

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 985 533**

51 Int. Cl.:

G01N 15/14 (2014.01)

G01N 15/10 (2014.01)

G01N 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.04.2019 PCT/US2019/028512**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.10.2019 WO19209714**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.04.2019 E 19793159 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.06.2024 EP 3785015**

54 Título: **Citómetros de flujo que tienen clasificadores de gotículas incluidos con contenido de aerosol controlado y métodos para usar los mismos**

30 Prioridad:
27.04.2018 US 201862663936 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
06.11.2024

73 Titular/es:
**BECTON, DICKINSON AND COMPANY (100.0%)
1 Becton Drive, MC110
Franklin Lakes, New Jersey 07417, US**

72 Inventor/es:
**NORTON, PIERCE;
DEMBSKI, KYLE y
LANKILA, HENRY**

74 Agente/Representante:
SUGRAÑES, S.L.P.

ES 2 985 533 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

Citómetros de flujo que tienen clasificadores de gotículas incluidos con contenido de aerosol controlado y métodos para usar los mismos

5

REFERENCIA CRUZADA CON UNA SOLICITUD RELACIONADA

[0001] Esta solicitud reivindica prioridad a la fecha de presentación de la solicitud de patente provisional de Estados Unidos con número de serie 62/663 936, presentada el 27 de abril de 2018.

10

INTRODUCCIÓN

[0002] Los sistemas de clasificación de partículas de tipo flujo, tales como citómetros de flujo de clasificación, se usan para clasificar partículas en una muestra de fluido basándose en al menos una característica medida de las partículas. En un sistema de clasificación de partículas de tipo flujo, las partículas, tales como moléculas, perlas unidas a analitos o células individuales, en una suspensión fluida, pasan en una corriente por una región de detección en la que un sensor detecta partículas contenidas en la corriente del tipo que se va a clasificar. El sensor, al detectar una partícula del tipo que se va a clasificar, desencadena un mecanismo de clasificación que aísla selectivamente la partícula de interés.

15

20

[0003] La detección de partículas normalmente se lleva a cabo pasando la corriente de fluido por una región de detección en la que las partículas se exponen a la luz que se irradia, desde uno o más láseres, y se miden las propiedades de dispersión de luz y fluorescencia de las partículas. Las partículas o componentes de las mismas pueden etiquetarse con tintes fluorescentes para facilitar la detección y pueden detectarse simultáneamente múltiples partículas o componentes diferentes usando tintes fluorescentes espectralmente distintos para etiquetar las diferentes partículas o componentes. La detección se lleva a cabo usando uno o más fotosensores para facilitar la medición independiente de la fluorescencia de cada tinte fluorescente distinto.

25

[0004] Un tipo de sistema de clasificación de partículas de tipo flujo es el tipo de clasificación electrostática. En un clasificador electrostático, una suspensión fluida se expulsa en chorro desde una boquilla y se hace vibrar para romper la corriente en gotas discretas uniformes. El mecanismo de clasificación incluye un medio de carga de gotas conectado a la corriente para cargar gotas que contengan una partícula del tipo que se va a clasificar con una carga eléctrica a medida que se desprenden de la corriente en chorro. La corriente de gotas pasa a través de un campo electrostático transversal establecido por un par de placas deflectoras de carga opuesta. Las gotas cargadas que contienen una partícula del tipo que se va a clasificar se desvían en una dirección y en una cantidad relacionada con la polaridad y la magnitud de la carga de las gotas y se recogen en distintos receptáculos de recogida. Las gotas no cargadas no se desvían pasando a través del campo electrostático y son recogidas por un receptáculo central.

30

35

Los documentos de referencia US 2017/299493 A1, US 4284496 A, US 5776781 A, WO 2017/191824 A1, US 2015/050638 A1, US 2009/127167 A1, EP 1044262 A1, WO 2015/053393 A1 y US 2018/045636 A1 divulgan un citómetro de flujo o una materia relacionada con el citómetro de flujo.

40

SUMARIO

[0005] Se proporcionan citómetros de flujo que tienen un módulo de clasificación de partículas incluido. Los aspectos de los citómetros de flujo incluyen, además de los módulos de clasificación de partículas incluidos, un módulo de entrada de muestra acoplado de manera fluidica a una entrada del módulo de clasificación de partículas incluido, un depósito de desechos acoplado de manera fluidica a la primera salida del módulo de clasificación de partículas incluido un flujo cerrado de gas de recirculación entre la cámaras de clasificación y el depósito de desechos y un primer sistema de recogida de partículas clasificadas acoplado de manera fluidica a una segunda salida del módulo de clasificación de partículas incluido. Los citómetros de flujo como se describen en el presente documento están configurados para controlar el contenido de aerosoles en los módulos de clasificación de partículas cerrados, incluyendo las cámaras de clasificación de tales módulos. También se proporcionan métodos de uso de los citómetros de flujo, así como kits que no forman parte de la invención reivindicada que incluyen uno o más componentes de los citómetros de flujo son consumibles para su uso con los mismos.

45

50

55

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

[0006] La invención puede entenderse mejor a partir de la siguiente descripción detallada cuando se lee junto con los dibujos adjuntos. En los dibujos se incluyen las siguientes figuras:

60

La **figura 1** proporciona una ilustración de un módulo de clasificación de partículas incluido de acuerdo con una realización de la invención.

La **figura 2** proporciona una ilustración de un sistema de citómetro de flujo al que puede acoplarse un módulo de clasificación de partículas incluido como se ilustra en la figura 1 para hacer un clasificador celular de citómetro de flujo estéril, de acuerdo con una realización de la invención.

65

La **figura 3** proporciona una ilustración esquemática de un clasificador celular de citómetro de flujo de acuerdo con

una realización de la invención.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

5 **[0007]** Se proporcionan citómetros de flujo que tienen un módulo de clasificación de partículas incluido. Los aspectos de los citómetros de flujo incluyen, además de los módulos de clasificación de partículas incluidos, un módulo de entrada de muestra acoplado de manera fluidica a una entrada del módulo de clasificación de partículas incluido, un depósito de desechos acoplado de manera fluidica a la primera salida del módulo de clasificación de partículas incluido, un flujo cerrado de gas de recirculación entre la cámaras de clasificación y el depósito de desechos y un primer sistema de recogida de partículas clasificadas acoplado de manera fluidica a una segunda salida del módulo de clasificación de partículas incluido. Los citómetros de flujo como se describen en el presente documento están configurados para controlar el contenido de aerosoles en los módulos de clasificación de partículas cerrados, incluyendo las cámaras de clasificación de tales módulos. También se proporcionan métodos de uso de los citómetros de flujo, así como kits que incluyen uno o más componentes de los citómetros de flujo son consumibles para su uso con los mismos.

10 **[0008]** Antes de describir la presente invención con más detalle, debe entenderse que la presente invención no está limitada a realizaciones particulares descritas, en este sentido puede, evidentemente, variar. También se debe entender que la terminología usada en el presente documento tiene el fin de describir únicamente realizaciones particulares y no pretende ser limitante, puesto que el alcance de la presente invención estará limitado únicamente por las reivindicaciones adjuntas.

15 **[0009]** Cuando se proporciona un intervalo de valores, se entiende que cada valor intermedio, a la décima parte de la unidad del límite inferior, a menos que el contexto indique claramente lo contrario, entre el límite superior e inferior de ese intervalo y cualquier otro valor indicado o intermedio en ese intervalo indicado, se engloba dentro de la invención. Los límites superior e inferior de estos intervalos más pequeños pueden incluirse independientemente en los intervalos más pequeños y también se engloban dentro de la invención, sujetos a cualquier límite específicamente excluido en el intervalo indicado. Cuando el intervalo indicado incluye uno o ambos límites, los intervalos que excluyen cualquiera o ambos de los límites incluidos también se incluyen en la invención.

20 **[0010]** Ciertos intervalos se presentan en el presente documento con valores numéricos precedidos por el término "aproximadamente". El término "aproximadamente" se usa en el presente documento para proporcionar soporte literal para el número exacto que precede, así como un número que está cerca de o es aproximadamente el número al que precede el término. Al determinar si un número está cerca de o es aproximadamente un número específicamente mencionado, el número no mencionado cercano o aproximado puede ser un número que, en el contexto en el que se presenta, proporciona el equivalente sustancial del número mencionado específicamente.

25 **[0011]** A menos que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que el que comúnmente entendería un experto habitual en la materia a la que pertenece esta invención. Aunque en la puesta en práctica o puesta a prueba de la presente invención también se puede usar cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en el presente documento, ahora se describen métodos y materiales ilustrativos representativos.

30 **[0012]** Se observa que, como se usan en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un", "una" y "el/la" incluyen referencias en plural a no ser que el contexto lo defina claramente de otra forma. Se observa además que las reivindicaciones se pueden redactar para excluir cualquier elemento opcional. En este sentido, se pretende que esta declaración sirva como base previa para el uso de tal terminología exclusiva como "únicamente", "solo" y similares en relación con la mención de elementos de la reivindicación o el uso de una limitación "negativa".

35 **[0013]** Como será evidente para los expertos en la materia tras leer esta divulgación, cada una de las realizaciones individuales descritas e ilustradas en el presente documento tiene componentes y características discretos que pueden separarse fácilmente de o combinarse con las características de cualquiera de las otras diversas realizaciones sin desviarse del alcance de la presente invención. Cualquier método mencionado puede llevarse a cabo en el orden de los eventos mencionados o en cualquier otro orden que sea lógicamente posible.

40 **[0014]** Si bien el aparato y el método se han descrito o se describirán por el bien de la fluidez gramatical con explicaciones funcionales, debe entenderse expresamente que las reivindicaciones no deben interpretarse como necesariamente limitadas de ninguna manera por la construcción de limitaciones de "medios" o "etapas", sino que se les debe conceder el alcance completo del significado y los equivalentes de la definición proporcionada por las reivindicaciones bajo la doctrina judicial de los equivalentes.

CITÓMETROS DE FLUJO

45 **[0015]** Como se revisó anteriormente, se proporcionan citómetros de flujo que tienen módulos de clasificación de partículas cerrados. Los citómetros de flujo como se describen en el presente documento incluyen sistemas de

citómetro de flujo y módulos de clasificación de partículas incluidos que pueden acoplarse operativamente a los mismos. En algunos casos, los sistemas de citómetro de flujo y los módulos de clasificación de partículas incluidos están configurados de modo que el módulo de clasificación de partículas incluido puede acoplarse fácilmente de manera operativa y retirarse del sistema de citómetro de flujo. Cada uno de estos componentes de los citómetros de flujo de la invención se describe en detalle más adelante.

[0016] Los aspectos de los citómetros de flujo es que están configurados para controlar el contenido de aerosol en los módulos de clasificación de partículas incluidos, tal como en las cámaras de clasificación de los mismos. Los inventores han descubierto que en módulos de clasificación de partículas incluidos, tales como los de los presentes citómetros de flujo, tienden a formarse aerosoles en las cámaras de clasificación que pueden causar problemas con respecto a la funcionalidad de los módulos de clasificación, p. ej., formación de arcos en las placas deflectoras, contaminación líquida de componentes sensibles, etc. Las realizaciones de la invención solucionan estos problemas controlando el contenido de aerosol en los módulos de clasificación de partículas incluidos, tal como en las cámaras de clasificación de los módulos de clasificación de partículas incluidos. En algunos casos, controlar el contenido de aerosol significa que la cantidad de gotículas de aerosol, si existe, en la cámara de clasificación es menor de lo que daría lugar a uno o más de los problemas analizados anteriormente, p. ej., formación de arcos. En algunos casos, el contenido de aerosol se controla de modo que no exceda una cantidad detectable. El contenido de aerosol se controla en los citómetros de flujo de la invención usando uno o más enfoques distintos, p. ej., como se describe en mayor detalle más adelante.

MÓDULOS DE CLASIFICACIÓN DE PARTÍCULAS CERRADOS

[0017] Como se ha indicado anteriormente, los citómetros de flujo de la invención incluyen módulos de clasificación de partículas incluidos para clasificar componentes de una muestra líquida, tales como células en una muestra biológica. El término "clasificación" se usa en el presente documento en su sentido convencional para referirse a componentes de separación (por ejemplo, células, partículas no celulares tales como macromoléculas biológicas) de la muestra y, en algunos casos, como se describe a continuación, entregar los componentes separados a una ubicación de recepción, p. ej., de un recipiente o sistema de recogida, tal como se describe a continuación con mayor detalle. Por ejemplo, los módulos de clasificación de partículas en cuestión pueden configurarse para clasificar un único componente de los constituyentes restantes de una muestra o para clasificar muestras que tienen 2 o más componentes, tal como 3 o más componentes, tal como 4 o más componentes, tal como 5 o más componentes, tal como 10 o más componentes, tal como 15 o más componentes e incluyendo clasificar una muestra que tiene 25 o más componentes. Uno o más de los componentes de la muestra puede separarse de la muestra y suministrarse a un recipiente, tal como 2 o más componentes de muestra, tal como 3 o más componentes de muestra, tal como 4 o más componentes de muestra, tal como 5 o más componentes de muestra, tal como 10 o más componentes de muestra e incluyendo 15 o más componentes de muestra pueden separarse de la muestra y suministrarse a un recipiente en la ubicación de recepción.

[0018] En realizaciones, los módulos de clasificación de partículas incluyen un alojamiento cerrado que tiene un alineador para acoplar el alojamiento con un sistema de clasificación de partículas, una boquilla de la celda de flujo colocada en el extremo proximal del alojamiento, una región de interrogación de la muestra en comunicación de fluidos con el orificio de la boquilla de la celda de flujo y un deflector de gotículas. El término "cerrado" significa que cada componente del módulo de clasificación de partículas está completamente contenido dentro del alojamiento y los componentes están sellados o aislados del entorno ambiental. En otras palabras, los componentes dentro del alojamiento cerrado no están expuestos o no tienen contacto con el entorno exterior. En algunas realizaciones, los componentes contenidos dentro del alojamiento están aislados del entorno gaseoso del entorno ambiental (es decir, no están expuestos a los gases fuera del alojamiento). En otras realizaciones, los componentes contenidos dentro del alojamiento están aislados del entorno fluido del entorno ambiental (es decir, no están expuestos a ningún fluido presente fuera del alojamiento). En otras realizaciones adicionales, los componentes contenidos dentro del alojamiento son estériles y están aislados de bacterias vivas u otros microorganismos que están presentes en el entorno ambiental (es decir, estéril).

[0019] Los módulos de clasificación de partículas de interés están configurados para acoplarse a un sistema de clasificación de partículas de un citómetro de flujo donde se produce una corriente de gotículas en el módulo de clasificación de partículas y se pasa sustancialmente una cada vez a través de una región de interrogación de la muestra donde se detectan e identifican las partículas. Los deflectores de gotículas se colocan aguas abajo de la región de interrogación de la muestra, p. ej., en una cámara de clasificación, y están configurados para desviar las gotículas analizadas a través de diferentes salidas, p. ej., a través de una primera salida acoplada a un depósito de desechos o una segunda salida acoplada a un receptor de partículas clasificadas, p. ej., un recipiente o un sistema de recogida de partículas clasificadas, tal como se describe en mayor detalle más adelante.

[0020] Los módulos de clasificación de partículas pueden incluir un alojamiento cerrado que tiene un alineador para acoplar el alojamiento con un sistema de clasificación de partículas de un citómetro de flujo, una boquilla de la celda de flujo colocada en el extremo proximal del alojamiento, una región de interrogación de la muestra en comunicación de fluidos con el orificio de la boquilla de la celda de flujo y un deflector de gotículas, p. ej., en una cámara de clasificación del módulo. En algunos casos, el alojamiento tiene un extremo distal y un extremo proximal con paredes

entre ellos que juntas forman una cámara interior. En realizaciones, una o más de las paredes exteriores del alojamiento tienen alineadores para acoplar el alojamiento a un sistema de clasificación de partículas de un citómetro de flujo. Por ejemplo, el alojamiento puede tener 2 o más paredes que tienen alineadores para acoplar el alojamiento a un sistema de clasificación de partículas, tal como 3 o más paredes e incluyendo 4 o más paredes que tienen

5 alineadores. En determinadas realizaciones, el alojamiento tiene una pared que tiene alineadores para acoplar el alojamiento a un sistema de clasificación de partículas. Cada pared que tiene un alineador puede incluir 1 o más alineadores, tal como 2 o más alineadores, tal como 3 o más alineadores, tal como 4 o más alineadores, tal como 5 o más alineadores, tal como 7 o más alineadores e incluyendo 10 o más alineadores. En determinadas realizaciones, el dispositivo de clasificación de partículas incluye una pared exterior con 3 alineadores.

10 **[0021]** Se puede emplear cualquier tipo adecuado de alineador, tal como un saliente de alineación, un riel de alineación, una muesca de alineación, una hendidura de alineación, una ranura de alineación, un avellanado de alineación, un contraorificio de alineación, un rebaje de alineación, un orificio de alineación o una combinación de los mismos. Por ejemplo, en algunos casos, una pared exterior del alojamiento incluye uno o más salientes, tal como un pasador, una espiga o una protuberancia. En determinadas realizaciones, el alineador es un pasador, tal como un pasador con punta de bola. En otros casos, una pared exterior del alojamiento incluye uno o más rebajes, tales como un agujero o una muesca. En determinados casos, una pared exterior del alojamiento incluye uno o más salientes de alineación y uno o más rebajes de alineación. Detalles adicionales con respecto a alineadores y módulos de clasificación de partículas incluidos que incluyen los mismos se describen en la solicitud de Estados Unidos con

15 número de serie 15/472 020 publicada como US 2017-0299493.

20 **[0022]** En algunas realizaciones, la pared exterior del alojamiento de los módulos de clasificación de partículas incluye una o más conexiones eléctricas configuradas para conectividad eléctrica entre el módulo de clasificación de partículas y el sistema de clasificación de partículas. Por ejemplo, el alojamiento exterior puede incluir 2 o más conexiones eléctricas, tal como 3 o más conexiones eléctricas, tal como 4 o más conexiones eléctricas, tal como 5 o más conexiones eléctricas e incluyendo 10 o más conexiones eléctricas. La conexión eléctrica, en algunas realizaciones, proporciona energía a las placas deflectoras de gotículas. Se puede emplear cualquier conexión eléctrica conveniente, tal como clavijas conductoras, adaptadores, cables o bobinas que sobresalen o estén rebajados en las paredes exteriores del alojamiento. En determinadas realizaciones, los módulos de clasificación de partículas de interés incluyen 5 o más clavijas eléctricas. Detalles adicionales con respecto a conexiones eléctricas y módulos de clasificación de partículas incluidos que incluyen los mismos se describen en la solicitud de Estados Unidos con

25 número de serie 15/472 020 publicada como US 2017-0299493.

30 **[0023]** El tamaño del alojamiento del módulo de clasificación de partículas puede variar con una longitud que oscila de 10 cm a 100 cm, tal como de 15 cm a 95 cm, tal como de 20 cm a 90 cm, tal como de 25 cm a 85 cm, tal como de 30 cm a 80 cm, tal como de 35 cm a 75 cm e incluyendo de 40 cm a 60 cm. La anchura del alojamiento del módulo de clasificación de partículas puede oscilar de 1 cm a 25 cm, tal como de 2 cm a 20 cm, tal como de 3 cm a 15 cm e incluyendo de 5 cm a 10 cm.

35 **[0024]** El alojamiento puede formarse a partir de cualquier material adecuado que sea compatible con una muestra fluídica (por ejemplo, muestra biológica), incluyendo metal, vidrio (por ejemplo, vidrio Pyrex, vidrio de borosilicato), cerámica o plástico. En determinadas realizaciones, el alojamiento del módulo de clasificación de partículas está formado a partir de un plástico, tal como un plástico rígido, material polimérico o termoplástico. Por ejemplo, los plásticos adecuados pueden incluir, pero no se limitan a, policarbonatos, cloruro de polivinilo (PVC), poliuretanos, poliéteres, poliamidas, poliimididas o copolímeros de estos termoplásticos, tal como PETG (tereftalato de polietileno modificado con glicol), entre otros materiales plásticos poliméricos. En determinadas realizaciones, el alojamiento del módulo de clasificación de partículas está formado a partir de un poliéster, donde los poliésteres de interés pueden incluir, pero no se limitan a poli(tereftalatos de alquileno), tales como poli(tereftalato de etileno) (PET), PET de calidad para botellas (un copolímero elaborado a base de monoetilenglicol, ácido tereftálico y otros comonomeros, tales como ácido isoftálico, ciclohexano dimetanol, etc.), poli(tereftalato de butileno) (PBT) y poli(tereftalato de hexametileno); poli(adipatos de alquileno), tal como poli(adipato de etileno), poli(adipato de 1,4-butileno) y poli(adipato de hexametileno); poli(suberatos de alquileno), tal como poli(suberato de etileno); poli(sebacatos de alquileno), tal como poli(sebacato de etileno); poli(ϵ -caprolactona) y poli(β -propiolactona); poli(isoftalatos de alquileno), tal como poli(isoftalato de etileno); poli(2,6-naftalendicarboxilatos de alquileno), tal como poli(2,6-naftalendicarboxilato de etileno); poli(alquilensulfonil-4,4'-dibenzoatos), tal como poli(etilensulfonil-4,4'-dibenzoato); poli(p-fenilendicarboxilatos de alquileno), tal como poli(p-fenilendicarboxilatos de etileno); poli(trans-1,4-ciclohexanodiolalquilendicarboxilatos), tal como poli(trans-1,4-ciclohexanodiolalquilendicarboxilato); poli(dicarboxilatos de 1,4-ciclohexano-dimetileno-alquileno), tal como poli(dicarboxilato de 1,4-ciclohexano-dimetileno-etileno); poli([2.2.2]-bicyclooctano-1,4-dimetileno alquilendicarboxilatos), tal como poli([2.2.2]-bicyclooctano-1,4-dimetileno etilendicarboxilato); polímeros y copolímeros de ácido láctico, tales como (S)-polilactida, (R,S)-polilactida, poli(tetrametilglicolida) y poli(lactida-co-glicolida); y policarbonatos de bisfenol A, 3,3'-dimetilbisfenol A, 3,3',5,5'-tetraclorobisfenol A, 3,3',5,5'-tetrametilbisfenol A; poliamidas tales como poli(p-fenileno tereftalamida); poliésteres, p. ej., poli(tereftalatos de etileno), p. ej., Mylar™ poli(tereftalato de etileno); etc.

40

45

50

55

60

65 **[0025]** Como se ha resumido anteriormente, el módulo de clasificación de partículas incluido incluye una boquilla de la celda de flujo que tiene un orificio colocado en el extremo proximal del alojamiento. Se puede emplear cualquier

boquilla de la celda de flujo conveniente que propague una muestra fluidica a una región de interrogación de la muestra, donde, en algunas realizaciones, la boquilla de la celda de flujo incluye una parte cilíndrica proximal que define un eje longitudinal y una parte troncocónica distal que termina en una superficie plana que tiene el orificio de boquilla que es transversal al eje longitudinal. La longitud de la parte cilíndrica proximal (medida a lo largo del eje longitudinal) puede variar oscilando de 1 mm a 15 mm, tal como de 1,5 mm a 12,5 mm, tal como de 2 mm a 10 mm, tal como de 3 mm a 9 mm e incluyendo de 4 mm a 8 mm. La longitud de la parte troncocónica distal (medida a lo largo del eje longitudinal) también puede variar, variando de 1 mm a 10 mm, tal como de 2 mm a 9 mm, tal como de 3 mm a 8 mm e incluyendo de 4 mm a 7 mm. El diámetro de la cámara de boquilla de la celda de flujo puede variar, en algunas realizaciones, variando de 1 mm a 10 mm, tal como de 2 mm a 9 mm, tal como de 3 mm a 8 mm e incluyendo de 4 mm a 7 mm.

[0026] En determinados casos, la cámara de boquilla no incluye una parte cilíndrica y toda la cámara de boquilla de la celda de flujo tiene forma troncocónica. En estas realizaciones, la longitud de la cámara de boquilla troncocónica (medida a lo largo del eje longitudinal transversal al orificio de boquilla), puede oscilar de 1 mm a 15 mm, tal como de 1,5 mm a 12,5 mm, tal como de 2 mm a 10 mm, tal como de 3 mm a 9 mm e incluyendo de 4 mm a 8 mm. El diámetro de la parte proximal de la cámara de boquilla troncocónica puede oscilar de 1 mm a 10 mm, tal como de 2 mm a 9 mm, tal como de 3 mm a 8 mm e incluyendo de 4 mm a 7 mm.

[0027] En realizaciones, la corriente de flujo de muestra emana de un orificio en el extremo distal de la boquilla de la celda de flujo. Dependiendo de las características deseadas de la corriente de flujo, el orificio de boquilla de la celda de flujo puede tener cualquier forma adecuada donde las formas de sección transversal de interés incluyen, pero sin limitación: formas de sección transversal rectilíneas, p. ej., cuadrados, rectángulos, trapezoides, triángulos, hexágonos, etc., formas de sección transversal curvilíneas, p. ej., círculos, óvalos, así como formas irregulares, p. ej., una parte inferior parabólica acoplada a una parte superior plana. En determinadas realizaciones, la boquilla de la celda de flujo de interés tiene un orificio circular. El tamaño del orificio de la boquilla puede variar, en algunas realizaciones, oscilando de 1 µm a 20 000 µm, tal como de 2 µm a 17 500 µm, tal como de 5 µm a 15 000 µm, tal como de 10 µm a 12 500 µm, tal como de 15 µm a 10 000 µm, tal como de 25 µm a 7500 µm, tal como de 50 µm a 5000 µm, tal como de 75 µm a 1000 µm, tal como de 100 µm a 750 µm e incluyendo de 150 µm a 500 µm. En determinadas realizaciones, el orificio de la boquilla es de 100 µm.

[0028] En algunas realizaciones, la boquilla de la celda de flujo incluye un puerto de inyección de muestra configurado para proporcionar una muestra a la boquilla de la celda de flujo. En realizaciones, el sistema de inyección de muestra está configurado para proporcionar un flujo adecuado de muestra a la cámara de boquilla de la celda de flujo. Dependiendo de las características deseadas de la corriente de flujo, la velocidad de la muestra transportada a la cámara de boquilla de la celda de flujo mediante el puerto de inyección de muestra puede ser de 1 µl/min o más, tal como 2 µl/min o más, tal como 3 µl/min o más, tal como 5 µl/min o más, tal como 10 µl/min o más, tal como 15 µl/min o más, tal como 25 µl/min o más, tal como 50 µl/min o más e incluyendo 100 µl/min o más, donde, en algunos casos, la velocidad de la muestra transportada a la cámara de boquilla de la celda de flujo mediante el puerto de inyección de muestras es de 1 µl/s o más, tal como 2 µl/s o más, tal como 3 µl/s o más, tal como 5 µl/s o más, tal como 10 µl/s o más, tal como 15 µl/s o más, tal como 25 µl/s o más, tal como 50 µl/s o más e incluyendo 100 µl/s o más.

[0029] El puerto de inyección de muestra puede ser un orificio colocado en una pared de la cámara de boquilla o puede ser un conducto colocado en el extremo proximal de la cámara de boquilla. Cuando el puerto de inyección de muestra es un orificio colocado en una pared de la cámara de boquilla, el orificio del puerto de inyección de muestra puede tener cualquier forma adecuada, donde las formas de sección transversal de interés incluyen, pero sin limitación: formas de sección transversal rectilíneas, p. ej., cuadrados, rectángulos, trapezoides, triángulos, hexágonos, etc., formas de sección transversal curvilíneas, p. ej., círculos, óvalos, etc., así como formas irregulares, p. ej., una parte inferior parabólica acoplada a una parte superior plana. En determinadas realizaciones, el puerto de inyección de muestra tiene un orificio circular. El tamaño del orificio del puerto de inyección de muestra puede variar dependiendo de la forma, en determinados casos, teniendo una abertura que oscila de 0,1 mm a 5,0 mm, p. ej., 0,2 a 3,0 mm, p. ej., de 0,5 mm a 2,5 mm, tal como de 0,75 mm a 2,25 mm, tal como de 1 mm a 2 mm e incluyendo de 1,25 mm a 1,75 mm, por ejemplo, 1,5 mm.

[0030] En determinados casos, el puerto de inyección de muestra es un conducto colocado en un extremo proximal de la cámara de boquilla de la celda de flujo. Por ejemplo, el puerto de inyección de muestra puede ser un conducto colocado para tener el orificio del puerto de inyección de muestra en línea con el orificio de boquilla de la celda de flujo. Cuando el puerto de inyección de muestra es un conducto colocado en línea con el orificio de boquilla de la celda de flujo, la forma de sección transversal del tubo de inyección de muestra puede ser cualquier forma adecuada donde las formas de sección transversal de interés incluyen, pero sin limitación: formas de sección transversal rectilíneas, p. ej., cuadrados, rectángulos, trapezoides, triángulos, hexágonos, etc., formas de sección transversal curvilíneas, p. ej., círculos, óvalos, así como formas irregulares, p. ej., una parte inferior parabólica acoplada a una parte superior plana. El orificio del conducto puede variar dependiendo de la forma, en determinados casos, teniendo una abertura que oscila de 0,1 mm a 5,0 mm, p. ej., 0,2 a 3,0 mm, p. ej., de 0,5 mm a 2,5 mm, tal como de 0,75 mm a 2,25 mm, tal como de 1 mm a 2 mm e incluyendo de 1,25 mm a 1,75 mm, por ejemplo 1,5 mm. La forma de la punta del puerto de inyección de muestra puede ser la misma o diferente de la forma de sección transversal del tubo de inyección de muestra. Por ejemplo, el orificio del puerto de inyección de muestra puede incluir una punta biselada que tiene un

ángulo de bisel que varía de 1° a 10°, tal como de 2° a 9°, tal como de 3° a 8°, tal como de 4° a 7° e incluyendo un ángulo de bisel de 5°.

5 **[0031]** En algunas realizaciones, la boquilla de la celda de flujo también incluye un puerto de inyección de fluido envolvente configurado para proporcionar un fluido envolvente a la boquilla de la celda de flujo. En realizaciones, el sistema de inyección de fluido envolvente está configurado para proporcionar un flujo de fluido envolvente a la cámara de boquilla de la celda de flujo, por ejemplo, junto con la muestra para producir una corriente de flujo laminado de fluido envolvente que rodea la corriente de flujo de muestra. Dependiendo de las características deseadas de la corriente de flujo, la velocidad de fluido envolvente transportado a la cámara de boquilla de la celda de flujo por el
10 puede ser de 25 µl/s o más, tal como 50 µl/s o más, tal como 75 µl/s o más, tal como 100 µl/s o más, tal como 250 µl/s o más, tal como 500 µl/s o más, tal como 750 µl/s o más, tal como 1000 µl/s o más e incluyendo 2500 µl/s o más.

15 **[0032]** En algunas realizaciones, el puerto de inyección de fluido envolvente es un orificio colocado en una pared de la cámara de boquilla. El orificio del puerto de inyección de fluido envolvente puede tener cualquier forma adecuada, donde las formas de sección transversal de interés incluyen, pero sin limitación: formas de sección transversal rectilíneas, p. ej., cuadrados, rectángulos, trapecoides, triángulos, hexágonos, etc., formas de sección transversal curvilíneas, p. ej., círculos, óvalos, así como formas irregulares, p. ej., una parte inferior parabólica acoplada a una parte superior plana. El tamaño del orificio del puerto de inyección de muestra puede variar dependiendo de la forma, en determinados casos, teniendo una abertura que oscila de 0,1 mm a 5,0 mm, p. ej., 0,2 a 3,0 mm, p. ej., de 0,5 mm
20 a 2,5 mm, tal como de 0,75 mm a 2,25 mm, tal como de 1 mm a 2 mm e incluyendo de 1,25 mm a 1,75 mm, por ejemplo, 1,5 mm.

25 **[0033]** El módulo de clasificación de partículas incluido también incluye una región de interrogación de la muestra en comunicación de fluidos con el orificio de la boquilla de la celda de flujo. Como se describe con mayor detalle más adelante, una corriente de flujo de muestra emana de un orificio en el extremo distal de la boquilla de la celda de flujo y las partículas en la corriente de flujo pueden irradiarse con una fuente de luz en la región de interrogación de la muestra del módulo de clasificación de partículas. El tamaño de la región de interrogación del módulo de clasificación de partículas puede variar dependiendo de las propiedades de la boquilla de flujo, tal como el tamaño del orificio de la boquilla y el tamaño del puerto de inyección de muestra. En realizaciones, la región de interrogación puede tener una anchura que es 0,01 mm o más, tal como 0,05 mm o más, tal como 0,1 mm o más, tal como 0,5 mm o más, tal como
30 1 mm o más, tal como 2 mm o más, tal como 3 mm o más, tal como 5 mm o más e incluyendo 10 mm o más. La longitud de la región de interrogación también puede variar, oscilando en algunos casos a lo largo de 0,01 mm o más, tal como 0,1 mm o más, tal como 0,5 mm o más, tal como 1 mm o más, tal como 1,5 mm o más, tal como 2 mm o más, tal como 3 mm o más, tal como 5 mm o más, tal como 10 o más, tal como 15 mm o más, tal como 20 mm o más, tal como 25 mm o más e incluyendo 50 mm o más del módulo de clasificación de partículas.

35 **[0034]** La región de interrogación en el módulo de clasificación de partículas puede configurarse para facilitar la irradiación de una sección transversal plana de una corriente de flujo que emana o puede configurarse para facilitar la irradiación de un campo difuso (p. ej., con un láser o lámpara difusa) de una longitud predeterminada. En algunas realizaciones, la región de interrogación en el módulo de clasificación de partículas incluye una ventana transparente que facilita la irradiación de una longitud predeterminada de una corriente de flujo que emana, tal como 1 mm o más, tal como 2 mm o más, tal como 3 mm o más, tal como 4 mm o más, tal como 5 mm o más e incluyendo 10 mm o más. Dependiendo de la fuente de luz usada para irradiar la corriente de flujo que emana (como se describe a continuación), la región de interrogación del módulo de clasificación de partículas puede configurarse para pasar luz que oscila de
40 100 nm a 1500 nm, tal como de 150 nm a 1400 nm, tal como de 200 nm a 1300 nm, tal como de 250 nm a 1200 nm, tal como de 300 nm a 1100 nm, tal como de 350 nm a 1000 nm, tal como de 400 nm a 900 nm e incluyendo de 500 nm a 800 nm. En este sentido, el módulo de clasificación de partículas en la región de interrogación puede formarse a partir de cualquier material transparente que pase el intervalo deseado de longitud de onda, incluyendo, aunque no de forma limitativa, vidrio óptico, vidrio de borosilicato, vidrio Pyrex, cuarzo ultravioleta, cuarzo infrarrojo, zafiro, así como
45 plástico, tal como cualquiera del material plástico polimérico usado para formar el alojamiento como se ha descrito anteriormente.

50 **[0035]** En algunas realizaciones, los módulos de clasificación de partículas de interés incluyen una cubeta colocada en la región de interrogación de la muestra. En algunos casos, la cubeta se fija dentro del módulo de clasificación de partículas en la región de interrogación de la muestra, tal como con un adhesivo o se mantiene mecánicamente en su lugar, p. ej., con un clip o tornillo. En otros casos, la cubeta se moldea conjuntamente con el módulo de clasificación de partículas en la región de interrogación de la muestra. En determinados casos, la cubeta se incorpora directamente en el módulo de clasificación de partículas. La cubeta puede formarse a partir de cualquier material transparente que pase el intervalo deseado de longitud de onda, incluyendo, aunque no de forma limitativa, vidrio óptico, vidrio de borosilicato, vidrio Pyrex, cuarzo ultravioleta, cuarzo infrarrojo, zafiro, así como un plástico, tal como policarbonatos, cloruro de polivinilo (PVC), poliuretanos, poliéteres, poliamidas, poliiimidadas o copolímeros de estos termoplásticos, tal como PETG (tereftalato de polietileno modificado con glicol), entre otros materiales plásticos poliméricos, incluyendo poliéster, donde los poliésteres de interés pueden incluir, pero no se limitan a poli(tereftalatos de alquileno), tales como poli(tereftalato de etileno) (PET), PET de calidad para botellas (un copolímero elaborado a base de monoetilenglicol,
55 ácido tereftálico y otros comonomeros, tales como ácido isoftálico, ciclohexeno dimetanol, etc.), poli(tereftalato de butileno) (PBT) y poli(tereftalato de hexametileno); poli(adipatos de alquileno), tal como poli(adipato de etileno),
60
65

poli(adipato de 1,4-butileno) y poli(adipato de hexametileno); poli(suberatos de alquileno), tal como poli(suberato de etileno); poli(sebacatos de alquileno), tal como poli(sebacato de etileno); poli(ϵ -caprolactona) y poli(β -propiolactona); poli(isoftalatos de alquileno), tal como poli(isoftalato de etileno); poli(2,6-naftalendicarboxilatos de alquileno), tal como poli(2,6-naftalendicarboxilato de etileno); poli(alquilensulfonil-4,4'-dibenzoatos), tal como poli(etilensulfonil-4,4'-dibenzoato); poli(p-fenilendicarboxilatos de alquileno), tal como poli(p-fenilendicarboxilatos de etileno); poli(trans-1,4-ciclohexanodiilalquilendicarboxilatos), tal como poli(trans-1,4-ciclohexanodiil-etilenodicarboxilato); poli(dicarboxilatos de 1,4-ciclohexano-dimetileno-alquileno), tal como poli(dicarboxilato de 1,4-ciclohexano-dimetileno-etileno); poli([2.2.2]-bicyclooctano-1,4-dimetileno alquilendicarboxilatos), tal como poli([2.2.2]-bicyclooctano-1,4-dimetileno etilendicarboxilato); polímeros y copolímeros de ácido láctico, tales como (S)-polilactida, (R,S)-polilactida, poli(tetrametilglicolida) y poli(lactida-co-glicolida); y policarbonatos de bisfenol A, 3,3'-dimetilbisfenol A, 3,3',5,5'-tetraclorobisfenol A, 3,3',5,5'-tetrametilbisfenol A; poliámidas tales como poli(p-fenilen tereftalamida); poliésteres, p. ej., poli(tereftalatos de etileno), p. ej., Mylar™ poli(tereftalato de etileno); etc. En las realizaciones, la cubeta puede pasar luz que oscila de 100 nm a 1500 nm, tal como de 150 nm a 1400 nm, tal como de 200 nm a 1300 nm, tal como de 250 nm a 1200 nm, tal como de 300 nm a 1100 nm, tal como de 350 nm a 1000 nm, tal como de 400 nm a 900 nm e incluyendo de 500 nm a 800 nm.

[0036] En algunas realizaciones, la región de interrogación de la muestra incluye uno o más componentes de ajuste óptico. Por "ajuste óptico" se entiende que la luz irradiada sobre la región de interrogación de la muestra o la luz recogida de una corriente de flujo irradiada se cambia según se desee. En algunas realizaciones, la región de interrogación de la muestra incluye un componente de ajuste óptico para ajustar la luz irradiada sobre la región de interrogación de la muestra por una fuente de luz. En otras realizaciones, la región de interrogación de la muestra incluye un componente de ajuste óptico para ajustar la luz que emana de una corriente de flujo irradiada antes de ser transportada a un detector para su medición. En otras realizaciones adicionales, la región de interrogación de la muestra incluye un componente de ajuste óptico para ajustar tanto la luz irradiada sobre la región de interrogación de la muestra por una fuente de luz como la luz que emana de una corriente de flujo irradiada antes de ser transportada a un detector para su medición. Por ejemplo, el ajuste óptico puede ser para aumentar las dimensiones de la luz, el foco de la luz o para colimar la luz. En algunos casos, el ajuste óptico es un protocolo de ampliación para aumentar las dimensiones de la luz (por ejemplo, punto de haz), tal como aumentar las dimensiones en un 5 % o más, tal como en un 10 % o más, tal como en un 25 % o más, tal como en un 50 % o más e incluyendo aumentar las dimensiones en un 75 % o más. En otras realizaciones, el ajuste óptico incluye enfocar la luz recogida para reducir las dimensiones de la luz, tal como en un 5 % o más, tal como en un 10 % o más, tal como en un 25 % o más, tal como en un 50 % o más e incluyendo reducir las dimensiones del punto de haz en un 75 % o más. En determinadas realizaciones, el ajuste óptico incluye colimar la luz. El término "colimar" se usa en su sentido convencional para referirse al ajuste óptico de la colinealidad de la propagación de la luz o la reducción de la divergencia por la luz de un eje común de propagación. En algunos casos, la colimación incluye el estrechamiento de la sección transversal espacial de un haz de luz.

[0037] Los componentes de ajuste óptico pueden ser cualquier dispositivo o estructura conveniente que proporcione el cambio deseado en la luz recogida y puede incluir, aunque no de forma limitativa, lentes, espejos, estenopos, hendiduras, rejillas, refractores de luz y cualquier combinación de los mismos. El módulo de clasificación de partículas puede incluir uno o más componentes de ajuste óptico en la región de interrogación de la muestra según sea necesario, tal como dos o más, como tres o más, tal como cuatro o más e incluyendo cinco o más componentes de ajuste óptico.

[0038] Cuando el módulo de clasificación de partículas incluye uno o más componentes de ajuste óptico en la región de interrogación de la muestra, el componente de ajuste óptico puede acoplarse físicamente al módulo de clasificación de partículas, tal como con un adhesivo, moldeado conjuntamente al alojamiento o integrado directamente en el alojamiento del módulo de clasificación de partículas con el componente de ajuste óptico colocado en la región de interrogación de la muestra. En este sentido, el componente de ajuste óptico y el módulo de clasificación de partículas pueden integrarse en una sola unidad.

[0039] En algunas realizaciones, el componente de ajuste óptico es una lente de enfoque que tiene una relación de aumento de 0,1 a 0,95, tal como una relación de aumento de 0,2 a 0,9, tal como una relación de aumento de 0,3 a 0,85, tal como una relación de aumento de 0,35 a 0,8, tal como una relación de aumento de 0,5 a 0,75 e incluyendo una relación de aumento de 0,55 a 0,7, por ejemplo, una relación de aumento de 0,6. Por ejemplo, la lente de enfoque es, en determinados casos, una lente de demagnificación acromática doble que tiene una relación de aumento de aproximadamente 0,6. La longitud focal de la lente de enfoque puede variar, variando de 5 mm a 20 mm, tal como de 6 mm a 19 mm, tal como de 7 mm a 18 mm, tal como de 8 mm a 17 mm, tal como de 9 mm a 16 e incluyendo una longitud focal que varía de 10 mm a 15 mm. En ciertas realizaciones, la lente de enfoque tiene una longitud focal de aproximadamente 13 mm.

[0040] En otras realizaciones, el componente de ajuste óptico es un colimador. El colimador puede ser cualquier protocolo de colimación conveniente, tal como uno o más espejos o lentes curvados o una combinación de los mismos. Por ejemplo, el colimador es, en ciertos casos, una única lente de colimación. En otros casos, el colimador es un espejo de colimación. En aún otros casos, el colimador incluye dos lentes. En todavía otros casos, el colimador incluye un espejo y una lente. Cuando el colimador incluye una o más lentes, la longitud focal de la lente de colimación puede variar, oscilando de 5 mm a 40 mm, tal como de 6 mm a 37,5 mm, tal como de 7 mm a 35 mm, tal como de 8 mm a

32,5 mm, tal como de 9 mm a 30 mm, tal como de 10 mm a 27,5 mm, tal como de 12,5 mm a 25 mm e incluyendo una longitud focal que oscila de 15 mm a 20 mm.

5 **[0041]** En determinadas realizaciones, el componente de ajuste óptico es un separador de longitud de onda. La expresión "separador de longitud de onda" se usa en el presente documento en su sentido convencional para referirse a un protocolo óptico para separar luz policromática en sus longitudes de onda que la componen. La separación de longitud de onda, de acuerdo con determinadas realizaciones, puede incluir hacer pasar o bloquear selectivamente longitudes de onda específicas o intervalos de longitud de onda de la luz policromática. Los protocolos de separación de longitud de onda de interés que pueden ser parte de o combinarse con las boquillas de celda de flujo en cuestión, incluyen, pero sin limitación, vidrio coloreado, filtros de paso de banda, filtros de interferencia, espejos dicróicos, rejillas de difracción, monocromadores y combinaciones de los mismos, entre otros protocolos de separación de longitud de onda. En algunas realizaciones, el separador de longitud de onda es un filtro óptico. Por ejemplo, el filtro óptico puede ser un filtro de paso de banda que tiene anchos de banda mínimos que oscilan de 2 nm a 100 nm, tal como de 3 nm a 95 nm, tal como de 5 nm a 95 nm, tal como de 10 nm a 90 nm, tal como de 12 nm a 85 nm, tal como de 15 nm a 80 nm e incluyendo filtros de paso de banda que tienen anchos de banda mínimos que oscilan de 20 nm a 50 nm.

20 **[0042]** En realizaciones, los módulos de clasificación de partículas también incluyen un deflector de gotículas que está configurado para desviar las gotículas que contienen células analizadas a una ubicación de recepción, p. ej., una salida acoplada operativamente a un recipiente o un sistema de recogida de partículas clasificadas, de una corriente de gotículas producida a partir de la corriente de flujo que emana de la boquilla de flujo. Las gotículas desviadas pueden denominarse en el presente documento gotículas clasificadas. El desvío de una gotícula de interés a una ubicación de recepción puede lograrse mediante el deflector de gotículas mediante la carga electrostática de la gotícula y la deflexión de la gotícula cargada de la corriente de flujo mediante la aplicación de un campo electrostático. Tales campos electrostáticos pueden crearse mediante placas deflectoras colocadas adyacentes a la corriente de flujo. Como se usa en el presente documento, los términos "deflexión" o "desviado/a" se refieren a la desviación electrostática de las gotículas de interés de una corriente de flujo de gotículas analizada, de modo que las células pueden identificarse y rastrearse en la corriente de flujo y solo aquellas gotículas de la corriente de flujo que incluyen esas células de interés se desvían y recogen por un recipiente. En algunos casos, el módulo de clasificación de partículas incluye desviaciones de gotículas que están configuradas para desviar una sola gotícula hacia cada recipiente.

35 **[0043]** El módulo de clasificación de partículas está configurado para producir una corriente analizada de gotículas y desviar cada gotícula analizada desde la corriente de gotículas analizada hasta una ubicación de recepción de gotículas desviadas. Como se usa en el presente documento, la expresión "ubicación de recepción de gotículas desviadas" se refiere a una ubicación corriente abajo desde los deflectores de gotículas donde una gotícula clasificada que contiene una célula de interés puede recogerse después de que haya sido desviada por las placas deflectoras de gotículas. Los módulos de clasificación de partículas en cuestión pueden tener dos o más placas deflectoras, según se desee, tal como 3 o más, tal como 4 o más, tal como 5 o más, tal como 6 o más, tal como 7 o más, tal como 8 o más, tal como 9 o más e incluyendo 10 o más placas deflectoras.

40 **[0044]** Las partículas en la corriente de flujo pueden desviarse mediante cualquier protocolo conveniente de placas deflectoras, incluyendo, aunque no de forma limitativa, placas deflectoras de clasificación de células como se describen en las patentes de EE. UU. n.º 3 960 449; 4 347 935; 4 667 830; 5 245 318; 5 464 581; 5 483 469; 5 602 039; 5 643 796; 5 700 692; 6 372 506 y 6 809 804. En determinadas realizaciones, las placas deflectoras incluyen placas cargadas para clasificar células en la corriente de flujo como se usa en sistemas de citometría de flujo tales como el clasificador celular Influx™ de BD Biosciences, los clasificadores celulares FACSAria™ III y BD FACSAria™ Fusion de BD Biosciences, el clasificador celular FACSJazz™ de BD Biosciences, el clasificador celular FACSMelody™ de BD Biosciences y similares.

50 **[0045]** Las placas deflectoras en los módulos de clasificación de partículas de interés pueden configurarse en función del tipo de células que se clasifican, la velocidad de clasificación, la tensión aplicada a las células, así como el número de componentes que se clasifican en la muestra. En realizaciones, la longitud de las placas deflectoras adecuadas puede oscilar de 5 mm a 100 mm, tal como de 6 mm a 90 mm, tal como de 7 mm a 80 mm, tal como de 8 mm a 70 mm, tal como de 9 mm a 60 mm e incluyendo de 10 mm a 50 mm. La anchura de las placas deflectoras puede variar, oscilando de 1 mm a 25 mm, tal como de 2 mm a 20 mm, tal como de 3 mm a 15 mm e incluyendo de 5 mm a 10 mm. La distancia entre cada placa deflector puede variar dependiendo de la tensión aplicada, así como del tamaño de las partículas que se clasifican en la corriente de flujo. En algunas realizaciones, la distancia entre cada placa deflector puede ser de 1 mm o más, tal como 2 mm o más, tal como 3 mm o más, tal como 4 mm o más, tal como 5 mm o más e incluyendo 10 mm o más. Por ejemplo, la distancia entre cada placa deflector puede oscilar de 1 mm a 25 mm, tal como de 2 mm a 22,5 mm, tal como de 3 mm a 20 mm, tal como de 4 mm a 17,5 mm e incluyendo de 5 mm a 15 mm. Las placas deflectoras también pueden orientarse en ángulo entre sí, tal como un ángulo de 15° a 75°, tal como de 20° a 70°, tal como de 25° a 65° e incluso en un ángulo de 30° a 60°.

65 **[0046]** La tensión aplicada a las placas deflectoras para desviar las partículas cargadas (como se describe con mayor detalle a continuación) puede ser de 10 mV o más, tal como 25 mV o más, tal como 50 mV o más, tal como 100 mV o más, tal como 250 mV o más, tal como 500 mV o más, tal como 750 mV o más, tal como 1000 mV o más, tal como

2500 mV o más, tal como 5000 mV o más e incluyendo 10 000 mV o más. En determinadas realizaciones, la tensión aplicada a las placas deflectoras oscila de 0,001 V a 6000 V, incluyendo 0,001 V a 5000 V, tal como de 0,01 V a 4000 V, tal como de 0,1 V a 3000 V, tal como de 1 V a 2000 V, tal como de 5 V a 1500 V, tal como de 10 V a 1000 V, tal como de 25 V a 750 V e incluyendo de 100 V a 500 V.

5
[0047] Las placas deflectoras están configuradas para desviar las partículas de la corriente de flujo a una ubicación de recepción corriente abajo de las placas deflectoras, p. ej., una de dos o más salidas diferentes de la cámara de clasificación, tal como una primera salida de deshechos o una segunda salida de partículas clasificadas. En realizaciones, las placas deflectoras pueden desviar cada partícula en un ángulo que varía. En algunas realizaciones, las placas deflectoras están configuradas para desviar cada partícula en un ángulo de 0,5 grados o más desde el eje longitudinal de la corriente de flujo, tal como 1 grado o más, tal como 1,5 grados o más, tal como 2 grados o más, tal como 2,5 grados o más, tal como 3 grados o más, tal como 5 grados o más, tal como 7,5 grados o más e incluyendo desviar cada partícula en un ángulo de 10 grados o más desde el eje longitudinal de la corriente de flujo. Por ejemplo, cada partícula puede desviarse del eje longitudinal de la corriente de flujo en un ángulo de 0,1 grados a 30 grados, tal como de 0,5 grados a 25 grados, tal como de 1 grado a 20 grados de separación, tal como de 2 grados a 15 grados e incluyendo de 5 grados a 10 grados.

20
[0048] En algunas realizaciones, el extremo distal de los módulos de clasificación de partículas en cuestión está configurado para acoplarse a uno o más recipientes para recoger las gotículas de partículas desviadas de la corriente de flujo. Por ejemplo, el extremo distal de los módulos de clasificación de partículas puede estar configurado para acoplarse a 1 o más recipientes, tal como 2 o más recipientes, tal como 3 o más recipientes, tal como 4 o más recipientes, tal como 5 o más recipientes, tal como 6 o más recipientes, tal como 10 o más recipientes e incluyendo 25 o más recipientes, p. ej., a través de una salida del alojamiento. En algunos casos, el extremo distal del alojamiento puede incluir uno o más alineadores para acoplar el alojamiento a un recipiente. Los alineadores adecuados para acoplar el extremo distal del alojamiento a un recipiente pueden incluir, pero sin limitación, un saliente de alineación, un riel de alineación, una muesca de alineación, una hendidura de alineación, una ranura de alineación, un avellanado de alineación, un contraorificio de alineación, un rebaje de alineación, un orificio de alineación o una combinación de los mismos. En algunas realizaciones, el extremo distal del alojamiento también incluye uno o más sujetadores para unir el recipiente al extremo distal del alojamiento. Los sujetadores adecuados pueden incluir, pero sin limitación, imanes, sujeciones de gancho y bucle, pestillos, muescas, ranuras, pasadores, sujeciones, bisagras, Velcro, adhesivos no permanentes o una combinación de los mismos. En ciertas realizaciones, el extremo distal del alojamiento incluye una rosca para acoplar un recipiente enroscando el recipiente al alojamiento.

35
[0049] En determinadas realizaciones, el módulo de clasificación de partículas incluye uno o más recipientes en el extremo distal del alojamiento que reciben las gotículas de partículas desviadas de la corriente de flujo. Por ejemplo, el dispositivo de clasificación de partículas, de acuerdo con estas realizaciones, puede incluir 2 o más recipientes, tal como 3 o más recipientes, tal como 4 o más recipientes, tal como 5 o más recipientes, tal como 6 o más recipientes, tal como 10 o más recipientes. En algunas realizaciones, el recipiente está acoplado mecánicamente al extremo distal del alojamiento, por ejemplo, mediante una conexión luer-lok, una soldadura de tubo estéril o atornillándose al alojamiento. En otras realizaciones, el recipiente se fija al extremo distal del alojamiento mediante un adhesivo permanente o no permanente. En aún otras realizaciones, el recipiente se moldea conjuntamente con el alojamiento del módulo de clasificación de partículas. En otras realizaciones adicionales, el recipiente está integrado junto con el alojamiento, de modo que el recipiente y el alojamiento formen una sola unidad. En aún otros casos, el recipiente puede acoplarse de manera fluidica al alojamiento, p. ej., a través de un tubo configurado para transportar gotículas clasificadas, donde tales realizaciones pueden proporcionar la recuperación estéril de gotículas clasificadas, p. ej., pellizcando y cortando la estructura de transporte de fluidos, p. ej., tubos. Los recipientes adecuados para recoger gotículas de la corriente de flujo pueden incluir, pero sin limitación, tubos de ensayo, tubos cónicos, recipientes de múltiples compartimentos, tales como placas de microtitulación (por ejemplo, placas de 96 pocillos), tubos de centrífuga, tubos de cultivo, microtubos, tapas, cubetas, botellas, recipientes poliméricos rectilíneos y bolsas, entre otros tipos de recipientes.

50
[0050] También son de interés como recipientes los recipientes de muestras flexibles, tales como bolsas, p. ej., bolsas estériles. Por flexible se entiende que el recipiente de muestras puede doblarse o flexionarse desde su forma original sin ningún cambio estructural significativo, tal como desgarrar, agrietamiento, perforación, etc. Por ejemplo, un recipiente de muestras flexible puede flexionarse y/o deformarse de su forma original, mientras se mantiene una barrera sellada que evita el contacto entre un fluido dentro del recipiente de muestras y el entorno circundante. En algunos casos, el recipiente de muestras flexible está hecho de un material flexible que tiene un módulo de Young de 1 GPa o menos, tal como 0,7 GPa o menos, incluyendo 0,5 GPa o menos, por ejemplo, 0,3 GPa o menos o 0,1 GPa o menos, tal como 0,05 GPa o menos, o 0,01 GPa o menos. En determinadas realizaciones, el fluido en el recipiente de muestras flexible es estéril, es decir, libre o sustancialmente libre de bacterias vivas u otros microorganismos. En determinadas realizaciones, un tampón puede estar contenido dentro de un recipiente, tal como un criorecipientes. Los recipientes de interés incluyen recipientes basados en etilvinilacetato (EVA), tal como una bolsa de congelación de EVA, tal como una bolsa de congelación CRYOCTYTE™ (Baxter Healthcare Corporation, Deerfield, IL), bolsa de congelación criogénica CELL-FREEZE® (Charter Medical, Winston-Salem, NC), bolsa de congelación ORIGEN CRYOSTORE™ (OriGen BioMedical, Austin, TX) y similares.

[0051] Detalles adicionales con respecto a recipientes y módulos de clasificación de partículas incluidos que incluyen los mismos se describen en la solicitud de Estados Unidos con número de serie 15/472 020 publicada como US 2017-0299493.

5 **[0052]** En algunos casos, el recipiente es un sistema de recogida de partículas clasificadas que incluye un recipiente de recogida que tiene un tubo de clasificación en relación de recepción de gotículas con una salida del módulo de clasificación de partículas incluido; y una salida de muestra que acopla operativamente una ubicación de recogida de células del recipiente de recogida a una conexión de acoplamiento para un recipiente de recepción evacuado, tal como un tubo de extracción de sangre VACUTAINER®. Detalles adicionales con respecto a tales sistemas de recogida de partículas clasificadas se describen en la Solicitud de Estados Unidos con n.º de serie 62/663 792 (expediente de abogado n.º BECT-157PRV; P-15882@) presentada el 27 de abril de 2018, así como la solicitud de patente de Estados Unidos con número de serie 16/390 376 presentada el 22 de abril de 2019 que reivindica la prioridad de la misma.

15 **[0053]** Cualquiera de las conexiones fluidicas con respecto al módulo de clasificación, p. ej., dentro del módulo de clasificación y/o entre el módulo de clasificación y otros aspectos de los sistemas, p. ej., recipientes de recepción (tales como bolsas), tubos de entrada, etc., puede hacerse usando soldadura de tubo estéril, según se desee. Se puede emplear cualquier sistema y material de soldadura de tubo estéril conveniente.

20 **[0054]** La figura 1 proporciona una ilustración de un módulo de clasificación de partículas incluido de acuerdo con una realización de la invención. Tal como se ilustra en la figura 1, el módulo 100 de clasificación de partículas cerrado incluye el alojamiento 105 que encierra los componentes dispares del módulo de clasificación, tal como la región 140 de interrogación de la muestra y la cámara 125 de clasificación. Ubicada en el extremo superior o proximal del módulo de clasificación está la entrada 110 de muestra. También se muestran la entrada 120 de fluido envolvente y el conector 115 de depósito de desechos. En la parte inferior del módulo y proporcionando salidas para la cámara de clasificación hay un puerto 130 de salida de desechos y un puerto 135 de salida de partículas clasificadas.

SISTEMAS DE CITÓMETRO DE FLUJO

30 **[0055]** Como se revisó anteriormente, los aspectos de la presente divulgación también incluyen sistemas de citómetro de flujo con los que los módulos de clasificación de partículas incluidos pueden acoplarse operativamente para producir un citómetro de flujo que está configurado para clasificar componentes de partículas de una muestra, tales como células en una muestra biológica, es decir, un citómetro de flujo clasificador celular. Los sistemas de acuerdo con ciertas realizaciones incluyen uno o más módulos de clasificación de partículas incluidos, p. ej., como se ha descrito anteriormente, un módulo de entrada de muestra acoplado de manera fluidica a una entrada en el extremo proximal del módulo de clasificación de partículas y un depósito de desechos, p. ej., tanque u otro recipiente, acoplado de manera fluidica a una salida del módulo de clasificación de partículas. En realizaciones, el sistema está configurado para acoplarse con uno o más de los módulos de clasificación de partículas incluidos descritos anteriormente. Para conectar el módulo de clasificación de partículas, el sistema puede incluir un registro configurado para acoplarse con los alineadores en el alojamiento del módulo de clasificación de partículas. El registro puede incluir uno o más alineadores que son complementarios a los alineadores en el alojamiento del sistema de clasificación de partículas. Por ejemplo, el registro puede incluir 2 o más alineadores, tal como 3 o más alineadores, tal como 4 o más alineadores, tal como 5 o más alineadores, tal como 7 o más alineadores e incluyendo 10 o más alineadores. En determinadas realizaciones, el registro del sistema de clasificación de partículas incluye 3 alineadores. Detalles adicionales con respecto a alineadores y sistemas de citómetro de flujo que incluyen los mismos se describen en la solicitud de Estados Unidos con número de serie 15/472 020 publicada como US 2017-0299493.

50 **[0056]** Como se ha resumido anteriormente, los sistemas también incluyen un módulo de entrada de muestra acoplado de manera fluidica a una entrada en el extremo proximal del módulo de clasificación de partículas. En realizaciones, el módulo de entrada de muestra está configurado para proporcionar un flujo de muestra adecuado a la cámara de boquilla de la celda de flujo en el módulo de clasificación de partículas. Dependiendo de las características deseadas de la corriente de flujo que emana de la boquilla de flujo, la velocidad de la muestra transportada al módulo de clasificación de partículas por el módulo de entrada de muestra puede ser de 1 µl/min o más, tal como 2 µl/min o más, tal como 3 µl/min o más, tal como 5 µl/min o más, tal como 10 µl/min o más, tal como 15 µl/min o más, tal como 25 µl/min o más, tal como 50 µl/min o más e incluyendo 100 µl/min o más, en donde, en algunos casos, la velocidad del flujo es de 1 µl/s o más, tal como 2 µl/s o más, tal como 3 µl/s o más, tal como 5 µl/s o más, tal como 10 µl/s o más, tal como 15 µl/s o más, tal como 25 µl/s o más, tal como 50 µl/s o más e incluyendo 100 µl/s o más.

60 **[0057]** En realizaciones, la entrada de fluido de muestra incluye un recipiente, una tapa y uno o más puertos en la cavidad interior del recipiente. El recipiente tiene un extremo distal y un extremo proximal con paredes entre el extremo distal y el extremo proximal que juntas forman una cavidad interior dentro del recipiente. En algunas realizaciones, las paredes exteriores del recipiente y la cavidad interior tienen la misma forma de sección transversal, donde las formas de sección transversal de interés incluyen, pero sin limitación, formas de sección transversal curvilíneas, p. ej., círculos, óvalos, formas de sección transversal rectilíneas, p. ej., cuadrados, rectángulos, trapezoides, triángulos, hexágonos, etc., así como formas irregulares, p. ej., una parte inferior parabólica acoplada a una parte superior plana. Por ejemplo, tanto las paredes exteriores del recipiente como la cavidad interior pueden tener secciones transversales circulares u ovaladas o tanto las paredes exteriores del recipiente como la cavidad interior pueden tener secciones

transversales poligonales (por ejemplo, octogonales). En otras realizaciones, las paredes exteriores y la cavidad interior del recipiente tienen diferentes formas en sección transversal (por ejemplo, teniendo el recipiente una sección transversal poligonal y teniendo la cámara interior una sección transversal circular). En determinadas realizaciones, el recipiente es un tubo y la forma en sección transversal de las paredes exteriores y las paredes interiores son ambas circulares.

[0058] El tamaño de la cavidad interior del recipiente puede variar dependiendo del tamaño de la muestra y el tamaño del módulo de clasificación de partículas, donde, en algunos casos, la longitud de la cavidad interior del recipiente puede oscilar de 1 cm a 25 cm, tal como de 2,5 cm a 22,5 cm, tal como de 5 cm a 20 cm, tal como de 7,5 cm a 17,5 cm e incluyendo de 10 cm a 15 cm y la anchura de la cavidad interior del recipiente puede oscilar de 1 cm a 20 cm, tal como de 2 cm a 17,5 cm, tal como de 3 cm a 15 cm, tal como de 4 cm a 12,5 cm e incluyendo de 5 cm a 10 cm. Cuando la cavidad interior del recipiente tiene una sección transversal cilíndrica, el diámetro puede variar, en algunas realizaciones, oscilando de 1 cm a 10 cm, tal como de 2 cm a 9 cm, tal como de 3 cm a 8 cm e incluyendo de 4 cm a 7 cm. Por consiguiente, el volumen del recipiente puede variar, oscilando de 1 a 500 cm³, tal como de 5 a 250 cm³, tal como 10 a 200 cm³, tal como 15 a 150 cm³, tal como 20 a 125 cm³ e incluyendo de 25 a 100 cm³. En algunas realizaciones, el recipiente del módulo de entrada de muestra es un tubo que tiene un volumen que oscila de 1 ml a 500 ml, tal como de 2 ml a 400 ml, tal como de 3 ml a 300 ml, tal como de 4 ml a 200 ml, tal como de 5 ml a 150 ml e incluyendo de 10 ml a 100 ml.

[0059] El recipiente puede formarse a partir de cualquier material adecuado que incluye, aunque no de forma limitativa, vidrio, metal o plástico, tal como un plástico flexible o rígido, materiales poliméricos o termoplásticos, p. ej., como se ha descrito anteriormente.

[0060] En realizaciones, los recipientes del módulo de entrada de muestra también incluyen una tapa configurada para cerrar el extremo proximal del recipiente. Por ejemplo, la tapa puede ser una tapa de rosca, una tapa de encaje a presión o una tapa que conecta el recipiente mediante un adhesivo permanente, semipermanente o no permanente. En determinados casos, la tapa forma un sello fluido con las paredes del recipiente. La tapa puede ser una parte integrada del recipiente, incluyendo donde la tapa está moldeada, soldada a baja temperatura, soldada o fijada al recipiente usando un adhesivo permanente. En otras realizaciones, la tapa está unida de manera liberable al recipiente. Por "de manera liberable" se entiende que la tapa se puede separar libremente del extremo proximal del recipiente y volver a unirse a este. Cuando la tapa está unida de manera liberable al recipiente, la tapa puede sujetarse de forma no permanente al recipiente mediante cualquier protocolo de unión conveniente, incluyendo, aunque no de forma limitativa, un elemento de sujeción de enganche y lazo, un pestillo, una muesca, una ranura, un pasador, una traba, una bisagra, Velcro, adhesivo no permanente, un tornillo roscado o una combinación de los mismos. En determinados casos, el recipiente incluye una pared exterior roscada y está roscado con las paredes internas de la tapa.

[0061] La tapa puede incluir uno o más puertos en la cavidad interior del recipiente, tal como 2 o más puertos, tal como 3 o más puertos, tal como 4 o más puertos e incluyendo 5 o más puertos. En determinadas realizaciones, la tapa incluye dos puertos. Los puertos pueden ser cualquier puerto conveniente configurado para la comunicación de fluidos o gases con la cavidad interior del recipiente. En algunas realizaciones, la tapa incluye un puerto configurado para transportar gas al recipiente para crear una presión positiva dentro del recipiente y para transportar fluido de muestra desde el interior del recipiente a través de un segundo puerto al módulo de clasificación de partículas. En algunos casos, el recipiente incluye una tercera abertura en la tapa para permitir que el aire se ventile.

[0062] Se puede emplear cualquier configuración de puerto adecuada dependiendo de la función deseada del puerto, donde los ejemplos de puertos incluyen canales, orificios, canales que tienen una válvula de retención, un accesorio cónico tipo Luer, un puerto con un sello rompible (por ejemplo, puertos de un solo uso) entre otros tipos de puertos. En determinadas realizaciones, el puerto está configurado con un accesorio cónico tipo Luer, tal como un Luer-Lok o un Luer-slip. Los puertos en la tapa del módulo de entrada de muestra pueden tener cualquier forma adecuada, donde las formas en sección transversal de los puertos de interés incluyen, pero sin limitación: formas de sección transversal rectilíneas, p. ej., cuadrados, rectángulos, trapezoides, triángulos, hexágonos, etc., formas de sección transversal curvilíneas, p. ej., círculos, óvalos, etc., así como formas irregulares, p. ej., una parte inferior parabólica acoplada a una parte superior plana. Las dimensiones de los puertos pueden variar, en algunas realizaciones, oscilando de 1 mm a 100 mm, tal como de 2 mm a 95 mm, tal como de 3 mm a 90 mm, tal como de 4 mm a 80 mm, tal como de 5 mm a 70 mm, tal como de 6 mm a 60 mm e incluyendo de 10 mm a 50 mm. En algunas realizaciones, el puerto es un orificio circular y el diámetro del puerto oscila de 1 mm a 100 mm, tal como de 2 mm a 90 mm, tal como de 4 mm a 80 mm, tal como de 5 mm a 70 mm, tal como de 6 mm a 60 mm e incluyendo de 10 mm a 50 mm. Por consiguiente, dependiendo de la forma de los puertos, los puertos en la tapa pueden tener una abertura que oscila de 0,01 mm² a 250 mm², tal como de 0,05 mm² a 200 mm², tal como de 0,1 mm² a 150 mm², tal como de 0,5 mm² a 100 mm², tal como de 1 mm² a 75 mm², tal como de 2 mm² a 50 mm² e incluyendo desde 5 mm² a 25 mm².

[0063] Detalles adicionales de módulos de entrada de muestra y sistemas que incluyen los mismos se describen en la solicitud de Estados Unidos con número de serie 15/472 020 publicada como US 2017-0299493.

[0064] Como se ha resumido anteriormente, los sistemas de clasificación de partículas de interés también incluyen

un depósito de desechos acoplado de manera fluidica a una salida del módulo de clasificación de partículas. En algunas realizaciones, el tanque de desechos incluye uno o más puertos, tal como un puerto para ventilar la presión de gas acumulada en el módulo de clasificación de partículas, un puerto para recoger desechos del módulo de clasificación de partículas y un puerto para ventilar la presión de gas acumulada en el depósito de desechos o cualquier combinación de los mismos. En algunas realizaciones, el depósito de desechos puede estar en comunicación de fluidos con el módulo de clasificación de partículas a través de uno o más puertos. Por ejemplo, el depósito de desechos puede incluir 2 o más puertos, tal como 3 o más puertos, tal como 4 o más puertos e incluyendo 5 o más puertos. En determinadas realizaciones, el depósito de desechos incluye dos puertos. Los puertos pueden ser cualquier puerto conveniente configurado para la comunicación de fluidos o gases con la cavidad interior del depósito de desechos. En algunas realizaciones, el depósito de desechos incluye un puerto que está configurado para ventilar (es decir, liberar) la presión de gas acumulada dentro del depósito de desechos. En otras realizaciones, el depósito de desechos incluye un puerto que recibe el fluido residual del módulo de clasificación de partículas. En otras realizaciones adicionales, el depósito de desechos incluye un puerto que está configurado para ventilar la presión de gas acumulada desde el interior del módulo de clasificación de partículas, tal como ventilar la parte de celda de flujo del módulo de clasificación de partículas.

[0065] Se puede emplear cualquier configuración de puerto adecuada dependiendo de la función deseada del puerto, donde los ejemplos de puertos incluyen canales, orificios, canales que tienen una válvula de retención, un accesorio cónico tipo Luer, un puerto con un sello rompible (por ejemplo, puertos de un solo uso) entre otros tipos de puertos. En determinadas realizaciones, el puerto está configurado con un accesorio cónico tipo Luer, tal como un Luer-Lok o un Luer-slip. Los puertos en el tanque de desechos pueden tener cualquier forma adecuada, donde las formas en sección transversal de los puertos de interés incluyen, pero sin limitación: formas de sección transversal rectilíneas, p. ej., cuadrados, rectángulos, trapezoides, triángulos, hexágonos, etc., formas de sección transversal curvilíneas, p. ej., círculos, óvalos, etc., así como formas irregulares, p. ej., una parte inferior parabólica acoplada a una parte superior plana. Las dimensiones de los puertos pueden variar, en algunas realizaciones, oscilando de 1 mm a 100 mm, tal como de 2 mm a 95 mm, tal como de 3 mm a 90 mm, tal como de 4 mm a 80 mm, tal como de 5 mm a 70 mm, tal como de 6 mm a 60 mm e incluyendo de 10 mm a 50 mm. En algunas realizaciones, el puerto es un orificio circular y el diámetro del puerto oscila de 1 mm a 100 mm, tal como de 2 mm a 90 mm, tal como de 4 mm a 80 mm, tal como de 5 mm a 70 mm, tal como de 6 mm a 60 mm e incluyendo de 10 mm a 50 mm. Por consiguiente, dependiendo de la forma de los puertos, los puertos en el tanque de desechos pueden tener una abertura que oscila de 0,01 mm² a 250 mm², tal como de 0,05 mm² a 200 mm², tal como de 0,1 mm² a 150 mm², tal como de 0,5 mm² a 100 mm², tal como de 1 mm² a 75 mm², tal como de 2 mm² a 50 mm² e incluyendo desde 5 mm² a 25 mm².

[0066] En algunas realizaciones, el depósito de desechos puede acoplarse de manera fluidica al módulo de clasificación de partículas a través de uno o más conductos. Por ejemplo, el módulo de clasificación de partículas puede acoplarse de manera fluidica al depósito de desechos a través de 2 o más conductos, tal como 3 o más conductos e incluyendo a través de 5 o más conductos. Los conductos que acoplan el módulo de clasificación de partículas al tanque de desechos incluyen un extremo proximal conectado al módulo de clasificación de partículas y un extremo distal conectado al tanque de desechos.

[0067] Cada conducto puede tener una longitud que varía e, independientemente, cada conducto puede tener 5 cm o más, tal como 7 cm o más, tal como 10 cm o más, tal como 25 cm o más, tal como 30 cm o más, tal como 50 cm o más, tal como 75 cm o más, tal como 100 cm o más, tal como 250 cm o más e incluyendo 500 cm o más. El diámetro de la luz interior de cada conducto también puede variar y puede ser de 0,5 mm o más, tal como 0,75 mm o más, tal como 1 mm o más, tal como 1,5 mm o más, tal como 2 mm o más, tal como 5 mm o más, tal como 10 mm o más, tal como 25 mm o más e incluyendo 50 mm o más. Por ejemplo, el diámetro de la luz interior puede oscilar de 0,5 mm a 50 cm, tal como de 1 mm a 25 mm e incluyendo de 5 mm a 15 mm.

[0068] Cada conducto puede estar formado por un material fino, tal como donde las paredes del conducto tienen un grosor de 5 mm o menos, tal como 3 mm o menos, tal como 2 mm o menos, incluyendo 1 mm o menos, o 0,5 mm o menos, tal como 0,4 mm o menos, tal como 0,3 mm o menos, tal como 0,2 mm o menos e incluyendo 0,1 mm o menos. En determinadas realizaciones, el conducto está formado por un material flexible que tiene un módulo de Young de 1 GPa o menos, tal como 0,9 GPa o menos, tal como 0,8 GPa o menos, tal como 0,7 GPa o menos, tal como 0,6 GPa o menos, tal como 0,5 GPa o menos, tal como 0,4 GPa o menos, tal como 0,3 GPa o menos, tal como 0,2 GPa o menos, tal como 0,1 GPa o menos e incluyendo 0,01 GPa o menos. En determinadas realizaciones, los conductos están formados a partir de un material polimérico, tal como, aunque no de forma limitativa, p. ej., como se ha descrito anteriormente, incluyendo, aunque no de forma limitativa: cloruro de polivinilo (PVC), etilvinilacetato (EVA), polietileno, polipropileno, combinaciones de los mismos y similares.

[0069] El depósito de desechos puede incluir una o más cámaras. En algunas realizaciones, el depósito de desechos tiene una única cámara para recoger todos los componentes desechados del módulo de clasificación de partículas. En otras realizaciones, el depósito de desechos tiene más de una cámara, tal como 2 o más cámaras, tal como 3 o más cámaras e incluyendo 4 o más cámaras. Cada cámara en un tanque de desechos de múltiples cámaras puede tener uno o más conductos de entrada y salida. Por ejemplo, las dos o más cámaras pueden estar en comunicación de fluidos con un solo conducto. Las luces interiores de las dos o más cámaras pueden unirse entre sí en un conector en Y, una válvula (por ejemplo, una válvula estranguladora) o similares.

- 5 **[0070]** Cuando el depósito de desechos incluye más de una cámara, cada cámara diferente puede configurarse para recibir los mismos o diferentes fluidos. Por ejemplo, una primera cámara del tanque de desechos puede recoger y contener partículas no cargadas y no desviadas de la corriente de flujo y una segunda cámara del tanque de desechos puede recoger y contener partículas desviadas, pero no recogidas, de la corriente de flujo. En otras realizaciones, una primera cámara del tanque de desechos puede recoger y contener el exceso de fluido envolvente y descartar el exceso de fluido de muestra de la corriente de flujo y una segunda cámara del tanque de desechos puede recoger un componente clasificado, pero no deseable, del fluido de muestra de la corriente de flujo.
- 10 **[0071]** En algunas realizaciones, el depósito de desechos incluye uno o más puertos, tal como un puerto para ventilar la presión de gas acumulada en el módulo de clasificación de partículas, un puerto para recoger desechos del módulo de clasificación de partículas y un puerto para ventilar la presión de gas acumulada en el tanque de desechos o cualquier combinación de los mismos. La corriente de desechos del módulo de clasificación de partículas puede transportarse al tanque de desechos a través de un conducto. El conducto puede acoplarse al tanque de desechos con un conector, tal como un conector Luek-Lok o un conector de ajuste por roscado.
- 15 **[0072]** Detalles adicionales con respecto a depósitos de desechos y sistemas que incluyen los mismos se describen en la solicitud de Estados Unidos con número de serie 15/472 020 publicada como US 2017-0299493.
- 20 **[0073]** Los sistemas de clasificación de partículas de acuerdo con ciertas realizaciones también incluyen un subsistema de suministro de fluido envolvente para transportar fluido envolvente a la boquilla de la celda de flujo del módulo de clasificación de partículas incluido. El término "fluido envolvente" se usa en el presente documento en su sentido convencional para referirse al fluido transportado a través de un conducto (por ejemplo, en un citómetro de flujo) que se usa para formar un flujo anular coaxial con un fluido que contiene una muestra que crea un flujo enfocado hidrodinámicamente de fluido de muestra que contiene partículas en el centro de la corriente de fluido envolvente. Los fluidos envolventes de interés pueden ser cualquier composición amortiguada conveniente, tal como para su uso en un citómetro de flujo y, pueden incluir una o más sales, incluyendo, aunque no de forma limitativa, fosfato de potasio, cloruro de potasio, fosfato de sodio, cloruro de sodio, conservantes, así como agentes quelantes, tal como ácido etilendiaminotetraacético disódico (EDTA). En realizaciones, el sistema de dispensación de fluido envolvente incluye un depósito de fluidos que contiene un fluido envolvente, un conducto que tiene un extremo proximal en comunicación de fluidos con el depósito de fluidos envolventes y un extremo distal en comunicación de fluidos con una entrada de fluidos envolventes al módulo de clasificación de partículas.
- 25 **[0074]** En algunas realizaciones, el subsistema de suministro de fluido envolvente incluye un alojamiento presurizado con un recipiente flexible que tiene un depósito para fluidos envolventes colocado dentro del alojamiento. En otras realizaciones, el subsistema de suministro de fluido envolvente incluye un alojamiento y un primer recipiente flexible y un segundo recipiente flexible colocados en el alojamiento. El primer recipiente flexible incluye un depósito de fluidos y un conducto que tiene un extremo proximal y un extremo distal, donde el extremo proximal está acoplado de manera fluidica al depósito de fluidos y el extremo distal está configurado para acoplar el conducto al módulo de clasificación de partículas y el segundo recipiente flexible incluye un depósito de gas y un puerto en comunicación de gases con el depósito de gas. En estas realizaciones, el segundo recipiente flexible se coloca en el alojamiento con el primer recipiente flexible y está configurado para aplicar presión al depósito de fluidos del primer recipiente flexible para transportar el fluido envolvente desde el extremo distal del conducto al módulo de clasificación de partículas.
- 30 **[0075]** En determinadas realizaciones, los sistemas de clasificación de partículas de interés incluyen un subsistema de suministro de fluido envolvente para transportar el fluido envolvente al módulo de clasificación de partículas, tales como los descritos en la solicitud de patente PCT codependiente n.º PCT/US2016/048433 presentada el 24 de octubre de 2016 y publicada como WO 2017/040151; y la solicitud de patente de Estados Unidos n.º 14/365 602, ahora emitida como patente de EE. UU. n.º 9 551 643. Detalles adicionales con respecto a los subsistemas y sistemas de suministro de fluido envolvente que incluyen los mismos se describen en la Solicitud de Estados Unidos con n.º de serie 15/472 020, publicada como US 2017-0299493.
- 35 **[0076]** Como se ha mencionado anteriormente, cualquiera de las conexiones fluidicas con respecto al módulo de clasificación, p. ej., dentro del módulo de clasificación y/o entre el módulo de clasificación y otros aspectos de los sistemas, p. ej., recipientes de recepción (tales como bolsas), tubos de entrada, etc., puede hacerse usando soldadura de tubo estéril, según se desee. Se puede emplear cualquier sistema y material de soldadura de tubo estéril conveniente.
- 40 **[0077]** Como se ha resumido anteriormente, los sistemas de la invención están configurados para controlar el contenido de aerosoles en el módulo de clasificación de partículas incluido o al menos una región del mismo, tal como la cámara de clasificación. En algunas realizaciones, el sistema está configurado para reducir la producción de aerosoles en la cámara de clasificación. Por "reducir la producción de aerosoles" se entiende que, en comparación con un control adecuado, tal como un dispositivo descrito en la solicitud de Estados Unidos con n.º de serie 15/472 020 publicada como US 2017-0299493, la producción de aerosoles se reduce al doble o más, tal como 5 veces o más, incluyendo 10 veces o más.
- 45 **[0075]** En determinadas realizaciones, los sistemas de clasificación de partículas de interés incluyen un subsistema de suministro de fluido envolvente para transportar el fluido envolvente al módulo de clasificación de partículas, tales como los descritos en la solicitud de patente PCT codependiente n.º PCT/US2016/048433 presentada el 24 de octubre de 2016 y publicada como WO 2017/040151; y la solicitud de patente de Estados Unidos n.º 14/365 602, ahora emitida como patente de EE. UU. n.º 9 551 643. Detalles adicionales con respecto a los subsistemas y sistemas de suministro de fluido envolvente que incluyen los mismos se describen en la Solicitud de Estados Unidos con n.º de serie 15/472 020, publicada como US 2017-0299493.
- 50 **[0076]** Como se ha mencionado anteriormente, cualquiera de las conexiones fluidicas con respecto al módulo de clasificación, p. ej., dentro del módulo de clasificación y/o entre el módulo de clasificación y otros aspectos de los sistemas, p. ej., recipientes de recepción (tales como bolsas), tubos de entrada, etc., puede hacerse usando soldadura de tubo estéril, según se desee. Se puede emplear cualquier sistema y material de soldadura de tubo estéril conveniente.
- 55 **[0077]** Como se ha resumido anteriormente, los sistemas de la invención están configurados para controlar el contenido de aerosoles en el módulo de clasificación de partículas incluido o al menos una región del mismo, tal como la cámara de clasificación. En algunas realizaciones, el sistema está configurado para reducir la producción de aerosoles en la cámara de clasificación. Por "reducir la producción de aerosoles" se entiende que, en comparación con un control adecuado, tal como un dispositivo descrito en la solicitud de Estados Unidos con n.º de serie 15/472 020 publicada como US 2017-0299493, la producción de aerosoles se reduce al doble o más, tal como 5 veces o más, incluyendo 10 veces o más.
- 60 **[0077]** Como se ha resumido anteriormente, los sistemas de la invención están configurados para controlar el contenido de aerosoles en el módulo de clasificación de partículas incluido o al menos una región del mismo, tal como la cámara de clasificación. En algunas realizaciones, el sistema está configurado para reducir la producción de aerosoles en la cámara de clasificación. Por "reducir la producción de aerosoles" se entiende que, en comparación con un control adecuado, tal como un dispositivo descrito en la solicitud de Estados Unidos con n.º de serie 15/472 020 publicada como US 2017-0299493, la producción de aerosoles se reduce al doble o más, tal como 5 veces o más, incluyendo 10 veces o más.
- 65 **[0077]** Como se ha resumido anteriormente, los sistemas de la invención están configurados para controlar el contenido de aerosoles en el módulo de clasificación de partículas incluido o al menos una región del mismo, tal como la cámara de clasificación. En algunas realizaciones, el sistema está configurado para reducir la producción de aerosoles en la cámara de clasificación. Por "reducir la producción de aerosoles" se entiende que, en comparación con un control adecuado, tal como un dispositivo descrito en la solicitud de Estados Unidos con n.º de serie 15/472 020 publicada como US 2017-0299493, la producción de aerosoles se reduce al doble o más, tal como 5 veces o más, incluyendo 10 veces o más.

- 5 **[0078]** La producción de aerosoles puede reducirse usando uno o más enfoques de reducción de aerosoles, tal como se describe a continuación. En algunos casos, el módulo de clasificación de partículas incluido está configurado para minimizar el contacto de la corriente de desechos con una superficie interna del módulo de clasificación de partículas. En estos casos, la configuración interna o el diseño del módulo de clasificación de partículas incluido, incluyendo la cámara de clasificación del mismo, se elige o fabrica de modo que la corriente de desechos y, en algunos casos, la corriente clasificada, no entra en contacto con una superficie sólida del mismo. En algunos casos, el módulo de clasificación particular está configurado de modo que la corriente de desechos sale a través de una primera salida, es decir, una salida que acopla de manera fluidica la cámara de clasificación con un depósito de desechos, sin entrar en contacto con una pared de la primera salida. Por ejemplo, la salida puede estar alineada axialmente con el eje longitudinal de la corriente de desechos, de modo que la corriente de desechos pase a través del centro de la salida al pasar a través de la salida. Las dimensiones de la salida en tales casos pueden variar, donde el diámetro de la salida oscila en algunos casos de 2,5 a 25 mm, tal como de 5 a 10 mm. En algún caso, el depósito de desechos está acoplado de manera fluidica a la primera salida mediante una línea flexible, p. ej., como se ha descrito anteriormente. Si bien las dimensiones de la línea flexible pueden variar, en algunos casos, el diámetro interior de la línea flexible oscila de 2,5 a 25 mm, tal como de 5 a 10 mm. Cuando se desee, la línea flexible está configurada de modo que la corriente de desechos contacta primero con una pared interior de la línea flexible a una distancia predeterminada de la salida. Si bien esta distancia puede variar, la distancia puede elegirse para reducir las posibilidades de que las gotículas de aerosol formadas por contacto regresen a la cámara de clasificación. En algunos casos, el eje longitudinal de la línea flexible se alinea con el centro de la salida para una distancia de 5 mm o más, tal como 10 mm o más, incluyendo 25 mm o más, incluyendo 50 mm o más. Con el fin de minimizar la producción de aerosoles, en algunos casos, la línea flexible está configurada de modo que la corriente de desechos contacta primero con una pared interior de la línea flexible en un ángulo poco profundo. Si bien el ángulo de contacto puede variar en tales casos, en ciertas realizaciones, el ángulo de contacto oscila de 0,5 a 25°, tal como de 0,5 a 15° e incluyendo de 0,5 a 5°.
- 25 **[0079]** Como alternativa o además de reducir la formación de aerosoles mediante la configuración adecuada de la cámara de clasificación y/o la línea de desechos, p. ej., como se ha descrito anteriormente, los sistemas de citómetro de flujo de la invención pueden configurarse para mantener una temperatura por encima del punto de rocío en la cámara de clasificación del módulo de clasificación de partículas incluido. El punto de rocío se usa en el presente documento en su sentido convencional para referirse a la temperatura (que varía de acuerdo con la presión y la humedad) por debajo de la cual las gotículas de agua comienzan a condensarse y se puede formar rocío. Los sistemas pueden configurarse para proporcionar un punto de rocío en la cámara de clasificación que oscila entre 1 y 30 °C, tal como de 2 a 25 °C e incluyendo de 3 a 15 °C. Los sistemas de la invención pueden configurarse para mantener la temperatura de la cámara de clasificación por encima del punto de rocío usando una variedad de enfoques diferentes. En algunos casos, los sistemas incluyen un calentador configurado para mantener la temperatura por encima del punto de rocío. El calentador puede ser cualquier tipo conveniente de calentador, tal como un calentador resistivo, calentador de radiación visible, calentador de radiación infrarroja, etc. Los calentadores resistivos de interés incluyen, pero sin limitación, los que tienen elementos de calentamiento metálicos, elementos de calentamiento de cerámica, elementos de calentamiento de PTC polimérico, elementos de calentamiento combinados, elementos de calentamiento compuestos y similares. El elemento de calentamiento puede configurarse de modo que proporcione un calentamiento radiante de la cámara de clasificación del módulo de clasificación de partículas incluido. El elemento o elementos de calentamiento pueden integrarse en el sistema de citómetro de flujo y/o el módulo de clasificación de partículas incluido, según se desee. En este sentido, en algunos casos, el elemento o elementos de calentamiento son una parte integrada del sistema de citómetro de flujo y no son parte del módulo de clasificación de partículas incluido. En otros casos, el elemento o elementos de calentamiento están integrados en el módulo de clasificación de partículas incluido. Un calentador dado puede estar compuesto por un único elemento de calentamiento o dos o más elementos de calentamiento, según se desee. En algunos casos, el elemento de calentamiento está configurado para proporcionar una temperatura en la cámara de clasificación del módulo de clasificación de partículas incluido que oscila de 5 a 40 °C, tal como de 10 a 35 °C e incluyendo de 15 a 30 °C.
- 50 **[0080]** De manera adicional o alternativa, el citómetro de flujo puede configurarse para controlar la humedad en la cámara de clasificación. En tales casos, el citómetro de flujo puede configurarse para proporcionar una humedad relativa en la cámara de clasificación que sea inferior al 75 %, tal como inferior al 60 % incluyendo inferior al 50 %, donde, en algunos casos, la humedad relativa proporcionada puede oscilar del 1 al 50 %, tal como del 5 al 25 %, incluyendo del 5 al 15 %. La humedad de la cámara de clasificación puede controlarse usando cualquier enfoque conveniente. De acuerdo con la invención, el sistema incluye un flujo cerrado de gas de recirculación entre la cámara de clasificación y el depósito de desechos. Por flujo cerrado de gas de recirculación se entiende que se proporciona una línea de gas de recirculación que no está abierta al entorno externo entre el depósito de desechos y el módulo de clasificación de partículas incluido, de modo que el gas, p. ej., el aire, puede circular entre el interior del depósito de desechos y el interior de la cámara de clasificación de partículas cerrada sin contaminarse por el entorno externo. El flujo cerrado de gas de recirculación está compuesto por una o más líneas fluidicas distintas, p. ej., como se ha descrito anteriormente, que conectan los interiores del depósito de desechos y el módulo de clasificación de partículas incluido. La velocidad de flujo de gas a través del flujo cerrado de gas de recirculación puede variar y, en algunos casos, oscila de 5 a 500 ml/min, tal como de 10 a 200 ml/min. El flujo de aire deseado puede proporcionarse usando cualquier enfoque conveniente, donde, en algunos casos, el flujo de aire deseado se proporciona usando una bomba, tal como una bomba peristáltica. Cuando se desee, el flujo de gas recirculante puede incluir un desecante, p. ej., colocado en una o más regiones o ubicaciones del flujo cerrado de gas de recirculación. Se puede emplear cualquier desecante

conveniente, tales como, aunque no de forma limitativa: materiales arcillosos secos, p. ej., arcilla de montmorillonita, geles de sílice, etc.

5 **[0081]** Como se ha resumido anteriormente, los sistemas en cuestión están configurados para clasificar los componentes de partículas de una muestra, tal como una muestra biológica. En algunas realizaciones, los sistemas incluyen además un sistema de detección de luz configurado para irradiar e identificar componentes de partículas de una muestra en una corriente de flujo. En estas realizaciones, los sistemas incluyen una o más fuentes de luz para irradiar una muestra en una corriente de flujo. La fuente de luz puede ser una fuente de luz de banda ancha, emitiendo luz que tiene una amplia gama de longitudes de onda, tales como, por ejemplo, que abarca 50 nm o más, tal como 100 nm o más, tal como 150 nm o más, tal como 200 nm o más, tal como 250 nm o más, tal como 300 nm o más, tal como 350 nm o más, tal como 400 nm o más e incluyendo que abarca 500 nm o más. Por ejemplo, una fuente de luz de banda ancha adecuada emite luz que tiene longitudes de onda de 200 nm a 1500 nm. Otro ejemplo de una fuente de luz de banda ancha adecuada incluye una fuente de luz que emite luz que tiene longitudes de onda de 400 nm a 1000 nm. Puede emplearse cualquier protocolo de fuente de luz de banda ancha conveniente, tal como una lámpara halógena, lámpara de arco de deuterio, lámpara de arco de xenón, fuente de luz de banda ancha acoplada a fibra estabilizada, un LED de banda ancha con espectro continuo, diodo emisor superluminiscente, diodo emisor de luz semiconductor, fuente de luz blanca LED de amplio espectro, una fuente de luz blanca integrada de múltiples LED, entre otras fuentes de luz de banda ancha o cualquier combinación de las mismas.

20 **[0082]** En otras realizaciones, la fuente de luz es una fuente de luz de banda estrecha que emite una longitud de onda particular o un intervalo estrecho de longitudes de onda. En algunos casos, las fuentes de luz de banda estrecha emiten luz que tiene un intervalo estrecho de longitudes de onda, tales como, por ejemplo, 50 nm o menos, tal como 40 nm o menos, tal como 30 nm o menos, tal como 25 nm o menos, tal como 20 nm o menos, tal como 15 nm o menos, tal como 10 nm o menos, tal como 5 nm o menos, tal como 2 nm o menos e incluyendo fuentes de luz que emiten una longitud de onda de luz específica (es decir, luz monocromática). Puede emplearse cualquier protocolo de fuente de luz de banda estrecha conveniente, tal como un LED de longitud de onda estrecha, diodo láser o una fuente de luz de banda ancha acoplada a uno o más filtros de paso de banda ópticos, rejillas de difracción, monocromadores o cualquier combinación de los mismos.

30 **[0083]** En determinadas realizaciones, la fuente de luz es un láser. En algunos casos, los sistemas en cuestión incluyen un láser de gas, tal como un láser de helio-neón, láser de argón, láser de criptón, láser de xenón, láser de nitrógeno, láser de CO₂, láser de CO, láser excímero de argón-flúor (ArF), láser excímero de criptón-flúor (KrF), láser excímero de xenón-cloro (XeCl) o láser excímero de xenón-flúor (XeF) o una combinación de los mismos. En otros casos, los sistemas en cuestión incluyen un láser de tinte, tal como un láser de estilbena, cumarina o rodamina. En 35 aún otros casos, los láseres de interés incluyen un láser de vapor de metal, tal como un láser de helio-cadmio (HeCd), láser de helio-mercurio (HeHg), láser de helio-selenio (HeSe), láser de helio-plata (HeAg), láser de estroncio, láser de neón-cobre (NeCu), láser de cobre o láser de oro y combinaciones de los mismos. En todavía otros casos, los sistemas en cuestión incluyen un láser de estado sólido, tal como un láser de rubí, un láser Nd:YAG, láser NdCrYAG, láser Er:YAG, láser Nd:YLF, láser Nd:YVO₄, láser Nd:YCa₄O(BO₃)₃, láser Nd:YCOB, láser de zafiro de titanio, láser de tulio YAG, láser de iterbio YAG, láser de iterbio₂O₃ o láseres dopados con cerio y combinaciones de los mismos.

45 **[0084]** Los sistemas en cuestión pueden incluir una o más fuentes de luz, según se desee, tal como dos o más fuentes de luz, tal como tres o más fuentes de luz, tal como cuatro o más fuentes de luz, tal como cinco o más fuentes de luz e incluyendo diez o más fuentes de luz. La fuente de luz puede incluir cualquier combinación de tipos de fuentes de luz. Por ejemplo, en algunas realizaciones, los sistemas en cuestión incluyen una matriz de láseres, tal como una matriz que tiene uno o más láseres de gas, uno o más láseres de tinte y uno o más láseres de estado sólido. En otros casos, cuando se emplean dos fuentes de luz, una primera fuente de luz puede ser una fuente de luz blanca de banda ancha (por ejemplo, LED de luz blanca de banda ancha) y la segunda fuente de luz puede ser una fuente de luz cercana a infrarroja de banda ancha (por ejemplo, LED de banda ancha cercano a infrarrojo). En otros casos, cuando se emplean dos fuentes de luz, una primera fuente de luz puede ser una fuente de luz blanca de banda ancha (por ejemplo, LED de luz blanca de banda ancha) y la segunda fuente de luz puede ser una fuente de luz de espectro estrecho (por ejemplo, LED o láser cercano a infrarrojo). En aún otros casos, la fuente de luz es una pluralidad de fuentes de luz de banda estrecha, cada una de las cuales emite longitudes de onda específicas, tal como dos o más láseres, tal como tres o más láseres, incluyendo 5 o más láseres. En todavía otros casos, la fuente de luz es una matriz de dos o más LED, tal como una matriz de tres o más LED, tal como una matriz de cinco o más LED, incluyendo una matriz de diez o más LED.

60 **[0085]** En algunas realizaciones, las fuentes de luz emiten luz que tiene longitudes de onda que varían de 200 nm a 1500 nm, tal como de 250 nm a 1250 nm, tal como de 300 nm a 1000 nm, tal como de 350 nm a 900 nm e incluyendo de 400 nm a 800 nm. Por ejemplo, la fuente de luz puede incluir una fuente de luz de banda ancha que emite luz que tiene longitudes de onda de 200 nm a 900 nm. En otros casos, la fuente de luz incluye una pluralidad de fuentes de luz de banda estrecha que emiten longitudes de onda que oscilan de 200 nm a 900 nm. Por ejemplo, la fuente de luz puede ser una pluralidad de LED de banda estrecha (1 nm - 25 nm), cada uno de los cuales emite independientemente luz que tiene un intervalo de longitudes de onda entre 200 nm y 900 nm. En algunas realizaciones, la fuente de luz de banda estrecha es una o más lámparas de banda estrecha que emiten luz en el intervalo de 200 nm a 900 nm, tal como una lámpara de cadmio de banda estrecha, lámpara de cesio, lámpara de helio, lámpara de mercurio, lámpara

de mercurio-cadmio, lámpara de potasio, lámpara de sodio, lámpara de neón, lámpara de zinc o cualquier combinación de las mismas. En otras realizaciones, la fuente de luz de banda estrecha incluye uno o más láseres que emiten luz en el intervalo de 200 nm a 1000 nm, tales como láseres de gas, láseres excímeros, láseres de tinte, láseres de vapor de metal y láser de estado sólido como se ha descrito anteriormente.

5 **[0086]** La fuente de luz puede colocarse en un ángulo con respecto a la corriente de flujo que oscila de 10° a 90°, tal como de 15° a 85°, tal como de 20° a 80°, tal como de 25° a 75° e incluyendo de 30° a 60°. En determinadas realizaciones, la fuente de luz se coloca en un ángulo de 90° con respecto a la muestra.

10 **[0087]** En estas realizaciones, los sistemas de interés también incluyen uno o más detectores para detectar y medir la luz de la corriente de flujo. Los detectores de interés pueden incluir, pero sin limitación, sensores ópticos o fotodetectores, tales como sensores de píxeles activos (APS), fotodiodo de avalancha, sensores de imagen, dispositivos de carga acoplada (CCD), dispositivos de carga acoplada intensificada (ICCD), diodos emisores de luz, contadores de fotones, bolómetros, detectores piroeléctricos, fotoresistores, células fotovoltaicas, fotodiodos, tubos
15 fotomultiplicadores, fototransistores, fotoconductores o fotodiodos de puntos cuánticos y combinaciones de los mismos, entre otros fotodetectores. En determinadas realizaciones, la luz transmitida se mide con un dispositivo de carga acoplada (CCD), dispositivos de carga acoplada de semiconductores (CCD), sensores de píxeles activos (APS), sensores de imagen complementarios de semiconductores de óxido metálico (CMOS) o sensores de imagen de semiconductores de óxido metálico de tipo N (NMOS). En algunas realizaciones, el sensor de imágenes es una cámara
20 CCD. Por ejemplo, la cámara puede ser una cámara CCD multiplicadora de electrones (EMCCD) o una cámara CCD intensificada (ICCD). En otras realizaciones, el sensor de imágenes es una cámara de tipo CMOS. Cuando la luz fluorescente o dispersada se mide con un CCD, el área de superficie de detección activa del CCD puede variar, tal como de 0,01 cm² a 10 cm², tal como de 0,05 cm² a 9 cm², tal como de, tal como de 0,1 cm² a 8 cm², tal como de 0,5 cm² a 7 cm² e incluyendo de 1 cm² a 5 cm². El número de fotodetectores en los sistemas en cuestión puede variar,
25 según se desee, tal como 1 o más, tal como 2 o más, tal como 3 o más, tal como 5 o más e incluyendo 10 o más fotodetectores. Cuando los sistemas en cuestión incluyen más de un fotodetector, cada fotodetector puede ser el mismo o la colección de dos o más fotodetectores puede ser una combinación de diferentes fotodetectores.

[0088] El detector puede colocarse a una distancia de la corriente de flujo dependiendo del tipo de fuente de luz
30 irradiante y las características de la muestra (por ejemplo, tamaños de partículas en la muestra). Por ejemplo, el detector puede colocarse a 0,01 mm o más de la muestra, tal como 0,05 mm o más, tal como 0,1 mm o más, tal como 0,5 mm o más, tal como 1 mm o más, tal como 2,5 mm o más, tal como 5 mm o más, tal como 10 mm o más, tal como 15 mm o más, tal como 25 mm o más e incluyendo 50 mm o más de la muestra. El detector también puede colocarse en un ángulo con respecto a la muestra que varía. Por ejemplo, el detector puede colocarse en un ángulo con respecto
35 a la corriente de flujo que oscila de 10° a 90°, tal como de 15° a 85°, tal como de 20° a 80°, tal como de 25° a 75° e incluyendo de 30° a 60°. En determinadas realizaciones, el detector se coloca en un ángulo de 90° con respecto a la corriente de flujo. En algunas realizaciones, los sistemas incluyen un detector que se coloca para detectar la luz dispersada hacia delante de la corriente de flujo. En otras realizaciones, los sistemas incluyen un detector que se coloca para detectar la luz dispersada lateral de la corriente de flujo. En otras realizaciones adicionales, los sistemas
40 incluyen un detector que se coloca para detectar la fluorescencia de la corriente de flujo.

[0089] Detalles adicionales con respecto a los sistemas de citómetro de flujo y componentes de los mismos se describen en la solicitud de Estados Unidos con n.º de serie 15/472 020 publicada como US 2017-0299493.

45 **[0090]** La figura 2 proporciona una ilustración de un sistema de citómetro de flujo que está configurado para acoplarse operativamente a un módulo de clasificación de partículas incluido como se ilustra en la figura 1 para producir un clasificador celular de citómetro de flujo estéril. Como se muestra en la figura 2, el sistema 200 incluye puertas 205 y 210 que se abren para revelar una ubicación 215 a la que puede acoplarse operativamente un módulo de clasificación de partículas incluido. También se muestra el módulo 220 de entrada de muestra.

50 **[0091]** La figura 3 proporciona una ilustración esquemática de un clasificador celular de citómetro de flujo de acuerdo con una realización de la invención. Tal como se ilustra en la figura 3, el clasificador celular 300 incluye un módulo 305 de clasificación de partículas cerrado acoplado operativamente a un módulo 310 de entrada de muestra por la línea 315, donde el módulo 310 de entrada de muestra incluye el tubo 316 de muestra, la línea 317 de muestra y el
55 filtro 318 de aire. El módulo 305 de clasificación de partículas cerrado también está acoplado a un subsistema 320 de fluido envolvente por la línea 321 de fluido envolvente, donde el subsistema de fluido envolvente incluye una bolsa envolvente 322 que contiene una cantidad de fluido envolvente y un filtro envolvente 323. Proximal a, y en relación de calentamiento radiante con, la cámara 306 de clasificación son los elementos 307a y 307b de calentamiento. Una primera salida central 308 de la cámara de clasificación está alineada axialmente con una corriente de desechos y se conecta de manera fluidica a un depósito 330 de desechos por la línea 331. Para una distancia sustancial desde la salida 308, el eje longitudinal de la línea 331 está alineado con el centro de la salida 308 de modo que la corriente de desechos no entre en contacto con una pared interna de la línea 331 en la ubicación proximal a la cámara de clasificación. De manera adicional, la línea 331 hace una curva gradual a una distancia alejada de la salida 308 de modo que cuando la corriente de desechos entra en contacto con una pared interna, lo hace en un ángulo poco
60 profundo con el fin de minimizar la formación de aerosoles. Con el fin de proporcionar un flujo de aire adecuado para lograr la baja humedad deseada en la cámara de clasificación, la línea 331 es un componente de un flujo cerrado de

gas de recirculación que también incluye la bolsa 335 de desechos y la línea 337 de retorno, cuya línea 337 de retorno proporciona una comunicación de gases entre la bolsa 335 de desechos y la cámara de clasificación conectándose con la cámara de clasificación en la ubicación 309 de entrada. La línea 337 de retorno incluye la cámara desecante 338 que elimina el vapor de agua del gas antes de su reintroducción en la cámara de clasificación a través de la ubicación 309 de entrada. También se muestra el filtro 339 de aire. Para proporcionar el flujo de aire deseado en el flujo cerrado de gas de recirculación, se proporciona la bomba peristáltica 340. Un sistema 350 de recogida de partículas clasificadas se muestra en relación de recepción de partículas con la salida 304 de partículas clasificadas del módulo de clasificación de partículas incluido. El sistema 350 de recogida de partículas clasificadas incluye la bolsa 351 de recogida, línea 352 de entrada de medios, salida 353 de muestra que tiene un elemento 354 de acoplamiento y un tubo 355 de extracción de sangre VACUTAINER®.

MÉTODOS PARA CLASIFICAR COMPONENTES DE PARTÍCULAS DE UNA MUESTRA EN UNA CORRIENTE DE FLUJO

[0092] Los aspectos de la divulgación también incluyen métodos para clasificar partículas de una muestra, tales como células en una muestra biológica. Los métodos de acuerdo con ciertas realizaciones incluyen irradiar una muestra que contiene partículas en una corriente de flujo en una región de interrogación de un módulo de clasificación de partículas, detectar luz (por ejemplo, luz fluorescente) de la muestra y clasificar las partículas de la muestra en dos o más recipientes de recogida de muestras. En determinadas realizaciones, la muestra es una muestra biológica y los métodos incluyen clasificar y recoger dos o más tipos diferentes de células.

[0093] En algunas realizaciones, la muestra es una muestra biológica. El término "muestra biológica" se usa en su sentido convencional para referirse a un organismo completo, planta, hongos o un subconjunto de tejidos animales, células o partes componentes que pueden encontrarse en ciertos casos en la sangre, moco, líquido linfático, líquido sinovial, líquido cefalorraquídeo, saliva, lavado broncoalveolar, líquido amniótico, sangre de cordón amniótico, orina, fluido vaginal y semen. En este sentido, una "muestra biológica" se refiere tanto al organismo nativo o un subconjunto de sus tejidos como a un homogeneizado, lisado o extracto preparado a partir del organismo o un subconjunto de sus tejidos, incluyendo, aunque no de forma limitativa, por ejemplo, plasma, suero, líquido espinal, líquido linfático, secciones de la piel, tractos respiratorio, gastrointestinal, cardiovascular y genitourinario, lágrimas, saliva, leche, células sanguíneas, tumores, órganos. Las muestras biológicas pueden ser cualquier tipo de tejido orgánico, incluyendo tanto tejido sano como enfermo (por ejemplo, canceroso, maligno, necrótico, etc.). En determinadas realizaciones, la muestra biológica es una muestra líquida, tal como sangre o derivado de la misma, p. ej., plasma, lágrimas, orina, semen, etc., donde en algunos casos la muestra es una muestra de sangre, incluyendo sangre completa, tal como sangre obtenida de venopunción o punción en el dedo (donde la sangre puede combinarse o no con cualquier reactivo antes del ensayo, tales como conservantes, anticoagulantes, etc.).

[0094] En ciertas realizaciones, la fuente de la muestra es un "mamífero" o "de la clase Mammalia", donde estos términos se usan ampliamente para describir organismos que están dentro de la clase Mammalia, incluyendo los órdenes carnívoro (por ejemplo, perros y gatos), roedores (por ejemplo, ratones, cobayas y ratas) y primates (por ejemplo, seres humanos, chimpancés y monos). En algunos casos, los sujetos son humanos. Los métodos pueden aplicarse a muestras obtenidas de sujetos humanos de ambos géneros y en cualquier etapa de desarrollo (es decir, neonatos, lactantes, juveniles, adolescentes, adultos), donde en ciertas realizaciones el sujeto humano es un joven, adolescente o adulto. Si bien la presente invención puede aplicarse a muestras de un sujeto humano, debe entenderse que los métodos también pueden llevarse a cabo en muestras de otros sujetos animales (es decir, en "sujetos no humanos") tales como, aunque no de forma limitativa, aves, ratones, ratas, perros, gatos, ganado y caballos.

[0095] Las células de interés pueden ser objeto de separación de la corriente de flujo de acuerdo con una variedad de parámetros, tales como una característica fenotípica identificada mediante la unión de una etiqueta fluorescente particular a las células de interés. En algunas realizaciones, el sistema está configurado para desviar las gotículas analizadas que se determina que incluyen una célula diana. Una diversidad de células pueden ser objeto de clasificación usando los métodos en cuestión. Las células diana de interés incluyen, pero sin limitación, células madre, células T, células dendríticas, células B, granulocitos, células de leucemia, células de linfoma, células de virus (por ejemplo, células de VIH), células NK, macrófagos, monocitos, fibroblastos, células epiteliales, células endoteliales y células eritroides. Las células diana de interés incluyen células que tienen un marcador de superficie celular conveniente o antígeno que puede capturar o marcarse mediante un agente de afinidad conveniente o conjugado del mismo. Por ejemplo, la célula diana puede incluir un antígeno de superficie celular tal como CD11b, CD123, CD14, CD15, CD16, CD19, CD193, CD2, CD25, CD27, CD3, CD335, CD36, CD4, CD43, CD45RO, CD56, CD61, CD7, CD8, CD34, CD1c, CD23, CD304, CD235a, receptor de células T alfa/beta, receptor de células T gamma/delta, CD253, CD95, CD20, CD105, CD117, CD120b, Notch4, Lgr5 (N-terminal), SSEA-3, antígeno TRA-1-60, disialogangliósido GD2 y CD71. En algunas realizaciones, la célula diana se selecciona de células que contienen VIH, una célula Treg, poblaciones de células T específicas de antígeno, células tumorales o células progenitoras hematopoyéticas (CD34+) de sangre completa, médula ósea o sangre del cordón.

[0096] Al poner en práctica los métodos en cuestión, un módulo de clasificación de partículas está acoplado a un sistema de clasificación de partículas. Para acoplar el módulo de clasificación de partículas al sistema de clasificación de partículas, los alineadores en la pared exterior del alojamiento del módulo de clasificación de partículas se ponen

en contacto con los alineadores en el registro del sistema de clasificación de partículas. Cuando están presente, se pueden acoplar uno o más sujetadores cuando los alineadores en la pared exterior del alojamiento del módulo de clasificación de partículas se ponen en contacto con los alineadores del registro del sistema de clasificación de partículas para fijar el módulo de clasificación de partículas al sistema de clasificación de partículas. Dependiendo de la muestra que se esté analizando, el módulo de clasificación de partículas puede mantenerse en contacto con el sistema de clasificación de partículas durante cualquier duración deseada, tal como durante 1 minuto o más, tal como 2 minutos o más, tal como 5 minutos o más, tal como 10 minutos o más, tal como 30 minutos o más, tal como 60 minutos o más, tal como 120 minutos o más, tal como 240 minutos o más e incluyendo 480 minutos o más.

[0097] Después de acoplar el módulo de clasificación de partículas al sistema de clasificación de partículas, se inyecta una cantidad de una muestra fluidica en el módulo de clasificación de partículas. La cantidad de muestra inyectada en el módulo de clasificación de partículas puede variar, por ejemplo, oscilando de 0,001 ml a 1000 ml, tal como de 0,005 ml a 900 ml, tal como de 0,01 ml a 800 ml, tal como de 0,05 ml a 700 ml, tal como de 0,1 ml a 600 ml, tal como de 0,5 ml a 500 ml, tal como de 1 ml a 400 ml, tal como de 2 ml a 300 ml e incluyendo de 5 ml a 100 ml de muestra.

[0098] Los métodos de acuerdo con las realizaciones de la presente divulgación incluyen contar y clasificar partículas etiquetadas (por ejemplo, células diana) en una muestra. Al poner en práctica los métodos en cuestión, la muestra fluidica que incluye las partículas se introduce primero en la boquilla de flujo del módulo de clasificación de partículas. Al salir de la boquilla de flujo, las partículas se hacen pasar sustancialmente una a la vez a través de la interrogación de muestras, donde cada una de las partículas se irradia a una fuente de luz y las mediciones de los parámetros de dispersión de luz y las emisiones fluorescentes según se desee (por ejemplo, dos o más parámetros de dispersión de luz y mediciones de una o más emisiones fluorescentes) se registran por separado para cada partícula. Las partículas se pasan en la corriente de flujo sustancialmente una a la vez en una trayectoria de flujo a través de la región de interrogación de la muestra en el módulo de clasificación de partículas donde cada partícula se ilumina por una fuente de luz. Dependiendo de las propiedades de la corriente de flujo que se interroga, se pueden irradiar 0,001 mm o más de la corriente de flujo con luz, tal como 0,005 mm o más, tal como 0,01 mm o más, tal como 0,05 mm o más, tal como 0,1 mm o más, tal como 0,5 mm o más e incluyendo 1 mm o más de la corriente de flujo puede irradiarse con luz. En determinadas realizaciones, los métodos incluyen irradiar una sección transversal plana de la corriente de flujo en la región de interrogación de la muestra, tal como con un láser (como se ha descrito anteriormente). En otras realizaciones, los métodos incluyen irradiar una longitud predeterminada de la corriente de flujo en la región de interrogación de la muestra, tal como corresponde al perfil de irradiación de un rayo láser difuso o lámpara.

[0099] En determinadas realizaciones, los métodos que incluyen irradiar la corriente de flujo en o cerca del orificio de boquilla de la celda de flujo. Por ejemplo, los métodos pueden incluir irradiar la corriente de flujo en una posición de aproximadamente 0,001 mm o más desde el orificio de la boquilla, tal como 0,005 mm o más, tal como 0,01 mm o más, tal como 0,05 mm o más, tal como 0,1 mm o más, tal como 0,5 mm o más e incluyendo 1 mm o más desde el orificio de la boquilla. En determinadas realizaciones, los métodos incluyen irradiar la corriente de flujo inmediatamente adyacente al orificio de boquilla de la celda de flujo.

[0100] En serie con una región de detección, se usan detectores, tales como tubos fotomultiplicadores (o "PMT"), para registrar la luz que pasa a través de cada partícula (en ciertos casos denominados dispersión de luz frontal), luz que se refleja ortogonalmente a la dirección del flujo de las partículas a través de la región de detección (en algunos casos denominados dispersión de luz ortogonal o lateral) y luz fluorescente emitida desde las partículas, si está etiquetada con marcador(es) fluorescente(s), a medida que la partícula pasa a través de la región de detección y es iluminada por la fuente de energía. Cada una de dispersión de luz delantera (o FSC), dispersión de luz ortogonal (SSC) y emisiones de fluorescencia (FL1, FL2, etc.) incluyen un parámetro separado para cada partícula (o cada "evento"). Por tanto, por ejemplo, se pueden recopilar (y registrar) dos, tres o cuatro parámetros de una partícula etiquetada con dos marcadores de fluorescencia diferentes.

[0101] Como se ha descrito anteriormente, los protocolos de detección de luz adecuados incluyen, pero sin limitación, sensores ópticos o fotodetectores, tales como sensores de píxeles activos (APS), fotodiodo de avalancha, sensores de imagen, dispositivos de carga acoplada (CCD), dispositivos de carga acoplada intensificada (ICCD), diodos emisores de luz, contadores de fotones, bolómetros, detectores piroeléctricos, fotorresistores, células fotovoltaicas, fotodiodos, tubos fotomultiplicadores, fototransistores, fotoconductores o fotodiodos de puntos cuánticos y combinaciones de los mismos, entre otros fotodetectores. En determinadas realizaciones, la luz de la corriente de flujo irradiada en la región de interrogación de la muestra del módulo de clasificación de partículas se mide con un dispositivo de carga acoplada (CCD), dispositivos de carga acoplada de semiconductores (CCD), sensores de píxeles activos (APS), sensores de imagen complementarios de semiconductores de óxido metálico (CMOS) o sensores de imagen de semiconductores de óxido metálico de tipo N (NMOS). En determinadas realizaciones, la luz se mide con un dispositivo de carga acoplada (CCD). Cuando la luz de la corriente de flujo irradiada en la región de interrogación de la muestra del módulo de clasificación de partículas se mide con un CCD, el área de superficie de detección activa del CCD puede variar, tal como de 0,01 cm² a 10 cm², tal como de 0,05 cm² a 9 cm², tal como de, tal como de 0,1 cm² a 8 cm², tal como de 0,5 cm² a 7 cm² e incluyendo de 1 cm² a 5 cm².

[0102] Los datos registrados para cada partícula se analizan en tiempo real o se almacenan en un medio de

almacenamiento y análisis de datos, tal como un ordenador, según se desee. La patente de EE. UU. n.º 4 284 412 describe la configuración y el uso de un citómetro de flujo de interés equipado con una única fuente de luz, mientras que la patente de EE. UU. n.º 4 727 020 describe la configuración y el uso de un citómetro de flujo equipado con dos fuentes de luz.

5
[0103] En realizaciones de la presente divulgación de acuerdo con ciertas realizaciones, las partículas se detectan e identifican de manera única exponiendo las partículas a la luz de excitación y midiendo la fluorescencia de cada partícula en uno o más canales de detección, según se desee. La fluorescencia emitida en los canales de detección usados para identificar las partículas y los complejos de unión asociados con las mismas puede medirse después de la excitación con una única fuente de luz o puede medirse por separado después de la excitación con distintas fuentes de luz. Si se usan fuentes de luz de excitación separadas para excitar las etiquetas de partículas, las etiquetas pueden seleccionarse de modo que todas las etiquetas sean excitables por cada una de las fuentes de luz de excitación usadas.

15
[0104] Los métodos en cierta realización también incluyen la adquisición, análisis y registro de datos, tal como con un ordenador, en donde múltiples canales de datos registran datos de cada detector para la dispersión de luz y la fluorescencia emitida por cada partícula a medida que pasa a través de la región de interrogación de la muestra del módulo de clasificación de partículas. En estas realizaciones, el análisis incluye clasificar y contar partículas de modo que cada partícula esté presente como un conjunto de valores de parámetro digitalizados. Los sistemas en cuestión pueden configurarse para activarse en un parámetro seleccionado con el fin de distinguir las partículas de interés del fondo y el ruido. "Disparo" se refiere a un umbral preestablecido para la detección de un parámetro y puede usarse como un medio para detectar el paso de una partícula a través de la fuente de luz. La detección de un evento que supera el umbral del parámetro seleccionado desencadena la adquisición de datos de fluorescencia y dispersión de luz para la partícula. No se adquieren datos para partículas u otros componentes en el medio que se está analizando que provocan una respuesta por debajo del umbral. El parámetro de disparo puede ser la detección de luz dispersada hacia delante provocada por el paso de una partícula a través del haz de luz. A continuación, el citómetro de flujo detecta y recopila los datos de dispersión de luz y fluorescencia para la partícula.

20
[0105] A continuación, una subpoblación particular de interés se analiza adicionalmente mediante "activación periódica" basándose en los datos recopilados para toda la población. Para seleccionar una activación apropiada, los datos se representan gráficamente para obtener la mejor separación de subpoblaciones posible. Este procedimiento puede realizarse trazando la dispersión de luz frontal (FSC) frente a la dispersión de luz lateral (es decir, ortogonal) (SSC) en un diagrama de puntos bidimensional. A continuación, se selecciona una subpoblación de partículas (es decir, aquellas células dentro de la puerta) y se excluyen las partículas que no están dentro de la puerta. Cuando se desee, la puerta puede seleccionarse dibujando una línea alrededor de la subpoblación deseada usando un cursor en una pantalla de ordenador. Solo esas partículas dentro de la puerta se analizan más a continuación trazando los otros parámetros para estas partículas, tal como la fluorescencia. Cuando se desee, el análisis anterior puede configurarse para producir recuentos de las partículas de interés en la muestra.

30
[0106] En determinadas realizaciones, el sistema funciona para determinar un intervalo de tiempo durante el cual uno o más recipientes en el extremo distal del módulo de clasificación de partículas se alinean con la ubicación de recepción de gotículas desviadas. En algunos casos, la señal de desviación incluye una subseñal de deflexión inicial y una subseñal de deflexión final; y el sistema funciona para producir la señal de deflexión enviando una subseñal de desviación inicial al comienzo del intervalo de tiempo que configura el deflector para desviar una gotícula analizada, cuando está presente. En determinados casos, los métodos incluyen enviar una subseñal de desviación final al módulo de clasificación de partículas al final del intervalo de tiempo que configura el deflector para no desviar una gotícula analizada. En algunas realizaciones, los métodos incluyen enviar una subseñal de desviación final al módulo de clasificación de partículas después de que una única gotícula analizada se haya desviado durante el intervalo de tiempo, donde la subseñal de desviación final configura el deflector para no desviar una gotícula analizada.

45
[0107] En algunos casos, los métodos pueden incluir mantener una temperatura deseada en la cámara de clasificación del módulo de clasificación. Por ejemplo, los métodos pueden incluir poner en funcionamiento uno o más elementos calentadores, que puede integrarse con el sistema o módulo, para mantener una temperatura deseada en la cámara de clasificación, p. ej., como se ha descrito anteriormente, donde la temperatura deseada puede estar por encima de un punto de rocío en la cámara de clasificación.

50
[0108] En algunas realizaciones, los métodos incluyen separar el módulo de clasificación de partículas del sistema de clasificación de partículas desacoplando los alineadores (y, cuando estén presentes, sujetadores) para separar el módulo de clasificación de partículas del sistema de clasificación de partículas. En algunos casos, los métodos incluyen además volver a unir un segundo módulo de clasificación de partículas al sistema de clasificación de partículas después de que se haya retirado el primer módulo de clasificación de partículas. El primer módulo de clasificación de partículas puede lavarse y esterilizarse para su uso posterior (por ejemplo, con un autoclave) o puede desecharse. En este sentido, en algunas realizaciones, los módulos de clasificación de partículas como se describen en el presente documento son desechables, tal como después de un solo uso.

65

SISTEMAS CONTROLADOS POR ORDENADOR

[0109] Los aspectos de la presente divulgación incluyen además sistemas controlados por ordenador para poner en práctica los métodos en cuestión, donde los sistemas incluyen, además, uno o más ordenadores para la automatización completa o la automatización parcial de un sistema para poner en práctica los métodos descritos en el presente documento. En algunas realizaciones, los sistemas incluyen un ordenador que tiene un medio de almacenamiento legible por ordenador con un programa informático almacenado en el mismo, donde el programa informático, cuando se carga en el ordenador, incluye instrucciones para irradiar una muestra en una corriente de flujo en la región de interrogación de la muestra de un módulo de clasificación de partículas; algoritmo para detectar luz de la muestra y medir la luz detectada en una o más longitudes de onda y algoritmo para clasificar las partículas en la muestra en dos o más recipientes de recogida de muestras.

[0110] En realizaciones, el sistema incluye un módulo de entrada, un módulo de procesamiento y un módulo de salida. En algunas realizaciones, los sistemas en cuestión pueden incluir un módulo de entrada de modo que los parámetros o la información sobre cada muestra fluidica, intensidad y longitudes de onda (discretas o intervalos) de la fuente de luz aplicada, las propiedades del módulo de clasificación de partículas, incluyendo el tamaño de la cámara de boquilla de la celda de flujo, el tamaño del orificio de la boquilla, las dimensiones de la región de interrogación de la muestra del módulo de clasificación de partículas, la tensión aplicada de las placas deflectoras, la posición de los recipientes en el extremo distal del módulo de clasificación de partículas, la duración de la irradiación por la fuente de luz, el número de diferentes fuentes de luz, la distancia desde la fuente de luz hasta la corriente de flujo en la región de interrogación de la muestra del módulo de clasificación de partículas, la longitud focal de cualquier componente de ajuste óptico, el índice de refracción del medio de corriente de flujo (por ejemplo, fluido envolvente), la presencia de cualquier separador de longitudes de onda, las propiedades de los separadores de longitudes de onda, incluyendo la anchura de paso de banda, la opacidad, la separación de la rejilla, así como las propiedades y la sensibilidad de los fotodetectores.

[0111] El módulo de procesamiento incluye una memoria que tiene una pluralidad de instrucciones para realizar las etapas de los métodos en cuestión, tales como irradiar una muestra en una corriente de flujo en la región de interrogación de la muestra de un módulo de clasificación de partículas; detectar la luz de la muestra en la corriente de flujo, medir la luz detectada en una o más longitudes de onda y clasificar las partículas en la muestra en dos o más recipientes de recogida de muestras colocados en el extremo distal del módulo de clasificación de partículas.

[0112] Después de que el módulo de procesamiento haya realizado una o más de las etapas de los métodos en cuestión, un módulo de salida comunica los resultados al usuario, tal como visualizándolos en un monitor o imprimiendo un informe.

[0113] Los sistemas en cuestión pueden incluir tanto componentes de hardware como de software, donde los componentes de hardware pueden adoptar la forma de una o más plataformas, p. ej., en forma de servidores, de modo que los elementos funcionales, es decir, aquellos elementos del sistema que llevan a cabo tareas específicas (tales como la gestión de entrada y salida de información, procesamiento de información, etc.) del sistema pueden llevarse a cabo mediante la ejecución de aplicaciones informáticas en y a través de la una o más plataformas informáticas representadas del sistema.

[0114] Los sistemas pueden incluir una pantalla y un dispositivo de entrada de operador. Los dispositivos de entrada del operador pueden, por ejemplo, ser un teclado, ratón o similares. El módulo de procesamiento incluye un procesador que tiene acceso a una memoria que tiene instrucciones almacenadas en la misma para realizar las etapas de los métodos en cuestión, tales como irradiar una muestra en una corriente de flujo en la región de interrogación de la muestra de un módulo de clasificación de partículas; detectar la luz de la muestra en la corriente de flujo, medir la luz detectada en una o más longitudes de onda y clasificar las partículas en la muestra en dos o más recipientes de recogida de muestras colocados en el extremo distal del módulo de clasificación de partículas.

[0115] El módulo de procesamiento puede incluir un sistema operativo, un controlador de interfaz gráfica de usuario (GUI), una memoria de sistema, dispositivos de almacenamiento de memoria y controladores de entrada-salida, memoria caché, una unidad de copia de seguridad de datos y muchos otros dispositivos. El procesador puede ser un procesador disponible comercialmente o puede ser uno de otros procesadores que están o estarán disponibles. El procesador ejecuta el sistema operativo y el sistema operativo interactúa con el firmware y el hardware de una manera conocida y facilita al procesador la coordinación y ejecución de las funciones de diversos programas informáticos que pueden escribirse en una variedad de lenguajes de programación, tales como Java, Perl, C++, otros lenguajes de alto nivel o bajo nivel, así como combinaciones de los mismos, tal y como se conoce en la técnica. El sistema operativo, normalmente en cooperación con el procesador, coordina y ejecuta funciones de los otros componentes del ordenador. El sistema operativo también proporciona planificación, control de entrada-salida, gestión de archivos y datos, gestión de memoria y control de comunicación y servicios relacionados, todo de acuerdo con técnicas conocidas.

[0116] La memoria del sistema puede ser cualquiera de una variedad de dispositivos de almacenamiento de memoria conocidos o futuros. Los ejemplos incluyen cualquier memoria de acceso aleatorio (RAM) comúnmente disponible, un medio magnético, tal como un disco duro o cinta residente, un medio óptico tal como un disco compacto de lectura y escritura, dispositivos de memoria flash u otro dispositivo de almacenamiento de memoria. El dispositivo

de almacenamiento de memoria puede ser cualquiera de una variedad de dispositivos conocidos o futuros, incluyendo una unidad de disco compacto, una unidad de cinta, una unidad de disco duro extraíble o una unidad de disquete. Tales tipos de dispositivos de almacenamiento de memoria normalmente leen de, y/o escriben a, un medio de almacenamiento de programas (no mostrado) tal como, respectivamente, un disco compacto, una cinta magnética, un disco duro extraíble o un disquete. Cualquiera de estos medios de almacenamiento de programas, u otros actualmente en uso o que puedan desarrollarse más adelante, puede considerarse un producto de programa informático. Como se apreciará, estos medios de almacenamiento de programas normalmente almacenan un programa de software informático y/o datos. Los programas de software informático, también llamados lógica de control informático, normalmente se almacenan en la memoria del sistema y/o el dispositivo de almacenamiento de programas usado junto con el dispositivo de almacenamiento de memoria.

[0117] En algunas realizaciones, se describe un producto de programa informático que comprende un medio usable por ordenador que tiene lógica de control (programa de software informático, incluyendo el código de programa) almacenada en el mismo. La lógica de control, cuando se ejecuta por el procesador del ordenador, hace que el procesador realice las funciones descritas en el presente documento. En otras realizaciones, algunas funciones se implementan principalmente en hardware usando, por ejemplo, una máquina de estado de hardware. La implementación de la máquina de estado de hardware para realizar las funciones descritas en el presente documento será evidente para los expertos en la materia.

[0118] La memoria puede ser cualquier dispositivo adecuado en el que el procesador pueda almacenar y recuperar datos, tales como dispositivos de almacenamiento magnéticos, ópticos o de estado sólido (incluidos discos magnéticos u ópticos, cintas o RAM o cualquier otro dispositivo adecuado, ya sea fijo o portátil). El procesador puede incluir un microprocesador digital de propósito general programado adecuadamente a partir de un medio legible por ordenador que lleva el código de programa necesario. La programación puede proporcionarse de forma remota al procesador a través de un canal de comunicación o guardarse previamente en un producto de programa informático tal como una memoria o algún otro medio de almacenamiento legible por ordenador portátil o fijo usando cualquiera de esos dispositivos en conexión con la memoria. Por ejemplo, un disco magnético u óptico puede llevar la programación y puede ser leído por un escritor/lector de disco. Los sistemas de la invención también incluyen programación, p. ej., en forma de productos de programas informáticos, algoritmos para su uso en la práctica de los métodos descritos anteriormente. La programación de acuerdo con la presente invención puede grabarse en medios legibles por ordenador, p. ej., cualquier medio que pueda leerse y accederse directamente por un ordenador. Tales medios incluyen, pero sin limitación: medios de almacenamiento magnético, tales como disquetes, medios de almacenamiento en disco duro y cinta magnética; medios de almacenamiento óptico tales como CD-ROM; medios de almacenamiento eléctrico tales como RAM y ROM; unidad flash portátil; e híbridos de estas categorías tales como medios de almacenamiento magnético/óptico.

[0119] El procesador también puede tener acceso a un canal de comunicación para comunicarse con un usuario en una ubicación remota. Por ubicación remota se entiende que el usuario no está directamente en contacto con el sistema y retransmite información de entrada a un gestor de entrada desde un dispositivo externo, tal como un ordenador conectado a una red de área amplia ("WAN"), una red telefónica, una red satelital o cualquier otro canal de comunicación adecuado, incluyendo un teléfono móvil (es decir, teléfono inteligente).

[0120] En algunas realizaciones, los sistemas de acuerdo con la presente divulgación pueden configurarse para incluir una interfaz de comunicación. En algunas realizaciones, la interfaz de comunicación incluye un receptor y/o transmisor para comunicarse con una red y/u otro dispositivo. La interfaz de comunicación se puede configurar para comunicación por cable o inalámbrica, incluyendo, aunque no de forma limitativa, comunicación por radiofrecuencia (RF) (por ejemplo, identificación por radiofrecuencia (RFID), protocolos de comunicación Zigbee, WiFi, infrarrojos, bus serie universal (USB) inalámbrico, banda ultra ancha (UWB), protocolos de comunicación Bluetooth® y comunicación celular, tal como acceso múltiple por división de código (CDMA) o sistema global para comunicaciones móviles (GSM).

[0121] En una realización, la interfaz de comunicación está configurada para incluir uno o más puertos de comunicación, p. ej., puertos o interfaces físicos tales como un puerto USB, un puerto RS-232 o cualquier otro puerto de conexión eléctrica adecuado para permitir la comunicación de datos entre los sistemas en cuestión y otros dispositivos externos tales como un terminal informático (por ejemplo, en la consulta de un médico o en un entorno hospitalario) que está configurado para una comunicación de datos complementaria similar.

[0122] En una realización, la interfaz de comunicación está configurada para comunicación infrarroja, comunicación Bluetooth® o cualquier otro protocolo de comunicación inalámbrica adecuado para permitir que los sistemas en cuestión se comuniquen con otros dispositivos, tales como terminales y/o redes informáticas, teléfonos móviles habilitados para comunicación, asistentes digitales personales o cualquier otro dispositivo de comunicación que el usuario pueda usar junto con los mismos, en la gestión del tratamiento de un problema de salud, tal como VIH, SIDA o anemia.

[0123] En una realización, la interfaz de comunicación está configurada para proporcionar una conexión para la transferencia de datos utilizando el protocolo de internet (IP) a través de una red de telefonía móvil, servicio de mensajes cortos (SMS), conexión inalámbrica a un ordenador personal (PC) en una red de área local (LAN) que está

conectada a internet o conexión WiFi a internet en un punto de acceso WiFi.

[0124] En una realización, los sistemas en cuestión están configurados para comunicarse de forma inalámbrica con un dispositivo servidor a través de la interfaz de comunicación, p. ej., usando un estándar común, tal como 802.11 o protocolo de RF Bluetooth® o un protocolo de infrarrojos IrDA. El dispositivo servidor puede ser otro dispositivo portátil, tal como un teléfono inteligente, asistente digital personal (PDA) u ordenador portátil; o un dispositivo más grande, tal como un ordenador de sobremesa, aparato, etc. En algunas realizaciones, el dispositivo servidor tiene una pantalla, tal como una pantalla de cristal líquido (LCD), así como un dispositivo de entrada, tales como botones, un teclado, ratón o pantalla táctil.

[0125] En algunas realizaciones, la interfaz de comunicación está configurada para comunicar automática o semiautomáticamente datos almacenados en los sistemas en cuestión, p. ej., en una unidad de almacenamiento de datos opcional, usando una red o dispositivo de servidor uno o más de los protocolos y/o mecanismos de comunicación descritos anteriormente.

[0126] Los controladores de salida pueden incluir controladores para cualquiera de una variedad de dispositivos de visualización conocidos para presentar información a un usuario, ya sea un humano o una máquina, ya sea local o remota. Si uno de los dispositivos de visualización proporciona información visual, esta información normalmente puede organizarse lógicamente y/o físicamente como una matriz de elementos de imagen. Un controlador de interfaz gráfica de usuario (GUI) puede incluir cualquiera de una diversidad de programas de software conocidos o futuros para proporcionar interfaces gráficas de entrada y salida entre el sistema y un usuario, y para procesar entradas de usuario. Los elementos funcionales del ordenador pueden comunicarse entre sí a través del bus de sistema. Algunas de estas comunicaciones pueden lograrse en realizaciones alternativas usando red u otros tipos de comunicaciones remotas. El gestor de salida también puede proporcionar información generada por el módulo de procesamiento a un usuario en una ubicación remota, p. ej., a través de Internet, teléfono o red satelital, de acuerdo con técnicas conocidas. La presentación de datos por el gestor de salida puede implementarse de acuerdo con una diversidad de técnicas conocidas. Como algunos ejemplos, los datos pueden incluir documentos SQL, HTML o XML, correo electrónico u otros archivos o datos en otras formas. Los datos pueden incluir direcciones URL de Internet para que un usuario pueda recuperar SQL, HTML, XML u otros documentos o datos adicionales de fuentes remotas. La una o más plataformas presentes en los sistemas en cuestión pueden ser cualquier tipo de plataforma informática conocida o un tipo que se desarrollará en el futuro, aunque normalmente serán de una clase de ordenador comúnmente denominado servidores. Sin embargo, también pueden ser un ordenador central, una estación de trabajo u otro tipo de ordenador. Pueden conectarse a través de cualquier tipo conocido o futuro de cableado u otro sistema de comunicación, incluidos los sistemas inalámbricos, ya sea en red o de otra manera. Pueden estar ubicados conjuntamente o pueden estar físicamente separados. Se pueden emplear diversos sistemas operativos en cualquiera de las plataformas informáticas, dependiendo posiblemente del tipo y/o marca de la plataforma informática elegida. Los sistemas operativos apropiados incluyen Windows NT®, Windows XP, Windows 7, Windows 8, iOS, Sun Solaris, Linux, OS/400, Compaq Tru64 Unix, SGI IRIX, Siemens Reliant Unix y otros.

40 KITS

[0127] Los aspectos que no forman parte de la presente invención incluyen además kits, donde los kits incluyen uno o más módulos de clasificación de partículas incluidos, p. ej., como se ha descrito en el presente documento. En algunos ejemplos, los kits también incluyen uno o más módulos de entrada de muestras y uno o más depósitos de desechos, p. ej., bolsas. Los kits también pueden incluir uno o más conductos para acoplar de manera fluidica el módulo de entrada de muestra y el tanque de desechos al módulo de clasificación de partículas. En algunos casos, los kits también incluyen conectores para acoplar componentes de los sistemas en cuestión entre sí, tales como conectores para acoplar el módulo de entrada de muestra al módulo de clasificación de partículas, conectores para acoplar el tanque de desechos al módulo de clasificación de partículas, así como conectores para acoplar un subsistema de suministro de fluido envolvente al módulo de clasificación de partículas. Los kits pueden incluir conectores tales como conectores Luer-lok, conectores de ajuste por roscado, así como un conector que une dos componentes con un sello rompible. Los kits pueden incluir uno o más recipientes de recepción de partículas clasificadas, tal como un componente de recogida de partículas clasificadas, así como componentes de los mismos, p. ej., recipientes de recepción evacuados, tal como se ha descrito anteriormente. En determinados casos, los kits pueden incluir uno o más componentes de ensayo (por ejemplo, reactivos etiquetados, tampones, etc., tal como se ha descrito anteriormente). En algunos casos, los kits pueden incluir además un dispositivo de recogida de muestras, p. ej., una lanceta o aguja configurada para pinchar la piel para obtener una muestra de sangre completa, una pipeta, etc., según se desee.

[0128] Los diversos componentes de ensayo de los kits pueden estar presentes en recipientes separados o algunos o todos ellos pueden combinarse previamente. Por ejemplo, en algunos casos, uno o más componentes del kit, p. ej., módulo de clasificación de partículas, módulo de entrada de muestra y tanque de desechos, están presentes en una bolsa sellada, p. ej., un embalaje estéril, tal como una bolsa o sobre de aluminio estéril.

[0129] Además de los componentes anteriores, los kits en cuestión pueden incluir además instrucciones para poner en práctica los métodos en cuestión. Estas instrucciones pueden estar presentes en los kits en cuestión en una

variedad de formas, una o más de las cuales pueden estar presentes en el kit. Una forma en la que estas instrucciones pueden estar presentes es como información impresa en un medio o sustrato adecuado, p. ej., una pieza o unas piezas de papel en las que se imprime la información, en el embalaje del kit, en un prospecto y similares. Otra forma más de estas instrucciones es un medio legible por ordenador, p. ej., disquete, disco compacto (CD), unidad flash portátil y similares, en el que se haya grabado la información. Otra forma más de estas instrucciones que puede estar presente es una dirección de sitio web que se puede usar a través de internet para acceder a la información en un sitio eliminado.

UTILIDAD

[0130] Los módulos de clasificación de partículas, sistemas de clasificación de partículas, métodos y sistemas informáticos en cuestión se pueden usar en una variedad de aplicaciones donde es deseable analizar y clasificar componentes de partículas en una muestra en un medio fluido, tal como una muestra biológica. Las realizaciones de la invención también se pueden usar para proporcionar una mayor esterilidad a los sistemas de clasificación de partículas que mejoran la recogida de muestras de mayor pureza, así como reducen las incidencias de contaminación cruzada entre las muestras analizadas, tal como en ensayos de investigación y de laboratorio de alto rendimiento. Las realizaciones de la invención también se usan donde sea deseable proporcionar un citómetro de flujo con precisión mejorada de clasificación de células, recogida mejorada de partículas, eficiencia de carga de partículas, carga de partículas más precisa y deflexión de partículas mejorada durante la clasificación de células.

[0131] Las realizaciones de la invención también se usan en aplicaciones en las que pueden desearse células preparadas a partir de una muestra biológica para investigación, pruebas de laboratorio o para su uso en terapia. En algunas realizaciones, los métodos y dispositivos en cuestión pueden facilitar la obtención de células individuales preparadas a partir de una muestra biológica fluidica o tisular objetivo. Por ejemplo, los métodos y sistemas en cuestión facilitan la obtención de células a partir de muestras fluidicas o tisulares para su uso como muestra de investigación o diagnóstico para enfermedades tales como el cáncer. De igual manera, los métodos y sistemas en cuestión pueden facilitar la obtención de células a partir de muestras fluidicas o tisulares para su uso en terapia. Los métodos y dispositivos de la presente divulgación permiten separar y recoger células de una muestra biológica (por ejemplo, órgano, tejido, fragmento de tejido, fluido) con eficiencia mejorada y bajo coste en comparación con los sistemas de citometría de flujo tradicionales.

[0132] Las realizaciones de la invención proporcionan dispositivos y métodos de clasificación cerrados, que puede reducir, si no eliminar, uno o más de: riesgo de contaminación de la muestra; riesgo de exposición de los operarios a los componentes de la muestra, que pueden ser importantes en situaciones en las que se estén procesando muestras de riesgo biológico; etc.

[0133] Las muestras clasificadas por citometría de flujo producidas usando sistemas y métodos como se describe en el presente documento pueden administrarse a un sujeto en un protocolo de terapia celular o cualquier aplicación en la que se desee la infusión de un volumen estéril de células vivas en un sujeto. Las condiciones que pueden tratarse mediante la administración de la muestra clasificada por citometría de flujo incluyen, pero sin limitación, trastornos de la sangre, trastornos del sistema inmunológico, daño a órganos, , etc.

[0134] En este sentido, los sistemas y métodos descritos en el presente documento pueden usarse en protocolos de terapia celular. Un protocolo de terapia celular es un protocolo en el que material celular viable que incluye, p. ej., células y tejidos, puede prepararse e introducirse en un sujeto como tratamiento terapéutico. Un protocolo típico de terapia celular puede incluir las siguientes etapas: recogida de muestras, aislamiento celular, modificación genética, cultivo y expansión *in vitro*, recolección de células, reducción y lavado del volumen de muestra, bioconservación, almacenamiento e introducción de células en un sujeto. El protocolo puede comenzar con la recogida de células y tejidos viables a partir de tejidos de origen de un sujeto para producir una muestra de células y/o tejidos. La muestra puede recogerse mediante cualquier procedimiento adecuado que incluya, p. ej., administrar un agente de movilización celular a un sujeto, extraer sangre de un sujeto, extraer la médula ósea de un sujeto, etc. Después de recoger la muestra, el enriquecimiento celular puede ocurrir a través de varios métodos que incluyen, p. ej., métodos basados en centrifugación, métodos basados en filtros, elutriación, métodos de separación magnética, clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS) y similares. En algunos casos, las células enriquecidas pueden modificarse genéticamente mediante cualquier método conveniente, p. ej., edición de genes mediada por nucleasas. Las células modificadas genéticamente pueden cultivarse, activarse y expandirse *in vitro*. En algunos casos, las células se conservan, p. ej., crioconservan, y almacenan para uso futuro donde las células se descongelan y luego se administran a un paciente, p. ej., las células pueden infundirse al paciente.

[0135] Aunque la invención anterior se ha descrito con cierto detalle a modo de ilustración y ejemplo para fines de claridad de comprensión, es fácilmente evidente para los expertos en la materia a la luz de las enseñanzas de esta invención que se pueden realizar ciertos cambios y modificaciones en la misma sin desviarse del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

[0136] Por consiguiente, lo anterior meramente ilustra los principios de la invención. Se apreciará que los expertos en la materia podrán concebir diversas disposiciones que, aunque no se muestren o describan explícitamente en el presente documento, incorporan los principios de la invención y se incluyen dentro del alcance de las reivindicaciones

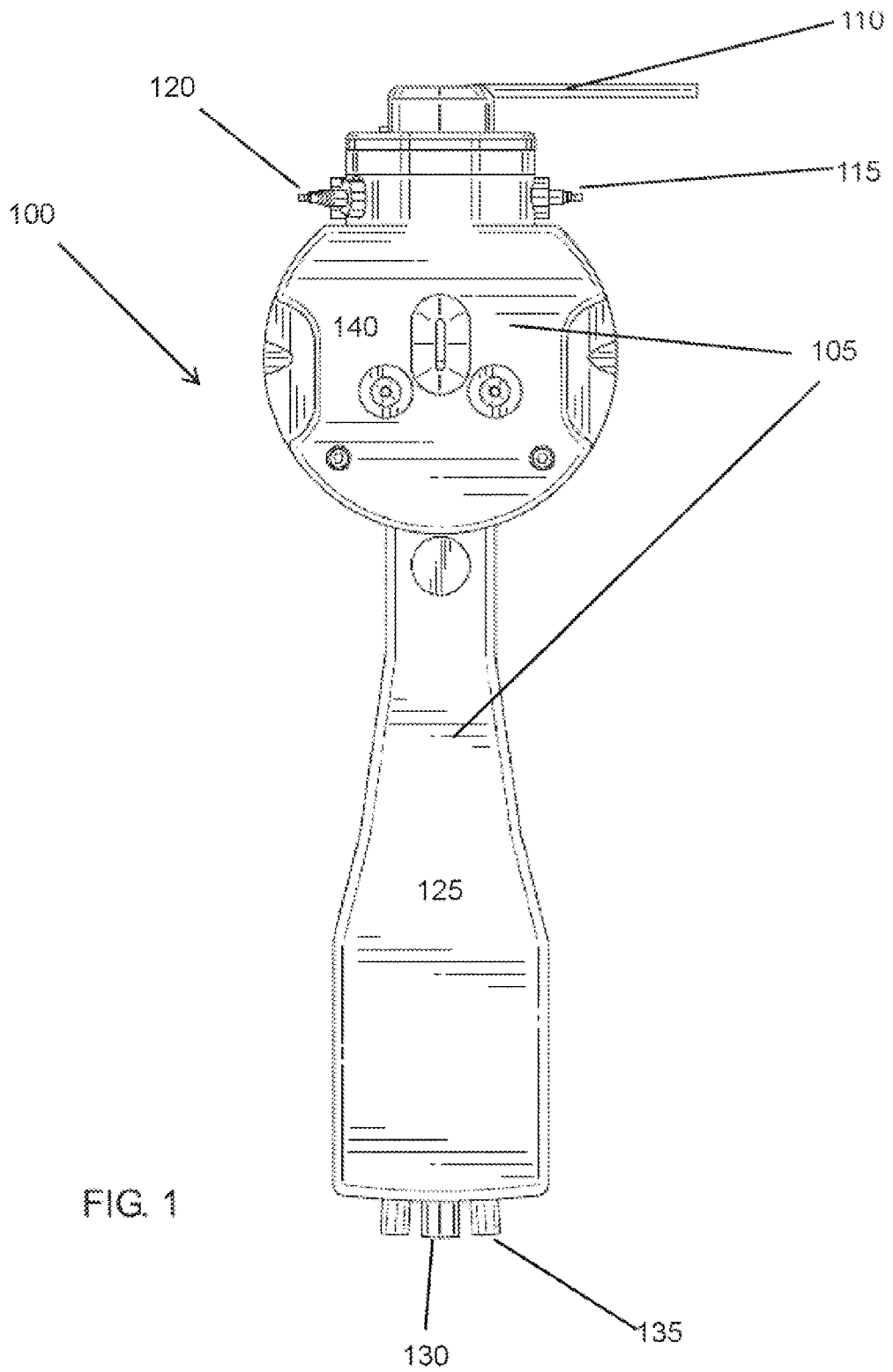
adjuntas. De manera adicional, todos los ejemplos y el lenguaje condicional enumerados en el presente documento están destinados principalmente a ayudar al lector a comprender los principios de la invención y los conceptos aportados por los inventores para promover la técnica y deben interpretarse sin limitación a tales ejemplos y condiciones enumerados específicamente. Es más, todas las afirmaciones contenidas en el presente documento que

5 enumeran principios, aspectos y realizaciones de la invención, así como ejemplos específicos de la misma, pretenden abarcar los equivalentes tanto estructurales como funcionales de los mismos. Adicionalmente, se pretende que dichos equivalentes incluyan tanto los equivalentes conocidos actualmente como los equivalentes que se desarrollarán en el futuro, es decir, cualquier elemento que se desarrolle para llevar a cabo la misma función, independientemente de la estructura. Es más, nada de lo divulgado en el presente documento está destinado a estar dedicado al público

10 independientemente de si tal divulgación se menciona explícitamente en las reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Un citómetro de flujo que comprende:
 - 5 un módulo (100, 305) de clasificación de partículas incluido que tiene una cámara (125, 306) de clasificación que comprende un deflector de gotículas;
 - un módulo (220, 310) de entrada de muestra acoplado de manera fluidica a una entrada del módulo (100, 305) de clasificación de partículas cerrado;
 - 10 un depósito (330) de desechos acoplado de manera fluidica a una primera salida del módulo (100, 305) de clasificación de partículas cerrado;
 - un flujo cerrado de gas de recirculación entre la cámara (125, 306) de clasificación y el depósito (330) de desechos;
 - y
 - un primer sistema de recogida de partículas clasificadas acoplado de manera fluidica a una segunda salida del módulo (100, 305) de clasificación de partículas cerrado;
 - 15 en donde el citómetro de flujo está configurado para controlar el contenido de aerosoles en la cámara (125, 306) de clasificación.
2. El citómetro de flujo de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el sistema está configurado para reducir la producción de aerosoles en la cámara (125, 306) de clasificación.
 - 20 3. El citómetro de flujo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en donde el módulo (100, 305) de clasificación de partículas cerrado está configurado para minimizar el contacto de una corriente de desechos con una superficie interna del módulo (100, 305) de clasificación de partículas.
 - 25 4. El citómetro de flujo de acuerdo con la reivindicación 3, en donde el módulo (100, 305) de clasificación particular está configurado de modo que la corriente de desechos salga a través de la primera salida sin hacer contacto con una pared de la primera salida.
 - 30 5. El citómetro de flujo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el citómetro de flujo está configurado para mantener una temperatura por encima del punto de rocío en la cámara (125, 306) de clasificación.
 6. El citómetro de flujo de acuerdo con la reivindicación 5, en donde el citómetro de flujo comprende un calentador.
 - 35 7. El citómetro de flujo de acuerdo con la reivindicación 6, en donde el citómetro de flujo está configurado para controlar la humedad en la cámara (125, 306) de clasificación.
 8. El citómetro de flujo de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el flujo cerrado de gas de recirculación comprende una bomba peristáltica.
 - 40 9. El citómetro de flujo de acuerdo con la reivindicación 8, en donde el flujo cerrado de gas de recirculación comprende un desecante.
 10. El citómetro de flujo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el módulo (100, 305) de clasificación de partículas cerrado comprende además:
 - un alojamiento (105) que comprende un extremo proximal y un extremo distal y una pared entre ellos, comprendiendo la pared un alineador para alinear el alojamiento (105) dentro del citómetro de flujo;
 - 50 una boquilla de la celda de flujo colocada en el extremo proximal del alojamiento (105), comprendiendo la boquilla de la celda de flujo un orificio; y
 - una región (140) de interrogación de la muestra en comunicación de fluidos con el orificio de boquilla de la celda de flujo.
 11. El citómetro de flujo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el citómetro de flujo es estéril.
 - 55 12. Un método de procesamiento por citometría de flujo de una muestra, comprendiendo el método:
 - 60 introducir una muestra en un módulo (100, 305) de clasificación de partículas cerrado de un citómetro de flujo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11; y
 - clasificar las partículas de la muestra introducida.



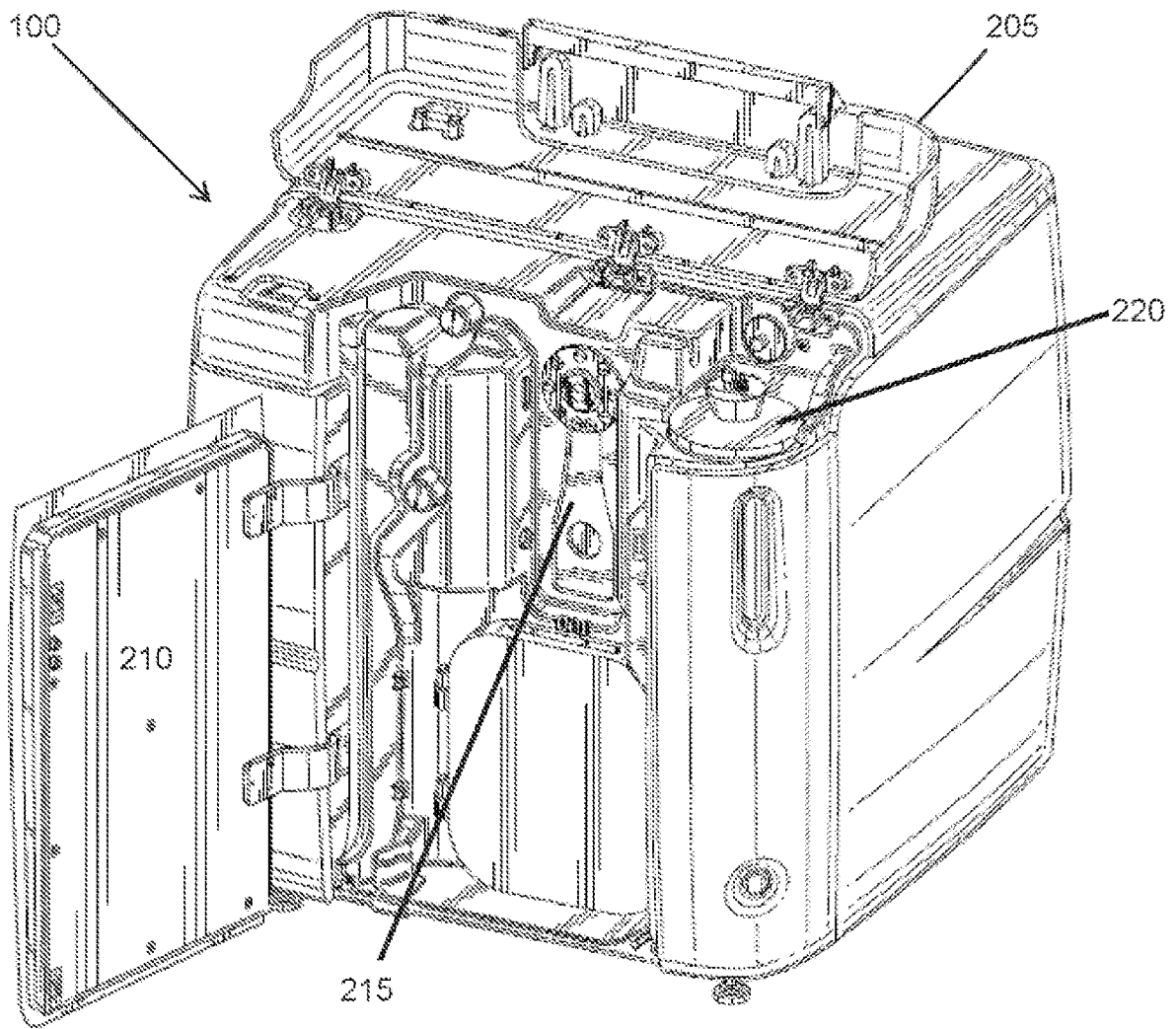


FIG. 2

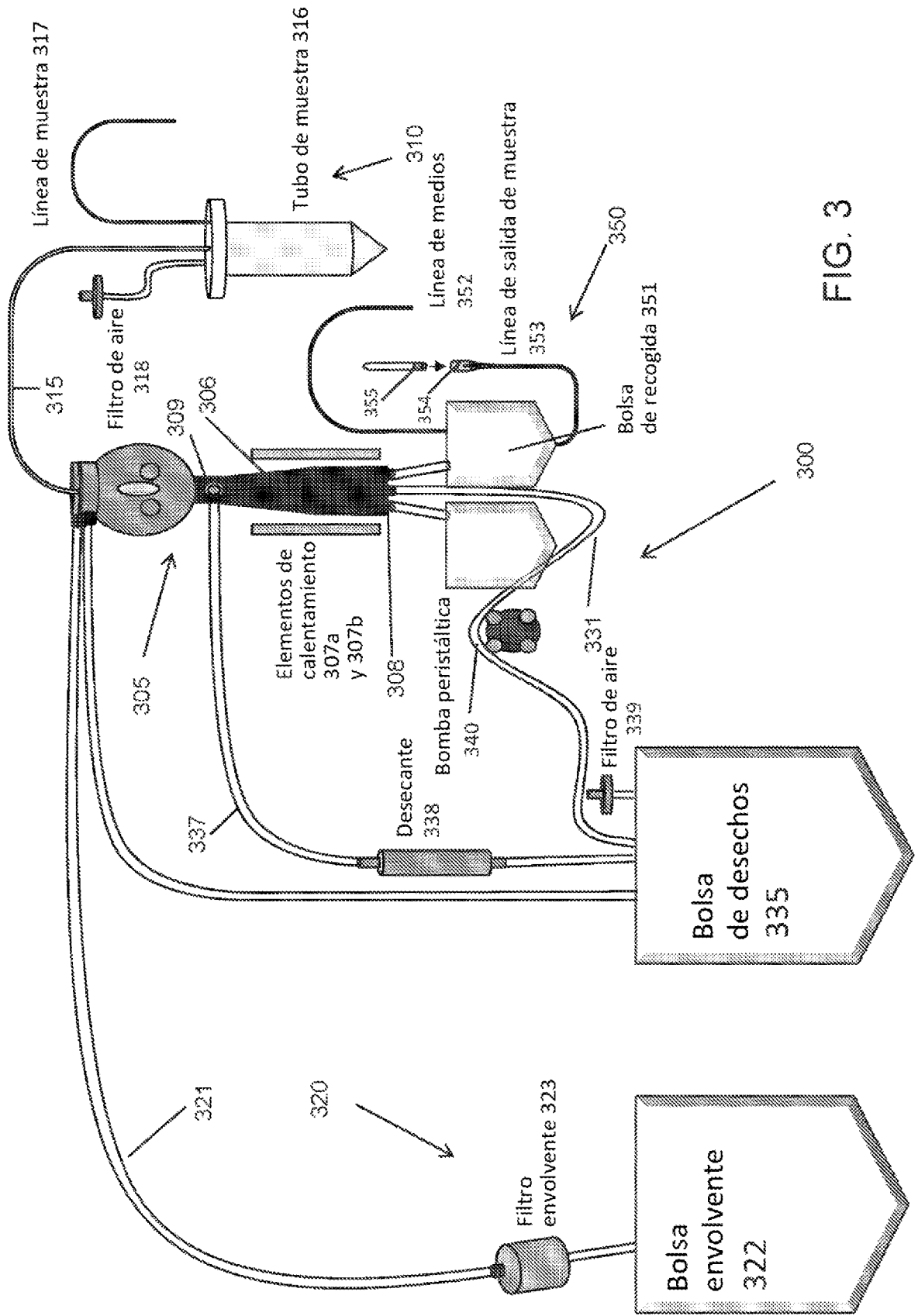


FIG. 3