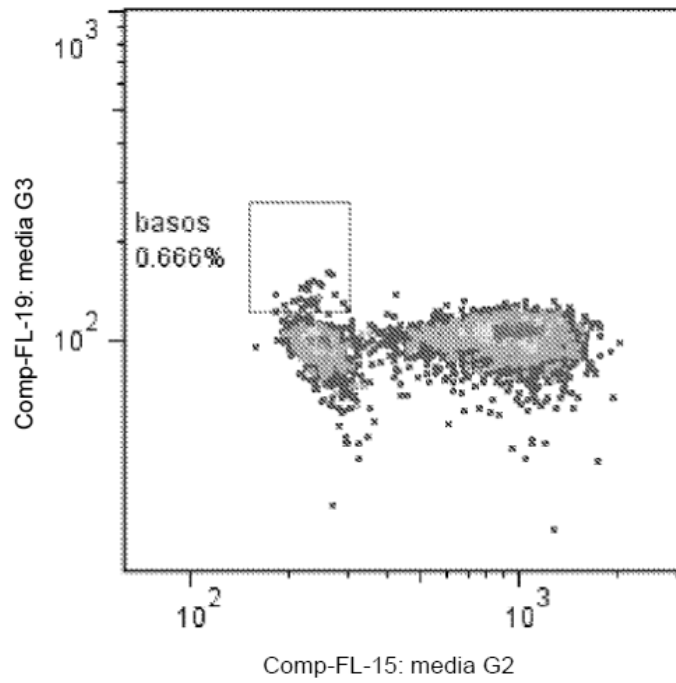


Fig. 2



3A



3B

Fig. 3

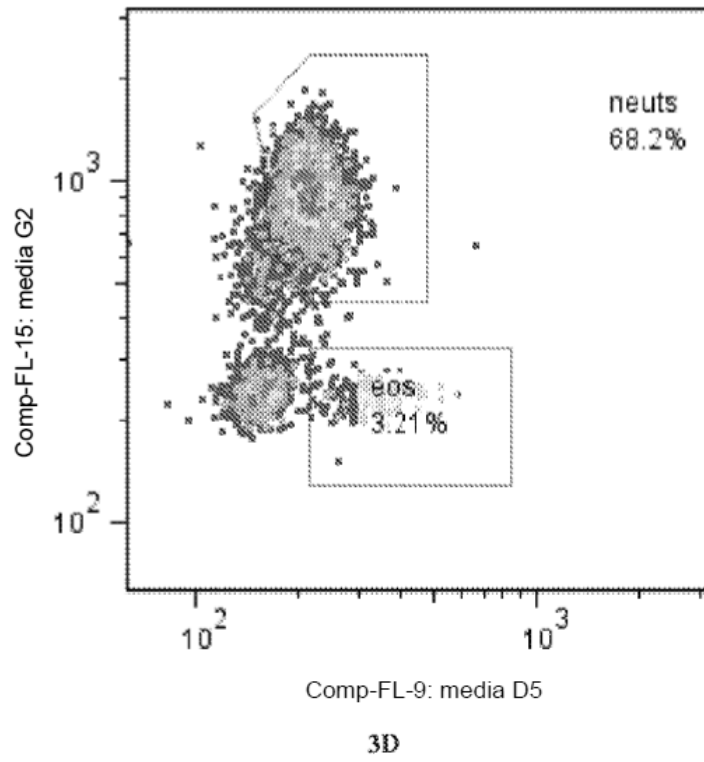
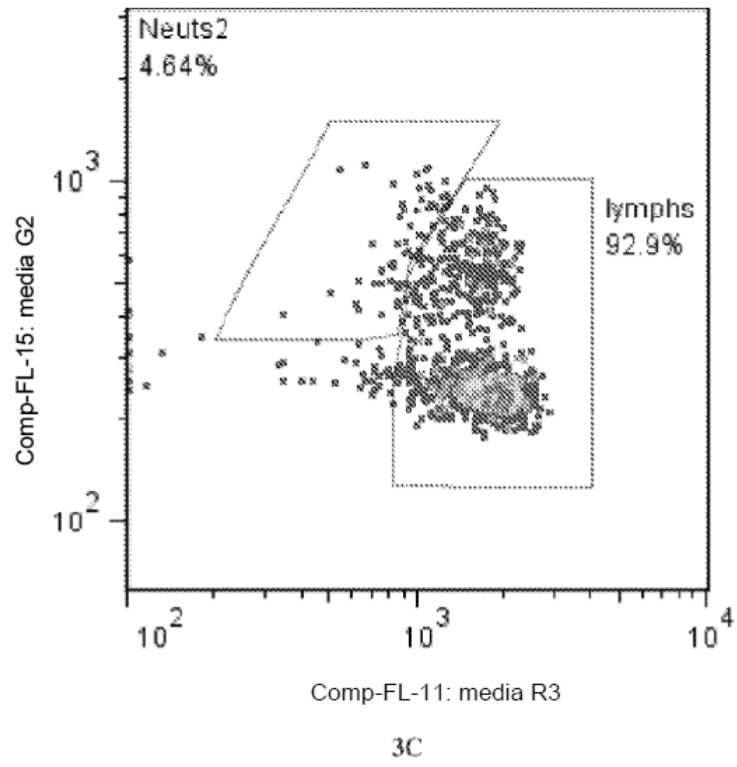
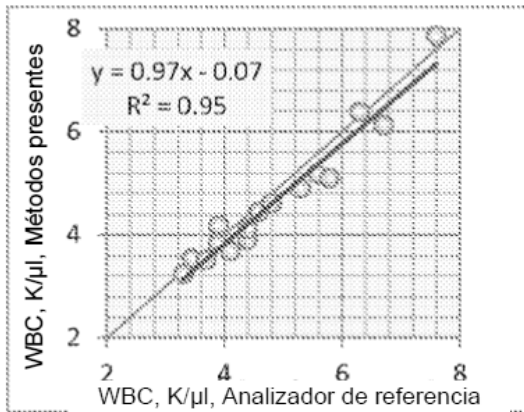
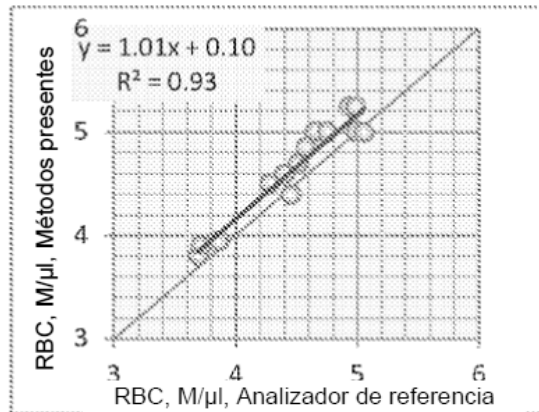


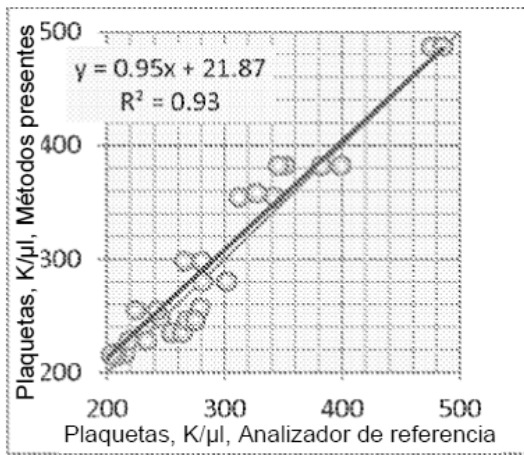
Fig.3 Con't



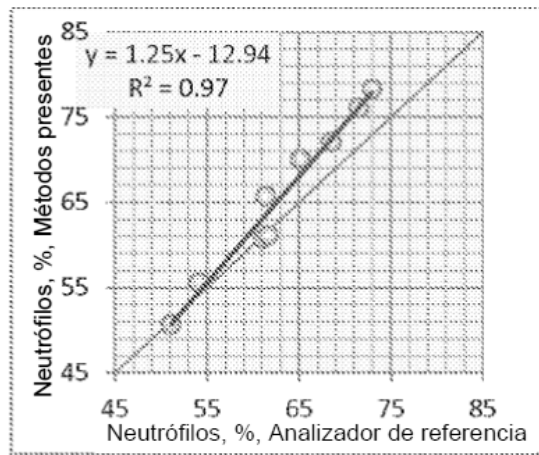
4A



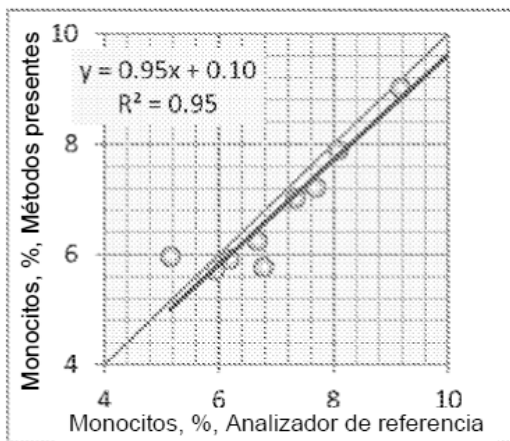
4B



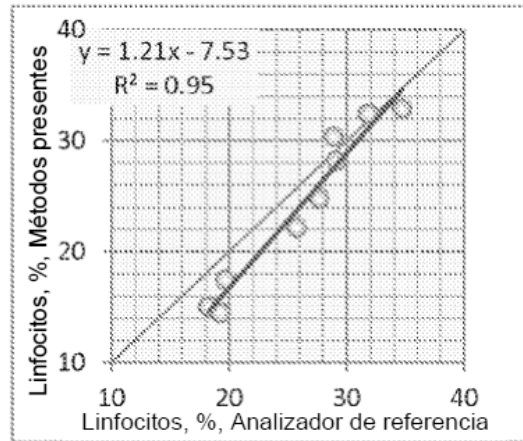
4C



4D



4E



4F

Fig. 4