

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 981 345**

51 Int. Cl.:

C12M 3/06	(2006.01)
C12M 1/00	(2006.01)
C12N 5/00	(2006.01)
C12N 5/076	(2010.01)
C12M 1/34	(2006.01)
C12M 1/36	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.06.2021 PCT/EP2021/067161**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.12.2021 WO21260012**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.06.2021 E 21734009 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.04.2024 EP 4136207**

54 Título: **Procedimiento de separación de muestras**

30 Prioridad:

24.06.2020 EP 20182102
20.04.2021 EP 21169511

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
08.10.2024

73 Titular/es:

UNIVERSITY OF LIMERICK (100.0%)
Plassey Technological Park
Limerick V94 T9PX, IE

72 Inventor/es:

FAIR, SEAN;
NEWPORT, DAVID;
ROMERO AGUIRREGOMEZCORTA, JON;
O'SULLIVAN, LEONARD;
WHITE, EOIN y
O'SULLIVAN, KEVIN

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 981 345 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Procedimiento de separación de muestras

La presente invención está dirigida a un procedimiento de separación de muestras y, en particular, a un procedimiento de separación de muestras para separar organismos móviles de otros organismos.

5 La presente invención está dirigida a un dispositivo de separación de muestras y, en particular, a un dispositivo de separación de muestras para separar organismos móviles de otros organismos.

La presente invención está dirigida a un aparato de separación de muestras y, en particular, a un aparato de separación de muestras para separar organismos móviles de otros organismos.

10 El dispositivo de separación de muestras en el que se aplica el procedimiento de la presente invención puede ser para separar espermatozoides móviles de una muestra de esperma original que comprende una mezcla de espermatozoides móviles, espermatozoides muertos, espermatozoides deformados y otros organismos no móviles. Puede ser deseable separar los espermatozoides móviles de los otros organismos en la muestra como parte de un propósito de preparación para preparar esperma para un procedimiento de fecundación asistida.

15 Un ejemplo de procedimiento de fecundación asistida es la inseminación artificial, también conocida como inseminación intrauterina. La inseminación artificial es un procedimiento habitual utilizado en el sector de la reproducción ganadera, y también se utiliza como tratamiento de la infertilidad en humanos. La inseminación artificial consiste en la introducción de espermatozoides en el cuello uterino o la cavidad uterina de la hembra por medios distintos de las relaciones sexuales.

20 Otro ejemplo de procedimiento de fecundación asistida es la fecundación in vitro (FIV). La FIV se refiere a un procedimiento de fecundación en el que un ovocito se combina con un espermatozoide fuera del cuerpo. En un ejemplo de esto, se puede colocar un gran número de espermatozoides junto con el ovocito e incubarlos para que se produzca la fecundación. En otro ejemplo de esto, puede inyectarse un único espermatozoide directamente en el ovocito en un proceso conocido como inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI). La ICSI puede utilizarse, en particular, cuando el donante de esperma tiene un recuento bajo de espermatozoides o una motilidad media baja.

25 En todos los procedimientos de fecundación asistida mencionados, conviene separar los espermatozoides móviles de los demás organismos de la muestra. Así aumentan las posibilidades de éxito del procedimiento de fecundación. Este es especialmente el caso de la ICSI, en la que el embriólogo debe seleccionar un espermatozoide para inyectarlo en el ovocito. Proporcionar una muestra de esperma móvil de alta calidad con un mínimo de espermatozoides con anomalías facilitará el proceso de selección al embriólogo y reducirá la tasa de fracaso del procedimiento de ICSI.

30 Los procedimientos conocidos para separar los espermatozoides móviles de otros organismos aprovechan el hecho de que los espermatozoides móviles nadan a contracorriente. Esta propiedad de los espermatozoides, y de otros organismos, de nadar contra un flujo de fluido (una corriente) se conoce como reotaxis.

35 Con referencia a la figura 1, se muestra un ejemplo de un dispositivo 10 de clasificación de esperma microfluídico conocido. El dispositivo 10 de clasificación de esperma comprende un depósito de fluido 11, una zona de introducción de esperma en forma de una cámara 13 y una zona de recogida de esperma en la forma de una cámara 15. Se proporciona una disposición de canales que incluye una vía de fluido primaria 17, 19 entre el depósito de fluido 11 y la cámara de recogida 15. La disposición de canales incluye una vía de fluido secundaria 21 entre la cámara de esperma 13 y un punto de unión 23.

40 En uso, el depósito de fluido 11 se llena con un fluido y se introduce una muestra de esperma en la cámara de esperma 13. La diferencia de altura relativa entre el fluido en el depósito de fluido 11 y la cámara de esperma 13/cámara de recogida 15 hace que el fluido fluya a través de la vía de fluido primaria 17, 19 hacia la cámara de recogida 15, y a través de la vía de fluido secundaria 21 hacia la cámara de esperma 13. Los espermatozoides móviles pueden nadar contra el flujo de fluido mediante reotaxis, salir de la cámara de esperma 13 y alcanzar la unión 23. Los espermatozoides móviles luego son arrastrados por el flujo de fluido de la vía de fluido primaria 17, 19 y entran en la cámara de recogida 15. Los espermatozoides no móviles no pueden moverse contra el flujo de fluido y, por lo tanto, permanecen en la cámara de esperma 13. Durante la operación de clasificación de esperma, el nivel de fluido en el depósito de fluido 11 disminuye hasta que no hay diferencia de altura relativa entre el depósito de fluido 11, la cámara de esperma 13 y la cámara de recogida 15. La intención detrás del dispositivo de la figura 1 es que solo los espermatozoides móviles entren en la cámara de recogida 15.

50 Un ejemplo de la técnica anterior se muestra en la Patente WO2020041303, que da a conocer sistemas y procedimientos para la selección de espermatozoides.

Es deseable mejorar los enfoques existentes para separar organismos móviles de otros organismos, tales como aumentando la proporción relativa de organismos móviles en la zona de recogida de muestras y reduciendo la proporción relativa de otros organismos en la zona de recogida de muestras.

Un objetivo de la presente invención es mejorar los enfoques existentes para separar organismos móviles de otros organismos, o al menos dar a conocer una alternativa a los mismos.

Según la presente invención, se da a conocer un aparato y un procedimiento según lo establecido en las reivindicaciones adjuntas. Otras características de la invención resultarán evidentes a partir de las reivindicaciones dependientes y de la descripción que sigue.

Según un primer aspecto de la invención, se da a conocer un procedimiento de separación de muestras para separar organismos móviles de otros organismos. El procedimiento comprende controlar una disposición de suministro de fluido para proporcionar un flujo de fluido a un dispositivo de separación de muestras que comprende una entrada de fluido y un terminal de fluido. El flujo de fluido se proporciona entre la entrada de fluido y el terminal de fluido del dispositivo. El flujo de fluido tiene una velocidad de flujo de introducción de muestras establecida de modo que se pueda introducir una muestra en una zona de introducción de muestras del dispositivo. La velocidad de flujo de introducción de la muestra es suficientemente alta como para que un organismo en la muestra no pueda salir de la zona de introducción de la muestra. El procedimiento comprende controlar la disposición de suministro de fluido para reducir la velocidad de flujo de fluido desde la velocidad de flujo de introducción de la muestra a una velocidad de flujo operativa menor que la velocidad de flujo de introducción de la muestra. La velocidad de flujo operativa se selecciona de manera que los organismos móviles en la muestra puedan nadar contra el flujo de fluido y entrar en una zona de recogida de muestras del dispositivo.

Aquí y en el resto del documento, "entrada de fluido" puede entenderse como una parte del dispositivo separador de muestras donde se puede introducir un fluido. Aquí y en el resto del documento, "terminal de fluido" puede entenderse como el punto final del flujo de fluido en el dispositivo de separación de muestras. El terminal de fluido puede adoptar la forma de un pozo para recoger fluido. El terminal de fluido puede adoptar la forma de una salida de fluido que permite que el fluido salga del dispositivo.

Aquí y en el resto del documento, se puede entender que "velocidad de flujo" significa la velocidad promedio. La velocidad promedio puede referirse a la velocidad promedio a través de un área de sección transversal. El área de la sección transversal puede referirse a un área de un canal entre la entrada de fluido y el terminal de fluido. Es decir, la velocidad de flujo puede significar la velocidad de flujo por canal. En particular, la velocidad de flujo puede significar la velocidad de flujo a través del canal donde ocurre el proceso de selección. El canal puede ser entre la zona de recogida de muestras y la zona de introducción de muestras. En otras palabras, el área de la sección transversal puede referirse al área de una zona donde los organismos móviles (tal como los espermatozoides) viajan contra el flujo desde la zona de introducción de muestras hasta la zona de recogida de muestras. El procedimiento es particularmente ventajoso cuando se utiliza junto con canales de área de sección transversal constante.

Significativamente, la presente invención establece el flujo de fluido para que tenga una velocidad de flujo de introducción de muestras que sea suficientemente alta para evitar que los organismos escapen de la zona de introducción de muestras del dispositivo. En los enfoques existentes, donde no se proporciona un flujo de fluido cuando la muestra se introduce en la zona de introducción de la muestra, o donde el flujo de fluido tiene una velocidad baja, los organismos móviles y los organismos no móviles pueden escapar de la zona de introducción de la muestra cuando son introducidos en la zona de introducción de la muestra, o poco después. Un motivo para esto es que los organismos pueden viajar por un canal entre la zona de introducción de muestras y la zona de recogida de muestras debido a procesos como la acción capilar. Otro motivo para esto es que la muestra se puede pipetear en la zona de introducción de muestras, y la fuerza con la que se pipetea puede hacer que la muestra escape de la zona de introducción de muestras y viaje hacia la zona de recogida de muestras. El uso de la velocidad de flujo de introducción de muestras puede evitar el escape no deseado de organismos, tales como organismos no móviles o muertos, a la zona de recogida de muestras.

Además, el procedimiento comprende, además, reducir la velocidad de flujo de fluido desde la velocidad de flujo de introducción de la muestra a una velocidad de flujo operativa inferior a la velocidad de introducción de la muestra. Esta reducción de la velocidad de flujo se puede realizar una vez que la muestra se ha introducido en la zona de introducción de muestra. La velocidad de flujo operativa se selecciona de manera que los organismos móviles puedan nadar contra el flujo de fluido y entrar a la zona de recogida de muestras. De esta manera, la presente invención es capaz de controlar la velocidad de flujo de fluido para evitar que organismos distintos de los organismos móviles deseados entren en la zona de recogida de muestras.

Controlar la disposición de suministro de fluido para establecer el flujo de fluido para que tenga la velocidad de flujo operativa comprende reducir la velocidad de flujo de fluido desde la velocidad de flujo de introducción de muestras hasta la velocidad de flujo operativa durante un período de tiempo predeterminado. Esto significa que la velocidad de flujo de fluido se reduce gradual o incrementalmente desde la velocidad de flujo de introducción de la muestra hasta la velocidad de flujo operativa. Esto es muy ventajoso, ya que garantiza que los espermatozoides no móviles no lleguen a la zona de recogida de muestras para contaminar la muestra. Esto se contrasta con una reducción "brusca", "instantánea" o "repentina" de la velocidad de flujo de introducción de la muestra a la velocidad de flujo operativa, que se ha descubierto que es perjudicial y desventajosa ya que da como resultado que los espermatozoides no móviles se muevan hacia la zona de recogida de muestras. Se proporciona y explica un ejemplo de esto con referencia a la figura 4(b). Es decir, la reducción de la velocidad de flujo de fluido desde la velocidad de flujo de introducción de la

muestra hasta la velocidad de flujo operativa durante un período de tiempo predeterminado no es una reducción abrupta, repentina o instantánea. En cambio, la reducción puede describirse como gradual o incremental, ya que la reducción tiene lugar durante dicho período de tiempo predeterminado. Es decir, la reducción de la velocidad de flujo es una reducción gradual de la velocidad, lo cual es ventajoso sobre un cambio abrupto de velocidad.

5 El período de tiempo predeterminado puede ser mayor o igual a 1 minuto. Preferentemente, mayor o igual a 5 minutos. Preferentemente aún, mayor o igual a 10 minutos.

10 El período de tiempo predeterminado puede ser entre 2 minutos y 60 minutos. El período de tiempo predeterminado puede ser entre 5 minutos y 60 minutos. El período de tiempo predeterminado puede ser entre 10 minutos y 60 minutos. El período de tiempo predeterminado puede ser entre 20 minutos y 60 minutos. El período de tiempo predeterminado puede ser de entre 40 y 60 minutos. El período de tiempo predeterminado puede ser entre 50 minutos y 60 minutos.

15 El período de tiempo predeterminado puede ser entre 2 minutos y 50 minutos. El período de tiempo predeterminado puede ser entre 2 minutos y 40 minutos. El período de tiempo predeterminado puede ser entre 2 minutos y 30 minutos. El período de tiempo predeterminado puede ser entre 2 minutos y 20 minutos. El período de tiempo predeterminado puede ser entre 2 minutos y 10 minutos. El período de tiempo predeterminado puede ser de entre 2 minutos y 5 minutos.

20 Lo más preferentemente, el período de tiempo predeterminado puede ser mayor o igual a 1 minuto. En un ejemplo particular preferente, el período de tiempo predeterminado puede ser entre 1 minuto y 60 minutos. En un ejemplo particular preferente, el período de tiempo predeterminado puede ser entre 1 minuto y 20 minutos. En un ejemplo muy preferente, el período de tiempo predeterminado puede ser 1 minuto.

En un ejemplo muy preferente, el período de tiempo predeterminado puede ser mayor o igual a 30 segundos. Es decir, la velocidad de flujo se reduce durante este período de tiempo predeterminado, que es una reducción gradual (es decir, no abrupta) de la velocidad de flujo. Se ha descubierto que esto es muy beneficioso para evitar que organismos distintos de los organismos móviles deseados entren en la zona de recogida de muestras.

25 La velocidad de flujo de introducción de la muestra puede ser mayor o igual a 100 micrómetros por segundo. Preferentemente, la velocidad de flujo de introducción de la muestra puede ser mayor o igual a 120 micrómetros por segundo. En un ejemplo particular preferente, la velocidad de flujo de introducción de la muestra puede ser de 550 micrómetros por segundo.

30 La velocidad de flujo de introducción de la muestra puede ser entre 100 micrómetros por segundo y 1000 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo de introducción de la muestra puede ser entre 200 micrómetros por segundo y 1000 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo de introducción de la muestra puede ser entre 200 micrómetros por segundo y 800 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo de introducción de la muestra puede ser entre 300 micrómetros por segundo y 1000 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo de introducción de la muestra puede ser entre 400 micrómetros por segundo y 1000 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo de introducción de la muestra puede ser entre 500 micrómetros por segundo y 1000 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo de introducción de la muestra puede ser entre 600 micrómetros por segundo y 1000 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo de introducción de la muestra puede ser entre 700 micrómetros por segundo y 1000 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo de introducción de la muestra puede ser entre 800 micrómetros por segundo y 1000 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo de introducción de la muestra puede ser entre 900 micrómetros por segundo y 1000 micrómetros por segundo.

45 La velocidad de flujo de introducción de la muestra puede ser entre 100 micrómetros por segundo y 900 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo de introducción de la muestra puede ser entre 100 micrómetros por segundo y 800 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo de introducción de la muestra puede ser entre 100 micrómetros por segundo y 700 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo de introducción de la muestra puede ser entre 100 micrómetros por segundo y 600 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo de introducción de la muestra puede ser entre 100 micrómetros por segundo y 500 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo de introducción de la muestra puede ser entre 100 micrómetros por segundo y 400 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo de introducción de la muestra puede ser entre 100 micrómetros por segundo y 300 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo de introducción de la muestra puede ser entre 100 micrómetros por segundo y 200 micrómetros por segundo.

50 En un ejemplo preferente, la velocidad de flujo de introducción de la muestra puede ser entre 200 micrómetros por segundo y 800 micrómetros por segundo. En un ejemplo particular preferente, la velocidad de flujo de introducción de la muestra puede ser de 555 micrómetros por segundo.

55 La velocidad de flujo de introducción de la muestra puede ser mayor o igual a 1400 micrómetros por segundo. En un ejemplo muy preferente, la velocidad de flujo de introducción de la muestra puede ser mayor o igual a 2000 micrómetros por segundo.

La velocidad de flujo de introducción de la muestra puede tener una duración de entre 30 segundos y 5 minutos. Preferentemente, la velocidad de flujo de introducción de la muestra puede tener una duración de entre 30 segundos

y 2 minutos. Más preferentemente, la velocidad de flujo de introducción de la muestra del dispositivo puede tener una duración de 1 minuto. En otra realización muy preferente, la velocidad de flujo de introducción de la muestra puede tener una duración de 30 segundos. Sin embargo, la velocidad de flujo de introducción de la muestra puede tener una duración adecuada para cargar la muestra en el dispositivo.

5 La velocidad de flujo operativa puede ser mayor o igual a 20 micrómetros por segundo. Preferentemente, la velocidad de flujo operativa es mayor o igual a 30 micrómetros por segundo. Preferentemente aún, la velocidad de flujo operativa es mayor o igual a 40 micrómetros por segundo. Preferentemente aún, la velocidad de flujo operativa es mayor o igual a 50 micrómetros por segundo.

10 La velocidad de flujo operativa puede ser entre 20 micrómetros por segundo y 150 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo operativa puede ser entre 30 micrómetros por segundo y 150 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo operativa puede ser entre 40 micrómetros por segundo y 150 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo operativa puede ser entre 50 micrómetros por segundo y 150 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo operativa puede ser entre 60 micrómetros por segundo y 150 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo operativa puede ser entre 80 micrómetros por segundo y 150 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo operativa puede ser entre 100 micrómetros por segundo y 150 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo operativa puede ser entre 120 micrómetros por segundo y 150 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo operativa puede ser entre 140 micrómetros por segundo y 150 micrómetros por segundo.

20 La velocidad de flujo operativa puede ser entre 20 micrómetros por segundo y 140 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo operativa puede ser entre 20 micrómetros por segundo y 120 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo operativa puede ser entre 20 micrómetros por segundo y 100 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo operativa puede ser entre 20 micrómetros por segundo y 80 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo operativa puede ser entre 20 micrómetros por segundo y 60 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo operativa puede ser entre 20 micrómetros por segundo y 50 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo operativa puede ser entre 20 micrómetros por segundo y 40 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo operativa puede ser entre 20 micrómetros por segundo y 30 micrómetros por segundo.

25 En un ejemplo preferente, la velocidad de flujo operativa puede ser entre 30 micrómetros por segundo y 80 micrómetros por segundo. En un ejemplo particular preferente, la velocidad de flujo operativa puede ser 55,5 micrómetros por segundo. En otro ejemplo preferente, la velocidad de flujo operativa es de 55 micrómetros por segundo.

30 En un ejemplo, controlar la disposición de suministro de fluido para ajustar el flujo de fluido a la velocidad de flujo operativa puede comprender mantener el flujo de fluido sustancialmente a la velocidad de flujo operativa durante un período de tiempo predeterminado.

El período de tiempo predeterminado puede ser mayor o igual a 1 minuto. Preferentemente, el período de tiempo predeterminado es mayor o igual a 10 minutos. Preferentemente aún, el período de tiempo predeterminado es mayor o igual a 15 minutos. Preferentemente aún, el período de tiempo predeterminado es mayor o igual a 30 minutos.

35 El período de tiempo predeterminado puede ser mayor o igual a 1 minuto. El período de tiempo predeterminado puede ser entre 1 minuto y 120 minutos. El período de tiempo predeterminado puede ser de entre 10 minutos y 45 minutos.

40 El período de tiempo predeterminado puede ser entre 5 minutos y 60 minutos. El período de tiempo predeterminado puede ser entre 10 minutos y 60 minutos. El período de tiempo predeterminado puede ser entre 20 minutos y 60 minutos. El período de tiempo predeterminado puede ser entre 30 minutos y 60 minutos. El período de tiempo predeterminado puede ser entre 40 minutos y 60 minutos. El período de tiempo predeterminado puede ser entre 50 minutos y 60 minutos.

45 El período de tiempo predeterminado puede ser entre 5 minutos y 50 minutos. El período de tiempo predeterminado puede ser entre 5 minutos y 40 minutos. El período de tiempo predeterminado puede ser entre 5 minutos y 30 minutos. El período de tiempo predeterminado puede ser entre 5 minutos y 20 minutos. El período de tiempo predeterminado puede ser de entre 5 minutos y 10 minutos.

En un ejemplo preferente, el período de tiempo predeterminado puede ser entre 20 minutos y 40 minutos.

50 El procedimiento puede comprender, además, controlar la disposición de suministro de fluido para aumentar la velocidad de flujo de fluido desde la velocidad de flujo operativa hasta una velocidad de flujo de recogida de muestras mayor que la velocidad de flujo operativa de manera que los organismos móviles puedan recogerse de la zona de recogida de muestras. Este control de la disposición de suministro de fluido se puede realizar después de que la velocidad de flujo de fluido se mantenga a la velocidad de flujo operativa durante el período de tiempo predeterminado.

55 La velocidad de flujo de recogida de muestras puede ser mayor o igual a 150 micrómetros por segundo. En un ejemplo particular preferente, la velocidad de flujo de recogida de muestras puede ser de 250 micrómetros por segundo. Preferentemente, la velocidad de flujo de recogida de muestras es mayor o igual a 300 micrómetros por segundo. Preferentemente aún, la velocidad de flujo de recogida de muestras es mayor o igual a 400 micrómetros por segundo. Preferentemente, la velocidad de flujo de recogida de muestras es mayor o igual a 500 micrómetros por segundo. En

ES 2 981 345 T3

un ejemplo particular preferente, la velocidad de flujo de recogida de muestras puede ser de 11000 micrómetros por segundo.

5 La velocidad de flujo de recogida de muestras puede ser entre 150 micrómetros por segundo y 15000 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo de recogida de muestras puede ser entre 400 micrómetros por segundo y 11000 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo de recogida de muestras puede ser entre 400 micrómetros por segundo y 10000 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo de recogida de muestras puede ser entre 500 micrómetros por segundo y 10000 micrómetros por segundo. En un ejemplo muy preferente, la velocidad de flujo de recogida de muestras es de 11100 micrómetros por segundo.

10 La velocidad de flujo de recogida de muestras puede ser entre 150 micrómetros por segundo y 8000 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo de recogida de muestras puede ser entre 150 micrómetros por segundo y 6000 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo de recogida de muestras puede ser entre 150 micrómetros por segundo y 4000 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo de recogida de muestras puede ser entre 150 micrómetros por segundo y 2000 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo de recogida de muestras puede ser entre 150 micrómetros por segundo y 1000 micrómetros por segundo.

15 En un ejemplo preferente, la velocidad de flujo de recogida de muestras puede ser entre 400 micrómetros por segundo y 700 micrómetros por segundo. En un ejemplo preferente particular, la velocidad de flujo de recogida de muestras puede ser de 555 micrómetros por segundo.

20 La velocidad de flujo de recogida de muestras puede tener una duración de entre 0,5 segundos y 60 segundos. Preferentemente, la velocidad de flujo de recogida de muestras puede tener una duración de entre 1 segundo y 20 segundos. Lo más preferente es que la velocidad de flujo de recogida de muestras pueda tener una duración de 4 segundos.

25 Antes de controlar la disposición de suministro de fluido para establecer el flujo de fluido para que tenga la velocidad de flujo de introducción de la muestra, el procedimiento puede comprender controlar el flujo de fluido para que tenga una velocidad de flujo de cebado del dispositivo, en el que la velocidad de flujo de cebado del dispositivo es mayor que la velocidad de flujo de introducción de la muestra. La velocidad de flujo de cebado del dispositivo se selecciona para cebar el dispositivo y garantizar que los canales, cámaras y volúmenes muertos estén llenos de fluido.

30 La velocidad de flujo de cebado del dispositivo puede ser mayor o igual a 800 micrómetros por segundo. Preferentemente, la velocidad de flujo de cebado del dispositivo es mayor o igual a 1000 micrómetros por segundo. Preferentemente, la velocidad de flujo de cebado del dispositivo es mayor o igual a 1200 micrómetros por segundo. Preferentemente, la velocidad de flujo de cebado del dispositivo es mayor o igual a 1400 micrómetros por segundo. Preferentemente, la velocidad de flujo de cebado del dispositivo es mayor o igual a 1500 micrómetros por segundo. En un ejemplo particular preferente, la velocidad de flujo de cebado del dispositivo puede ser de 1100 micrómetros por segundo. Un dispositivo puede cebarse a través de un puerto de cebado del dispositivo. Esto se puede lograr en un solo paso a través del puerto de cebado del dispositivo, a través del cual se puede implementar el procedimiento descrito en el presente documento. La velocidad de flujo de cebado del dispositivo puede ser adecuada para eliminar burbujas en el fluido.

40 La velocidad de flujo de cebado del dispositivo puede ser entre 800 y 2000 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo de cebado del dispositivo puede ser entre 1000 y 2000 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo de cebado del dispositivo puede ser entre 1200 y 2000 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo de cebado del dispositivo puede ser entre 1400 y 2000 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo de cebado del dispositivo puede ser entre 1500 y 2000 micrómetros por segundo.

45 La velocidad de flujo de cebado del dispositivo puede ser entre 800 y 1800 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo de cebado del dispositivo puede ser entre 800 y 1600 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo de cebado del dispositivo puede ser entre 800 y 1400 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo de cebado del dispositivo puede ser entre 800 y 1200 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo de cebado del dispositivo puede ser entre 800 y 1000 micrómetros por segundo.

En un ejemplo preferente, la velocidad de flujo de cebado del dispositivo puede ser entre 1500 y 1600 micrómetros por segundo. En un ejemplo muy preferente, la velocidad de flujo de cebado del dispositivo es 11100 micrómetros por segundo.

50 La velocidad de flujo de cebado del dispositivo puede tener una duración de entre 1 segundo y 5 minutos. Preferentemente, la velocidad de flujo de cebado del dispositivo puede tener una duración de entre 5 segundos y 2 minutos. Lo más preferentemente, la velocidad de flujo de cebado del dispositivo puede tener una duración de 1 minuto. En un ejemplo muy preferente, la velocidad de flujo de cebado del dispositivo puede tener una duración de 6 segundos.

55 En una implementación preferente particular, la velocidad de flujo de introducción de la muestra está entre 200 micrómetros por segundo y 800 micrómetros por segundo, y la velocidad de flujo operativa está entre 30 micrómetros por segundo y 80 micrómetros por segundo. En esta implementación preferente, la velocidad de flujo se puede reducir

5 desde la velocidad de flujo de introducción de la muestra hasta la velocidad de flujo operativa durante un período de tiempo de entre 4 minutos y 20 minutos. En esta implementación preferente, la velocidad de flujo operativa se puede mantener durante un período de entre 20 minutos y 40 minutos. En esta implementación preferente, la velocidad de flujo de recogida de muestras puede ser entre 400 micrómetros por segundo y 700 micrómetros por segundo. En esta implementación preferente, la velocidad de flujo de cebado del dispositivo puede ser entre 800 y 2000 micrómetros por segundo, y preferentemente está entre 1500 y 1600 micrómetros por segundo.

La unidad de suministro de fluido puede comprender una fuente de fluido y una bomba. La bomba puede funcionar por aspiración o por presión. La bomba puede ser una bomba microfluidica. La bomba puede ser una bomba de jeringa. La fuente de fluido puede ser una jeringa que comprende fluido.

10 Según un segundo aspecto de la presente invención, se da a conocer un medio legible por ordenador que tiene instrucciones grabadas en el mismo que, cuando se ejecutan por un ordenador, hacen que el ordenador realice el procedimiento controlando la unidad de suministro de fluido descrito anteriormente en relación con el primer aspecto de la invención.

15 Según un tercer aspecto de la presente invención, se da a conocer un aparato de separación de muestras dispuesto para proporcionar un flujo de fluido a un dispositivo para separar organismos móviles de otros organismos. El dispositivo comprende una entrada de fluido, un terminal de fluido, una zona de introducción de muestras y una zona de recogida de muestras. El aparato comprende una unidad de suministro de fluido; y un controlador operable para controlar la unidad de suministro de fluido para realizar el procedimiento como se describe anteriormente en relación con el primer aspecto de la invención.

20 El aparato de separación de muestras puede comprender uno o varios canales, estando definido cada canal por un par de paredes de canal entre la zona de introducción de muestras y la zona de recogida de muestras. Cada canal puede extenderse radialmente hacia afuera desde una zona central de recogida de muestras hasta la zona de introducción de muestras. Por tanto, la zona de introducción de muestras puede extenderse alrededor de la zona de recogida, por ejemplo en forma de arco o de anillo. La velocidad de flujo de introducción de la muestra y/o las dimensiones del canal se pueden establecer de manera que los chorros fluidicos inhiban o impidan que un organismo en la muestra entre en el canal. La velocidad de flujo operativa, y/o las dimensiones del canal, pueden establecerse de manera que los vórtices sean inducidos (por ejemplo, turbulencia) próximos a una abertura del canal, ayudando los vórtices al transporte de los organismos hacia la abertura del canal.

25 En el presente documento se da a conocer, asimismo, un dispositivo de separación de muestras para separar organismos móviles de otros organismos. El dispositivo comprende una vía de fluido primaria que se extiende entre una entrada de fluido y un terminal de fluido de manera que se pueda establecer un flujo de fluido entre la entrada de fluido y el terminal de fluido. El dispositivo comprende una zona de introducción de muestras dispuesta dentro de la vía de fluido primaria. El dispositivo comprende una vía de fluido secundaria que se ramifica desde la vía de fluido primaria en una ubicación aguas arriba de la zona de introducción de muestras. El dispositivo comprende una zona de recogida de muestras dispuesta dentro o en un extremo terminal de la vía de fluido secundaria. En uso, los organismos móviles introducidos en la zona de introducción de muestras pueden nadar contra el flujo de fluido y entrar en la zona de recogida de muestras a través de la vía de fluido secundaria.

30 Significativamente, y en contraste con el dispositivo de la figura 1, la zona de introducción de muestras está dispuesta dentro de la vía de fluido primaria entre la entrada de fluido y el terminal de fluido. Además, la zona de recogida de muestras está fuera de la vía de fluido primaria y, en cambio, está dentro o en el extremo terminal de una vía de fluido secundaria que se ramifica de la vía de fluido primaria en una ubicación aguas arriba de la zona de introducción de muestras. Este diseño de dispositivo aprovecha la tendencia de los organismos móviles a nadar a lo largo de los lados de la vía del fluido primario donde el fluido viaja a una velocidad más baja (por ejemplo, debido a que se establece un flujo laminar en la vía de fluido primaria). Debido a esta tendencia, los organismos móviles pueden seguir la vía de fluido secundaria ramificada y entrar en la zona de recogida de muestras en lugar de nadar hacia la entrada del fluido.

35 La vía de fluido primaria puede estar definida por un primer par de paredes de canal entre la zona de introducción de muestras y la vía de fluido secundaria. La vía de fluido primaria puede definirse, además, por un segundo par de paredes de canal entre la vía de fluido secundaria y la entrada de fluido. Al menos uno del primer par de las paredes de canal puede extenderse desde la zona de introducción de muestras hasta la zona de recogida de muestras de manera que pueda proporcionarse una pared de canal continua entre la zona de introducción de muestras y la zona de recogida de muestras. Significativamente, se puede proporcionar una superficie de pared de canal continua entre la zona de introducción de muestras y la zona de recogida de muestras por la que los organismos móviles pueden nadar o viajar de otro modo. Particularmente con organismos móviles que presentan tigmotaxis (como los espermatozoides), esto es beneficioso ya que permite que los organismos móviles viajen a lo largo de la superficie de la pared continua desde la zona de introducción de muestras hasta la zona de recogida de muestras. Esto facilita que los organismos móviles lleguen a la zona de recogida de muestras sin perderse en el flujo de fluido.

La vía de fluido secundaria puede ramificarse de la vía de fluido primaria en un ángulo de ramificación. El ángulo de ramificación puede ser un ángulo entre una pared de la vía de fluido primaria y una pared de la vía de fluido secundaria.

El ángulo de ramificación puede ser entre 10 y 70 grados. El ángulo de ramificación puede ser entre 20 y 70 grados. El ángulo de ramificación puede ser entre 30 y 70 grados. El ángulo de ramificación puede ser entre 40 y 70 grados. El ángulo de ramificación puede ser entre 50 y 70 grados. El ángulo de ramificación puede ser entre 60 y 70 grados.

- 5 El ángulo de ramificación puede ser entre 10 y 60 grados. El ángulo de ramificación puede ser entre 10 y 50 grados. El ángulo de ramificación puede ser entre 10 y 40 grados. El ángulo de ramificación puede ser entre 10 y 30 grados. El ángulo de ramificación puede ser entre 10 y 20 grados.

En un ejemplo preferente, el ángulo de ramificación es de 45 grados.

- 10 La vía de fluido secundaria puede ser curva. La vía de fluido secundaria puede curvarse en un ángulo seleccionado para garantizar que se experimente una tensión cortante de la pared distinta de cero a lo largo de la vía de fluido secundaria. Esto significa que en lugar de simplemente ramificarse desde la vía de fluido primaria en un ángulo de ramificación, la segunda vía de fluido también está curvada con una curvatura diseñada para soportar una tensión cortante de la pared a lo largo de la pared en la zona curva hasta la zona de recogida de muestras. Sin la zona curva, la tensión cortante de la pared puede disminuir a cero en la vía de fluido secundaria. La tensión de la pared distinta de cero significa que los organismos móviles que se desplazan a lo largo de la pared de la vía de fluido secundaria experimentan una tensión cortante de la pared distinta de cero. La tensión de la pared distinta de cero puede ser beneficiosa para maximizar la cantidad de organismos móviles que pueden progresar a lo largo de la pared continua del canal hacia la zona de recogida de muestras, y puede minimizar la probabilidad de que los organismos móviles se desprendan de la pared y, como resultado, no entren en la zona de recogida de muestras. En otras palabras, los organismos móviles que viajan cerca de la pared curva seguirán progresando porque experimentan fuerzas fluidicas.
- 15 El uso de una vía de fluido secundaria curva que proporciona una tensión cortante de la pared distinta de cero puede ser beneficioso para reducir el tiempo necesario para recoger suficientes organismos móviles en la zona de recogida de muestras.
- 20

- 25 El dispositivo puede comprender dos vías de fluido secundarias. Ambas vías de fluido secundarias pueden ramificarse de la vía de fluido primaria en ubicaciones aguas arriba de la zona de introducción de muestras. Las dos vías de fluido secundarias pueden ramificarse de la vía de fluido primaria en el mismo lugar. Los dos vías de fluido secundarias pueden ramificarse desde paredes opuestas de la vía de fluido primaria. Las dos vías de fluido secundarias pueden ser imágenes especulares entre sí. El dispositivo puede comprender dos zonas de recogida de muestras, cada una de ellas dispuesta dentro o en un extremo terminal de una respectiva de las vías de fluido secundarias. Alternativamente, se puede proporcionar una única zona de recogida de muestras que puede ser compartida por ambas vías de fluido secundarias. La única zona de recogida de muestras puede adoptar la forma de un canal que conecta las dos vías de fluido secundarias entre sí. La única zona de recogida de muestras simplifica beneficiosamente el proceso de recogida de muestras.
- 30

- 35 Una del primer par de paredes de canal puede extenderse desde la zona de introducción de muestras hasta la zona de recogida de muestras de una de las vías de fluido secundarias de manera que se proporcione una pared de canal continua entre la zona de introducción de muestras y la zona de recogida de muestras. El otro del primer par de paredes de canal puede extenderse desde la zona de introducción de muestras hasta la zona de recogida de muestras de la otra de las vías de fluido secundarias de manera que se proporcione una pared de canal continua entre la zona de introducción de muestras y la zona de recogida de muestras.

- 40 El dispositivo puede comprender al menos una membrana permeable al aire e impermeable a los fluidos (una membrana semipermeable). La membrana puede cubrir la zona de recogida de muestras. La membrana puede permitir que el aire escape del dispositivo a medida que se proporciona fluido al dispositivo y, por lo tanto, impide que quede aire atrapado en las vías de fluido del dispositivo. El aire atrapado puede bloquear las vías de fluido del dispositivo e impedir que progresen los organismos móviles y, por lo tanto, puede comprometer la eficacia del dispositivo. La membrana semipermeable permite que el aire escape pero evita que se escape el líquido.

- 45 El dispositivo puede comprender una válvula. La válvula puede funcionar para obstruir la vía de fluido primaria con el fin de aislar la zona de recogida de muestras de la zona de introducción de muestras. Esto aísla eficazmente los organismos móviles de la zona de recogida de muestras de la muestra inicial que queda en la zona de introducción de muestras. La válvula puede ser una válvula de corte.

- 50 Una zona de la vía de fluido primaria próxima a la zona de introducción de muestras puede inclinarse hacia afuera. Esto puede significar que el área de la sección transversal de la vía de fluido primaria próxima a la zona de introducción de muestras es mayor que otras partes de la vía de fluido primaria. La vía de fluido primaria puede inclinarse hacia afuera en dos dimensiones espaciales o en tres dimensiones espaciales. La variación gradual de la vía de fluido primaria puede ser beneficiosa para reducir la velocidad de flujo local en las proximidades de la zona de introducción de muestras y para aumentar el área de la sección transversal de la entrada a la zona de introducción de muestras.
- 55 De manera beneficiosa, esto puede exponer una mayor cantidad de muestra al flujo, aumentando así la cantidad de organismos que se mueven contra el flujo (por ejemplo, mediante taxis). Esto puede mejorar el rendimiento en la zona de recogida de muestras.

5 Una zona de la vía de fluido secundaria próxima a la zona de recogida de muestras puede estrecharse hacia adentro. Esto puede significar que el área de la sección transversal de la vía de fluido secundaria próxima a la zona de recogida de muestras es más pequeña que otras partes de la vía de fluido secundaria. La vía de fluido secundaria puede estrecharse hacia adentro en dos dimensiones espaciales o en tres dimensiones espaciales. El estrechamiento de la vía de fluido secundaria puede ser beneficioso para prevenir o dificultar que los organismos móviles dentro de la zona de recogida de muestras regresen fuera de la zona de recogida de muestras y entren en la vía de fluido secundaria.

10 El dispositivo puede ser un dispositivo microfluídico. La vía de fluido primaria entre la vía de fluido secundaria y la zona de introducción de muestras puede ser un microcanal. La vía de fluido primaria entre la entrada de fluido y la zona de introducción de muestras puede ser un microcanal. La vía de fluido primaria entre la entrada de fluido y el terminal de fluido puede ser un microcanal. La vía de fluido secundaria puede ser o comprender un microcanal. El dispositivo puede comprender un sustrato. El microcanal puede proporcionarse sobre el sustrato.

15 El microcanal puede tener una anchura inferior o igual a 1000 micrómetros. Preferentemente, la anchura del microcanal es inferior o igual a 800 micrómetros. Preferentemente aún, la anchura del microcanal es inferior o igual a 600 micrómetros. Preferentemente aún, la anchura del microcanal es inferior o igual a 400 micrómetros. Preferentemente aún, la anchura del microcanal es inferior o igual a 200 micrómetros. Preferentemente aún, la anchura del microcanal es inferior o igual a 100 micrómetros.

20 La anchura del microcanal puede ser entre 10 micrómetros y 1000 micrómetros. El microcanal puede tener una anchura de entre 20 micrómetros y 1000 micrómetros. El microcanal puede tener una anchura de entre 50 micrómetros y 1000 micrómetros. El microcanal puede tener una anchura de entre 100 micrómetros y 1000 micrómetros. El microcanal puede tener una anchura de entre 200 micrómetros y 1000 micrómetros. El microcanal puede tener una anchura de entre 400 micrómetros y 1000 micrómetros. El microcanal puede tener una anchura de entre 600 micrómetros y 1000 micrómetros. El microcanal puede tener una anchura de entre 800 micrómetros y 1000 micrómetros.

25 La anchura del microcanal puede ser entre 10 micrómetros y 800 micrómetros. El microcanal puede tener una anchura de entre 10 micrómetros y 600 micrómetros. El microcanal puede tener una anchura de entre 10 micrómetros y 400 micrómetros. El microcanal puede tener una anchura de entre 10 micrómetros y 200 micrómetros. El microcanal puede tener una anchura de entre 10 micrómetros y 100 micrómetros. El microcanal puede tener una anchura de entre 10 micrómetros y 50 micrómetros. El microcanal puede tener una anchura de entre 10 micrómetros y 20 micrómetros.

30 El microcanal puede tener una altura superior o igual a 10 micrómetros. Preferentemente, mayor o igual a 20 micrómetros. Preferente aún, mayor o igual a 30 micrómetros. Preferentemente aún, mayor o igual a 40 micrómetros. Preferentemente aún, mayor o igual a 50 micrómetros.

35 La altura del microcanal puede ser entre 10 micrómetros y 450 micrómetros. La altura del microcanal puede ser entre 20 micrómetros y 450 micrómetros. La altura del microcanal puede ser entre 30 micrómetros y 450 micrómetros. La altura del microcanal puede ser entre 40 micrómetros y 450 micrómetros. La altura del microcanal puede ser entre 50 micrómetros y 450 micrómetros. La altura del microcanal puede ser entre 100 micrómetros y 450 micrómetros. La altura del microcanal puede ser entre 200 micrómetros y 450 micrómetros. La altura del microcanal puede ser entre 300 micrómetros y 450 micrómetros. La altura del microcanal puede ser entre 400 micrómetros y 450 micrómetros.

40 La altura del microcanal puede ser entre 10 micrómetros y 400 micrómetros. La altura del microcanal puede ser entre 10 micrómetros y 300 micrómetros. La altura del microcanal puede ser entre 10 micrómetros y 200 micrómetros. La altura del microcanal puede ser entre 10 micrómetros y 100 micrómetros. La altura del microcanal puede ser entre 10 micrómetros y 50 micrómetros. La altura del microcanal puede ser entre 10 micrómetros y 40 micrómetros. La altura del microcanal puede ser entre 10 micrómetros y 30 micrómetros. La altura del microcanal puede ser entre 10 micrómetros y 20 micrómetros.

En un ejemplo preferente, la altura del microcanal está entre 50 micrómetros y 150 micrómetros.

45 La vía de fluido primaria puede tener una longitud mayor o igual a 1 milímetro. Preferentemente, la longitud de la vía de fluido primaria es mayor o igual a 2 milímetros. Preferentemente, la longitud de la vía de fluido primaria es mayor o igual a 3 milímetros. Preferentemente, la longitud de la vía de fluido primaria es mayor o igual a 4 milímetros. Preferentemente, la longitud de la vía de fluido primaria es mayor o igual a 5 milímetros.

50 La longitud de la vía de fluido primaria puede ser entre 1 milímetro y 40 milímetros. La longitud de la vía de fluido primaria puede ser entre 5 milímetros y 40 milímetros. La longitud de la vía de fluido primaria puede ser entre 10 milímetros y 40 milímetros. La longitud de la vía de fluido primaria puede ser entre 20 milímetros y 40 milímetros. La longitud de la vía de fluido primaria puede ser entre 30 milímetros y 40 milímetros.

55 La longitud de la vía de fluido primaria puede ser entre 1 milímetro y 30 milímetros. La longitud de la vía de fluido primaria puede ser entre 1 milímetro y 20 milímetros. La longitud de la vía de fluido primaria puede ser entre 1 milímetro y 10 milímetros. La longitud de la vía de fluido primaria puede ser entre 1 milímetro y 5 milímetros.

En un ejemplo preferente, la vía de fluido primaria tiene una longitud de entre 5 milímetros y 10 milímetros.

El dispositivo puede comprender una interfaz de unión dispuesta para unir el dispositivo a una unidad de suministro de fluido para suministrar un flujo de fluido a la entrada de fluido.

5 El dispositivo puede comprender una pluralidad de vías de fluido primarias que se extienden entre la entrada de fluido y el terminal de fluido. El uso de una pluralidad de vías de fluido primarias puede permitir obtener un mayor rendimiento de organismos móviles. El ejemplo del dispositivo con una única vía de fluido primaria puede permitir que entre 200 y 1000 espermatozoides lleguen a la zona de recogida de muestras para que un embriólogo los seleccione. Esto es ideal para procesos ICSI. El ejemplo del dispositivo con una pluralidad de vías de fluido primarias puede permitir que un mayor rendimiento de más de 10000 células espermáticas llegue a la zona o zonas de recogida de esperma. Esto puede ser más adecuado para aplicaciones de FIV convencionales.

10 El dispositivo puede comprender una pluralidad de vías de fluido secundarias, ramificándose cada una de ellas desde una vía respectiva de las vías de fluido primarias en una ubicación aguas arriba de la zona de introducción de muestra. La zona de introducción de muestras puede estar dispuesta dentro de la pluralidad de vías de fluido primarias. La zona de introducción de muestras puede comprender una zona de introducción de muestras o una pluralidad de zonas de introducción de muestras, cada una de las cuales puede estar asociada con una de las vías de fluido primarias. Dos
15 vías de fluido secundarias pueden ramificarse de cada una de las vías de fluido primarias. La zona de recogida de muestras puede estar dispuesta dentro o en un extremo terminal de la pluralidad de vías de fluido secundarias.

Se puede proporcionar una pluralidad de zonas de recogida de muestras donde cada una de las zonas de recogida de muestras está asociada con una o un subconjunto de las vías de fluido secundarias. Por ejemplo, dos vías de fluido secundarias pueden ramificarse desde cada una de las vías de fluido primarias y cada una de las dos vías de fluido
20 secundarias puede estar asociada con una zona de recogida de muestras diferente.

Puede proporcionarse una única zona de recogida de muestras. La única zona de recogida de muestras puede ser compartida por todas las vías de fluido secundarias.

El número de vías de fluido primarias puede ser mayor o igual a 5. Preferentemente, mayor o igual a 10.

25 El número de vías de fluido primarias puede ser entre 5 y 100. El número de vías de fluido primarias puede ser entre 10 y 100. El número de vías de fluido primarias puede ser entre 20 y 100. El número de vías de fluido primarias puede ser entre 30 y 100. El número de vías de fluido primarias puede ser entre 40 y 100. El número de vías de fluido primarias puede ser entre 50 y 100. El número de vías de fluido primarias puede ser entre 60 y 100. El número de vías de fluido primarias puede ser entre 70 y 100. El número de vías de fluido primarias puede ser entre 80 y 100. El número de vías de fluido primarias puede ser entre 90 y 100.

30 El número de vías de fluido primarias puede ser entre 5 y 90. El número de vías de fluido primarias puede ser entre 5 y 80. El número de vías de fluido primarias puede ser entre 5 y 70. El número de vías de fluido primarias puede ser entre 5 y 60. El número de vías de fluido primarias puede ser entre 5 y 50. El número de vías de fluido primarias puede ser entre 5 y 40. El número de vías de fluido primarias puede ser entre 5 y 30. El número de vías de fluido primarias puede ser entre 5 y 20. El número de vías de fluido primarias puede ser entre 5 y 10.

35 En un ejemplo preferente, el número de vías de fluido primarias está entre 6 y 24, y preferentemente es 12.

El dispositivo puede comprender, además, un identificador. El identificador puede ser un identificador único. El identificador puede adoptar la forma de un código de identificación impreso, como un código de barras o un código QR. El identificador puede adoptar la forma de una etiqueta RFID.

40 El dispositivo puede comprender, además, un contador de células. El contador de células puede usarse para indicar la concentración de organismos móviles en la zona de recogida de muestras y/o proporcionar una evaluación de la motilidad de los organismos. El contador de células puede tener un volumen fijo. Los organismos en la zona de recogida de muestras pueden ser atraídos hacia el contador de células por acción capilar. El contador de células puede tener una disposición de rejilla para ayudar en el recuento manual de organismos dentro del contador de células.

45 El dispositivo se puede utilizar en el procedimiento descrito anteriormente en relación con el primer aspecto de la invención. En otras palabras, se puede controlar una unidad de suministro de fluido para proporcionar un flujo de fluido al dispositivo de separación de muestras dado a conocer en el presente documento para proporcionar un flujo de fluido entre la entrada de fluido y el extremo de fluido del dispositivo. El flujo de fluido puede tener una velocidad de flujo de introducción de muestras configurada de modo que se pueda introducir una muestra en la zona de introducción de muestras del dispositivo. La velocidad de flujo de introducción de muestras puede ser suficientemente alta como para
50 que un organismo en la muestra no pueda salir de la zona de introducción de muestras. La unidad de suministro de fluido puede controlarse para reducir la velocidad de flujo de fluido desde la velocidad de flujo de introducción de muestras a una velocidad de flujo operativa menor que la velocidad de flujo de introducción de muestras. La velocidad de flujo operativa se puede seleccionar de manera que los organismos móviles en la muestra puedan nadar contra el flujo de fluido y entrar en una zona de recogida de muestras del dispositivo.

55 Asimismo, en el presente documento se da a conocer un procedimiento de separación de muestras para separar organismos móviles de otros organismos. El procedimiento comprende proporcionar un dispositivo como se ha descrito

anteriormente. El procedimiento comprende introducir un fluido en la entrada de fluido del dispositivo de manera que se establezca un flujo de fluido entre la entrada de fluido y el extremo de fluido.

El procedimiento puede comprender el procedimiento como se ha descrito anteriormente en relación con el primer aspecto de la presente invención.

- 5 Asimismo en el presente documento se da a conocer un sistema que comprende: un dispositivo de separación de muestras como se describió anteriormente; y una unidad de suministro de fluido dispuesta para suministrar un flujo de fluido a la entrada de fluido del dispositivo.

10 Asimismo en el presente documento se da a conocer un aparato de separación de muestras para separar organismos móviles de otros organismos. El aparato comprende una unidad de recepción de dispositivo dispuesta para recibir un dispositivo. El dispositivo comprende una entrada de fluido, un terminal de fluido, una zona de introducción de muestras y una zona de recogida de muestras. El aparato comprende una unidad de suministro de fluido en comunicación fluida con la unidad de recepción de dispositivo y dispuesta para suministrar un fluido a la entrada de fluido del dispositivo de manera que se pueda establecer un flujo de fluido entre la entrada de fluido y el terminal de fluido del dispositivo. El aparato comprende una unidad de introducción de muestras dispuesta para introducir una muestra en la zona de introducción de muestras del dispositivo de manera que los organismos móviles introducidos en la zona de introducción de muestras puedan nadar contra el flujo de fluido y entrar en la zona de recogida de muestras.

Significativamente, el aparato de separación de muestras permite cargar un dispositivo en el aparato. Luego se suministra fluido al dispositivo y luego se suministra una muestra a la zona de introducción de muestras del dispositivo. El suministro de fluido y la introducción de la muestra pueden ser un proceso automatizado independiente del usuario.

- 20 La unidad de suministro de fluido puede ser una unidad de suministro de fluido automatizada dispuesta para suministrar fluido sin requerir una entrada específica del usuario. La unidad de introducción de muestras puede ser una unidad de introducción de muestras automatizada dispuesta para suministrar una muestra sin requerir una entrada específica del usuario. La unidad de introducción de muestras puede estar dispuesta para introducir un volumen predefinido de muestra en la zona de introducción de muestras del dispositivo.

- 25 El aparato puede estar dispuesto para encerrar el dispositivo. Esto puede proteger el dispositivo de perturbaciones ambientales durante la operación de separación de muestras. Encerrar el dispositivo dentro del aparato puede tener el efecto de sellar el dispositivo frente a las presiones atmosféricas locales. Los cambios de presión atmosférica local pueden ser causados por actos tan simples como abrir o cerrar una puerta en el laboratorio donde se encuentra el aparato. Es decir, cuando el dispositivo está encerrado en el aparato, el aparato está dispuesto para sellar el dispositivo frente a cambios de presión atmosférica en las proximidades del aparato.

La unidad de recepción de dispositivo puede disponerse para realizar una transición entre una configuración abierta en la que se puede recibir un dispositivo y una configuración cerrada en la que el dispositivo está encerrado dentro del aparato.

- 35 El aparato puede estar dispuesto para controlar las perturbaciones ambientales. Es decir, el aparato puede proporcionar un entorno controlado para la operación de separación de muestras. Las perturbaciones ambientales pueden comprender al menos uno de entre vibración, cambios de presión atmosférica y cambios de temperatura. Por lo tanto, el aparato puede ser un sistema automatizado que ayuda a garantizar una implementación consistente, controlada y fiable de un proceso de separación de muestras usando un dispositivo de separación de muestras cargado en el aparato. El aparato permite controlar las fluctuaciones de temperatura, las fluctuaciones de presión u otras fuentes ambientales de ruido que pueden comprender la eficacia del dispositivo de separación de muestras.

- 40 El aparato puede comprender una unidad de control de temperatura operable para controlar la temperatura dentro de al menos la proximidad de la unidad de recepción de dispositivo del aparato. La unidad de control de temperatura puede comprender un sensor de temperatura. El sensor de temperatura puede estar dispuesto para detectar la temperatura en las proximidades de la unidad de recepción de dispositivo. La unidad de control de temperatura puede estar dispuesta para controlar (por ejemplo, aumentar o disminuir) la temperatura en las proximidades de la unidad de recepción de dispositivo en respuesta a que el sensor de temperatura detecte una temperatura fuera de un intervalo de valores de temperatura preferentes. La unidad de control de temperatura puede comprender una unidad de calefacción y/o refrigeración. En un ejemplo particular, la unidad de control de temperatura puede funcionar para mantener la temperatura a 37 grados centígrados.

- 50 El aparato puede comprender una disposición de supresión de vibraciones para suprimir la vibración de al menos el dispositivo cuando se recibe en la unidad de recepción de dispositivo. La disposición de supresión de vibraciones puede comprender material amortiguador de vibraciones. La disposición de supresión de vibraciones puede comprender un sistema de aislamiento de vibraciones dispuesto para aislar de vibraciones externas el dispositivo, cuando se recibe en la unidad de recepción de dispositivo. El sistema de aislamiento de vibraciones puede comprender un sistema de aislamiento pasivo. El sistema de aislamiento pasivo puede comprender un resorte, un aislador de aire neumático o un material amortiguador flexible, tal como un material elastomérico. El sistema de aislamiento de vibraciones puede comprender un sistema de aislamiento activo. El sistema de aislamiento activo puede comprender un sensor de vibración, un controlador y un actuador. El sensor de vibraciones puede detectar vibraciones que pueden

ser procesadas por el controlador y utilizadas para accionar un actuador para suprimir la vibración. El actuador puede ser un actuador lineal, un actuador neumático o un actuador piezoeléctrico. El sensor puede ser un acelerómetro.

5 La unidad de introducción de muestras puede estar dispuesta para introducir un volumen predefinido de muestra en la zona de introducción de muestras. La unidad de introducción de muestras puede estar dispuesta para introducir una muestra en la zona de introducción de muestras del dispositivo automáticamente en respuesta a que se alcance al menos una condición predeterminada.

10 La al menos una condición predeterminada puede comprender al menos uno de un tiempo predeterminado que haya transcurrido después de que el dispositivo es recibido por la unidad de recepción de dispositivo, que se haya establecido una velocidad de flujo predeterminada y que se haya establecido una condición ambiental predeterminada dentro de al menos la proximidad de la unidad de recepción de dispositivo del aparato. La condición ambiental puede ser una condición de temperatura.

15 El aparato puede comprender, además, una unidad de recogida de muestras dispuesta para recuperar la muestra de la zona de recogida de muestras. La unidad de recogida de muestras puede ser una unidad de recogida de muestras automatizada dispuesta para recoger una muestra sin requerir una entrada específica del usuario. La unidad de recogida de muestras puede estar dispuesta para transferir la muestra recogida a un receptáculo.

La unidad de recogida de muestras puede estar dispuesta para recuperar la muestra de la zona de recogida de muestras del dispositivo automáticamente en respuesta a que se alcance al menos una condición predeterminada.

20 La al menos una condición predeterminada puede comprender al menos uno de un tiempo predeterminado que ha transcurrido después de que la unidad de introducción de muestras introduce la muestra en la zona de introducción de muestras y se establece una velocidad de flujo predeterminada.

El aparato puede comprender, además, un controlador operable para controlar la unidad de suministro de fluido. El controlador puede ser operable para controlar la unidad de introducción de muestras. El controlador puede ser operable para controlar la unidad de recogida de muestras. El controlador puede ser operable para controlar la disposición de supresión de vibraciones y/o la unidad de control de temperatura.

25 El aparato puede comprender, además, una unidad de generación de imágenes operable para generar imágenes del dispositivo recibido en la unidad de recepción del dispositivo. De este modo, la unidad de generación de imágenes puede permitir la monitorización óptica de la muestra. Preferentemente, la unidad de generación de imágenes permite la monitorización óptica de la zona de recogida de muestras de manera que un usuario pueda determinar si han entrado suficientes organismos móviles en la zona de recogida de muestras. La unidad de generación de imágenes es operable para ampliar la muestra para inspección visual. La unidad de generación de imágenes es operable para usar contraste de fase para resaltar visualmente más claramente la muestra dentro del dispositivo. La unidad de generación de imágenes puede ser móvil para cambiar la ubicación del dispositivo del que se generan las imágenes. La unidad de generación de imágenes puede estar motorizada y puede moverse dentro de un plano 2D por encima del dispositivo. La unidad de generación de imágenes puede moverse aproximadamente 15 milímetros en la dirección X del plano 2D y aproximadamente 10 mm en la dirección Y del plano 2D.

El dispositivo puede ser un dispositivo microfluídico. El dispositivo puede ser un dispositivo como el descrito anteriormente. El controlador puede ser operable para controlar la unidad de suministro de fluido para suministrar fluido al dispositivo de acuerdo con el primer aspecto de la presente invención.

40 Asimismo en el presente documento se da a conocer un procedimiento para separar organismos móviles de otros organismos usando un aparato de separación de muestras. El procedimiento comprende colocar un dispositivo en una unidad de recepción de dispositivos del aparato de separación de muestras. El dispositivo comprende una entrada de fluido, un terminal de fluido, una zona de introducción de muestras y una zona de recogida de muestras. El procedimiento comprende controlar una unidad de suministro de fluido del aparato de separación de muestras para suministrar un fluido a la entrada de fluido del dispositivo de manera que se pueda establecer un flujo de fluido entre la entrada de fluido y el terminal de fluido del dispositivo. El procedimiento comprende controlar una unidad de introducción de muestras del aparato de separación de muestras para suministrar una muestra a la zona de introducción de muestras del dispositivo de manera que los organismos móviles introducidos en la zona de introducción de muestras puedan nadar contra el flujo de fluido y entrar en la zona de recogida de muestras.

45 El procedimiento puede comprender controlar la unidad de suministro de fluido para proporcionar un flujo de fluido que tenga una velocidad de flujo de introducción de muestras. La velocidad de introducción de muestras se establece de manera que se pueda introducir una muestra en una zona de introducción de muestras del dispositivo. Si bien el flujo de fluido tiene la velocidad de flujo de introducción de muestras, el procedimiento puede comprender controlar la unidad de introducción de muestras para suministrar la muestra a la zona de introducción de muestras.

55 El procedimiento puede comprender reducir la velocidad de flujo a una velocidad de flujo operativa después de que la muestra se suministra a la zona de introducción de muestras. La velocidad de flujo operativa se selecciona de manera que los organismos móviles en la muestra puedan nadar contra el flujo de fluido y entrar en una zona de recogida de muestras del dispositivo.

El procedimiento puede comprender controlar una unidad de recogida de muestras del aparato de separación de muestras para recoger una muestra de una zona de recogida de muestras del dispositivo. El procedimiento puede comprender aumentar la velocidad de flujo a una velocidad de flujo de recogida de muestras antes de controlar la unidad de recogida de muestras para recoger la muestra de la zona de recogida de muestras.

- 5 El procedimiento puede comprender controlar la unidad de suministro de fluido según los enfoques descritos anteriormente en relación con el primer aspecto de la invención.

En todos los aspectos de la presente invención, el fluido se refiere a un medio adecuado para que se muevan los organismos móviles deseados. El medio puede ser un medio celular. El fluido puede ser un líquido y puede ser una solución tampón. El líquido puede ser una solución salina o una solución más viscosa.

- 10 En todos los aspectos de la presente invención, los organismos móviles pueden ser organismos que presentan una forma de taxis. La taxis se entenderá como la capacidad que tienen ciertos organismos de moverse en respuesta a un estímulo. Los organismos móviles pueden presentar una o una combinación de reotaxis, tigmotaxis, quimiotaxis y termotaxis. Se entenderá por reotaxis la capacidad de ciertos organismos de alinearse generalmente con un flujo de fluido y nadar en contra de él. Se entenderá por tigmotaxis la capacidad de desplazarse que tienen determinados organismos para moverse o en las proximidades de la pared de un canal. Se entenderá por quimiotaxis la capacidad de determinados organismos de moverse en respuesta a un estímulo químico. Se entenderá por termotaxis la capacidad de determinados organismos de moverse a lo largo o en contra de un gradiente de temperatura.

- 15 En todos los aspectos de la presente invención, los organismos móviles pueden ser espermatozoides. La muestra puede ser una muestra de esperma. La muestra de esperma puede comprender espermatozoides móviles, espermatozoides muertos y espermatozoides deformes o, de otro modo, no móviles. La muestra de esperma también puede comprender otros organismos tales como glóbulos blancos que no son móviles e idealmente se separan de la muestra de esperma antes de realizar una operación de inseminación artificial. La presente invención no se limita a la separación de espermatozoides. Otros organismos que son capaces de moverse contra un flujo de fluido pueden separarse según los enfoques de la presente invención. Los organismos podrían ser células bacterianas o eucariotas con flagelos que les permiten nadar contra un flujo de fluido.

- 20 Para una mejor comprensión de la invención, y para mostrar cómo se pueden llevar a cabo realizaciones de la misma, ahora se hará referencia, sólo a modo de ejemplo, a los dibujos esquemáticos adjuntos en los que:

la figura 1 es un diagrama esquemático de un dispositivo de separación de muestras según una implementación existente;

- 30 la figura 2 es un diagrama de flujo de proceso de un procedimiento de separación de muestras de ejemplo según aspectos de la presente invención;

la figura 3 es otro diagrama de flujo de proceso de un procedimiento de separación de muestras de ejemplo según aspectos de la presente invención;

- 35 la figura 4(a) es un gráfico que muestra el cambio en la velocidad de flujo de fluido frente al tiempo, según un procedimiento de separación de muestras de ejemplo según aspectos de la presente invención;

la figura 4(b) es un gráfico que muestra el número de espermatozoides sin clasificar en la zona de recogida de muestras frente al período de tiempo para la reducción de la velocidad de flujo de introducción de la muestra a la velocidad de flujo operativa;

- 40 las figuras 5(a)-5(c) son diagramas esquemáticos de un dispositivo de separación de muestras de ejemplo dado a conocer en el presente documento;

la figura 6 es un diagrama esquemático de otro dispositivo de separación de muestras de ejemplo dado a conocer en el presente documento;

la figura 7 es un diagrama esquemático de otro dispositivo de separación de muestras de ejemplo dado a conocer en el presente documento;

- 45 las figuras 8(a) a 8(b) son diagramas esquemáticos de otro dispositivo de separación de muestras de ejemplo dado a conocer en el presente documento;

la figura 8(c) es un diagrama esquemático de otro dispositivo de separación de muestras de ejemplo dado a conocer en el presente documento;

- 50 la figura 9 es un diagrama esquemático de otro dispositivo de separación de muestras de ejemplo dado a conocer en el presente documento;

la figura 10 es un diagrama de bloques simplificado de un aparato de separación de muestras dado a conocer en el presente documento; y

las figuras 11(a)-11(b) son vistas en perspectiva de otro aparato de separación de muestras de ejemplo dado a conocer en el presente documento.

5 Haciendo referencia a la figura 2, se muestra un diagrama de flujo de proceso de ejemplo para un procedimiento según una implementación de ejemplo de la presente invención. El procedimiento es un procedimiento de separación de muestras para separar organismos móviles de otros organismos.

10 La etapa 201 del procedimiento comprende proporcionar un flujo de fluido que tiene una velocidad de flujo de introducción de muestras. En particular, el procedimiento comprende controlar una unidad de suministro de fluido para proporcionar un flujo de fluido a un dispositivo de separación de muestras que comprende una entrada de fluido y un terminal de fluido. El flujo de fluido se proporciona entre la entrada de fluido y el terminal de fluido del dispositivo y puede denominarse vía de fluido primaria. En otras palabras, el dispositivo proporciona un canal entre la entrada de fluido y el terminal de fluido del dispositivo. La unidad de suministro de fluido está controlada para suministrar fluido a la entrada de fluido de manera que pueda fluir a través del canal hasta el terminal de fluido.

15 La velocidad de flujo de introducción de muestras se establece de modo que se pueda introducir una muestra en una zona de introducción de muestras del dispositivo. La muestra se puede introducir en la zona de introducción de muestras, por ejemplo, pipeteando la muestra en la zona de introducción de muestras. La muestra puede introducirse mediante una unidad de introducción de muestras de un aparato de separación de muestras en el que está colocado el dispositivo.

20 Es importante destacar que la velocidad de flujo de introducción de muestras se establece para que sea lo suficientemente alta como para que un organismo en la muestra no pueda salir de la zona de introducción de muestras. Con esto, se quiere decir que la velocidad de flujo del fluido es suficientemente alta como para que el flujo de fluido entre la entrada de fluido y el terminal de fluido presente una barrera que evita que los organismos dentro de la zona de introducción de muestras abandonen la zona de introducción de muestras y entren en el flujo de fluido. Esto, por ejemplo, evita que los organismos suban por el conducto hacia una zona de recogida de muestras del dispositivo por acción capilar.

25 La etapa 202 del procedimiento comprende reducir la velocidad de flujo de fluido a una velocidad de flujo operativa inferior a la velocidad de introducción de muestras. En particular, el procedimiento comprende controlar la unidad de suministro de fluido para reducir la velocidad de flujo de fluido desde la velocidad de flujo de introducción de muestras a una velocidad de flujo operativa menor que la velocidad de flujo de introducción de muestras. La velocidad de flujo operativa se selecciona de manera que los organismos móviles en la muestra puedan nadar contra el flujo de fluido y entrar en una zona de recogida de muestras del dispositivo.

Haciendo referencia a la figura 3, se muestra otro diagrama de flujo de proceso de ejemplo para un procedimiento según una implementación de ejemplo de la presente invención. El procedimiento es un procedimiento de separación de muestras para separar organismos móviles de otros organismos.

35 La etapa 301 del procedimiento comprende proporcionar un flujo de fluido que tiene una velocidad de flujo de cebado del dispositivo.

La etapa 302 del procedimiento comprende proporcionar un flujo de fluido que tiene una velocidad de flujo de introducción de muestras. En otras palabras, la velocidad de flujo se reduce desde la velocidad de flujo de cebado del dispositivo hasta la velocidad de flujo de introducción de muestras. La velocidad de flujo de introducción de muestras es menor que la velocidad de flujo de cebado del dispositivo.

40 La etapa 303 del procedimiento comprende reducir la velocidad de flujo de fluido a una velocidad de flujo operativa inferior a la velocidad de flujo de introducción de muestras. La velocidad de flujo de fluido se mantiene a la velocidad de flujo operativa durante un período de tiempo suficiente para permitir que una cantidad deseada de organismos móviles nadan contra el flujo de fluido y entren en la zona de recogida de muestras.

45 La etapa 304 del procedimiento comprende aumentar la velocidad de flujo de fluido a una velocidad de flujo de recogida de muestras mayor que la velocidad de flujo de introducción de muestras. Esto significa que una vez que hay una concentración suficiente de organismos móviles en la zona de recogida de muestras, la velocidad de flujo puede aumentarse hasta una velocidad de flujo de recogida de muestras. Cuando la velocidad de flujo es la velocidad de flujo de recogida de muestras, la muestra puede retirarse de la zona de recogida de muestras. En particular, se puede controlar una unidad de recogida de muestras del aparato de separación de muestras para retirar la muestra de la zona de recogida de muestras. La velocidad de flujo de recogida de muestras se puede configurar para que sea suficientemente alta para evitar que los organismos dentro de la zona de introducción de muestras sean atraídos a la zona de recogida de muestras mientras la muestra se retira de la zona de recogida de muestras.

55 En una realización a modo de ejemplo de un procedimiento de acuerdo con la presente invención, el procedimiento comprende, además, una etapa de eliminación de burbujas. En una realización a modo de ejemplo, la etapa de eliminación de burbujas forma parte de la etapa de cebado del dispositivo o está incluida en ella. Es decir, la etapa de cebado del dispositivo 301 comprende la eliminación de burbujas. La etapa de eliminación de burbujas precede a la introducción de la muestra. De esta manera, se pueden eliminar las burbujas del fluido antes de la introducción de la

muestra. La eliminación de burbujas puede facilitarse proporcionando un flujo de fluido a una velocidad de flujo de eliminación de burbujas. La ubicación de las burbujas es una función de la arquitectura del dispositivo, la desgasificación, la entrada de aire, las interacciones entre materiales y fluidos y aire (incluidas las tensiones superficiales).

5 Haciendo referencia a la figura 4(a), se muestra un gráfico de ejemplo de la velocidad de flujo frente al tiempo, de acuerdo con una implementación de ejemplo del procedimiento descrito anteriormente en relación con la figura 3. El eje y del gráfico representa la velocidad y utiliza una escala logarítmica. El eje x del gráfico representa el tiempo y utiliza una escala lineal.

10 La figura 4(a) muestra que el proceso comienza proporcionando flujo de fluido a la velocidad 401 del flujo de cebado del dispositivo. La velocidad de flujo de cebado del dispositivo es de 1,6 milímetros por segundo en este ejemplo. La unidad de suministro de fluido puede generar un flujo de fluido a la velocidad de flujo de cebado del dispositivo durante un corto período de tiempo. El corto período de tiempo puede estar incluso entre 1 segundo y 2 segundos.

15 La velocidad de flujo de cebado del dispositivo 401 se reduce luego a la velocidad de flujo de introducción de muestras 402. La reducción de la velocidad de flujo desde la velocidad de flujo de cebado del dispositivo 401 a la velocidad de flujo de introducción de muestras 402 puede ocurrir durante un corto período de tiempo, y puede parecer que ocurren instantáneamente, tal como se muestra en la figura 4(a). La velocidad de flujo de fluido se puede establecer en la velocidad de flujo de introducción de muestras 402 durante aproximadamente 1 minuto.

20 La velocidad de flujo de introducción de muestras 402 se reduce luego a la velocidad de flujo operativa 403. La reducción de la velocidad de flujo desde la velocidad de flujo de introducción de muestras 402 a la velocidad de flujo operativa 403 ocurre gradualmente, y en el ejemplo de la figura 4(a) tarda aproximadamente 10 minutos. La unidad de suministro de fluido mantiene entonces la velocidad de flujo operativa 403 durante un período de tiempo relativamente largo. Este período de tiempo puede ser el tiempo que tardan suficientes organismos móviles en llegar a la zona de recogida de muestras del dispositivo. Esto puede confirmarse mediante una inspección visual de la zona de recogida de muestras. Generalmente, la unidad de suministro de fluido mantendrá la velocidad de flujo operativa 403 durante entre 20 minutos y 40 minutos. En el ejemplo particular mostrado en la figura 4(a), la velocidad de flujo operativa 403 se mantiene durante 20 minutos.

25 La velocidad de flujo operativa 403 luego se incrementa hasta la velocidad de flujo de recogida de muestras 404. La velocidad de flujo de recogida de muestras 404 en este ejemplo es de 555 micrómetros por segundo. La velocidad de flujo se mantiene a la velocidad de flujo de recogida de muestras 404 durante 5 minutos. Una vez que se establece la velocidad de flujo de recogida de muestras 404, la muestra y otros fluidos en la zona de introducción de muestras pueden recogerse y desecharse. Además, se puede recoger la muestra dentro de la zona de recogida de muestras.

30 Haciendo referencia a la figura 4(b), el efecto de reducir la velocidad de flujo de introducción de muestras 402 a la velocidad de flujo operativa 403 durante un período de tiempo predeterminado se cuantifica con referencia a los siguientes ejemplos no limitativos proporcionados a continuación. Si bien los ejemplos proporcionados se refieren a una reducción de una velocidad de flujo de introducción de muestras 402 de 1400 micrómetros por segundo a una velocidad de flujo operativa 403 de 55 micrómetros por segundo durante 0, 10, 20 y 30 segundos, el experto en la materia apreciará que se pueden obtener ventajas similares utilizando diferentes períodos de tiempo o velocidades de flujo.

35 El eje y indica la cantidad de espermatozoides sin clasificar que llegaron a la zona de recogida de muestras. El eje x indica el período de tiempo necesario para la reducción de la velocidad de flujo desde la velocidad de flujo de introducción de muestras 402 hasta la velocidad de flujo operativa 403.

40 Tal como se muestra en la columna "0 segundos", reducir la velocidad de flujo de introducción de muestras 402 a la velocidad de flujo operativa 403 instantáneamente (es decir, abruptamente, repentinamente o sin una reducción gradual durante un período de tiempo) da como resultado que una gran cantidad de espermatozoides sin clasificar lleguen a la zona de recogida de muestras. Esto es muy indeseable.

45 Tal como se muestra en la columna de "10 segundos", reducir la velocidad de flujo de introducción de muestras 402 a la velocidad de flujo operativa 403 durante un período de 10 segundos (es decir, una reducción gradual, durante un período de tiempo predeterminado, de una manera no abrupta) reduce drásticamente la cantidad de espermatozoides sin clasificar que pueden llegar a la zona de recogida de muestras. Esto es muy deseable y ventajoso.

50 Tal como se muestra en la columna "20 segundos", reducir la velocidad de flujo de introducción de muestras 402 a la velocidad de flujo operativa 403 durante un período de al menos 20 segundos (es decir, una reducción gradual, durante un período de tiempo predeterminado, de una manera no abrupta) da como resultado una reducción adicional dramática de espermatozoides sin clasificar que pueden alcanzar la zona de recogida de muestras tanto en el período de tiempo de "0 segundos" como en el de "10 segundos".

55 Tal como se muestra en la columna "30 segundos", reducir la velocidad de flujo de introducción de muestras 402 a la velocidad de flujo operativa 403 durante un período de 30 segundos (es decir, una reducción gradual, durante un período de tiempo predeterminado, de una manera no abrupta) no permite que los espermatozoides sin clasificar

lleguen a la zona de recogida de muestras. Esto es muy deseable y proporciona una clasificación óptima de los espermatozoides (es decir, cuando los espermatozoides muertos y los espermatozoides deformados o, de otro modo, inmóviles no pueden alcanzar o encontrarse en la muestra recogida en la zona de recogida de muestras).

5 Entonces, de lo anterior se puede entender que cuando la velocidad de flujo se reduce de manera abrupta o instantánea, los espermatozoides sin clasificar llegan inadvertidamente a la zona de recogida de muestras. Reducir la velocidad de flujo durante un período de tiempo predeterminado reduce la cantidad de espermatozoides sin clasificar presentes en la muestra recogida. De hecho, aumentar el período de tiempo durante el cual se reduce la velocidad de flujo puede evitar que algunos o todos (en este caso, reduciendo durante 30 segundos) los espermatozoides sin clasificar lleguen a la zona de recogida de muestras. Esto es muy ventajoso para optimizar la calidad de la muestra recogida.

10 Haciendo referencia a las figuras 5(a) a 5(c), se muestra un dispositivo de separación de muestras 500 para separar organismos móviles de otros organismos. El dispositivo de separación de muestras 500 tiene la forma de un chip microfluídico 500.

15 El dispositivo 500 comprende una entrada de fluido 501. La entrada de fluido 501 indica un punto donde el fluido puede entrar al dispositivo desde una unidad de suministro de fluido tal como una bomba en cooperación con un almacén de fluido. El dispositivo 500 también comprende un terminal de fluido 503 en comunicación fluida con la entrada de fluido 501. El terminal de fluido 503 en este ejemplo tiene la forma de un pozo de recogida de fluido 503. Un canal microfluídico 505 se extiende entre la entrada de fluido 501 y el terminal de fluido 503. El fluido que fluye desde la entrada de fluido 501 al terminal de fluido 503 forma una vía de fluido primaria 505 para el dispositivo 500.

20 El dispositivo 500 comprende una zona de introducción de muestras 507. La zona de introducción de muestras 507 indica una zona del dispositivo 500 donde se puede introducir una muestra. Esto normalmente se realiza pipeteando la muestra en la zona de introducción de muestras 507. La zona de introducción de muestras 507 se proporciona dentro de la vía de fluido primaria 505 en una ubicación entre la entrada de fluido 501 y el terminal de fluido 503, y en particular, está próxima al terminal de fluido 503.

25 El dispositivo 500 comprende una zona de recogida de muestras 509. La zona de recogida de muestras 509 indica una zona del dispositivo 500 donde se pueden recoger organismos móviles. La zona de recogida de muestras 509 está situada aguas arriba de la zona de introducción de muestras 507. En el ejemplo de la figura 5(a), se proporcionan dos zonas de recogida de muestras 509a, 509b en los extremos terminales de los microcanales 511a, 511b que se han ramificado de la vía de flujo primaria 505. Los microcanales 511a, 511b forman vías de fluido secundarias 511a, 511b.

Con más detalle, se puede ver que la vía de fluido primaria 505 está definida por paredes laterales opuestas 513a, 513b. En el punto de ramificación 515, las dos paredes laterales 513a, 513b se ramifican para formar paredes laterales de los microcanales 511a, 511b. De esta manera, hay una superficie de pared continua que se extiende entre la zona de introducción de muestras 507 y cada una de las zonas de recogida de muestras 509a, 509b.

35 La figura 5(a) muestra el dispositivo 500 durante la etapa 301 del procedimiento descrito anteriormente en relación con la figura 3. En particular, se proporciona un flujo de fluido entre la entrada de fluido y el terminal de fluido que tiene la velocidad de flujo de cebado del dispositivo. En esta etapa, no se ha introducido ninguna muestra en la zona de introducción de muestras 507.

40 La figura 5(b) muestra el dispositivo 500 durante la etapa 302 del procedimiento descrito anteriormente en relación con la figura 3. En particular, la velocidad de flujo de fluido se ha reducido a la velocidad de flujo de introducción de muestras. Además, se ha pipeteado una muestra en la zona de introducción de muestras 507.

45 La figura 5(c) muestra el dispositivo 500 durante la etapa 303 del procedimiento descrito anteriormente en relación con la figura 3. En particular, la velocidad de flujo de fluido se ha reducido a la velocidad de flujo operativa. Los organismos móviles pueden nadar contra el flujo de fluido, escapar de la zona de introducción de muestras 507 y entrar en la zona de recogida de muestras 509.

Haciendo referencia a la figura 6, se muestra otro dispositivo de separación de muestras 600 de ejemplo.

50 El dispositivo de separación de muestras 600 comprende una entrada de fluido 601. Se proporciona un conector en forma de conector de empuje 613 aguas arriba de la entrada de fluido 601. El conector de empuje 613 comprende un canal 615 que está en comunicación fluida con la entrada de fluido 601. El conector de empuje 613 permite que el dispositivo de separación de muestras 600 sea conectado a una unidad de suministro de fluido.

55 El dispositivo de separación de muestras 600 comprende, además, un terminal de fluido 603 en forma de una salida de fluido 603. El fluido puede fluir fuera del dispositivo de separación de muestras 600 a través de la salida de fluido 603. Se proporciona una zona de introducción de muestras 607 en las proximidades de la salida de fluido 603. Una vía de fluido primaria 605 se extiende entre la entrada de fluido 601, la zona de introducción de muestras 607 y la salida de fluido 603.

El dispositivo de separación de muestras 600 comprende, además, dos zonas de recogida de muestras 609a, 609b ubicadas aguas arriba de la zona de introducción de muestras 607. Las dos zonas de recogida de muestras 609a, 609b están proporcionadas en los extremos terminales de los microcanales 611a, 611b que se han ramificado de la vía de fluido primaria 605. Los microcanales 611a, 611b forman vías de fluido secundarias 611a, 611b.

5 Haciendo referencia a la figura 7, se muestra otro ejemplo de vías de flujo primaria y secundarias 705, 711a, 711b en un dispositivo de separación de muestras 700. La vía de flujo primaria se extiende entre una entrada de fluido (no mostrada) y una zona de introducción de muestras/terminal de fluido 707, 703. Dos vías de fluido secundarias 711a, 711b se ramifican desde la vía de flujo primaria 705 y terminan en las zonas de recogida de muestras 709a, 709b. Las
10 vías de fluido secundarias 711a, 711b en este ejemplo están curvadas en ángulo para garantizar que se experimente una tensión cortante de pared distinta de cero a lo largo de la vía de fluido secundaria. En este ejemplo particular, las vías curvas de fluido secundarias 711a representan arcos de un círculo que tiene un radio de 1 mm.

Además, el ejemplo de la figura 7 muestra que la zona de introducción de muestras 707 y las zonas de recogida de muestras 709a, 709b tienen todas un radio de 1,4 mm. La longitud de la vía de fluido primaria entre la zona de introducción de muestras y las zonas de recogida de muestras 709a, 709b es de 10 mm. El ancho de la vía del fluido
15 primaria es de 0,75 mm.

Haciendo referencia a las figuras 8(a) y (b), se muestra otro dispositivo de separación de muestras. El dispositivo 800 tiene la forma de un chip microfluídico 800.

La figura 8(a) muestra una superficie frontal del dispositivo 800. La figura 8(a) muestra una entrada de fluido 801 donde se puede introducir un fluido mediante una unidad de suministro de fluido.

20 La figura 8(b) muestra una superficie trasera del dispositivo 800. La figura 8(b) muestra que el fluido que entra en la entrada de fluido 801 desde la superficie frontal 800 del dispositivo fluye hacia la superficie trasera del dispositivo 800 y entra en el canal 805. El canal 805 forma una parte sustancial de un círculo. Dentro del canal hay doce puertos de fluido 807a a 807l que proporcionan una vía de fluido entre la superficie trasera del dispositivo 800 y la superficie frontal del dispositivo 800. El fluido que fluye a través del canal 805 entra en los puertos de fluido 807a a 807t y pasa
25 a la superficie frontal del dispositivo 800.

La figura 8(a) muestra que en la superficie frontal del dispositivo 800, cada uno de los puertos de fluido 807a a 807t está en comunicación fluida con un canal microfluídico 809a a 809l que se extiende hacia el centro del dispositivo 800. Un terminal de fluido 811 está ubicado en el centro del dispositivo. Por lo tanto, se puede ver que el fluido fluye desde la entrada de fluido 801 hasta el terminal de fluido 811 a través del canal 805, los puertos de fluido 807a a 807l y los
30 microcanales 809a a 809l. Se puede considerar que los microcanales 809a a 809l proporcionan una pluralidad de vías de fluido primarias entre la entrada de fluido 801 y el terminal de fluido 811.

La figura 8(a) muestra, además, una pluralidad de zonas de introducción de muestras 813a a 813l ubicadas en los extremos terminales de los correspondientes microcanales 809a a 809t. Las zonas de introducción de muestras 813a a 813l son zonas donde la muestra se introduce en la vía de fluido primaria, por ejemplo pipeteando muestra en cada una de las zonas de introducción de muestras 813a a 813l. Los organismos móviles en la muestra son capaces de nadar contra el flujo de fluido, nadar hacia arriba por los microcanales 809a a 809l y seguir las vías de fluido secundarias ramificadas 815a, 817a a 815l, 817l hasta una zona de recogida de muestras 819. En la muestra de la
35 figura 8, se proporciona una zona de recogida de muestras común 819 que se comparte con todas las zonas de introducción de muestras 813a a 813l. Es decir, cada una de las zonas de introducción de muestras 813a a 813l está en comunicación fluida con la misma zona de recogida de muestras 819. La zona de recogida de muestras 819 se muestra en forma de un canal circular 819.

La figura 8(a) muestra, además, un punto de extracción de muestras 821 que está en comunicación fluida con la zona de recogida de muestras 819 a través del canal 823. Se puede colocar una pipeta en el punto de extracción de muestras 821 y se puede activar para aspirar los organismos móviles dentro del zona de recogida de muestras 819. El dispositivo 800 de la figura 8 puede comprender, además, una válvula de corte (no mostrada) que puede desplegarse para cortar la comunicación fluida entre las zonas de introducción de muestras 813a a 813l y la zona de recogida de muestras 819. La válvula de corte puede ser beneficiosa para evitar que los organismos que permanecen en la zona de introducción de muestras sean aspirados por una pipeta desplegada en el punto de extracción de
45 muestras 821.

50 En un ejemplo de funcionamiento del dispositivo de las figuras 8(a) y (b), se puede conectar una fuente de fluido, tal como una jeringa, a la entrada de fluido 801. La jeringa se puede activar mediante una unidad de suministro de fluido, tal como una bomba de jeringa. Inicialmente, el fluido puede suministrarse a la entrada de fluido 801 a una alta velocidad de flujo de cebado del dispositivo. El fluido fluirá desde la entrada de fluido 801 hacia y alrededor del canal 805 en la superficie inferior/trasera del dispositivo 800. A medida que el fluido fluye alrededor del canal 805, el fluido entrará en los puertos de fluido 807a a 807l, regresará a la superficie frontal del dispositivo 800 y fluirá a través de los
55 microcanales 809a a 809l hasta el terminal de fluido 811.

Una vez que se ceba el dispositivo 800, la velocidad de flujo del flujo de fluido se reduce a la velocidad de flujo de introducción de muestras. Luego se introducen muestras en las zonas de introducción de muestras 813a a 813l

mediante una o varias pipetas. La velocidad de flujo de introducción de muestras impide que la muestra entre en los microcanales 809a a 809l/zona de recogida de muestras 819 mediante mecanismos tales como la acción capilar o debido a la fuerza de pipeteo.

5 Luego, la velocidad de flujo se reduce nuevamente a la velocidad de flujo operativa, y los organismos móviles en las muestras pueden nadar contra el flujo de fluido, nadar hacia arriba por los microcanales 809a a 809t y seguir las vías de fluido secundarias ramificadas 815a, 817a - 815l, 817l2 hasta una zona de recogida de muestras 819.

10 Luego se aumenta la velocidad de flujo hasta una velocidad de flujo de recogida de muestras. Se coloca una pipeta en el punto de extracción de muestras 821 y aspira los organismos móviles dentro de la zona de recogida de muestras 819. En otras palabras, los organismos móviles ubicados alrededor de la zona de recogida de muestras 819 son aspirados hacia el punto de extracción de muestras 821 mediante la acción de pipeteo. La velocidad de flujo de recogida de muestras puede ser suficientemente alta para impedir que la pipeta aspire otros organismos que permanecen en la zona de introducción de muestras 813a a 813l hacia la zona de recogida de muestras 819. Como medida de precaución adicional, la válvula de corte (no mostrada) puede desplegarse para cortar la comunicación fluida entre las zonas de introducción de muestras 813a a 813l y la zona de recogida de muestras 819.

15 Haciendo referencia a la figura 8(c), se muestra otro dispositivo de separación de muestras 850 de ejemplo. El dispositivo 850 tiene la forma de un chip microfluídico 850.

20 La figura 8(c) muestra una superficie frontal del dispositivo 850. La figura 8(c) muestra la entrada de fluido 854 donde se puede introducir un fluido mediante una unidad de suministro de fluido. El dispositivo 850 también comprende una pluralidad de terminales de fluido 856 proporcionados en un depósito de salida 858. Tal como se muestra en la figura, los terminales de fluido 856 están en comunicación fluida con la entrada de fluido 854. Una pluralidad de canales microfluídicos 860 se extienden radialmente hacia afuera desde una zona central de recogida de muestras 862, en forma de arco. Cada canal 860 está definido por un par de paredes de canal. Al proporcionar una pluralidad de canales microfluídicos 860, se puede obtener una mayor cantidad de muestra mediante el procedimiento de separación.

25 El dispositivo 850 comprende una zona de introducción de muestras 864 en forma de entrada de muestras 866 y canal de carga 868. El canal de carga 868 es un arco que rodea el depósito de salida 858. La zona de introducción de muestras 864 denota una zona del dispositivo 850 donde se puede introducir una muestra. Esto normalmente se realiza pipeteando la muestra en la entrada de muestras 866 y permitiendo que se disperse a través del canal de carga 868. La zona de introducción de muestras 864 permite así una distribución uniforme de la muestra alrededor de los canales microfluídicos 860. Por lo tanto, existe una mayor probabilidad de recoger una muestra de alta calidad mediante el procedimiento de separación, ya que los organismos móviles pueden distribuirse a lo largo del canal de carga 868 donde pueden entrar al depósito de salida 858 a través de una pluralidad de canales de difusión 870 para acceder a los canales microfluídicos 860 cercanos.

30 La zona de recogida de muestras 862 indica una zona del dispositivo 850 donde se pueden recoger organismos móviles. La zona de recogida de muestras 862 está situada aguas arriba de la zona de introducción de muestras 864. Es decir, en uso, el fluido fluye desde la zona de recogida de muestras 862 hasta la zona de introducción de muestras 864 aguas abajo, de modo que los organismos móviles nadan desde la zona de introducción de muestras 864 hasta la zona de recogida de muestras 862 aguas arriba. En el ejemplo de la figura 8(c), la zona de recogida de muestras 862 se proporciona en los extremos terminales de los microcanales 860.

35 En un ejemplo de funcionamiento del dispositivo de la figura 8(c), se puede conectar una fuente de fluido, tal como una jeringa, a la entrada de fluido 854. La jeringa se puede activar mediante una unidad de suministro de fluido, tal como una bomba de jeringa. Inicialmente, durante una fase de cebado, se puede suministrar fluido a la entrada de fluido 854 a una velocidad de flujo de cebado del dispositivo alta. El fluido fluirá desde las entradas de fluido 854 hacia y a través de los canales microfluídicos 860. El fluido que sale de los canales microfluídicos fluirá luego hacia los terminales de fluido 856.

40 En particular, el fluido que fluye desde la entrada de fluido 854 viaja hacia y a través de una pluralidad de canales de distribución de flujo 872 que se extienden radialmente. Cada canal de distribución de flujo 872 es arqueado, y juntos los canales de distribución de flujo 872 tienen una forma de espiral que se extiende hacia afuera desde la entrada de fluido 854. El flujo turbulento se induce a medida que el fluido sale de los canales de distribución de flujo 872 hacia la zona de recogida de muestras 862. La forma arqueada de los canales 872 puede ayudar a facilitar la creación de flujo turbulento. De esta manera, se impide que los organismos móviles que se han recogido en la zona de recogida de muestras 862 entren en los canales de distribución de flujo 872.

45 En particular, el flujo de fluido se distribuye uniformemente entre los canales microfluídicos 860, de modo que está presente un caudal sustancialmente idéntico en cada canal microfluídico 860. Además, durante el cebado, se inducen chorros de fluidos en el depósito de salida en los extremos de los canales microfluídicos 860 mediante la alta velocidad de flujo de cebado del dispositivo. Los organismos móviles nadan hacia los chorros, pero la alta velocidad de flujo les impide entrar en los canales microfluídicos 860.

55 Por supuesto, los perfiles de velocidad de flujo pueden ser como se han descrito anteriormente.

Una vez que se ceba el dispositivo 850, la velocidad de flujo del flujo de fluido se reduce a la velocidad de flujo de introducción de muestras. Luego se introduce una muestra en la zona de introducción de muestras 864. La velocidad de flujo de introducción de muestras impide que la muestra entre en los microcanales 860 o en la zona de recogida de muestras 862 mediante mecanismos tales como la acción capilar o debido a la fuerza de pipeteo.

5 Nuevamente, los chorros fluidicos impiden que los organismos móviles entren en los microcanales 860.

Luego, la velocidad de flujo se reduce nuevamente a la velocidad de flujo operativa, y los organismos móviles en las muestras pueden nadar contra el flujo de fluido, nadar por los microcanales 860 hasta la zona de recogida de muestras 862.

10 Significativamente, cuando el caudal se reduce a la velocidad de flujo operativa, los chorros fluidicos dejan de forzar a los organismos móviles a alejarse de los canales microfluidicos 860 y, en su lugar, tal vez en combinación con las dimensiones de los canales o las aberturas de los canales, inducen vórtices 3D contrarrotatorios en el depósito de salida 858 proximal a la abertura de los canales microfluidicos 860. Estos vórtices ayudan al transporte de los organismos móviles desde la muestra hacia las aberturas de los canales microfluidicos 860. Por lo tanto, estos vórtices estimulan a los organismos móviles a las aberturas de los canales microfluidicos 860. Estos vórtices podrían describirse alternativa o adicionalmente como la introducción y el mantenimiento de turbulencia proximal a la abertura de los canales microfluidicos 860.

15 La velocidad de flujo en la zona de recogida de muestras 862 está a un nivel en el que los organismos móviles que entran a la zona de recogida de muestras 862 permanecen allí y no son obligados a retroceder por los microcanales 860. Nuevamente, tal como se mencionó anteriormente, los flujos turbulentos inducidos en la zona de recogida de muestras 862 por el fluido que fluye desde los canales de distribución de flujo 872 impide que organismos móviles entren en los canales de distribución de flujo 872.

20 Luego se aumenta la velocidad de flujo hasta una velocidad de flujo de recogida de muestras. Luego se realiza una etapa de recogida de muestras. La recogida de muestras se puede lograr mediante el uso de la acción de pipeteo para recoger los organismos móviles que fueron capaces de nadar contra el flujo de fluido hacia arriba por los microcanales 860, pipeteando los organismos móviles desde la zona de recogida de muestras 862. La velocidad de flujo de recogida de muestras puede ser suficientemente alta para impedir que otros organismos que permanecen en la zona de introducción de muestras 864, u organismos móviles que no pudieron nadar completamente hacia arriba por los microcanales 860 hasta la zona de recogida de muestras 862, sean aspirados hacia la zona de recogida de muestras 862 por la pipeta.

25 Alternativamente, la recogida de muestras se puede lograr realizando una etapa de recogida de enjuague. La etapa de recogida de enjuague hace uso de la entrada 874 de la zona de recogida y la salida 876 de la zona de recogida. La entrada 874 de la zona de recogida y la salida 876 de la zona de recogida están en comunicación fluida con la zona 862 de recogida de muestras. El fluido puede enjuagarse desde la entrada de recogida 874 hasta la salida de recogida 876, eliminando así de la zona de recogida de muestras 862 los organismos móviles que pudieron nadar hacia arriba por los canales microfluidicos 860 hasta la zona de recogida de muestras 862.

30 Haciendo referencia a la figura 9, se muestra otro dispositivo de separación de muestras 900 de ejemplo. El dispositivo 900 comprende una entrada de fluido 901 . La entrada de fluido 901 indica un punto donde el fluido puede entrar al dispositivo desde una unidad de suministro de fluido tal como una bomba en cooperación con un almacén de fluido. El dispositivo 900 también comprende terminales de fluido 903 en comunicación de fluido con la entrada de fluido 901. Una pluralidad de canales microfluidicos 905 se extienden radialmente hacia afuera desde una zona central de recogida de muestras 909, en la que también está ubicada la entrada de fluido 901. Cada canal 905 está definido por un par de paredes de canales. Al proporcionar una pluralidad de canales microfluidicos 905, se puede obtener una mayor cantidad de muestra mediante el procedimiento de separación.

35 El dispositivo 900 comprende una zona de introducción de muestras 907 en forma de un anillo que rodea los canales microfluidicos 905. La zona de introducción de muestras 907 indica una zona del dispositivo 900 donde se puede introducir una muestra. Esto normalmente se realiza pipeteando la muestra en la zona de introducción de muestras 907, normalmente distribuida alrededor del anillo. La zona de introducción de muestras permite así una distribución uniforme de la muestra alrededor de los canales microfluidicos 905. Por lo tanto, existe una mayor probabilidad de recoger una muestra de alta calidad mediante el procedimiento de separación, ya que los organismos móviles pueden distribuirse por todo el anillo donde pueden acceder adecuadamente a un canal microfluidico 905 cercano.

40 Una zona de recogida de muestras 909 indica una zona del dispositivo 900 donde se pueden recoger organismos móviles. La zona de recogida de muestras 909 está situada aguas arriba de la zona de introducción de muestras 907. Es decir, en uso, el fluido fluye desde la zona de recogida de muestras a la zona de introducción de muestras aguas abajo, de modo que los organismos móviles nadan desde la zona de introducción de muestras hasta la zona de recogida de muestras aguas arriba. En el ejemplo de la figura 9, la zona de recogida de muestras se proporciona en los extremos terminales de los microcanales 905.

45 En un funcionamiento de ejemplo del dispositivo de la figura 9, se puede conectar una fuente de fluido, tal como una jeringa, a la entrada de fluido 901. La jeringa se puede activar mediante una unidad de suministro de fluido, tal como

una bomba de jeringa. Inicialmente, durante una fase de cebado, se puede suministrar fluido a la entrada de fluido 901 a una alta velocidad de flujo de cebado del dispositivo. El fluido fluirá desde la entrada de fluido 901 hacia y a través de los canales microfluídicos 905. El fluido que sale de los canales microfluídicos fluirá luego hacia los terminales de fluido 903.

- 5 En particular, el flujo de fluido se distribuye uniformemente entre los canales, de modo que está presente un caudal sustancialmente idéntico en cada canal microfluídico 905. Además, se provocan chorros fluidicos en el extremo de los canales microfluídicos 905 por la alta velocidad de flujo de cebado del dispositivo. Los organismos móviles nadan hacia los chorros, pero la alta velocidad de flujo les impide entrar en los canales microfluídicos 905.

Por supuesto, los perfiles de velocidad de flujo pueden ser como se ha descrito anteriormente.

- 10 Una vez que se ceba el dispositivo 900, la velocidad de flujo del flujo de fluido se reduce a la velocidad de flujo de introducción de muestras. Luego se introduce una muestra en la zona de introducción de muestras 907 mediante una o varias pipetas. La velocidad de flujo de introducción de muestras impide que la muestra entre en los microcanales 905 o en la zona de recogida de muestras 909 mediante mecanismos tales como la acción capilar o debido a la fuerza de pipeteo.

- 15 Nuevamente, los chorros fluidicos impiden que los organismos móviles entren en los canales 905.

Luego, la velocidad de flujo se reduce nuevamente a la velocidad de flujo operativa, y los organismos móviles en las muestras pueden nadar contra el flujo de fluido, nadar hacia arriba por los microcanales 905 hasta la zona de recogida de muestras 909.

- 20 Significativamente, cuando el caudal se reduce a la velocidad de flujo operativa, los chorros fluidicos dejan de forzar a los organismos móviles a alejarse de los canales microfluídicos 905 y, en cambio, tal vez en combinación con las dimensiones de los canales o las aberturas de los canales 905, inducen vórtices 3D contrarrotatorios en la zona de introducción de muestras 907 proximal a la abertura de los canales microfluídicos 905. Estos vórtices ayudan en el transporte de los organismos móviles desde la muestra hacia la abertura de los canales microfluídicos 905. Por lo tanto, estos vórtices turbulentos estimulan a los organismos móviles a la abertura de los canales microfluídicos 905.
- 25 Estos vórtices podrían describirse alternativa o adicionalmente como la introducción y el mantenimiento de turbulencia proximal a la abertura de los canales microfluídicos 905.

La velocidad de flujo en la zona de recogida de muestras 909 está a un nivel en el que los organismos móviles que entran a la zona de recogida de muestras 909 permanecen allí y no son obligados a retroceder por los microcanales 905.

- 30 Luego se aumenta la velocidad de flujo hasta una velocidad de flujo de recogida de muestras. Luego se usa la acción de pipeteo para recoger los organismos móviles que pudieron nadar contra el flujo de fluido hacia arriba por los microcanales 905, pipeteando los organismos móviles desde la zona de recogida de muestras 909. La velocidad de flujo de recogida de muestras puede ser suficientemente alta para impedir que otros organismos que permanecen en la zona de introducción de muestras 907, u organismos móviles que no pudieron nadar completamente hacia arriba por los microcanales 905 hasta la zona de recogida de muestras 909, sean aspirados por la pipeta hacia la zona de recogida de muestras 909.

Haciendo referencia a la figura 10, se muestra un aparato de separación de muestras 1000 de ejemplo. El aparato de separación de muestras 1000 sirve para separar organismos móviles de otros organismos.

- 40 El aparato de separación de muestras 1000 comprende una unidad de recepción de dispositivo 1001 dispuesta para recibir un dispositivo. El dispositivo puede ser un dispositivo de separación de muestras tal como se describe anteriormente en relación con las figuras 5 a 9. El dispositivo comprende una entrada de fluido, un terminal de fluido, una zona de introducción de muestras y una zona de recogida de muestras.

- 45 El aparato de separación de muestras 1000 comprende una unidad de suministro de fluido 1003 en comunicación fluida con la unidad de recepción del dispositivo 1001. La unidad de suministro de fluido 1003 está dispuesta para suministrar un fluido a la entrada de fluido del dispositivo de manera que se pueda establecer un flujo de fluido entre la entrada de fluido y el terminal de fluido del dispositivo.

La unidad de suministro de fluido puede comprender una fuente de fluido y una bomba. La bomba puede funcionar por aspiración o por presión. La bomba puede ser una bomba microfluídica. La bomba puede ser una bomba de jeringa.

- 50 El aparato de separación de muestras 1000 comprende una unidad de introducción de muestras 1005 dispuesta para introducir una muestra en la zona de introducción de muestras del dispositivo de manera que los organismos móviles introducidos en la zona de introducción de muestras puedan nadar contra el flujo de fluido y entrar en la zona de recogida de muestras.

El aparato de separación de muestras 1000 comprende, además, una unidad de recogida de muestras 1007 dispuesta para recoger la muestra de la zona de recogida de muestras del dispositivo.

5 El aparato de separación de muestras 1000 comprende, además, un controlador 1009. El controlador 1009 es operable para controlar la unidad de suministro de fluido 1001, la unidad de introducción de muestras 1005 y la unidad de recogida de muestras 1007. El controlador 1009 permite que el aparato de separación de muestras 1000 realice ciertas acciones automáticamente y sin intervención del usuario.

10 En funcionamiento, se coloca un dispositivo de separación de muestras en la unidad de recepción de dispositivo 1001. La colocación del dispositivo en la unidad de recepción del dispositivo 1001 conecta la entrada de fluido del dispositivo a la unidad de suministro de fluido 1003 de manera que se pueda establecer un flujo de fluido entre la entrada de fluido y el terminal de fluido del dispositivo. La unidad de suministro de fluido 1003 puede ser controlada por el controlador 1009 para suministrar fluido a diferentes velocidades de flujo tales como las descritas anteriormente en relación con el primer aspecto de la invención. El controlador 1009 controla la unidad de introducción de muestras 1005 para introducir una muestra en la zona de introducción de muestras. Una vez que ha finalizado la operación de separación de muestras, el controlador 1009 controla la unidad de recogida de muestras 1007 para recoger la muestra de la zona de recogida de muestras. Toda o parte de esta operación se puede realizar automáticamente sin intervención del usuario.

20 Haciendo referencia a las figuras 11(a) y 11(b), se muestra un aparato de separación de muestras 1100. El aparato de separación de muestras 1100 comprende una carcasa 1101. El aparato de separación de muestras 1100 comprende una unidad de recepción de dispositivo 1103 en forma de una bandeja móvil 1103. La bandeja móvil 1103 comprende un rebaje 1105 para recibir un dispositivo, un rebaje 1107 para recibir un tubo de muestras, y un rebaje 1109 para recibir un tubo de recogida. El tubo de muestras contiene una muestra para su introducción en la zona de introducción de muestras mediante la unidad de introducción de muestras del aparato 1100. El tubo de recogida sirve para recibir una muestra recogida de la zona de recogida de muestras mediante la unidad de recogida de muestras del aparato 1100. La bandeja móvil 1103 se muestra en las figuras 11(a) y 11(b) en una configuración abierta. En esta configuración, se puede colocar/retirar un dispositivo, un tubo de muestras y un tubo de recogida de la bandeja móvil 1103. La figura 11(b) muestra un dispositivo 600 cargado en el rebaje 1105 en la bandeja móvil 1103. La bandeja móvil 1103 es capaz de ser empujado a una configuración cerrada donde la bandeja 1103 está encerrada dentro de la carcasa 1101. Esto tiene el efecto de encerrar un dispositivo cargado en la bandeja 1103 dentro de la carcasa 1101. Esto ayuda a proteger el dispositivo de perturbaciones ambientales durante la operación de separación de muestras.

30 Después de la bandeja 1103, el dispositivo se sella del entorno externo y, por lo tanto, se protege de los cambios de la presión atmosférica local dentro del entorno donde está ubicado el aparato 1100. Una unidad de control de temperatura del aparato es, además, operable para calentar la vecindad del dispositivo a un valor de temperatura predeterminado y mantener la temperatura en este valor. El valor de temperatura predeterminado puede ser la temperatura corporal (por ejemplo, 37 grados centígrados).

35 Una vez que la temperatura se haya estabilizado, se puede realizar el procedimiento descrito anteriormente en relación con el primer aspecto de la presente invención. Es decir, el dispositivo se ceba con fluido mediante la unidad de suministro de fluido que suministra fluido a la velocidad de flujo de cebado del dispositivo. La unidad de suministro de fluido se controla para reducir la velocidad de flujo de fluido a la velocidad de flujo de introducción de muestras, y la unidad de introducción de muestras funciona para introducir una muestra en la zona de introducción de muestras del dispositivo. Luego, la velocidad de flujo de introducción de muestras se reduce gradualmente a una velocidad de flujo operativa, y el flujo de fluido se mantiene a la velocidad de flujo operativa hasta que suficientes organismos móviles hayan nadado contra el flujo de fluido y hayan entrado en la zona de recogida de muestras. Luego se controla la unidad de suministro de fluido para aumentar el flujo de fluido hasta la velocidad de flujo de recogida de muestras, y la unidad de recogida de muestras se activa para recoger la muestra de la zona de recogida de muestras.

45 En el ejemplo de las figuras 11(a)-(b), el aparato 1100 comprende, además, una pantalla 1111. La pantalla 1111 proporciona una interfaz de usuario a través de la cual un usuario puede interactuar para controlar el aparato 1100. Aquí, controlar el aparato 1100 puede significar controlar el funcionamiento general del aparato 1100. El aparato 1100 puede realizar etapas u operaciones individuales automáticamente sin una entrada específica del usuario. El aparato 1100 puede comprender, además, una unidad de generación de imágenes operable para generar imágenes de un dispositivo recibido en la unidad de recepción de dispositivo. La pantalla 1111 es operable para mostrar el dispositivo fotografiado. Esto es útil ya que permite al usuario inspeccionar visualmente el dispositivo y, en particular, la zona de recogida de muestras para que un usuario pueda confirmar si una cantidad suficiente de organismos móviles ha entrado a la zona de recogida de muestras.

55 Ventajosamente, el procedimiento, dispositivo y aparato de separación de muestras dado a conocer en el presente documento son capaces de separar organismos móviles, tales como espermatozoides móviles, de otros organismos dentro de una muestra original. En experimentos realizados con muestras de esperma frescas y congeladas, los enfoques de acuerdo con la presente invención proporcionarían muestras en las zonas de recogida de muestras del dispositivo con un mayor porcentaje de concentración de esperma móvil en comparación con los enfoques existentes. Además, se encontró que un mayor porcentaje de espermatozoides dentro de la zona de recogida de muestras tenía

una morfología normal que en los enfoques existentes. Aun así, se descubrió que los espermatozoides dentro de la zona de recogida de muestras tenían un índice de fragmentación del ADN más bajo que en los enfoques existentes.

5 En experimentos realizados en ratones usando ICSI, se encontró que la tasa de escisión (es decir, la tasa de fecundación) era mayor para los espermatozoides separados según los enfoques de la presente invención que en los enfoques existentes. Además, se encontró que la tasa de mórula-blastocisto (una indicación de la tasa de desarrollo embrionario) era mayor para los espermatozoides separados según los enfoques de la presente invención que en los enfoques existentes. También se encontró que la tasa de implantación y la tasa de desarrollo del feto eran mayores cuando se utilizaban espermatozoides separados según los enfoques de la presente invención. Además, la tasa de reabsorción de los espermatozoides separados según los enfoques de la presente invención fue menor.

10 Individualmente, el procedimiento de separación de muestras, el dispositivo de separación de muestras y el aparato de separación de muestras pueden proporcionar beneficios en términos de separar organismos móviles de otros organismos dentro de una muestra. Aun significativamente, se pueden lograr beneficios sinérgicos a través de una combinación del procedimiento de separación de muestras y el dispositivo de separación de muestras, el procedimiento de separación de muestras y el aparato de separación de muestras, el dispositivo de separación de muestras y el aparato de separación de muestras, o el procedimiento, dispositivo y aparato de separación de muestras.

15 Al menos algunas de las realizaciones de ejemplo descritas en el presente documento pueden construirse, parcial o totalmente, utilizando hardware dedicado para fines especiales. Términos tales como 'componente', 'módulo' o 'unidad' utilizados en el presente documento pueden incluir, entre otros, un dispositivo de hardware, tal como circuitería en forma de componentes discretos o integrados, una matriz de puertas programables en campo (FPGA) o circuito integrado de aplicación específica (ASIC), que realiza determinadas tareas o proporciona la funcionalidad asociada. Los elementos descritos pueden configurarse para residir en un medio de almacenamiento tangible, persistente y direccionable y pueden configurarse para ejecutarse en uno o varios procesadores. Estos elementos funcionales pueden incluir, a modo de ejemplo, componentes, tales como componentes de software, componentes de software orientados a objetos, componentes de clase y componentes de tareas, procesos, funciones, atributos, procedimientos, subrutinas, segmentos de código de programa, controladores, firmware, microcódigo, circuitos, datos, bases de datos, estructuras de datos, tablas, matrices y variables.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de separación de muestras para separar organismos móviles de otros organismos, comprendiendo el procedimiento:
- 5 controlar una unidad de suministro de fluido para proporcionar un flujo de fluido a un dispositivo de separación de muestras que comprende una entrada de fluido y un terminal de fluido, en el que el flujo de fluido se proporciona entre la entrada de fluido y el terminal de fluido del dispositivo, en el que el flujo de fluido tiene una velocidad de flujo de introducción de muestras establecida de manera que se pueda introducir una muestra en una zona de introducción de muestras del dispositivo, y en el que la velocidad de flujo de introducción de muestras es suficientemente alta como para que un organismo en la muestra no pueda salir de la zona de introducción de muestras; y
- 10 controlar la unidad de suministro de fluido para reducir la velocidad de flujo de fluido desde la velocidad de flujo de introducción de muestras a una velocidad de flujo operativa menor que la velocidad de flujo de introducción de muestras, en el que la velocidad de flujo operativa se selecciona de manera que los organismos móviles en la muestra sean capaces de nadar contra el flujo de fluido y entrar en una zona de recogida de muestras del dispositivo, caracterizado por
- 15 controlar la unidad de suministro de fluido para establecer que el flujo de fluido tenga la velocidad de flujo operativa comprende reducir la velocidad de flujo de fluido desde la velocidad de flujo de introducción de muestras hasta la velocidad de flujo operativa durante un período de tiempo predeterminado.
2. Procedimiento, según la reivindicación 1, en el que el período de tiempo predeterminado es mayor o igual a 30 segundos, opcionalmente mayor o igual a 1 minuto, opcionalmente entre 1 minuto y 60 minutos, opcionalmente entre 20 1 minuto y 20 minutos, y opcionalmente entre 1 minuto y 10 minutos.
3. Procedimiento, según cualquier reivindicación anterior, en el que la velocidad de flujo de introducción de muestras es mayor o igual a 100 micrómetros por segundo, opcionalmente entre 100 micrómetros por segundo y 1000 micrómetros por segundo, opcionalmente entre 200 micrómetros por segundo y 800 micrómetros por segundo, por ejemplo 550 micrómetros por segundo.
- 25 4. Procedimiento, según cualquier reivindicación anterior, en el que la velocidad de flujo operativa es mayor o igual a 20 micrómetros por segundo, opcionalmente entre 20 micrómetros por segundo y 150 micrómetros por segundo, y opcionalmente entre 30 micrómetros por segundo y 80 micrómetros por segundo, por ejemplo 55 micrómetros por segundo.
- 30 5. Procedimiento, según cualquier reivindicación anterior, en el que controlar la unidad de suministro de fluido para establecer el flujo de fluido a la velocidad de flujo operativa comprende mantener el flujo de fluido sustancialmente a la velocidad de flujo operativa durante un período de tiempo predeterminado, opcionalmente en el que el período de tiempo predeterminado es mayor o igual a 1 minuto, opcionalmente entre 1 minuto y 120 minutos, y opcionalmente entre 10 minutos y 45 minutos, por ejemplo 30 minutos.
- 35 6. Procedimiento, según cualquier reivindicación anterior, que comprende, además, controlar la unidad de suministro de fluido para aumentar la velocidad de flujo de fluido desde la velocidad de flujo operativa hasta una velocidad de flujo de recogida de muestras mayor que la velocidad de flujo operativa de modo que los organismos móviles puedan recogerse de la zona de recogida de muestras, opcionalmente en el que la velocidad de flujo de recogida de muestras es mayor o igual a 150 micrómetros por segundo, opcionalmente entre 150 micrómetros por segundo y 15000 micrómetros por segundo, por ejemplo 250 micrómetros por segundo, y opcionalmente entre 400 micrómetros por 40 segundo y 11000 micrómetros por segundo, por ejemplo 11000 micrómetros por segundo.
- 45 7. Procedimiento, según cualquier reivindicación anterior, en el que antes de controlar la unidad de suministro de fluido para establecer que el flujo de fluido tenga la velocidad de flujo de introducción de muestras, el procedimiento comprende controlar el flujo de fluido para que tenga una velocidad de flujo de cebado del dispositivo, en el que la velocidad de flujo de cebado del dispositivo es mayor que la velocidad de flujo de introducción de muestras, opcionalmente en el que la velocidad de flujo de cebado del dispositivo es mayor o igual a 800 micrómetros por 45 segundo, opcionalmente entre 800 y 2000 micrómetros por segundo, y opcionalmente entre 1500 y 1600 micrómetros por segundo, por ejemplo 1100 micrómetros por segundo.
- 50 8. Procedimiento, según cualquier reivindicación anterior, en el que los organismos móviles son organismos que presentan una forma de taxis, opcionalmente en el que los organismos móviles son espermatozoides.
9. Medio legible por ordenador que tiene instrucciones grabadas en el mismo que, cuando se ejecutan mediante un ordenador, hacen que el ordenador realice el procedimiento controlando la unidad de suministro de fluido según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.
10. Aparato de separación de muestras dispuesto para proporcionar un flujo de fluido a un dispositivo para separar organismos móviles de otros organismos, el dispositivo comprende una entrada de fluido, un terminal de fluido, una

zona de introducción de muestras y una zona de recogida de muestras, el aparato comprende una unidad de suministro de fluido; y un controlador operable para controlar la unidad de suministro de fluido para realizar el procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.

5 11. Aparato de separación de muestras, según la reivindicación 10, que comprende uno o varios canales, estando definido cada canal por un par de paredes de canal entre la zona de introducción de muestras y la zona de recogida de muestras.

12. Aparato de separación de muestras, según la reivindicación 11, que comprende una pluralidad de canales, opcionalmente en el que cada canal se extiende radialmente hacia afuera desde una zona central de recogida de muestras hasta la zona de introducción de muestras,

10 opcionalmente en el que la zona de introducción de muestras se extiende alrededor de la zona de recogida.

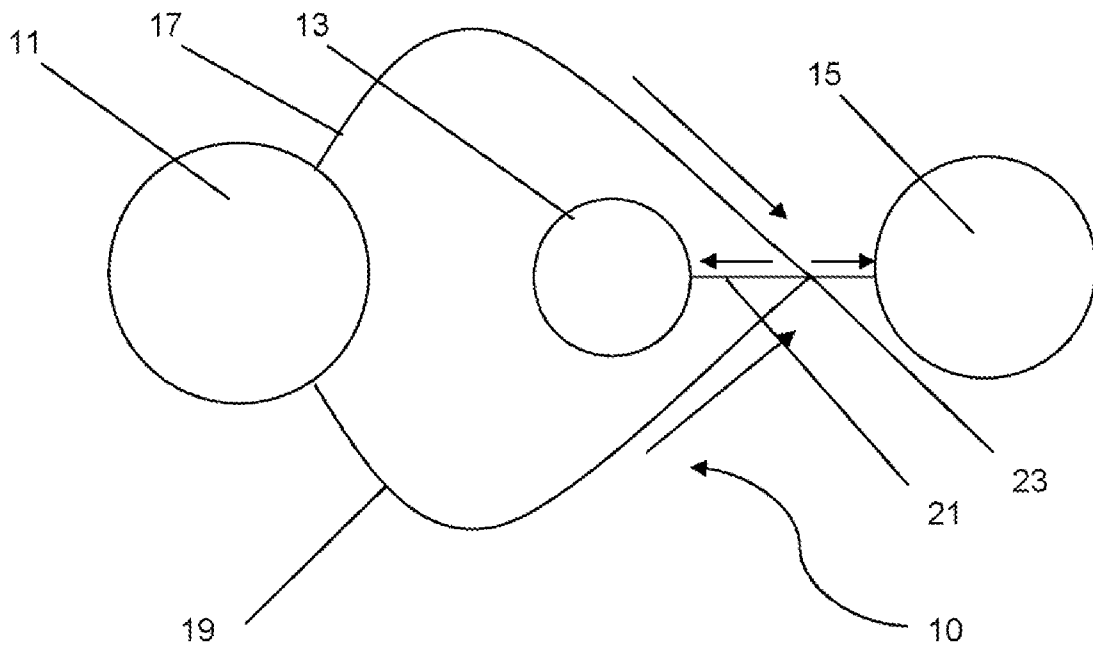


Fig. 1

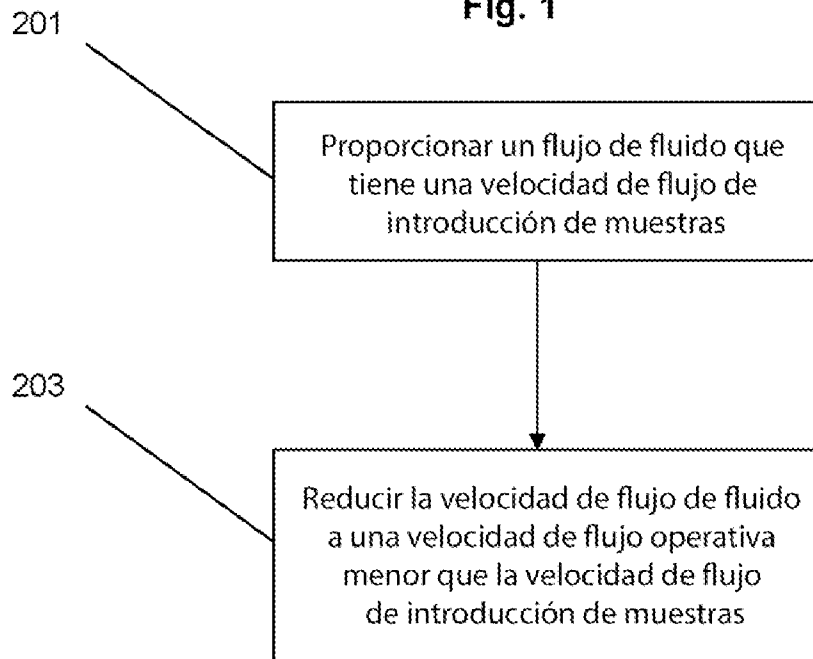


Fig. 2

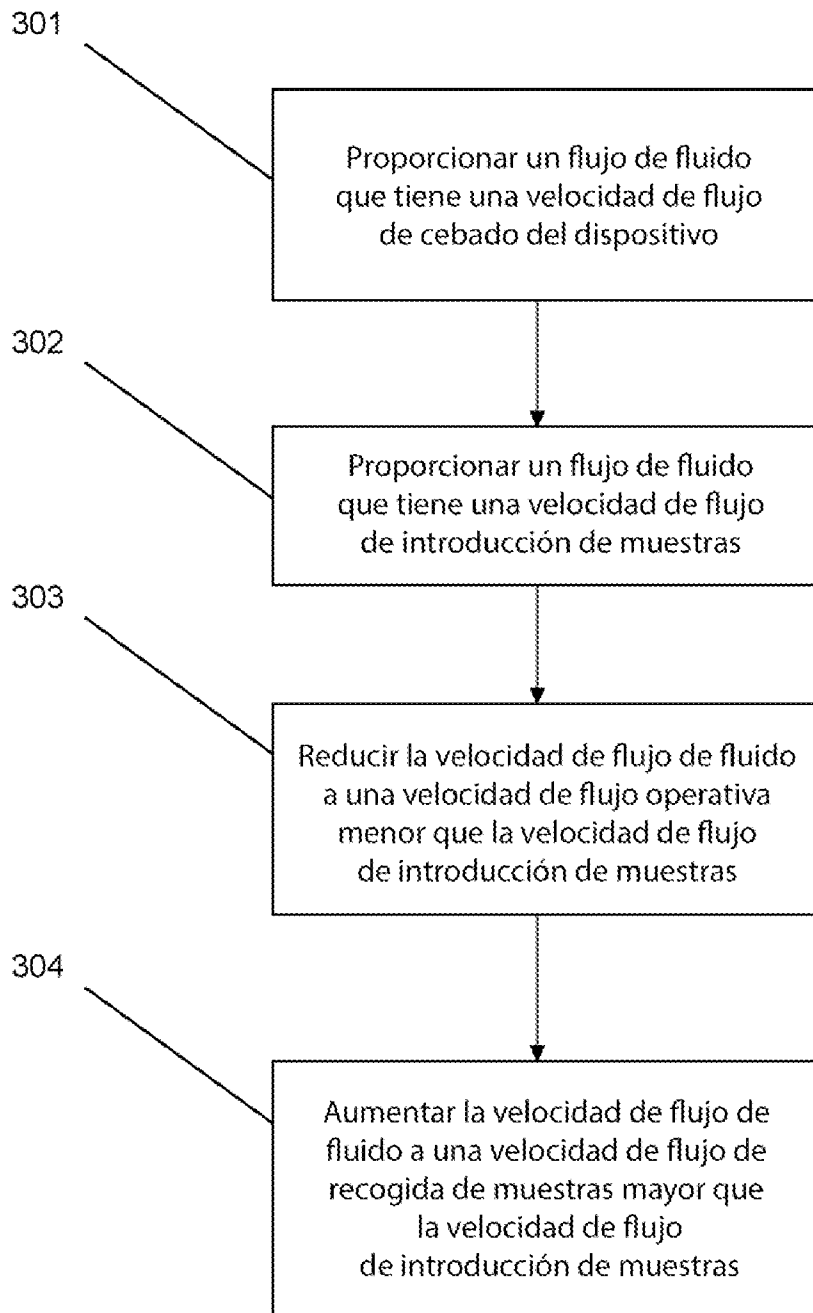


Fig. 3

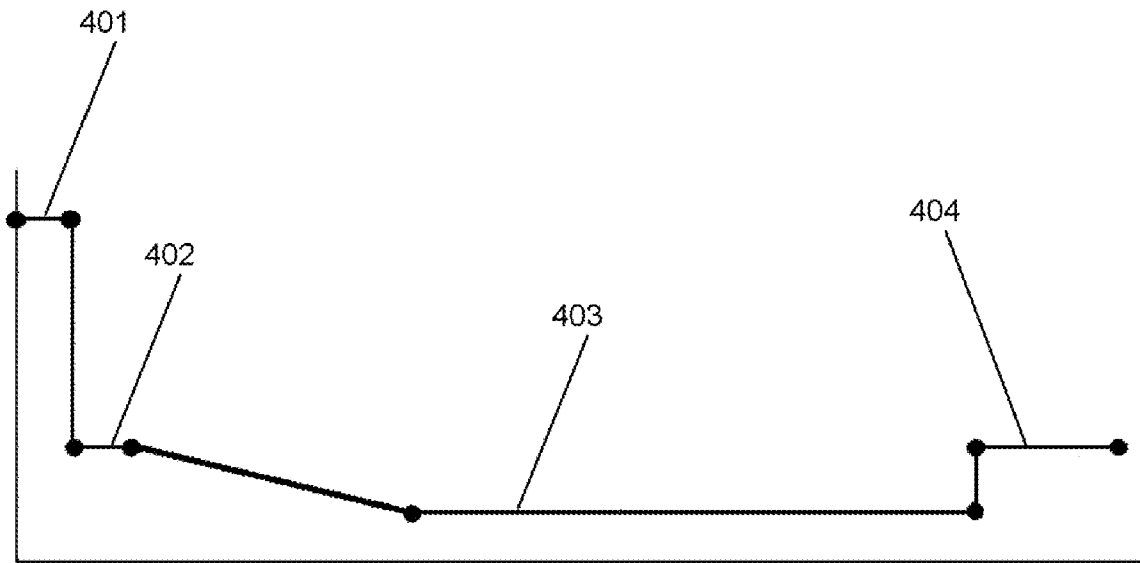


Fig. 4(a)

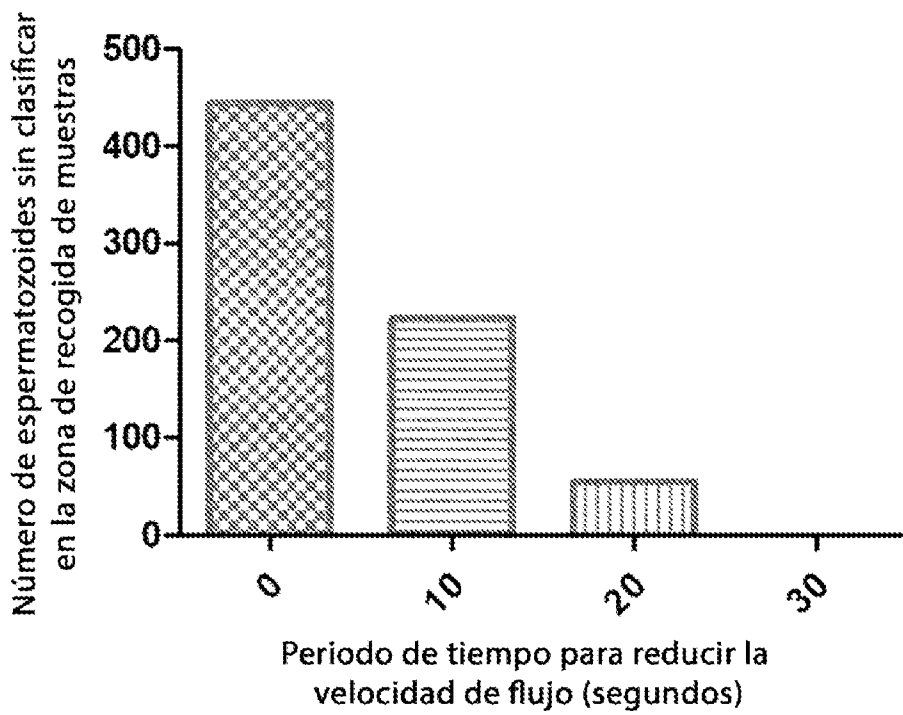


Fig. 4(b)

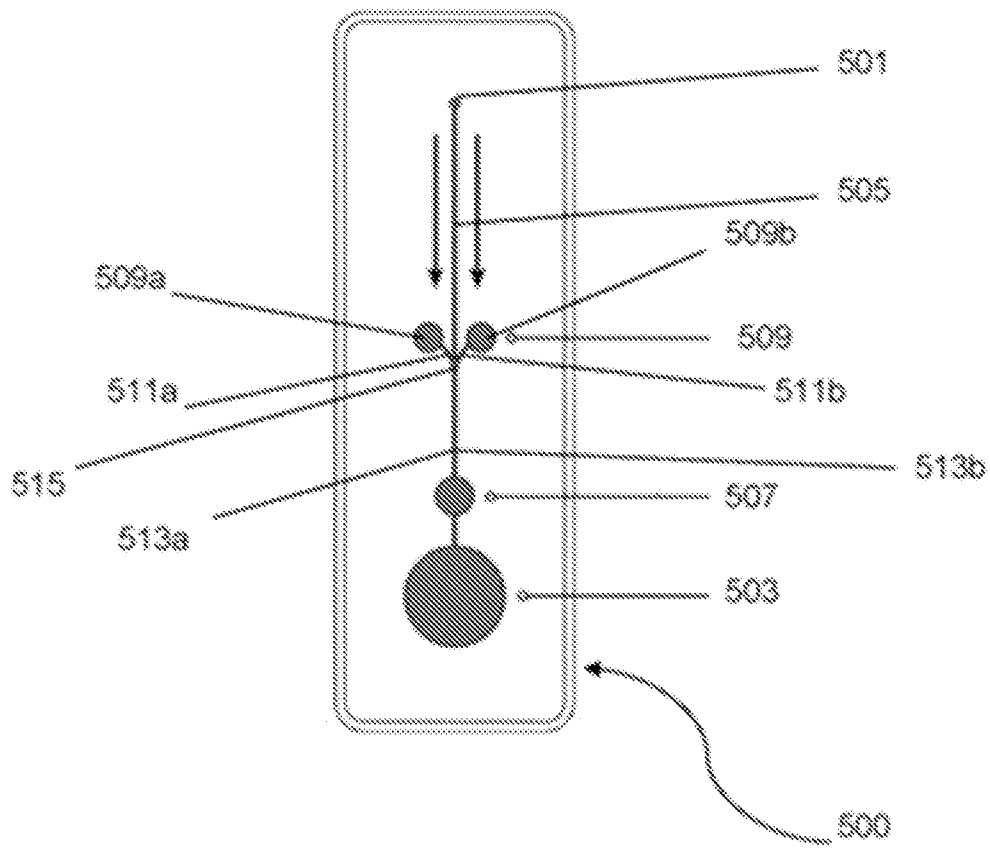


Fig. 5(a)

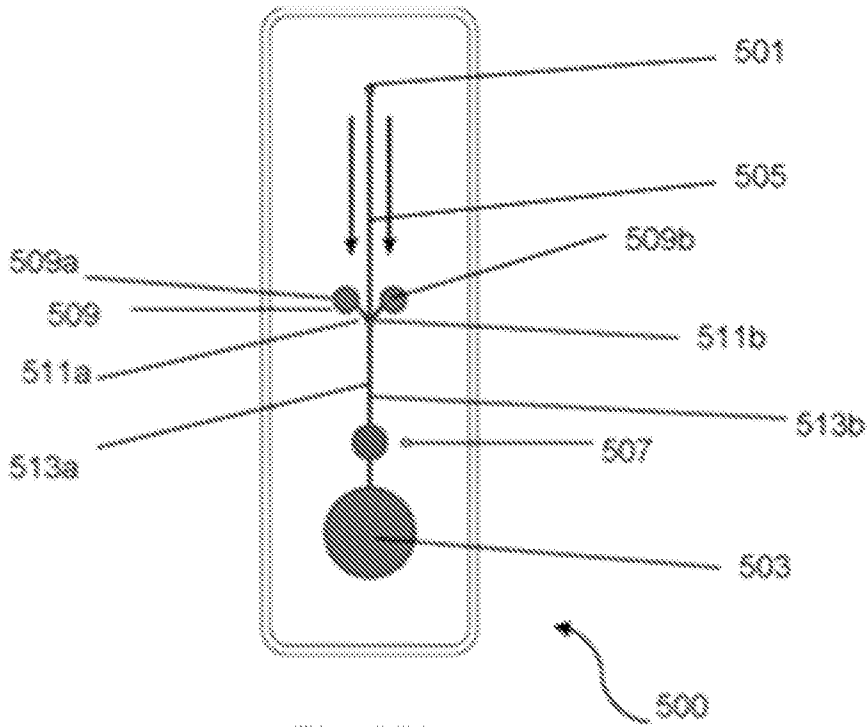


Fig. 5(b)

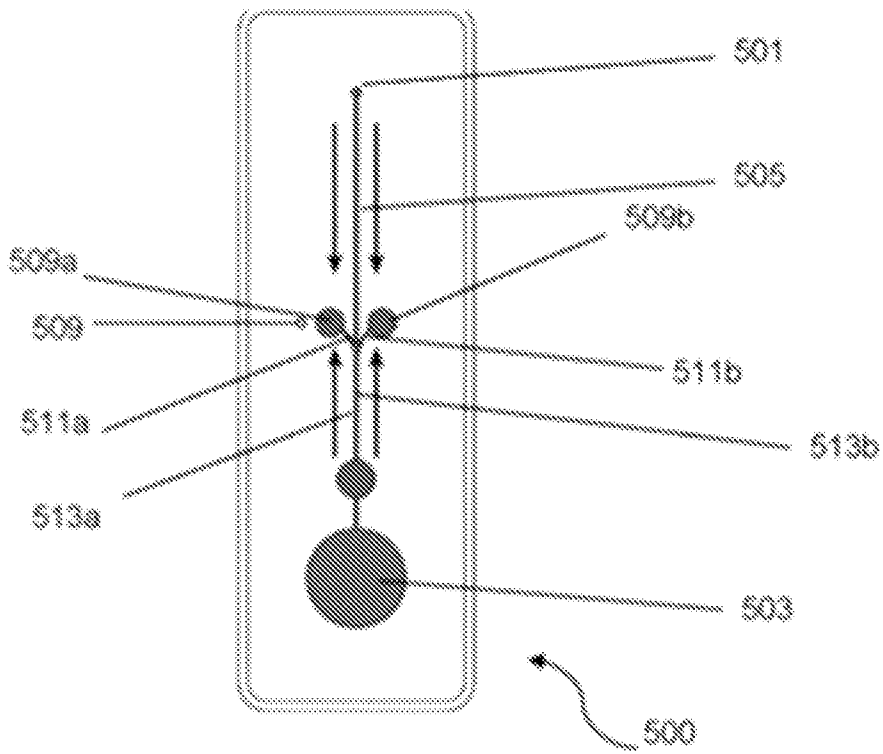
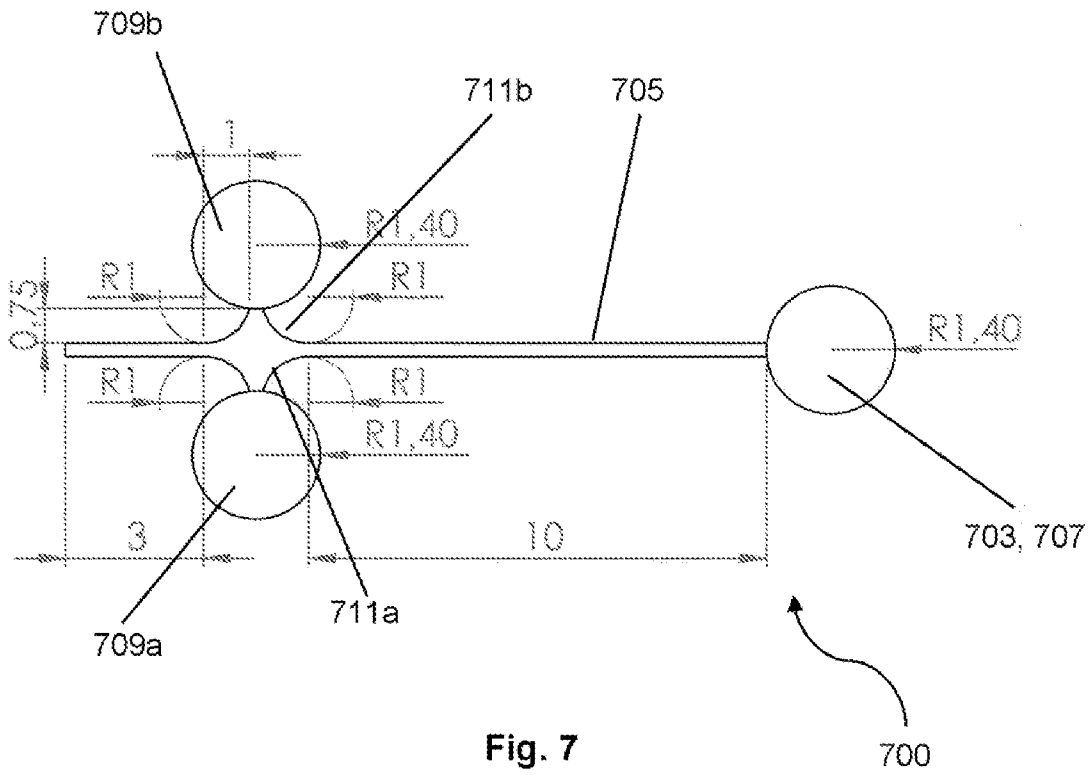
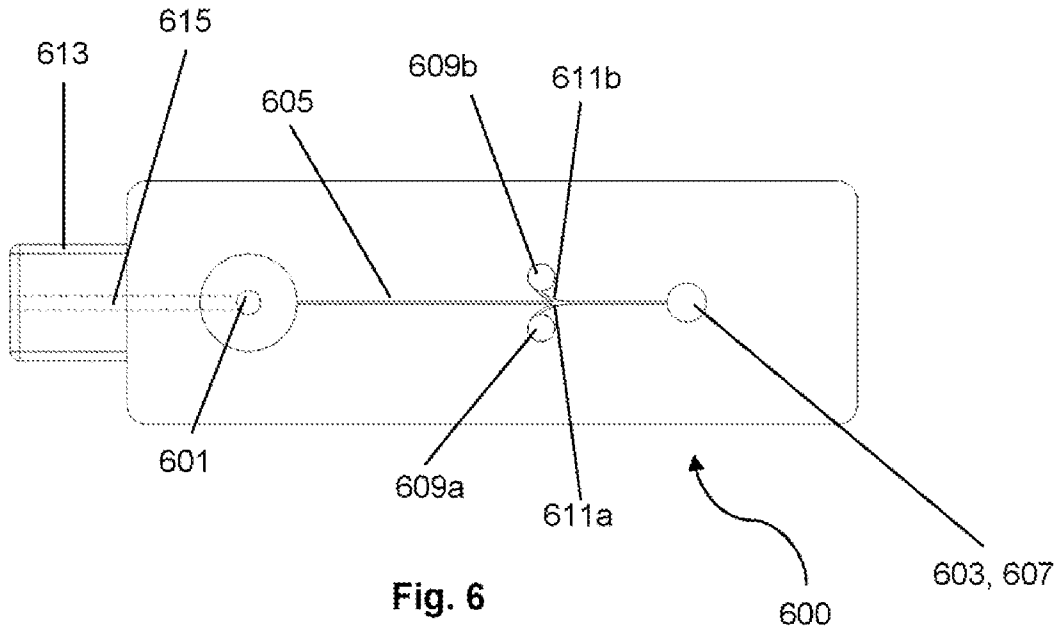


Fig. 5(c)



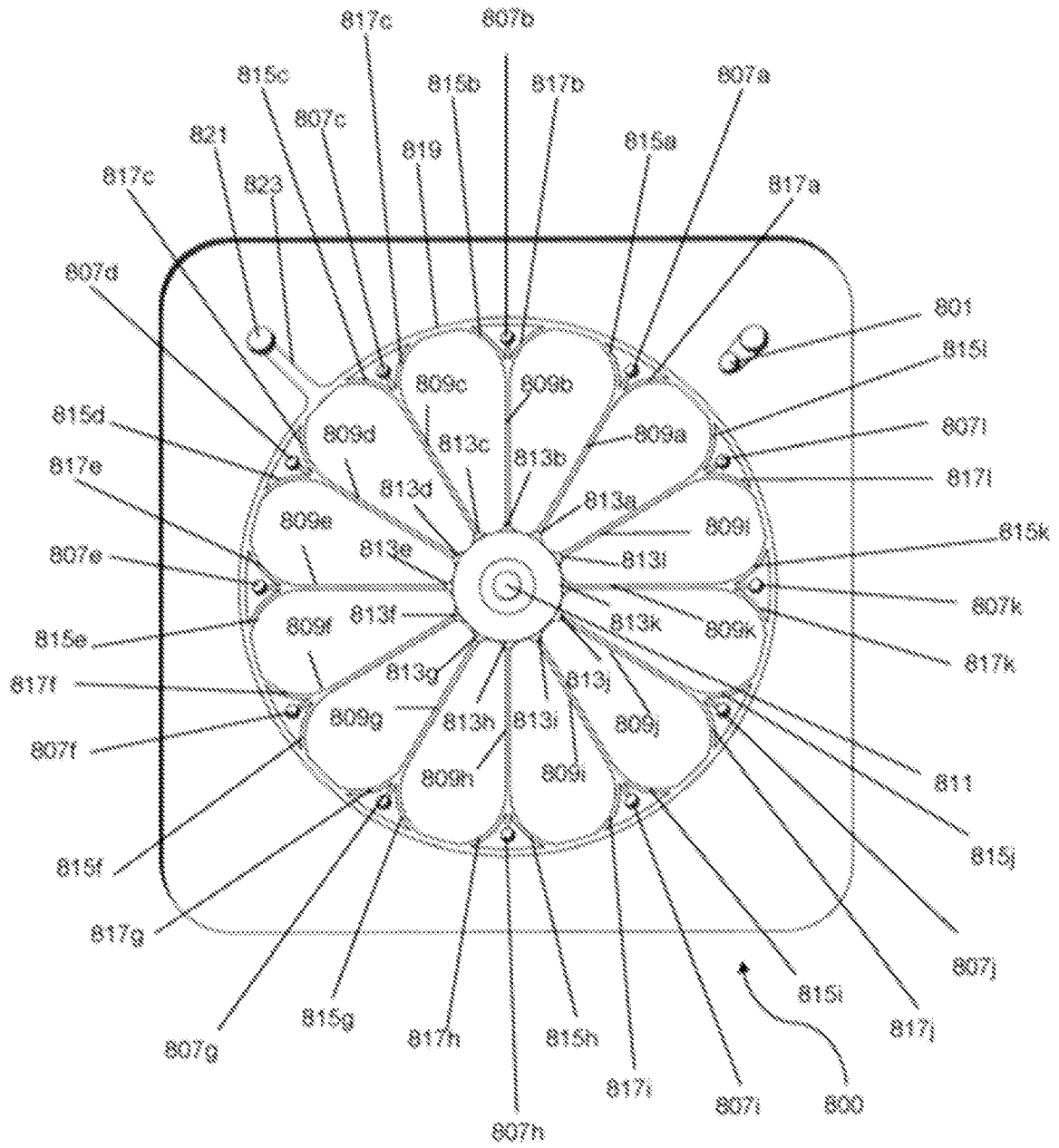


Fig. 8(a)

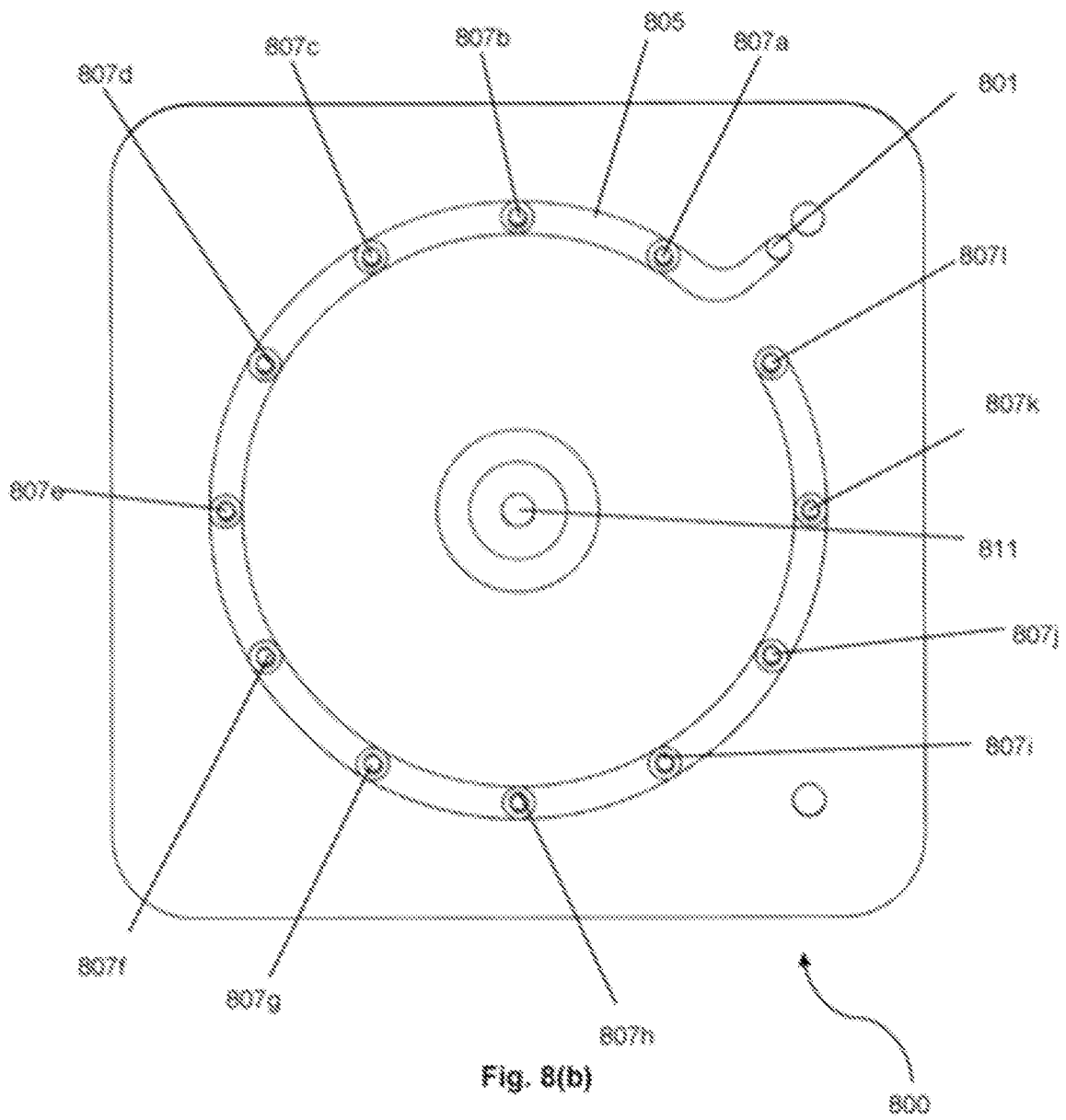


Fig. 8(b)

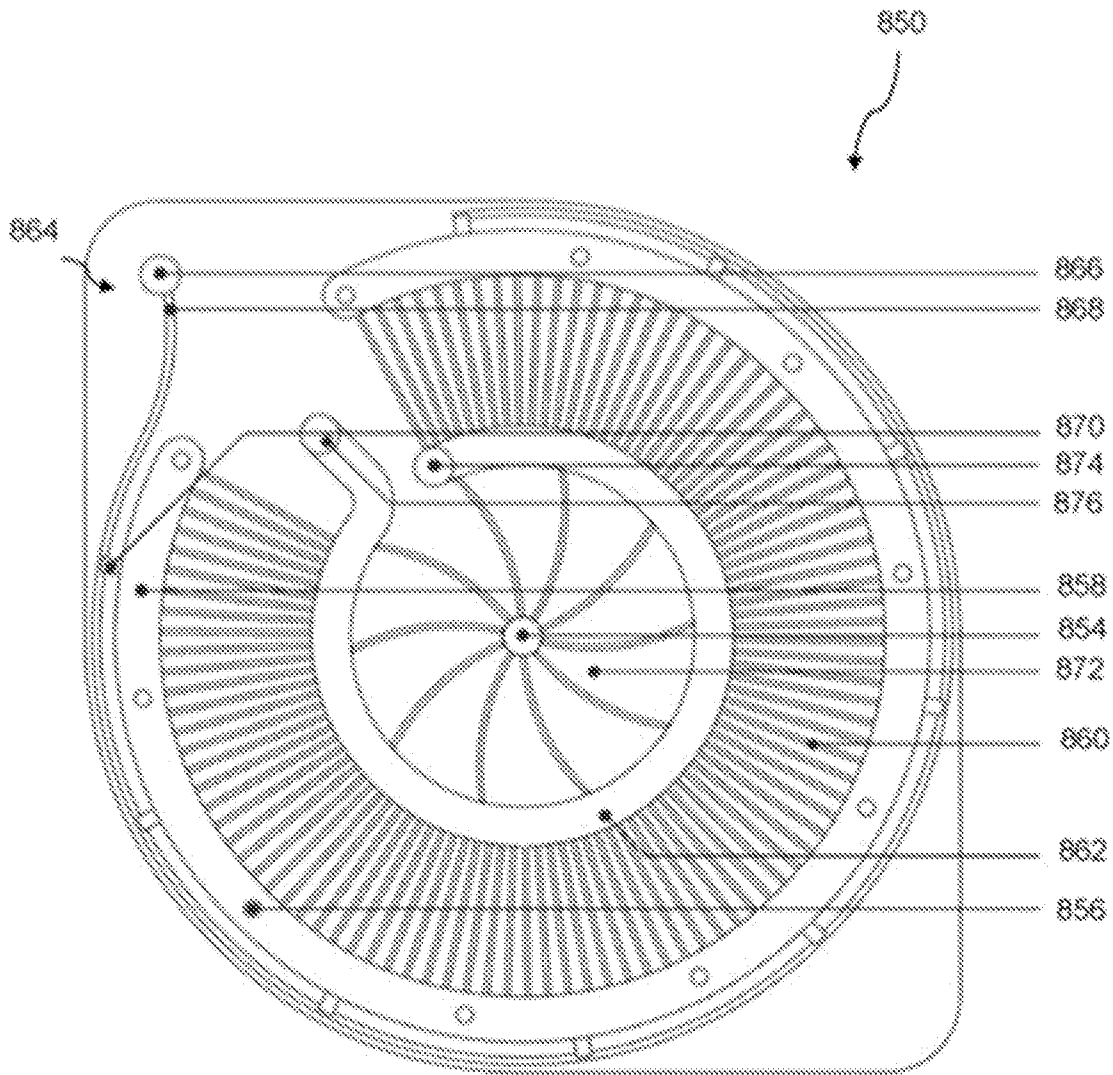


Fig. 8(c)

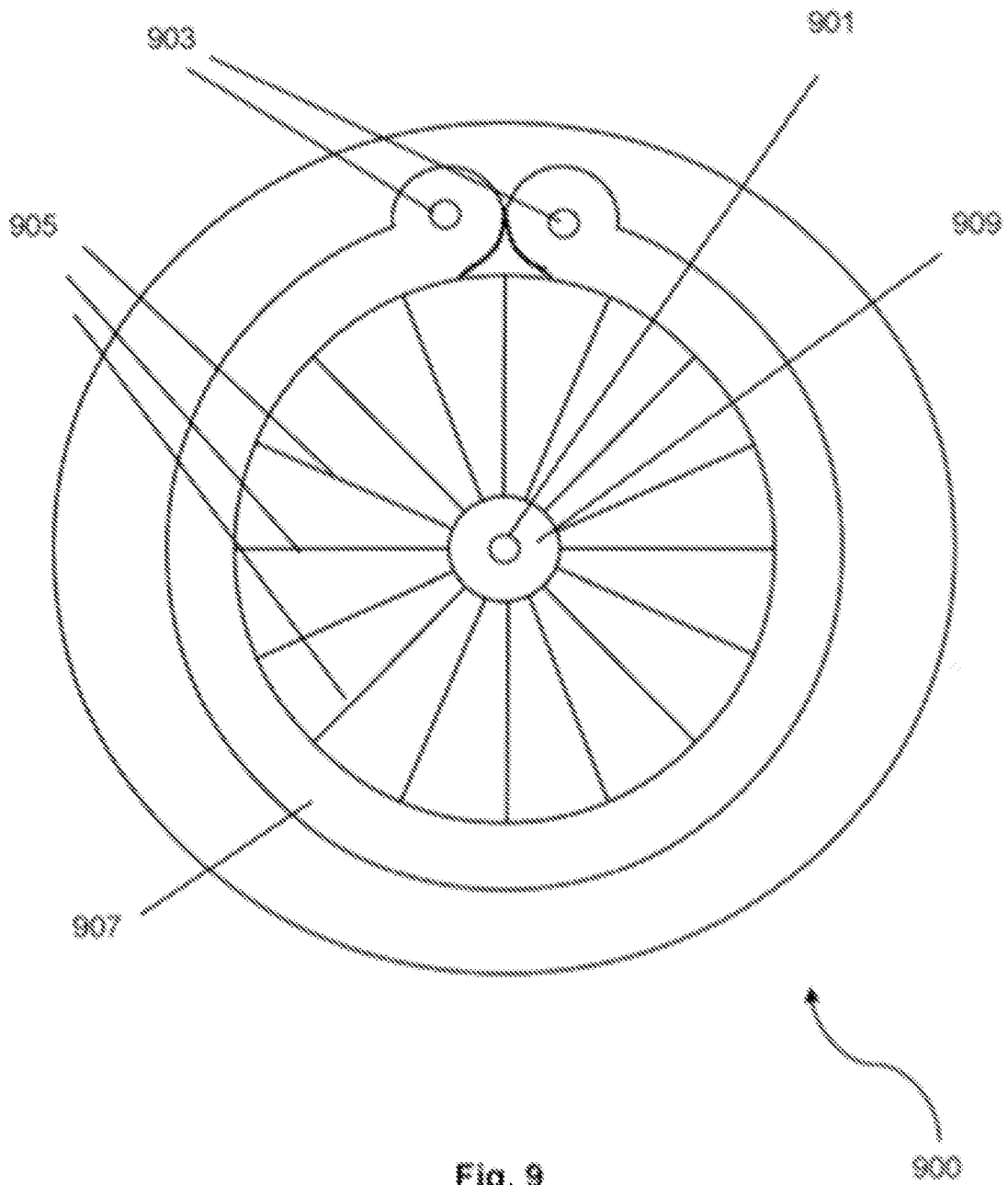


Fig. 9

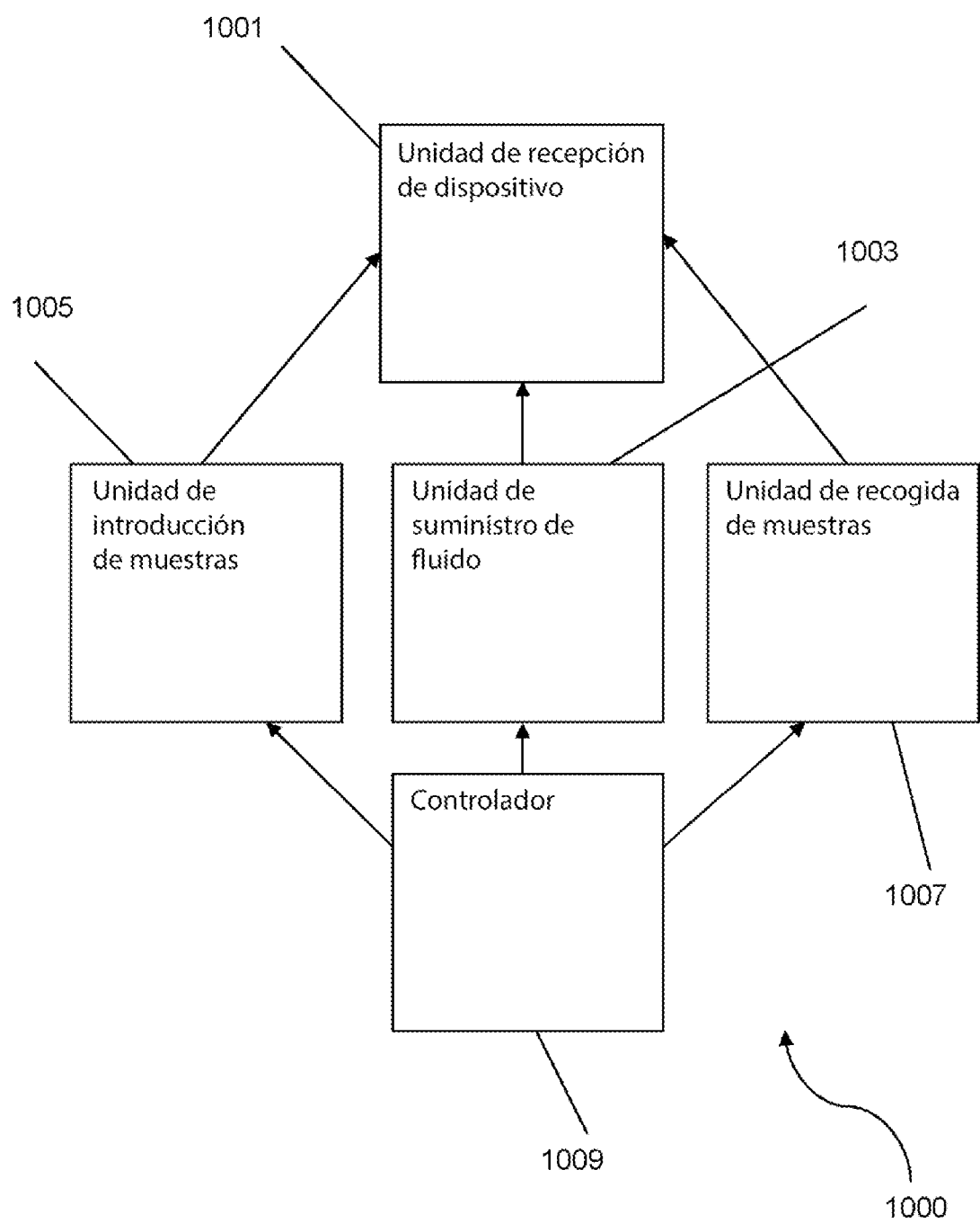


Fig. 10

