

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 990 120**

51 Int. Cl.:

B01L 3/00

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.09.2018** **PCT/IB2018/057303**

87 Fecha y número de publicación internacional: **28.03.2019** **WO19058321**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.09.2018** **E 18789476 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.07.2024** **EP 3684508**

54 Título: **Método y aparato para la reducción del volumen de una muestra**

30 Prioridad:

21.09.2017 IT 201700105911

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

28.11.2024

73 Titular/es:

MENARINI SILICON BIOSYSTEMS S.P.A. (100.0%)
Via G. di Vittorio, 21 B/3
40013 Castel Maggiore (BO), IT

72 Inventor/es:

MEDORO, GIANNI;
CALANCA, ALEX y
ALBERTI, FABRIZIO

74 Agente/Representante:

DEL VALLE VALIENTE, Sonia

ES 2 990 120 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

Método y aparato para la reducción del volumen de una muestra

5 Campo técnico

La presente invención se refiere a un método y a un aparato para la reducción del volumen de una muestra.

10 Antecedentes de la invención

Se sabe que las muestras biológicas se tratan de diferentes maneras para obtener el aislamiento de tipos particulares de micropartículas (normalmente, células).

Ejemplos a este respecto son los dispositivos y los métodos descritos en las solicitudes de patente PCT/IB2010/000615 PCT/IB2010/000580 (en relación con el sistema DEPAArray™).

En el contexto de la manipulación de muestras, el documento WO2010/038141 A1 describe una cámara de clasificación; el documento US5234667 A describe un tubo de centrifuga para mejorar la retención de gránulos; el documento WO2013/098792 A1 describe un dispositivo hueco para separar partículas de líquido; el documento WO2013/003309 A1 describe un sistema para detectar un analito de interés en una muestra; y el CN203606330 U describe un tubo de ensayo y un kit para el pretratamiento de una muestra de sangre.

Usualmente, al final de los tratamientos mencionados anteriormente, se obtienen muestras en las que las micropartículas se insertan en un componente líquido. En relación con lo anterior, cabe señalar que el componente líquido es normalmente un tampón, que no puede usarse en fases de análisis posteriores, y que el volumen de las muestras suele ser demasiado alto. Por ejemplo, las muestras obtenidas después del uso del sistema DEPAArray™ tiene volúmenes de aproximadamente 13 pL, mientras que las fases posteriores (tales como WGA - Amplificación del genoma completo) requieren volúmenes de unos pocos microlitros, en particular menos de 5 uL, más en particular menos de 1,5 µL.

Por lo tanto, es necesario que las muestras se traten por centrifugación a alta velocidad y que un operario recoja manualmente el exceso de líquido con gran cuidado y atención usando una pipeta (e inclinando el tubo de ensayo que contiene la muestra). Este proceso conlleva múltiples problemas. Estos incluyen:

- que el éxito de las operaciones depende, en gran medida, de la capacidad del operador que debe estar adecuadamente capacitado y debe practicar periódicamente;
- que existe un riesgo, que puede ser alto si el operador no opera correctamente, de eliminar la micropartícula junto con el exceso de líquido;
- que la tasa de éxito del procedimiento no es fiable y siempre reproducible, y depende del tipo de tampón usado;
- que las operaciones son relativamente lentas (la recuperación de 96 muestras requiere aproximadamente tres horas);
- que el procedimiento requiere un cuidado particular, tal como el uso de pipetas dedicadas y puntas de filtro duales sin contaminación para reducir el riesgo de que la muestra se contamine durante la manipulación por parte del operador;
- que existe un riesgo relativamente alto de que la(s) micropartícula(s) se dañe(n) debido a la centrifugación que, como se ha dicho, se realiza a velocidades relativamente altas (por lo tanto, ejerce una tensión relativamente alta sobre la(s) micropartícula(s)); y
- que este procedimiento no se recomienda para aplicaciones de diagnóstico *in vitro* (IVD).

Se encuentran problemas análogos cuando es necesario preparar las muestras biológicas antes de los tratamientos mencionados anteriormente para obtener el aislamiento de tipos particulares de micropartículas (normalmente, células). En estos casos, los volúmenes inicial y final son mayores (típicamente, aproximadamente 200 µE y 12 µE, respectivamente), pero los inconvenientes de las técnicas conocidas (centrifugación a alta velocidad y posteriores recogidas a mano por un operario) son los descritos anteriormente con la adición del hecho de que, a menudo, para obtener el volumen deseado, se deben tomar varias mediciones repetitivamente.

Además, también se encuentran problemas sustancialmente idénticos en otros casos en los que el volumen de la muestra es bajo (como, por ejemplo, tinción de las células, lavado de las células, cambio del tampón, fijación de las

células, permeabilización de las células y una combinación de los mismos). Dichos problemas aumentan también cuando el número de micropartículas (células) es bajo.

Más generalmente, hasta ahora no se han propuesto métodos que sean satisfactorios, suficientemente precisos y/o reproducibles para la reducción del volumen de una muestra con pequeñas dimensiones.

El objeto de la presente invención es proporcionar un método y un aparato para la reducción del volumen de una muestra que superen, al menos parcialmente, los inconvenientes de la técnica conocida y que sean, si es posible, al mismo tiempo fáciles y económicos de producir.

Resumen

Según la presente invención, se proporciona un método y un aparato para la reducción del volumen de una muestra según se reivindica en las siguientes reivindicaciones independientes y, preferiblemente, en cualquiera de las reivindicaciones que dependen directa o indirectamente de las reivindicaciones independientes.

A menos que se especifique explícitamente lo contrario, en este texto los siguientes términos tienen el significado que se indica a continuación.

Por diámetro equivalente de una sección se entiende el diámetro de un círculo que tiene la misma área que la sección.

Por sistema microfluídico se entiende un sistema que comprende al menos un canal microfluídico y/o al menos una cámara microfluídica. Ventajosamente, pero no necesariamente, el sistema microfluídico comprende al menos una bomba (más en particular, una pluralidad de bombas), al menos una válvula (más en particular, una pluralidad de válvulas) y, si es necesario, al menos una junta (más en particular, una pluralidad de juntas).

En particular, por canal microfluídico se entiende un canal que tiene una sección con un diámetro equivalente menor que 0,5 mm.

En particular, la cámara microfluídica tiene una altura de menos de 0,5 mm. Más en particular, la cámara microfluídica tiene una anchura y una longitud mayores que la altura (más precisamente, al menos cinco veces la altura).

En el presente texto, por micropartícula se entiende un corpúsculo cuya dimensión más grande es menor que 500 μm (ventajosamente, menor que 150 μm). Según algunos ejemplos no limitantes, la micropartícula se elige de: células, residuos celulares (en particular, fragmentos celulares, p. ej., ADN y/o ARN), agregados celulares (como, por ejemplo, pequeñas agrupaciones de células derivadas de células madre como neuroesferas o mamoesferas), bacterias, lipoperlas, micropelotas (en poliestireno y/o magnéticas), nanopelotas (p. ej., nanopelotas de hasta 100 nm), complejos formados por micropelotas (en particular, magnéticas; en particular con una dimensión más grande menor que 500 μm) enlazadas a células, células tumorales circulantes unidas a ferrofluido, exosomas, suspensión coloidal (p. ej., ferrofluido), liposomas, núcleos, esporas y una combinación de los mismos. Ventajosamente, pero no necesariamente, las micropartículas son células.

Según algunas realizaciones no limitantes, la dimensión más grande de las micropartículas (ventajosamente células y/o residuos celulares) es menor que 60 μm .

Las dimensiones de las micropartículas se pueden medir de manera estándar con microscopios de escala graduada o microscopios ordinarios usados con portaobjetos (sobre los que se depositan las micropartículas) que tienen una escala graduada.

En el presente texto, por dimensiones de una micropartícula entendemos la longitud, la anchura y el espesor de la micropartícula.

Breve descripción de las figuras

La invención se describe a continuación con referencia a los dibujos adjuntos, que ilustran algunas realizaciones no limitantes de la misma, en los que:

- las figuras 1 y 2 son vistas esquemáticas y en perspectiva de un aparato según la presente invención en fases operativas sucesivas;

- la figura 3 es una sección lateral de una parte del aparato de la figura 1;

- la figura 4 es una vista frontal del aparato de la figura 1;

- la figura 5 es una vista esquemática frontal, con algunas partes mostradas de forma transparente, de una realización adicional de un aparato según la presente invención;

- la figura 6 es una vista en perspectiva de una parte del aparato de la figura 5;
- la figura 7 es una sección transversal de la parte de la figura 6;
- la figura 8 es una vista en perspectiva de la parte de la figura 6 con algunos componentes retirados para mayor claridad;
- la figura 9 es una vista lateral esquemática de una parte de una realización no cubierta por las reivindicaciones;
- la figura 10 es una vista esquemática de una parte de una realización adicional de un aparato según la presente invención;
- la figura 11 es una vista esquemática de una parte de una realización adicional de un aparato según la presente invención;
- la figura 12 es una vista en sección esquemática de un componente del aparato de una de las figuras anteriores;
- las figuras 13 a 16 ilustran esquemáticamente y en sección una realización adicional del componente de la figura 12 en fases operativas sucesivas;
- las figuras 17 y 18 ilustran esquemáticamente y en sección una realización adicional del componente de la figura 12 en fases operativas sucesivas;
- la figura 19 ilustra un detalle del componente de la figura 18 a escala ampliada;
- las figuras 20 a 22 ilustran secciones de realizaciones alternativas de recipientes utilizables según la presente invención;
- las figuras 24 y 27 ilustran esquemáticamente algunas de las fuerzas presentes durante la implementación de la presente invención; el eje X muestra la distancia desde el eje de rotación, el eje Y muestra las fuerzas;
- las figuras 23 y 26 ilustran esquemáticamente algunas de las fuerzas presentes durante la implementación de una realización no cubierta por las reivindicaciones; el eje X muestra la distancia desde el eje de rotación, el eje Y muestra las fuerzas;
- la figura 25 ilustra esquemáticamente algunas de las fuerzas presentes durante la implementación de una realización no cubierta por las reivindicaciones; el eje X muestra la distancia relativa al extremo del recipiente, el eje Y muestra las fuerzas;
- las figuras 28 y 29 ilustran esquemáticamente algunas de las fuerzas presentes durante la implementación de la presente invención;
- la figura 30 es una representación gráfica de los resultados experimentales obtenidos usando un método del estado de la técnica; el eje X muestra una identificación del operador que realizó las pruebas; el eje Y muestra los volúmenes (en μL) de las muestras obtenidas;
- la figura 31 es una representación gráfica de los resultados experimentales obtenidos usando un método del estado de la técnica; el eje X indica los volúmenes (en μL) de las muestras obtenidas; el eje Y indica la frecuencia (el número de veces) con la que se obtuvo dicho volumen;
- la figura 32 es una representación gráfica de los resultados experimentales obtenidos probando el método de la presente invención con una estructura similar a la mostrada en la figura 27; el eje Y indica el volumen obtenido (en μL); el eje X muestra la velocidad angular utilizada para el experimento (en RPM); y
- la figura 33 es un diagrama de flujo relativo a posibles usos del método según la presente invención.

60 Descripción detallada

En la figura 1, el número 1 indica en general un aparato para la reducción del volumen de una muestra 2 (figuras 9, 10 y 23-29) que comprende al menos un componente (al menos parcialmente) líquido 3.

65 El aparato 1 (en particular, las figuras 1-11) comprende un conjunto 4 de manipulación provisto de al menos un asiento 5 para soportar (al menos parcialmente) al menos un recipiente 6 (figuras 7, 12 y 20-22), que tiene un interior espacio,

un extremo cerrado 7, un extremo 8 provisto de una abertura 8', que establece contacto entre el espacio interior y exterior, y (al menos) una pared lateral 9 (que se extiende entre los extremos 7 y 8). En particular, el espacio interior está delimitado (al menos parcialmente) por la pared lateral 9 y por el extremo cerrado 7.

- 5 En particular, el recipiente 6 puede insertarse y retirarse del conjunto 4 de manipulación (más precisamente, puede insertarse y retirarse del asiento 5). Más en particular, el aparato 1 comprende el recipiente 6.

10 El conjunto 4 de manipulación comprende un dispositivo 10 de recogida (en particular, las figuras 3, 4, 6, 7 y 12-19), que está adaptado para recoger una primera parte de dicho componente (al menos parcialmente) líquido 3 y está dispuesto externamente para el asiento 5 y cerca de (en el área de) dicho asiento 5.

15 El conjunto 4 de manipulación está adaptado para mover el asiento 5 para someterlo a una aceleración (que tiene al menos una componente), orientada por el dispositivo 10 de recogida hacia el asiento 5, en particular, de modo que la primera parte de dicho (al menos parcialmente) el componente líquido 3 salga del recipiente 6 (pasando a través de la abertura 8') y alcance el dispositivo 10 de recogida y una segunda parte del componente (al menos parcialmente) líquido 3 (en particular, con un volumen sustancialmente definido) permanezca en el recipiente 6, en particular, en el extremo cerrado 7.

20 Cabe señalar que la aceleración es una cantidad vectorial (un vector), por lo tanto, provista de módulo (intensidad - magnitud) y dirección. En particular, debe observarse que la aceleración (en oposición a la desaceleración) se entiende que es positiva (por lo tanto, con módulo positivo) y, por lo tanto, implica un aumento en la velocidad (en su propia dirección).

25 Más en particular, en uso, la aceleración determina al menos una primera fuerza de inercia sobre la primera parte de la muestra 2 y al menos una segunda fuerza de inercia sobre la segunda parte de la muestra 2. La primera y la segunda fuerza de inercia están orientadas desde el primer extremo cerrado 7 hacia el segundo extremo 8 transversalmente (en particular, perpendicularmente) a dicha abertura 8'. El conjunto 4 de manipulación está adaptado para ajustar la aceleración, de modo que la primera fuerza de inercia sea mayor que una primera fuerza de retención ejercida entre la primera parte de la muestra y el recipiente 6, y la segunda fuerza de inercia sea menor que una segunda fuerza de retención ejercida entre la segunda parte de la muestra y el recipiente 6.

30 Según algunas alternativas no cubiertas por las reivindicaciones (véanse en particular la figura 9 y la figura 25), el conjunto 4 de manipulación comprende un dispositivo móvil 11, que está adaptado para hacer que el recipiente 6 realice un movimiento sustancialmente lineal acelerado en una dirección dada, de modo que el asiento 5 esté orientado hacia delante en relación con la dirección dada y el dispositivo 10 de recogida esté orientado hacia atrás en relación con la dirección dada (o más precisamente, el extremo cerrado 7 esté orientado hacia delante y el extremo 8 esté orientado hacia atrás). En otras palabras, el dispositivo 10 de recogida está dispuesto corriente abajo del asiento 5 en la dirección dada citada.

40 El conjunto 4 de manipulación (véanse, en particular, las figuras 1-11, 23, 24, 26 y 27) comprende un dispositivo móvil 11, que está adaptado para rotar el asiento 5 alrededor de un eje A de rotación, de modo que la fuerza centrífuga mueva dicha primera parte de dicho componente (al menos parcialmente) líquido 3 (fuera del recipiente 6) al dispositivo 10 de recogida.

45 El asiento 5 está conformado de modo que el eje A de rotación se extienda a través del recipiente 6 entre el extremo cerrado 7 y el extremo 8 (en particular, las figuras 7, 11, 24 y 27).

50 En algunas alternativas no cubiertas por las reivindicaciones, (el asiento 5 está conformado de modo que) el extremo cerrado 7 está dispuesto entre el eje A de rotación y el extremo 8 (en particular, las figuras 10, 23 y 26).

En algunos casos no limitantes, el dispositivo 10 de recogida comprende un área de recogida en la que se recoge la (al menos una fracción de la) primera parte del componente (al menos parcialmente) líquido 3 (para cualquier uso posterior adicional). En estos casos, el dispositivo 10 de recogida puede ser, por ejemplo, un tubo de ensayo.

55 Ventajosamente, pero no necesariamente (véanse, en particular, las figuras 12 a 19), el dispositivo 10 de recogida comprende un sistema 12 de retención para retener la (al menos una fracción de la) primera parte del componente (al menos parcialmente) líquido 3.

60 De este modo, se evita el riesgo de que una porción de la primera parte del componente (al menos parcialmente) líquido 3 fluya de vuelta al interior del recipiente 6.

En particular, en uso, el dispositivo 10 de recogida (más precisamente, el sistema 12 de retención) está orientado hacia la abertura 8'.

65

Según algunas realizaciones no limitantes, el sistema 12 de retención comprende un elemento elegido del grupo que consiste en: material absorbente 13 (figura 12), trampa capilar (figuras 17-19), trampa de líquido (figuras 13-16) (y una combinación de los mismos).

La trampa capilar (figuras 17-19) comprende una pluralidad de ranuras 14 que tienen una anchura inferior a 2,0 mm, en particular, inferior a 0,9 mm (más en particular superior a 0,5 mm). En este caso, el líquido entra en las ranuras 14 debido a la fuerza (en particular centrífuga) a la que está sometido mientras el recipiente 6 se acelera y permanece en dichas ranuras 14 por capilaridad (ya que la fuerza de la tensión superficial es mayor que la fuerza de gravedad). En particular, cada ranura 14 tiene una profundidad de al menos 2 mm (típicamente, hasta 7 mm).

La trampa de líquido comprende una cámara 15 de recogida (figuras 13-16) provista de una entrada 16, al menos una pared móvil 17 (en el caso en el punto dos paredes móviles 17) que se mueve entre una posición de cierre (figuras 13 y 16), en que impide (la salida y la entrada del líquido desde y hacia el interior de la cámara de recogida 14) el paso de líquido a través de la entrada 16, y una posición de apertura (figuras 14 y 15), en la que el líquido puede pasar a través de la entrada. La pared 17 está adaptada para moverse a la posición de apertura cuando, en uso, se aplica dicha aceleración. En particular, cuando la aceleración no se aplica a la pared 17 (más generalmente, cuando no se aplica fuerza a la pared 17), la pared 17 está en la posición de cierre. Más precisamente, una vez que la aceleración ya no se aplica al asiento 5, la pared 17 vuelve a la posición cerrada. En particular, durante el uso, el dispositivo 10 de recogida está orientado hacia la abertura 8'.

Más precisamente, durante el uso, la aceleración lleva la pared móvil 17 a la posición de apertura. Incluso más precisamente, en uso, la aceleración lleva la pared móvil 17 a la posición de apertura actuando directa y/o indirectamente sobre la pared móvil. En particular, en algunos casos, la aceleración actúa sobre el componente 3 al menos parcialmente líquido que empuja la pared móvil 17.

Según algunos ejemplos no limitantes, la pared 17 es móvil en el sentido de que está (elásticamente) y/o es deformable (elásticamente) articulada.

Según algunas realizaciones no limitantes, el material absorbente 13 es papel secante (figura 12).

Ventajosamente, pero no necesariamente, el conjunto 4 de manipulación comprende una pluralidad de asientos 5 (en particular, las figuras 8-10), cada uno de los cuales está adaptado para alojar un recipiente 6 respectivo. En particular, en estos casos, el conjunto 4 de manipulación comprende un dispositivo móvil 11, que está adaptado para hacer que todos los asientos 5 realicen el mismo movimiento.

Según algunas realizaciones no limitantes (véase, por ejemplo, la figura 8), los asientos 5 están dispuestos según (al menos) una fila sustancialmente paralela al eje A de rotación.

En algunos casos, los asientos 5 están dispuestos según una pluralidad de filas sustancialmente paralelas al eje A de rotación. En estos casos, la figura 10 ilustra una capa del dispositivo móvil 11 que se repite varias veces. En otras palabras, cada asiento 5 (de la figura 10) es un asiento que pertenece a una fila de asientos 5 (cada uno de los cuales está dispuesto, junto con otros asientos 5 de otras filas, alrededor del eje A).

Una o más placas de pocillos flexibles pueden montarse directamente en el dispositivo móvil 11 (más precisamente, en un rotor del dispositivo móvil 11), en particular (doblas) alrededor del eje A.

Cabe señalar que, según algunas realizaciones preferidas, pero no limitantes, la muestra comprende al menos una micropartícula 18 (en particular, una pluralidad de micropartículas 18).

Con referencia particular a la figura 11, según algunas realizaciones ventajosas, pero no limitantes, el conjunto 4 de manipulación comprende una pluralidad de asientos periféricos 19 adicionales, que están dispuestos alrededor del eje A de rotación y están adaptados para alojar recipientes 6 adicionales que contienen (en al menos parcialmente) el componente líquido 3 y que el dispositivo móvil 11 lo haga girar alrededor del eje A de rotación, de modo que se ejerza una fuerza centrífuga sobre el componente (al menos parcialmente) líquido 3 contenido en los recipientes 6 adicionales hacia el extremo cerrado 7 de los recipientes 6 adicionales.

De este modo, el dispositivo móvil 11, en un solo movimiento (la rotación alrededor del eje A) puede reducir simultáneamente el volumen de la muestra 2 contenida en el recipiente 6 dispuesto en el asiento 5 y preparar las muestras 2 contenidas en los otros recipientes 6 dispuestos en los asientos periféricos 19 (moviendo las micropartículas 18 en los extremos cerrados 7).

En particular, los asientos periféricos 19 adicionales están dispuestos alrededor del asiento 5 que está, en particular, dispuesto (en una posición central) en el eje A (más precisamente, de modo que el eje A pase a través del recipiente 6 dispuesto en el asiento 5).

Ventajosamente, pero no necesariamente, el conjunto 4 de manipulación comprende un dispositivo de movimiento 20 (en particular con un mecanismo de operación de leva - ilustrado solo parcial y esquemáticamente), que está adaptado para mover un asiento periférico 8 (que en la práctica se convierte en el asiento 5) desde su posición periférica a la posición alrededor de la cual están dispuestos los otros asientos periféricos 8 y viceversa. En la figura 11, este movimiento se ilustra con la flecha T.

Según algunas realizaciones no limitantes, el dispositivo móvil 20 está adaptado para mover una fila (sustancialmente paralela al eje A) de asientos periféricos 19. En estos casos, lo que se muestra en la figura 11 representa una capa de una estructura que proporciona una pluralidad de filas de asientos periféricos 19 (obtenidos, por ejemplo, en el mismo soporte 21).

Cabe señalar que el asiento 5 (en particular, el soporte 21) y el dispositivo 10 de recogida constituyen juntos un cartucho 22 que puede insertarse y retirarse del conjunto 4 de manipulación (en particular, insertarse y retirarse del dispositivo móvil 11).

Ventajosamente, pero no necesariamente, el conjunto 4 de manipulación (en particular, el dispositivo móvil 11) comprende un sensor (de un tipo conocido *per se* y no ilustrado) para detectar la presencia (y/o la colocación correcta) del cartucho 22 (en el dispositivo móvil 11).

Ventajosamente, pero no necesariamente, el cartucho 22 comprende una memoria reescribible (de un tipo conocido *per se* y no ilustrado, p. ej., una RFID) y el conjunto 4 de manipulación comprende un dispositivo de lectura y/o escritura (de un tipo conocido *per se* y no ilustrado) de dicha memoria reescribible. Según algunas realizaciones no limitantes, puede registrarse información en la memoria reescribible en relación con el cartucho 22, como una identificación del cartucho 22, parámetros para el uso del cartucho y/o número de veces en las que se ha utilizado el cartucho 22. En particular, en uso, el dispositivo de lectura y/o escritura registra en la memoria mencionada anteriormente cuando el cartucho 22 relativo se usa por primera vez y siempre que dicho cartucho 22 esté montado en el dispositivo móvil 11, detecta que no es una primera utilización y emite una señal de error. Esto evita que un cartucho 22 se use varias veces y que las muestras 2 se contaminen.

Ventajosamente, pero no necesariamente, el conjunto 4 de manipulación comprende un soporte 21 sobre el que se obtiene una pluralidad de asientos 5. En estos casos, el cartucho 22 comprende el soporte 21 y el dispositivo 10 de recogida.

Con referencia particular a la figura 8, según algunas realizaciones no limitantes, el soporte 21 tiene una pluralidad de asientos 5 dispuestos en una fila.

En particular (figuras 6 y 7), el dispositivo 10 de recogida está dispuesto por encima de los asientos 5, más en particular, para cubrir las aberturas 8' de los recipientes 6. Más en particular, el dispositivo 10 de recogida está dispuesto por encima del soporte 21.

Según algunas realizaciones no limitantes no ilustradas, el conjunto 4 de manipulación comprende un imán (un imán permanente y/o un electroimán), dispuesto en el asiento 5.

En algunos casos, el imán está dispuesto en un extremo del asiento 5 opuesto al dispositivo 10 de recogida. En particular, el imán está dispuesto en el extremo cerrado 7. En algunos casos, el imán está adaptado para reducir el riesgo de que las una o más micropartículas 18 (que comprenden al menos una funcionalización magnética) fluyan fuera del recipiente 6 mientras el recipiente 6, en uso, es acelerado por el conjunto 4 de manipulación (en particular, por el dispositivo móvil 11).

Adicionalmente o como alternativa, el conjunto 4 de manipulación comprende un (otro) imán (un imán permanente y/o un electroimán), dispuesto en el asiento 5 dispuesto en el dispositivo 10 de recogida, en particular, en un extremo del asiento 5 colocado en el dispositivo 10 de recogida. Más en particular, el imán está dispuesto en el extremo 8, más en particular de la abertura 8'. En estos casos, el imán mejora la eliminación de componentes no deseados (magnéticos) de la muestra 2.

Según algunas realizaciones no limitantes, el conjunto 4 de manipulación también comprende un alimentador F (por ejemplo, ilustrado en la figura 11), que está adaptado para alimentar al recipiente 6 una sustancia (en particular, un líquido), tal como, por ejemplo, un reactivo y/o una solución tampón. El alimentador F es particularmente útil cuando se desea la implementación de tratamientos adicionales (aparte de la mera reducción del volumen) en la muestra 2 (p. ej., tinción y/o permeabilización y/o lavado y/o fijación de la/s micropartícula/s 18).

Con referencia a la figura 5, en particular, el dispositivo móvil 11 comprende un motor 23 y un accionador 24 (lineal o giratorio). En las realizaciones de las figuras 1 a 8, el accionador 24 es un rotor y tiene un alojamiento H para el cartucho 22.

Ventajosamente, pero no necesariamente, el dispositivo móvil 11 también comprende un freno 25, que está adaptado para bloquear el movimiento del asiento 5 (en particular, del accionador 24).

5 En particular, el conjunto 4 de manipulación también comprende una unidad de control 26 (figura 5), que está adaptada para controlar el funcionamiento del motor 23 (y, si es necesario, del freno 25). Más precisamente, la unidad de control 26 está adaptada para ajustar el funcionamiento del motor 23 (y, si es necesario, del freno 25) basándose en el volumen final de la muestra 2 que se ha de obtener (y/o las características de los tubos de ensayo y/o del líquido).

10 Ventajosamente, pero no necesariamente, la unidad de control 26 está conectada al sensor mencionado anteriormente para detectar la presencia (y/o la colocación correcta) del cartucho 22 y está adaptada para controlar el motor 23 (y, si es necesario, el freno 25) basándose en los datos detectados por el sensor. Más precisamente, si el sensor no detecta la presencia del cartucho 22 o detecta una colocación incorrecta del cartucho 22, el motor 23 no se opera (por la unidad de control 26). Ventajosamente, pero no necesariamente, la unidad de control 26 también controla el funcionamiento del alimentador F.

15 Ventajosamente, pero no necesariamente, la unidad de control 26 está conectada al dispositivo de lectura y/o escritura mencionado anteriormente y está adaptada para controlar el motor 23 (y, si es necesario, el freno 25) basándose en los datos detectados por el dispositivo de lectura y/o dispositivo de escritura. Más precisamente, si el dispositivo de lectura y/o escritura detecta que el cartucho 22 no se está utilizando por primera vez, la unidad de control 26 no hace funcionar el motor 23.

Según algunas realizaciones no limitantes, el conjunto 4 de manipulación comprende una interfaz de operador 27 (HMI), provista, por ejemplo, de una pantalla táctil y/o de pulsadores físicos.

25 Ventajosamente, pero no necesariamente, el conjunto 4 de manipulación también comprende una cubierta 28, que se mueve entre una posición de apertura y una posición de cierre.

30 Cuando la cubierta 28 está en la posición de apertura, el recipiente 6 (más precisamente, el cartucho 22) puede insertarse y retirarse del dispositivo móvil 11. En otras palabras, cuando la cubierta 28 está en la posición de apertura, el alojamiento H mencionado anteriormente es accesible desde el exterior.

Cuando la cubierta 28 está en la posición de cierre, no es posible insertar y/o retirar el recipiente 6 (en particular, el cartucho 22). En otras palabras, el alojamiento H no es accesible desde el exterior.

35 Según algunas realizaciones no limitantes (como la ilustrada en las figuras 1 a 4), el conjunto móvil comprende un alojamiento H que se desliza entre una posición exterior (figura 1) y una posición interior (figuras 2 y 3).

40 En estos casos, en uso, el recipiente 6 (más precisamente, el cartucho 22) se inserta en el alojamiento H dispuesto en la posición exterior. En este punto, el alojamiento H se mueve (con el recipiente 6, más precisamente el cartucho 22) a la posición interior. En la posición interior, el alojamiento, en uso, se hace girar alrededor del eje A.

La realización de las figuras 1 a 4 difiere de la realización de las figuras 5 a 8, ya que el motor 3 y el freno 25 están en el mismo lado que el accionador 24 (que también en este caso es un rotor; véase en particular la figura 3).

45 Según algunas realizaciones no limitantes (figura 20), el recipiente 6 es un tubo de ensayo de tipo tradicional (por ejemplo, tubos de ensayo de PCR).

50 Ventajosamente, pero no necesariamente (figura 21), el recipiente 6 tiene una porción dispuesta en el extremo cerrado 7 con una sección interior reducida (en relación con un tubo de ensayo tradicional - en particular, dicha sección tiene un radio de menos de 0,8 mm; más precisamente, el radio es de aproximadamente 0,5 mm) y tiene una forma sustancialmente cilíndrica. Este tipo de geometría ofrece varias ventajas, que incluyen: la posibilidad de obtener un volumen final más pequeño de la muestra 2; y un aumento adicional en la reproducibilidad de la reducción de volumen.

55 Ventajosamente, pero no necesariamente (figura 22), el recipiente 6 tiene un estrechamiento interno 29 cerca del extremo cerrado 7. En particular, el volumen interior de la parte del recipiente 6 dispuesta entre el estrechamiento 29 y el extremo cerrado 7 es menor que el volumen inicial de la muestra 2 y mayor que el volumen final que se obtendrá de la muestra 2.

Este tipo de geometría reduce el riesgo de que la micropartícula 18 fluya fuera del recipiente 6.

60 Según un aspecto de la presente invención, se proporciona un método para la reducción del volumen de una muestra 2 que comprende al menos un componente (al menos parcialmente) líquido 3 y que tiene un volumen de hasta 10 ml (en particular, hasta 2 ml).

65 El método proporciona el uso de al menos un recipiente 6 como se ha definido anteriormente.

El método comprende una etapa de aceleración, durante la cual un conjunto 4 de manipulación mueve el recipiente 6 que contiene la muestra 2 para someter el recipiente a una aceleración (que tiene al menos una componente) orientada desde el extremo 8 hacia el extremo cerrado 7 y transversal (en particular, perpendicular) a la abertura 8', de modo que una primera parte del componente (al menos parcialmente) líquido 3 fluya fuera del recipiente 6 pasando a través de dicha abertura 8' y una segunda parte del componente (al menos parcialmente) líquido 3 (en particular, con un volumen sustancialmente definido) permanezca en el recipiente 6, en particular, en el extremo cerrado 7.

Ventajosamente, pero no necesariamente, el método se implementa mediante el aparato 1 descrito anteriormente.

Ventajosamente, pero no necesariamente, la muestra 2 comprende al menos una micropartícula 18 (en particular, una pluralidad de micropartículas 18). Durante la etapa de aceleración, el conjunto 4 de manipulación somete el recipiente 6 a la aceleración, de modo que la micropartícula 18 permanezca en el recipiente 6, en particular en el extremo cerrado 7.

Ventajosamente, pero no necesariamente, el método comprende una etapa de pretratamiento, que es previa a la etapa de aceleración y durante la cual el recipiente 6 que contiene la muestra 2 experimenta una aceleración adicional (que tiene al menos una componente) orientada desde el extremo cerrado 7 hacia el extremo 8 (y transversal, en particular, perpendicular, a dicha abertura 8'), de modo que la micropartícula 18 esté dispuesta en el extremo cerrado 7, en particular, en contacto con la superficie interior 30 del recipiente 6. En particular, la etapa de pretratamiento implica centrifugar el recipiente 6 que contiene la muestra 2.

Se ha observado experimentalmente que, de este modo, se reduce adicionalmente el riesgo de que la micropartícula 18 fluya fuera del recipiente 6 durante la etapa de aceleración.

A este respecto, cabe señalar que entre la micropartícula 18 y la superficie interior 30 se crea una fuerza de adhesión F_a que contrarresta la fuerza de inercia F_i que se aplica a la micropartícula 18 durante la etapa de aceleración.

Lo anterior se ilustra en las figuras 28 y 29, que muestran un intento de explicar lo que se ha observado experimentalmente. La figura 28 muestra el recipiente 6 y la muestra 2 al comienzo de la etapa de aceleración. La figura 29 muestra el recipiente 6 y la muestra 2 al final de la etapa de aceleración.

En estas figuras, la fuerza de inercia aplicada a la muestra 2 se basa en la cantidad de muestra 2 y se indica como F_c , y la fuerza de retención, que mantiene intacta la superficie de la muestra (y está vinculada a las tensiones superficiales en juego), se indica como F_y .

En particular, según algunas realizaciones, durante la etapa de aceleración, como consecuencia de la aceleración aplicada al recipiente 6, se ejerce al menos una primera fuerza de inercia sobre la primera parte de la muestra 2 y se ejerce al menos una segunda fuerza de inercia en la segunda parte de la muestra 2.

En las alternativas de las figuras 9, 23, 25 y 26, la primera y la segunda fuerza de inercia están orientadas desde el extremo cerrado 7 hacia el extremo 8 (transversalmente, en particular, perpendicularmente) a la abertura 8'. Durante la etapa de aceleración, la primera fuerza de inercia es mayor que una primera fuerza de retención ejercida entre la primera parte de la muestra y el recipiente 6, y la segunda fuerza de inercia es menor que una segunda fuerza de retención ejercida entre la segunda parte de la muestra y el recipiente 6. En particular, la primera y la segunda fuerza de retención están determinadas (principalmente) por la tensión superficial de la muestra 2 y la tensión superficial entre la muestra 2 y el recipiente 6 (más precisamente, la pared lateral 9 del recipiente 6).

En la descripción más detallada a continuación y en las figuras 23-29, la fuerza de retención se indica como F_y .

De manera ventajosa, pero no necesariamente, el conjunto 4 de manipulación, durante la etapa de aceleración, somete una pluralidad de recipientes 6 (cada uno de los cuales contiene una respectiva muestra 2) a la aceleración mencionada anteriormente de manera simultánea. En particular, el conjunto 4 de manipulación comprende una pluralidad de asientos 5, cada uno de los cuales aloja un recipiente 6 respectivo.

Según algunas alternativas (figuras 9 y 25), el conjunto 4 de manipulación comprende un dispositivo móvil 11 que, durante la etapa de aceleración, imparte al recipiente 6 un movimiento sustancialmente lineal en una dirección dada, de modo que el extremo cerrado 7 mire hacia delante con respecto a la dirección dada y el extremo 8 mira hacia atrás con respecto a la dirección dada.

Según algunas realizaciones, el conjunto 4 de manipulación comprende un dispositivo móvil 11 que, durante la etapa de aceleración, hace girar el recipiente 6 alrededor de un eje A de rotación, de modo que la fuerza centrífuga mueva la primera parte del componente (al menos parcialmente) líquido 3 fuera del recipiente 6 pasando a través de la abertura 8'.

En particular, durante la etapa de aceleración, el recipiente 6 se orienta sustancialmente de forma radial con respecto al eje A, de modo que el extremo 8 mire hacia afuera.

El eje A de rotación se extiende a través del recipiente 6 entre el extremo cerrado 7 y el extremo 8. De este modo, durante la etapa de aceleración, es sustancialmente imposible que el recipiente se vacíe más allá del límite definido por la posición del eje A (es decir, por debajo del eje A). En estos casos, seleccionando la posición en la que el eje A pasa a través del recipiente 6, es posible ajustar el volumen de la parte del componente (al menos parcialmente) líquido 3 que permanece en el recipiente 6.

Según alternativas no contempladas en las reivindicaciones, durante la etapa de aceleración, el extremo cerrado 7 está dispuesto entre el eje A de rotación y el extremo 8. De este modo (como se explica con más detalle a continuación), el volumen de la segunda parte del componente líquido 3 se basa en la velocidad angular del recipiente 6, durante la etapa de aceleración.

Según algunas realizaciones no limitativas, las micropartículas 18 se eligen del grupo que consiste en: células, restos celulares (en particular, fragmentos celulares, p. ej., ADN y/o ARN), agregados celulares (como, por ejemplo, pequeñas agrupaciones de células derivadas de células madre como neuroesferas o mamoesferas), bacterias, lipoperlas, micropérlas (hechas de poliestireno y/o magnéticas), nanopérlas (p. ej., nanopérlas de hasta 100 nm), complejos formados por micropérlas (en particular, magnéticas; en particular con una dimensión más grande menor que 500 μm) enlazadas a células, células tumorales circulantes unidas a ferrofluido, exosomas, suspensiones coloidales (p. ej., ferrofluido), liposomas, núcleos, esporas y una combinación de los mismos.

En particular, las micropartículas 18 se seleccionan del grupo que consiste en: células madre, eritroblastos, trofoblastos, células neuronales, células epiteliales, células tumorales, glóbulos blancos (WBC), células del estroma, células espermáticas, células tumorales circulantes (CTC), células fetales, microesferas (en particular, con la dimensión más grande menor que 500 μm), suspensión coloidal (p. ej., ferrofluido), complejos formados por microesferas enlazadas con células (p. ej., células madre, eritroblastos, trofoblastos, células neuronales, células epiteliales, células tumorales, glóbulos blancos (WBC), células del estroma, células espermáticas, células tumorales circulantes (CTC), células fetales), eritrocitos, células tumorales circulantes enlazadas con ferrofluido, y una combinación de los mismos.

Ventajosamente, pero no necesariamente, el método comprende una etapa de ajuste, que es previa a la etapa de aceleración y durante la cual se determina una aceleración calculada (y/o una velocidad angular calculada) (por la unidad de control 6) en función del volumen sustancialmente definido a obtener (y en particular la geometría del recipiente y la constante de interacción entre el material que compone dicha pared lateral y dicho componente líquido). Durante la etapa de aceleración, la aceleración a la que el conjunto 4 de manipulación somete al recipiente 6 es la aceleración calculada (y/o la velocidad angular a la que el conjunto 4 de manipulación somete al recipiente 6 es la velocidad angular calculada).

Cabe señalar que, en realidad, la velocidad angular y la aceleración son (para movimientos circulares) equivalentes, ya que están limitadas por la relación $a_c = \omega^2 \times d$, en el que a_c es la aceleración centrífuga, ω es la velocidad angular y d es la distancia desde el eje de rotación.

Según algunas realizaciones no limitativas, el método comprende una etapa de inserción, durante la cual la muestra 2 se inserta en el recipiente 6.

En particular, durante la etapa de inserción, la muestra 2 se inserta en el recipiente 6 por medio de un instrumento elegido del grupo que consiste en: dispositivos microfluídicos (p. ej., que comprenden un sistema de chorro, en particular, derivado de la tecnología de chorro de tinta), instrumentos de pipeteo, citómetros de flujo, micromanipuladores, pinzas ópticas. Según algunas realizaciones no limitativas, los dispositivos microfluídicos son de los tipos descritos en las solicitudes de patente con número de publicación WO2010/106434 y WO2012/085884.

Ventajosamente, pero no necesariamente, la muestra 2 se selecciona de modo que comprenda al menos una micropartícula 18 utilizando: imágenes, inmunofluorescencia, impedancia, dimensiones, geometría, características morfológicas y una combinación de las mismas.

Según realizaciones específicas no limitativas, se utiliza un dispositivo microfluídico, que selecciona la muestra que contiene al menos una micropartícula 18 (de un tipo determinado) utilizando: imágenes, inmunofluorescencia, impedancia, dimensiones, geometría, características morfológicas y una combinación de las mismas.

En algunos casos, también es posible prever una etapa de tratamiento posterior a la etapa de inserción y previa a la etapa de centrifugación y durante la cual se trata la muestra, en particular, con una sustancia adicional.

Según algunas realizaciones no limitantes, la sustancia adicional es un reactivo (p. ej., para teñir y/o hacer permeables las micropartículas 18), que se inserta en el recipiente. Como alternativa o adicionalmente, el reactivo es un reactivo para fijar las micropartículas 18.

También es posible prever una etapa de lavado, durante la cual se introduce un líquido de lavado (una solución de lavado - un tampón de lavado) en el recipiente 6 y luego se retira durante la etapa de aceleración.

En particular, la etapa de tratamiento comprende una primera subetapa de adición, durante la cual se inserta un reactivo (en particular, un reactivo para teñir y/o un reactivo para hacer permeables las micropartículas 18) en el recipiente 6 que contiene la muestra 2; y una segunda subetapa de adición, durante la cual se inserta un líquido de lavado en el recipiente 6 que contiene la muestra 2. En particular, es posterior a la primera subetapa de adición.

Según algunas realizaciones no limitativas, la etapa de tratamiento comprende una subetapa de incubación que es posterior a la primera subetapa de adición y anterior a la segunda subetapa de adición y durante la cual el reactivo se mantiene en el recipiente 6 junto con la muestra 2 (en particular, a una temperatura controlada entre una temperatura mínima y una temperatura máxima).

Según algunas realizaciones no limitantes, la subetapa de incubación tiene una duración que varía entre 10 segundos y 24 horas.

La figura 33 ilustra un diagrama de flujo de procedimientos que se pueden seguir. En estos casos, el método comprende la etapa de pretratamiento SA (como se describió anteriormente) y la etapa de aceleración SB, posterior a la etapa de pretratamiento. El método también proporciona la etapa de tratamiento, que es posterior a la etapa de aceleración SB y comprende una subetapa de adición SC y usualmente una subetapa de incubación SD durante la cual la sustancia adicional se mantiene en el recipiente 6 en contacto con la muestra 2; una etapa de lavado SE, que es posterior a la etapa de tratamiento (más precisamente, posterior a la subetapa de incubación SD) y durante la cual se inserta un líquido de lavado en el recipiente 6.

En este punto (después de la etapa de lavado), según una primera opción, se programa nuevamente la etapa de pretratamiento SA (y, por lo tanto, nuevamente en sucesión las etapas SB, SC, SD). Según una segunda opción, se programa nuevamente la etapa de aceleración (SB) (y, por lo tanto, nuevamente en sucesión las etapas SC, SD). El procedimiento se puede realizar varias veces (y normalmente finaliza con una etapa de SB).

De manera ventajosa, pero no necesariamente, durante la etapa de aceleración, la temperatura de los recipientes 6 se mantiene dentro de un intervalo predefinido. En particular, el conjunto 4 de manipulación comprende un sistema de mantenimiento de temperatura adaptado para mantener la temperatura de los recipientes 6 (más precisamente, de los asientos 2) dentro del intervalo deseado. Según algunas realizaciones no limitativas, el sistema para mantener la temperatura comprende un sensor de temperatura y un dispositivo de calentamiento y/o enfriamiento, que opera en función de los datos detectados por el sensor de temperatura.

La etapa de ajuste se puede implementar utilizando los datos experimentales previamente adquiridos (que, por ejemplo, indican que con un recipiente 6 dado, de una forma dada y un material dado, con un componente 3 dado y aplicando una aceleración dada, y/o velocidad angular, se obtiene un volumen final dado). En la figura 32 se ilustra un ejemplo de una curva obtenida con datos experimentales adquiridos que relaciona la velocidad angular con el volumen de la segunda parte del componente líquido 3 (que permanece en el recipiente después de la etapa de aceleración).

En particular (por lo tanto), la etapa de ajuste es, en algunos casos, precedida por una etapa de calibración, durante la cual se miden los diferentes valores de los volúmenes finales obtenidos para diferentes aceleraciones (y/o velocidades angulares). Más en particular, durante la etapa de calibración, se crea una curva de calibración (o una función de calibración) que luego se utiliza durante la etapa de ajuste para obtener la aceleración calculada (y/o la velocidad angular calculada) en función del volumen sustancialmente definido que se ha de obtener.

Como alternativa o adicionalmente, durante la etapa de ajuste, se cruza una primera función que vincula una fuerza de inercia a la aceleración con una segunda función de la fuerza debida a las tensiones superficiales y se estima (también gráficamente) para qué valor de aceleración (y/o velocidad angular) estas dos fuerzas son equivalentes para el volumen de la segunda parte del componente (al menos parcialmente) líquido 3 deseado. En otras palabras, durante la etapa de ajuste, después de identificar el volumen de la segunda parte del componente (al menos parcialmente) líquido 3 que debe dejarse en el recipiente 6, se estima para qué valor de aceleración (y/o velocidad angular) la fuerza de inercia es equivalente a la fuerza debida a las tensiones superficiales en función de una primera función que relaciona la fuerza de inercia con la aceleración (y/o la velocidad angular) y una segunda función que relaciona la fuerza de inercia con la distancia desde el extremo cerrado 7 o desde el eje A.

Durante la etapa de aceleración, el conjunto de manipulación somete al recipiente 6 a una aceleración con dicho valor.

Si el extremo cerrado 7 está dispuesto entre el eje A y el extremo 8, y la sección del recipiente 6 es constante (como se ilustra en la figura 23), la primera función es:

$$F_c(d) \propto m\omega^2 d \quad (1)$$

25 la segunda función es

$$F_v \propto 2\pi R \Delta\gamma \quad (2)$$

en la que F_c es la fuerza de inercia (más precisamente la fuerza centrífuga); m es la masa de la muestra; ω es la velocidad angular; d es la distancia desde el eje A; F_v es la fuerza de retención (debida a las tensiones superficiales); R es el radio interno del recipiente 6 y $\Delta\gamma$ es un parámetro que depende del tipo de muestra 2 (más precisamente, del tipo de componente líquido 3) y del material del que está hecho el recipiente 6. Los parámetros $\Delta\gamma$ se pueden encontrar tabulados en manuales o se pueden determinar experimentalmente.

En este caso, el volumen de la segunda parte del componente (al menos parcialmente) líquido 3 (es decir, la parte que permanece en el recipiente después de la etapa de aceleración) está en función (manteniendo fijos el perímetro interno del recipiente, la masa y la tensión superficial) de la velocidad angular (y, por tanto, puede modularse variando la velocidad angular). Más precisamente, cuando aumenta la velocidad angular, se reduce el volumen.

Si el eje A pasa a través del recipiente 6 y está dispuesto entre el extremo cerrado 7 y el extremo 8, y la sección del recipiente 6 es constante (como se ilustra en la figura 24), la primera y la segunda función son las funciones (1) y (2) reportadas anteriormente. A diferencia de la situación anterior, en este caso no es posible (aumentando la velocidad angular) hacer salir toda la muestra 2, ya que la parte dispuesta entre el eje A y el extremo cerrado 7 permanece (en todo caso) en el interior del recipiente 6.

Si el recipiente 6 tiene un diámetro variable y se mueve de manera lineal (como se ilustra en la figura 25), la segunda función es la función (2) (nótese, sin embargo, que en este caso el perímetro interno del recipiente 6, y por lo tanto el radio interno R , varía a medida que se mueve a lo largo de la extensión longitudinal del recipiente 6) y la primera función es:

$$F_c \propto ma \propto \beta \cdot d^2 \quad (3)$$

en la que F_c es la fuerza de inercia; m es la masa de la muestra 2; a es la aceleración; d es la distancia relativa al extremo cerrado 7; β es un factor de proporcionalidad que depende del peso específico de la muestra 2 (más precisamente, del componente líquido 3) y de la geometría del recipiente 6 (y por lo tanto puede determinarse de antemano).

Si el extremo cerrado 7 está dispuesto entre el eje A y el extremo 8, y la sección del recipiente 6 es variable (como se ilustra en la figura 26), la segunda función es la función (2) (nótese, sin embargo, que en este caso el perímetro interno del recipiente 6, y por lo tanto el radio interno R , varía a medida que se mueve a lo largo de la extensión longitudinal del recipiente 6) y la primera función es:

$$F_c(d) \propto \beta \cdot d^2 \omega^2 \quad (4)$$

en la que F_c es la fuerza de inercia; ω es la velocidad angular; d es la distancia desde el eje A; β es un factor de proporcionalidad que depende del peso específico de la muestra 2 (más precisamente, del componente líquido 3) y de la geometría del recipiente 6 (y, por lo tanto, puede determinarse de antemano).

En particular, la función (4) se obtiene de

$$F_c(d) \propto m \omega^2 d \propto p \pi R^2 \omega^2 d \quad (5)$$

en donde p es el peso específico de la muestra.

Si el eje A está dispuesto entre el extremo cerrado 7 y el extremo 8, y la sección del recipiente 6 es variable (como se ilustra en la figura 27), la segunda función es la función (2) (nótese, sin embargo, que en este caso el perímetro interno del recipiente 6, y por lo tanto el radio interno, varía a medida que se mueve a lo largo de la extensión longitudinal del recipiente 6) y la primera función es la función (4). A diferencia de la situación anterior, en este caso no es posible (aumentando la velocidad angular) hacer salir toda la muestra 2, ya que la parte dispuesta entre el eje A y el extremo cerrado 7 permanece en el recipiente 6.

En vista de lo anterior, la primera función es la función (1) o (3) o (4) y la segunda función es la función (2). Esto es especialmente importante cuando el extremo cerrado 7 está dispuesto entre el eje A y el extremo 8.

Cabe señalar que las funciones (1)-(5) y las ilustraciones de las figuras 23-27 fueron formuladas (para racionalizar lo observado y automatizar algunas realizaciones) después de que la presente invención hubiera demostrado

experimentalmente de manera sorprendente que podía obtener de manera extremadamente precisa y repetible la reducción del volumen de la muestra 2.

Según algunas realizaciones no limitantes, la muestra 2 se obtiene a partir de una muestra preliminar que comprende la/s micropartícula/s 18 y micropartículas adicionales. En particular, la muestra 2 se obtiene recuperando selectivamente la/s micropartícula/s 18 con respecto a otras micropartículas. Esto se realiza mediante el uso de una unidad de separación que comprende un sistema elegido del grupo que consiste en: dielectroforesis, pinzas ópticas, magnetoforesis, acustoforesis, ondas viajeras, flujo térmico, movimientos de fluidos locales generados por flujo electrotérmico, movimientos de fluidos locales generados por fuerzas electrohidrodinámicas y una combinación de los mismos.

En algunos casos no limitativos, la unidad de separación comprende un sistema elegido del grupo que consiste en: dielectroforesis, pinzas ópticas, magnetoforesis, acustoforesis y una combinación de los mismos.

En particular, la unidad de separación comprende un sistema capaz de ejercer una fuerza directamente sobre la/s micropartícula/s 18 (en particular, sin que la fuerza se ejerza sobre el fluido, que transfiere el movimiento a la/s micropartícula/s 18).

Según realizaciones específicas, la unidad de separación comprende una unidad (o sistema) de dielectroforesis como se describe, por ejemplo, en al menos una de las solicitudes de patente WO-A-0069565, WO-A-2007010367, WO-A-2007049120. Más en particular, la unidad de separación funciona según lo descrito en las solicitudes de patente con número de publicación WO2010/106434 y WO2012/085884).

Ventajosamente, pero no necesariamente, la unidad de separación forma parte de uno de los dispositivos microfluídicos citados anteriormente y, en particular, según lo descrito en las solicitudes de patente con número de publicación WO2010/106428 y WO2010/106426. Dicho sistema microfluídico se utiliza para obtener la muestra 2 a partir de una muestra preliminar.

Según algunas realizaciones no limitativas, durante la etapa de aceleración, se ejerce una fuerza magnética sobre la micropartícula 18, en particular provista de al menos un componente magnético, hacia el extremo cerrado 7 (y/o la pared lateral 9).

Como alternativa (o adicionalmente), durante la etapa de aceleración, se ejerce una fuerza magnética (adicional) hacia la abertura 8'. En particular, dicha fuerza magnética se ejerce sobre una suspensión coloidal de ferrofluido (de modo que se favorece la salida de la suspensión coloidal del recipiente 6).

El método y el aparato según la presente invención también se pueden utilizar ventajosamente para preparar muestras para análisis genéticos, para preparar muestras para clasificación de células, para tinción de células y para lavado de células.

Otras características de la presente invención quedarán claras a partir de la siguiente descripción de ejemplos no limitativos meramente ilustrativos.

Ejemplo 1

Este ejemplo describe pruebas realizadas con un método tradicional de reducción de volumen de muestras 6 que comprenden un componente líquido 3 y al menos una micropartícula 18. Dichas muestras habían sido previamente tratadas con una centrifuga para favorecer el posicionamiento de la micropartícula 18 en el extremo cerrado 7 del recipiente 6 (un tubo de ensayo como el ilustrado en la figura 20).

En concreto, se realizaron 260 pruebas en total por parte de tres operadores diferentes (A, B y C) que, partiendo de las muestras 6 con un volumen inicial de aproximadamente 113 μ E, debían obtener un volumen de 1 μ L.

Cada operador recogió el exceso de líquido manualmente utilizando una pipeta (e inclinando el tubo de ensayo que contenía la muestra).

Los operadores A y B realizaron 90 operaciones de reducción cada uno. El operador C realizó 80 operaciones de reducción.

Para completar las operaciones se requirieron 10 horas de trabajo (sumando el tiempo de trabajo de cada operario). Los resultados globales obtenidos se muestran en la tabla 1 y en la figura 31 (el eje X muestra el volumen de la muestra obtenida después de la reducción y el eje Y el número de veces que la muestra reducida presentó ese volumen), en la que un color más oscuro resalta los tiempos en que se perdió la micropartícula y la línea discontinua identifica la región en la que (para qué volúmenes finales) ocurrieron dichas pérdidas.

Tabla 1

Reducciones de volumen manuales: 260 pruebas	
Media	1,73 μ l
Intervalo máximo	4,3 μ l
Desviación estándar	1,03 μ l
Tasa de éxito	94,7 %

Por intervalo máximo entendemos la diferencia entre el volumen máximo y el volumen mínimo obtenido después de las operaciones de reducción. La media es la media de los volúmenes de las muestras obtenidas después de la reducción. Los resultados obtenidos muestran que el procedimiento tradicional no es fiable (la tasa de fallos, relativa a los casos en los que se perdió la micropartícula 18, no es despreciable) y el volumen medio es significativamente superior al volumen objetivo (1 μ L).

Los resultados obtenidos divididos por operador se muestran en las siguientes tablas 2-4.

Tabla 2

Operador A	
Media	2,65 μ l
Intervalo máximo	3,35 μ l
Desviación estándar	0,79 μ l
Tasa de éxito	98,9 %

Tabla 3

Operador B	
Media	1,16 μ l
Intervalo máximo	2,60 μ l
Desviación estándar	0,51 μ l
Tasa de éxito	94,7 %

Tabla 4

Operador C	
Media	1,28 μ l
Intervalo máximo	4,06 μ l
Desviación estándar	0,96 μ l
Tasa de éxito	89,9 %

Estos resultados muestran que la precisión del procedimiento depende en gran medida del operador y de sus habilidades manuales.

Cabe señalar que cada operador realizó las reducciones en tres sesiones separadas. Los resultados obtenidos por cada operador (indicados en el eje X) para cada sección se muestran gráficamente en la figura 30 (el eje Y muestra el volumen de la muestra obtenida después de la reducción).

Como se puede observar, incluso un solo operador tiende a obtener resultados diferentes en momentos diferentes.

Ejemplo 2

Este ejemplo describe la comparación entre pruebas realizadas con un método tradicional de reducción de volumen y un método (automático) según la presente invención. Las pruebas se realizaron con un volumen inicial de aproximadamente 113 μ L y el volumen objetivo fue 1 μ L.

El método tradicional se implementó como se describe en el ejemplo 1.

Para el método según la presente invención, se utilizó el aparato 1 (hecho para operar a una velocidad de 4200 RPM) ilustrado en las figuras 5-8 y el recipiente de la figura 20 (más precisamente, una tira de tubos de ensayo de PCR con volumen de 0,2 ml cada uno). La distancia entre el eje A (que pasaba por el recipiente) y el extremo cerrado 7 era de 2,22 mm.

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 5.

Tabla 5

	Manual	Automático
Número de muestras reducidas	360	180
Media	1,66 µL	1,22 µL
Intervalo máximo	4,34 µL	1,05 µL
IQR	1,31 µL	0,30 µL
Desviación estándar	0,95 µL	0,25 µL
Tasa de éxito	92,8 %	99,4 %
	1 partícula perdida cada 10 muestras	1 partícula perdida cada 180 muestras

A partir de los datos anteriormente indicados, la presente invención supone una mejora significativa e inesperada en cada uno de los aspectos registrados.

En la Tabla 6 a continuación se compara el mismo número de pruebas realizadas con el método tradicional y con el método según la presente invención.

Tabla 6

	Manual	Automático
Número de muestras reducidas	96	96
Tiempo empleado	220 minutos	15 minutos
Media	1,66 µL	1,21 µL
Desviación estándar	0,95 µL	0,25 µL
Tasa de éxito	92 %	98 %

Se puede observar inmediatamente que el tiempo necesario para obtener las muestras con volumen reducido se reduce drásticamente al implementar el método de la presente invención.

REIVINDICACIONES

1. Un método para la reducción del volumen de una muestra (2), que comprende al menos un componente (3) al menos parcialmente líquido y que tiene un volumen de hasta 10 ml; el método comprende utilizar al menos un recipiente (6) que tiene un espacio interior, un primer extremo cerrado (7), un segundo extremo (8) provisto de una abertura (8'), que establece una conexión entre el espacio interior y el exterior, y al menos una pared lateral (9), que se extiende entre el primer extremo cerrado (7) y el segundo extremo (8); el espacio interior está delimitado por la pared lateral (9) y por el primer extremo cerrado (7);
 estando el método **caracterizado porque** comprende una etapa de aceleración, durante la cual un conjunto (4) de manipulación mueve el recipiente (6) que contiene la muestra (2) sometiendo el recipiente (6) a una aceleración que tiene al menos una componente que está orientada desde el segundo extremo (8) hacia el primer extremo cerrado (7) y es transversal (en particular, perpendicular) a dicha abertura (8'), de modo que una primera parte de dicho componente (3) al menos parcialmente líquido fluya fuera del recipiente (6) fluyendo a través de dicha abertura (8') y una segunda parte de dicho componente (3) al menos parcialmente líquido con un volumen sustancialmente definido permanezca en el recipiente (6), en dicho primer extremo cerrado (7); en donde el conjunto (4) de manipulación comprende un dispositivo móvil (11), que, durante la etapa de aceleración, hace girar el recipiente (6) alrededor de un eje (A) de rotación de modo que la fuerza centrífuga haga que dicha primera parte de dicho componente (3) al menos parcialmente líquido fluya fuera del recipiente (6) pasando a través de dicha abertura (8'); durante la etapa de aceleración, el eje (A) de rotación se extiende a través del recipiente (6) entre el primer extremo cerrado (7) y el segundo extremo (8).
2. El método según la reivindicación 1, en donde la muestra (2) comprende al menos una micropartícula (18); durante la etapa de aceleración, el conjunto (4) de manipulación somete al recipiente (6) a la aceleración de modo que la micropartícula (18) permanezca en el recipiente (6), en particular, en el área de dicho primer extremo cerrado (3).
3. El método según la reivindicación 2 y que comprende una etapa de pretratamiento, que es previa a la etapa de aceleración y durante la cual el recipiente (6) que contiene la muestra (2) se somete a una aceleración adicional que tiene al menos una componente que está orientada desde el primer extremo cerrado (7) hacia el segundo extremo (8) y es transversal (en particular, perpendicular) a dicha abertura (8'), de modo que la micropartícula (18) quede dispuesta en el área del primer extremo cerrado (3).
4. El método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde, durante la etapa de aceleración, como consecuencia de la aceleración aplicada al recipiente (6), se ejerce al menos una primera fuerza de inercia sobre la primera parte de la muestra (2) y se ejerce al menos una segunda fuerza de inercia sobre la segunda parte de la muestra (2); las fuerzas de inercia primera y segunda están orientadas desde el primer extremo cerrado (7) hacia el segundo extremo (8) transversalmente (en particular, perpendicularmente) a dicha abertura (8'); durante la etapa de aceleración, la primera fuerza de inercia es mayor que una primera fuerza de retención ejercida entre la primera parte de la muestra y el recipiente (6), y la segunda fuerza de inercia es menor que una segunda fuerza de retención ejercida entre la segunda parte de la muestra y el recipiente (6).
5. El método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores y que comprende una etapa de ajuste, que es previa a la etapa de aceleración y durante la cual se determinan una aceleración calculada y/o una velocidad angular calculada en función del volumen sustancialmente definido que se ha de obtener; durante la etapa de aceleración, la aceleración a la que el conjunto (4) de manipulación somete al recipiente (6) es la aceleración calculada y/o la velocidad angular a la que el conjunto (4) de manipulación somete al recipiente (6) es la velocidad angular calculada.
6. El método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el conjunto (4) de manipulación, durante la etapa de aceleración, somete simultáneamente a una pluralidad de recipientes (6) a dicha aceleración; en particular, el conjunto (4) de manipulación comprende una pluralidad de asientos (5), cada uno de los cuales aloja un recipiente (6) respectivo.
7. El método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde las micropartículas (18) se eligen del grupo que consiste en: células, restos celulares (en particular, fragmentos celulares, p. ej., ADN y/o ARN), agregados celulares (como, por ejemplo, pequeños grupos de células que se derivan de células madre, tales como neuroesferas o mamosferas), bacterias, lipoesferas, microesferas (de poliestireno y/o magnéticas), nanoesferas (p. ej., nanoesferas de hasta 100 nm), conjuntos formados por microesferas (en particular, magnéticas; en particular con la dimensión más grande menor que 500 µm) enlazadas a células, células tumorales circulantes unidas a ferrofluido, exosomas, suspensión coloidal (p. ej., ferrofluido), liposomas, núcleos, esporas y una combinación de los mismos; en particular, las micropartículas (18) se seleccionan del grupo que consiste en: células madre, eritroblastos, trofoblastos, células neuronales, células

- 5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65
- epiteliales, células tumorales, glóbulos blancos (WBC), células del estroma, células espermáticas, células tumorales circulantes (CTC), células fetales, microesferas (en particular, con la dimensión más grande menor que 500 µm), suspensión coloidal (p. ej., ferrofluido), conjuntos formados por microesferas enlazadas con células (p. ej., células madre, eritroblastos, trofoblastos, células neuronales, células epiteliales, células tumorales, glóbulos blancos (WBC), células del estroma, células espermáticas, células tumorales circulantes (CTC), células fetales), eritrocitos, células tumorales circulantes enlazadas con ferrofluido, y una combinación de los mismos.
8. El método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores y que comprende una etapa de inserción, durante la cual la muestra (2) se inserta en el recipiente (6); y una etapa de tratamiento, que es posterior a la etapa de inserción y previa a la etapa de aceleración y durante la cual se trata la muestra (2), en particular, con una sustancia adicional.
9. El método según la reivindicación 8, en donde la etapa de tratamiento comprende una primera subetapa de adición, durante la cual se inserta un reactivo (en particular, un reactivo para colorear las micropartículas (18) y/o un reactivo para hacer permeables las micropartículas (18) y/o un reactivo para fijar las micropartículas (18)) en el recipiente (6) que contiene la muestra (2); y una segunda subetapa de adición, que es posterior a la primera subetapa de adición y durante la cual se inserta un líquido de lavado en el recipiente (6) que contiene la muestra (2); en particular, la etapa de tratamiento comprende una subetapa de incubación, que es posterior a la primera subetapa de adición y previa a la segunda subetapa de adición y durante la cual el reactivo se deja con la muestra (2) (más en particular, a una temperatura controlada que oscila entre una temperatura mínima y una temperatura máxima).
10. El método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde, durante la etapa de aceleración, se dispone en el área de la abertura (8') fuera del recipiente (6) un dispositivo (10) de recogida que recoge la primera parte de dicho componente (3) al menos parcialmente líquido.
11. El método según la reivindicación 10, en donde el dispositivo (10) de recogida comprende un sistema (12) de retención para retener al menos una fracción de la primera parte de dicho componente (3) al menos parcialmente líquido;
- en particular, el sistema (12) de retención comprende un elemento elegido del grupo que consiste en: material absorbente (13), trampa capilar, trampa de líquido, y una combinación de los mismos; comprendiendo la trampa capilar una pluralidad de ranuras (14) que tienen un ancho menor que 2,0 mm, en particular, menor que 0,9 mm; comprendiendo la trampa de líquido una cámara (15) de recogida, que está provista de una entrada (16), y al menos una pared móvil (17), que es móvil entre una posición de cierre, en la que impide que el líquido fluya a través de la entrada (16), y una posición de apertura, en la que el líquido puede fluir a través de la entrada (16); durante la etapa de aceleración, dicha aceleración (en particular, directa y/o indirectamente por medio de dicho componente (3) al menos parcialmente líquido) mueve la pared móvil (17) a la posición de apertura; una vez que ya no se aplica aceleración al recipiente (6), en particular, al sistema (12) de retención, la pared móvil (17) vuelve a la posición de cierre.
12. El método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde, durante la etapa de aceleración, la temperatura del recipiente (6) se mantiene dentro de un intervalo de temperatura predefinido.
13. El método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores y que comprende una etapa de inserción, durante la cual la muestra (2) se inserta en el recipiente (6) mediante un instrumento elegido del grupo que consiste en: dispositivos microfluídicos, instrumentos de pipeteo, citómetros de flujo, micromanipuladores, pinzas ópticas; en particular, la muestra (2) se selecciona de modo que comprenda al menos una micropartícula (18) utilizando: imágenes, inmunofluorescencia, impedancia, dimensiones, geometría, características morfológicas, y una combinación de las mismas.
14. El método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la muestra (2) comprende al menos una micropartícula (18), en particular, provista de al menos un componente magnético; durante la etapa de aceleración, se ejerce una fuerza magnética sobre la micropartícula (18) hacia la pared lateral (9) y/o el extremo cerrado (7).
15. El método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde, durante la etapa de aceleración, se ejerce una fuerza magnética hacia la abertura (8'), en particular, para retirar material no deseado (p. ej., ferrofluido) del recipiente (6).
16. El método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde, durante la etapa de aceleración, como consecuencia de la aceleración aplicada al recipiente (6), se ejerce al menos una primera fuerza de inercia sobre la primera parte de la muestra (2) y se ejerce al menos una segunda fuerza de inercia sobre la segunda parte de la muestra (2); y en donde el conjunto (4) de manipulación comprende un dispositivo móvil (11), que, durante la etapa de aceleración, hace girar el recipiente (6) alrededor de un eje (A) de rotación, que

se extiende a través del recipiente (6) entre el primer extremo cerrado (7) y el segundo extremo (8), de modo que la fuerza centrífuga haga que dicha primera parte de dicho componente (3) al menos parcialmente líquido fluya fuera del recipiente (6) pasando a través de dicha abertura (8').

- 5 17. Un aparato para la reducción del volumen de una muestra (2), que comprende al menos un componente (3) al menos parcialmente líquido y que tiene un volumen de hasta 10 ml; el aparato (1) comprende un conjunto (4) de manipulación provisto de al menos un asiento (5) para soportar al menos parcialmente al menos un recipiente (6) que tiene un espacio interior, un primer extremo cerrado (7), un segundo extremo (8) provisto de una abertura (8'), que establece una conexión entre el espacio interior y el exterior, y al menos una pared lateral (9), que se extiende entre el primer extremo cerrado (7) y el segundo extremo (8); el espacio interior está delimitado por la pared lateral (9) y por el primer extremo cerrado (7);
- 10 el conjunto (4) de manipulación comprende un dispositivo (10) de recogida, que está adaptado para recoger una primera parte de dicho componente (3) al menos parcialmente líquido y está dispuesto en el exterior del asiento (5) y cerca del asiento (5); el conjunto (4) de manipulación está adaptado para mover el asiento (5) para someter al asiento (5) a una aceleración que tiene al menos una componente que está orientada desde el dispositivo (10) de recogida hacia el asiento (5) de modo que la primera parte de dicho componente (3) al menos parcialmente líquido fluya fuera del recipiente (6) y llegue al dispositivo (10) de recogida y una segunda parte de dicho componente (3) al menos parcialmente líquido con un volumen sustancialmente definido permanezca en el recipiente (6), en el área de dicho primer extremo cerrado (7);
- 15 en donde el conjunto (4) de manipulación comprende un dispositivo móvil (11), que está adaptado para hacer girar el asiento (5) alrededor de un eje (A) de rotación de modo que la fuerza centrífuga haga que dicha primera parte de dicho componente (3) al menos parcialmente líquido fluya fuera del recipiente (6) hacia el interior del dispositivo (10) de recogida;
- 20 el asiento (5) está conformado de modo que el eje (A) de rotación se extienda a través del recipiente (6) entre el primer extremo cerrado (7) y el segundo extremo (8).
- 25 18. El aparato según la reivindicación 17, en donde el dispositivo (10) de recogida comprende un sistema (12) de retención (en particular, un tanque) para retener al menos una fracción de dicha primera parte de dicho componente (3) al menos parcialmente líquido.
- 30 19. El aparato según la reivindicación 18, en donde el sistema (12) de retención comprende un elemento elegido del grupo que consiste en: material absorbente (13), trampa capilar, trampa de líquido, y una combinación de los mismos; comprendiendo la trampa capilar una pluralidad de ranuras (14) que tienen un ancho menor que 2,0 mm, en particular, menor que 0,9 mm; comprendiendo la trampa de líquido una cámara (15) de recogida, que está provista de una entrada (16), y al menos una pared móvil (17), que es móvil entre una posición de cierre, en la que impide que el líquido fluya a través de la entrada (16), y una posición de apertura, en la que el líquido puede fluir a través de la entrada (16); la pared (17) está adaptada para moverse a la posición de apertura cuando, en uso, se aplica dicha aceleración; una vez que ya no se aplica la aceleración al asiento (5), la pared (17) vuelve a la posición de cierre.
- 35 20. El aparato según una cualquiera de las reivindicaciones de 17 a 19, en donde el conjunto (4) de manipulación comprende una pluralidad de asientos (5), cada uno adaptado para alojar un recipiente (6) respectivo; el conjunto (4) de manipulación comprende un dispositivo móvil (11), que está adaptado para hacer que todos los asientos (5) realicen el mismo movimiento.
- 40 21. El aparato según la reivindicación 20, en donde el dispositivo móvil (11) está adaptado para hacer girar los asientos (5) alrededor del eje (A) de rotación de modo que la fuerza centrífuga mueva dichas primeras partes de dicho componente (3) al menos parcialmente líquido hacia el dispositivo (10) de recogida; los asientos (5) están dispuestos según al menos una fila que es sustancialmente paralela al eje (A) de rotación.
- 45 22. El aparato según una cualquiera de las reivindicaciones de 17 a 19; el conjunto (4) de manipulación comprende una pluralidad de asientos periféricos (19) adicionales, que están dispuestos alrededor del eje (A) de rotación y están adaptados para alojar recipientes (6) adicionales, cada uno de los cuales contiene una muestra (2) respectiva, y para hacerse girar por el dispositivo móvil (11) alrededor del eje (A) de rotación de modo que se ejerza una fuerza centrífuga sobre dicho componente (3) al menos parcialmente líquido contenido en los recipientes (6) adicionales hacia el primer extremo cerrado (7) de los recipientes (6) adicionales.
- 50 23. El aparato según una cualquiera de las reivindicaciones de 17 a 22, en donde el conjunto (4) de manipulación comprende un sistema de conservación de temperatura, que está adaptado para conservar la temperatura de los recipientes (6), en particular de los asientos (5), dentro de un intervalo deseado, en particular entre una temperatura mínima dada y una temperatura máxima dada; en particular, el sistema de conservación de temperatura comprende un sensor de temperatura y un dispositivo de calentamiento y/o enfriamiento, que está adaptado para funcionar en función de los datos detectados por el sensor de temperatura.
- 55 60 65

24. El aparato según una cualquiera de las reivindicaciones de 17 a 23, en donde el conjunto (4) de manipulación comprende un primer imán, que está dispuesto en el área de un extremo del asiento (5) opuesto al dispositivo (10) de recogida; en particular, el primer imán está dispuesto en el área del extremo cerrado (7).

25. El aparato según una cualquiera de las reivindicaciones de 17 a 24, en donde el conjunto (4) de manipulación comprende un segundo imán, que está dispuesto en el área del asiento (5), en particular, en el área de un extremo del asiento (5) en el área del dispositivo (10) de recogida; en particular, el imán está dispuesto en el área del segundo extremo (8), más en particular, de la abertura (8').

26. El aparato según una cualquiera de las reivindicaciones de 17 a 25, en donde, como consecuencia de la aceleración aplicada al recipiente (6), se ejerce al menos una primera fuerza de inercia sobre la primera parte de la muestra (2) y se ejerce al menos una segunda fuerza de inercia sobre la segunda parte de la muestra (2); y en donde

el conjunto (4) de manipulación comprende un dispositivo móvil (11), que está adaptado para hacer girar el asiento (5) alrededor de un eje (A) de rotación, que se extiende a través del recipiente (6) entre el primer extremo cerrado (7) y el segundo extremo (8), de modo que la fuerza centrífuga haga que dicha primera parte de dicho componente (3) al menos parcialmente líquido fluya fuera del recipiente (6) hacia el interior del dispositivo (10) de recogida.

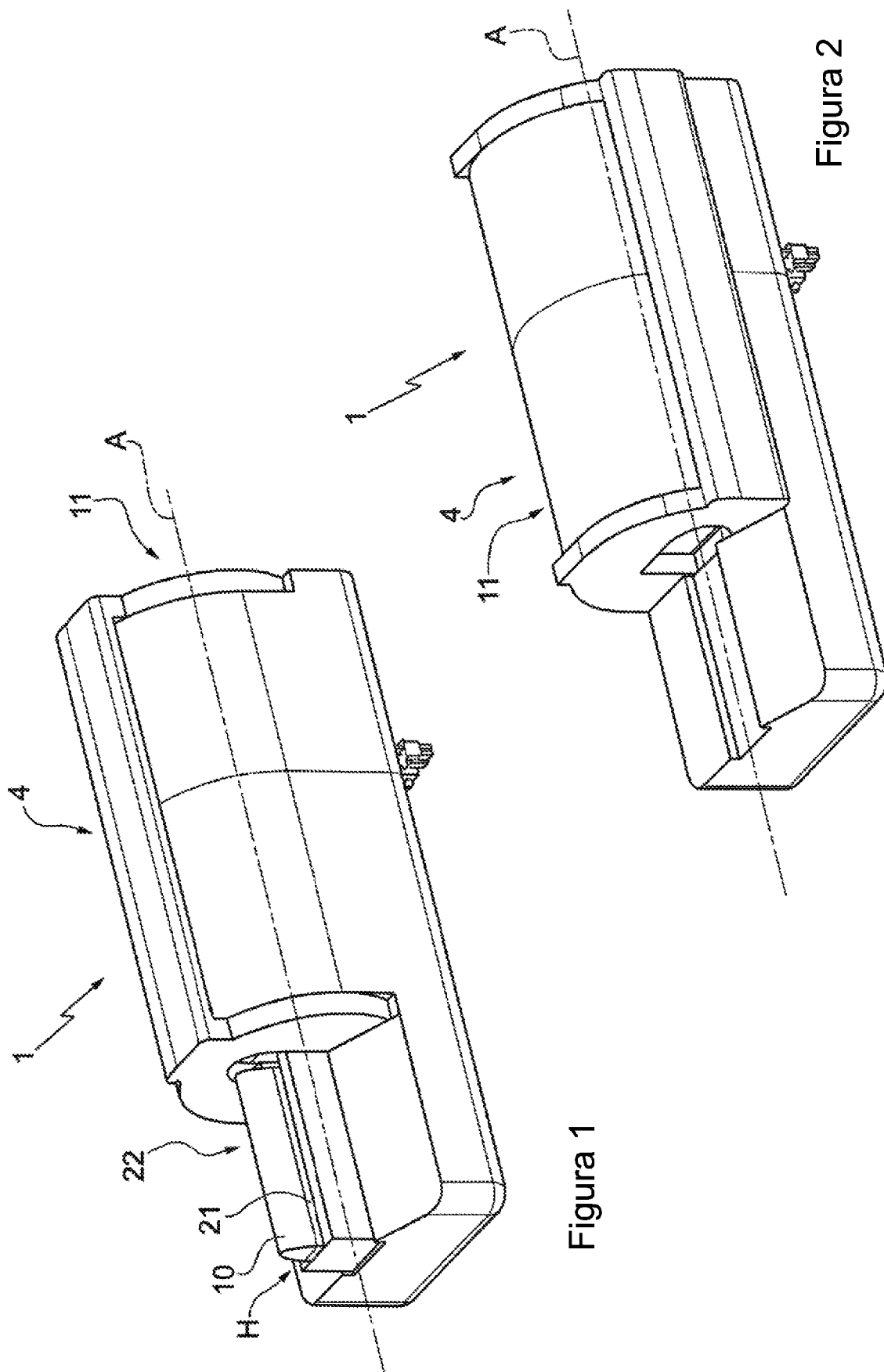


Figura 1

Figura 2

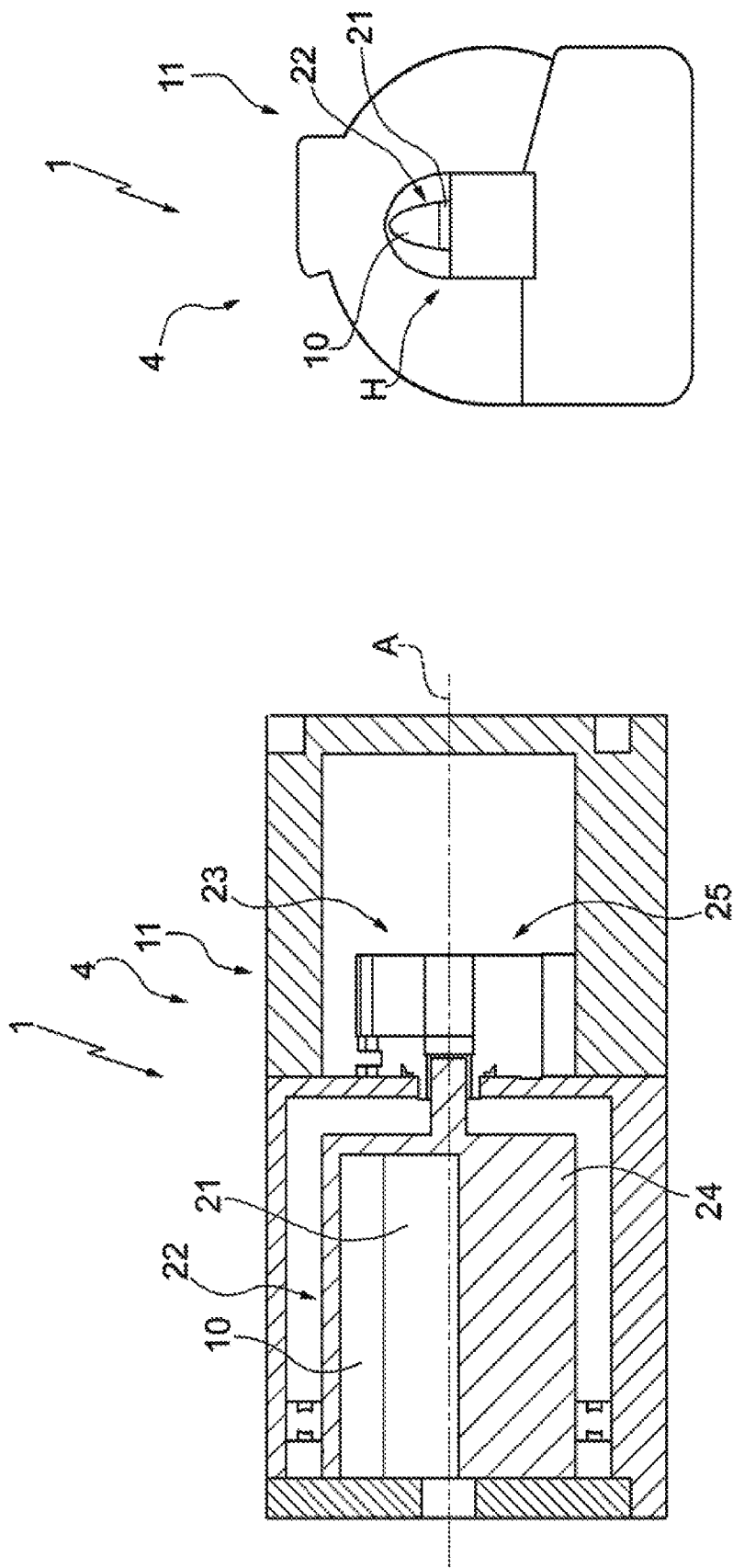


Figura 4

Figura 3

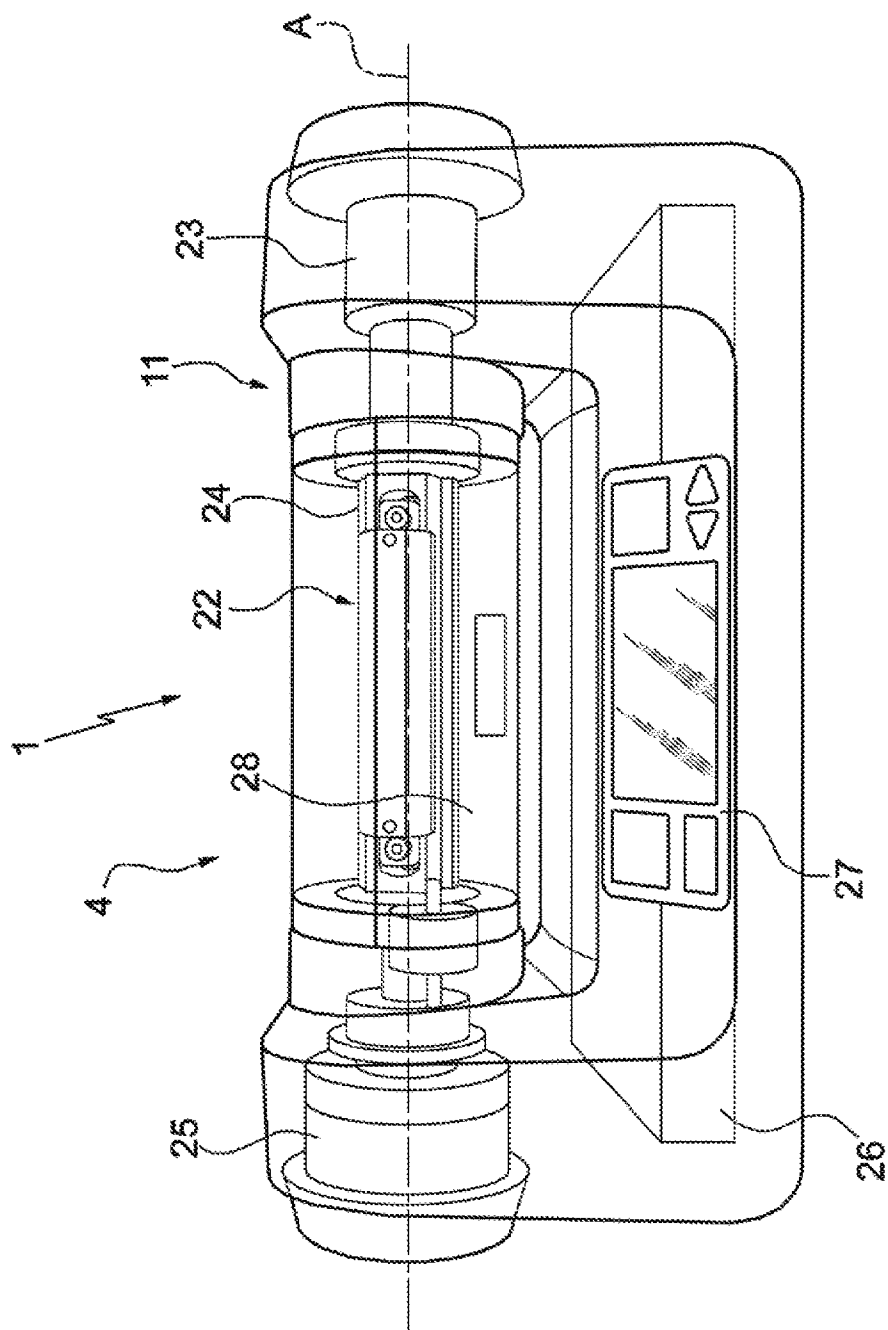
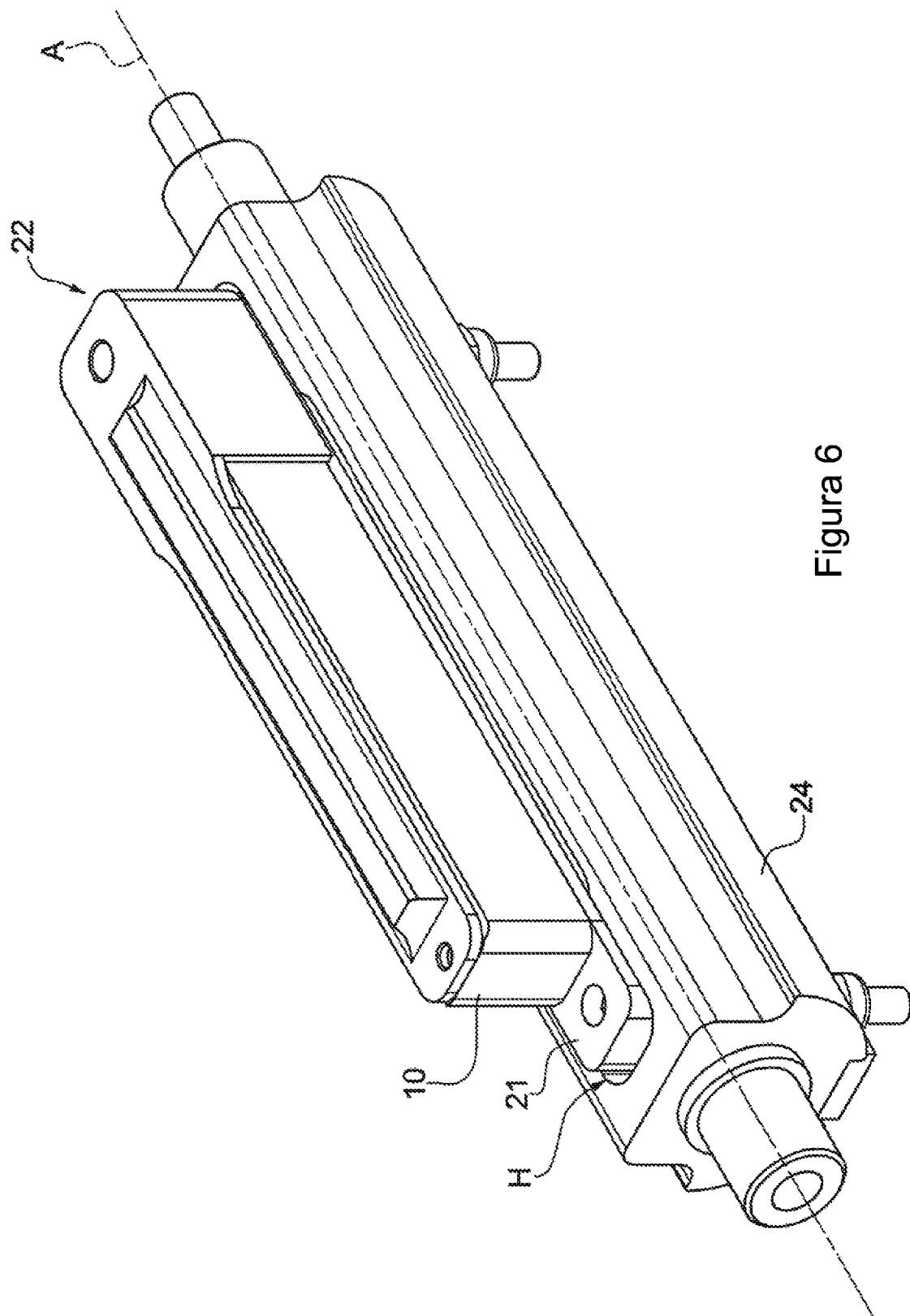


Figura 5



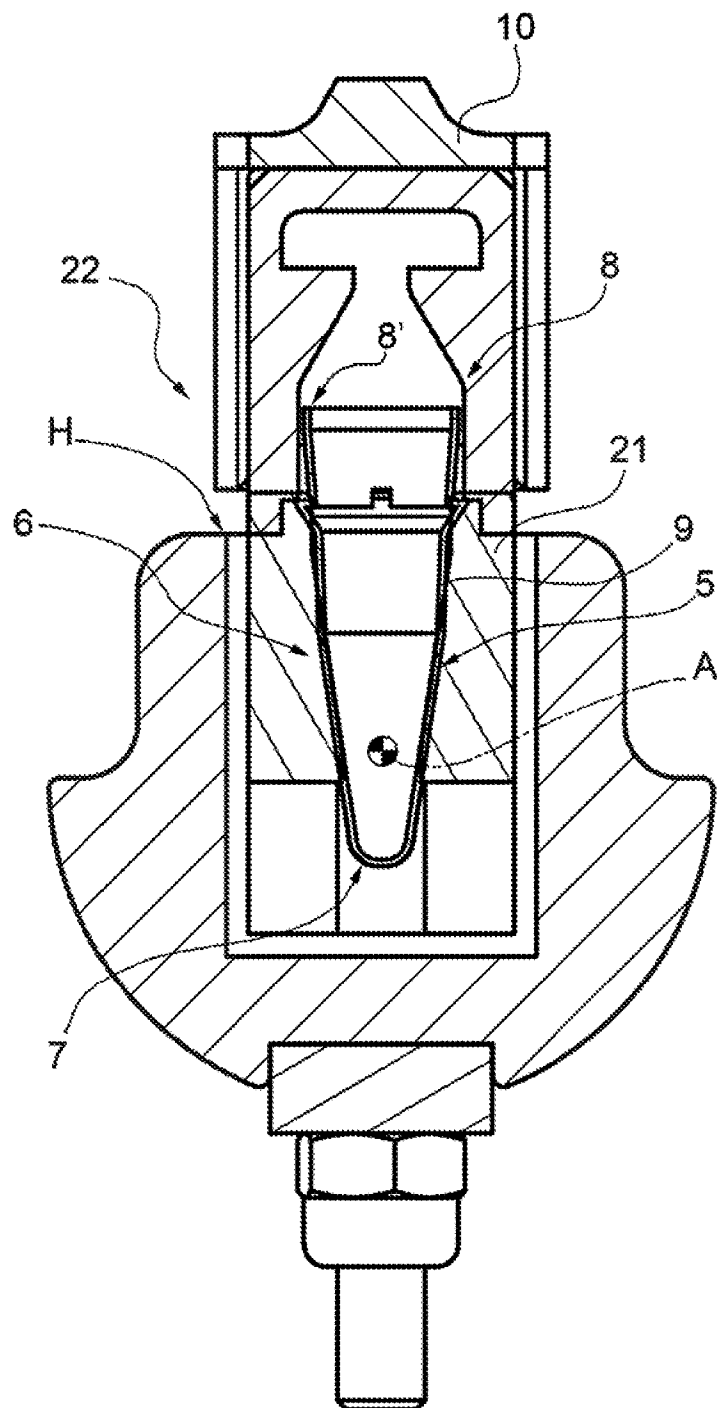


Figura 7

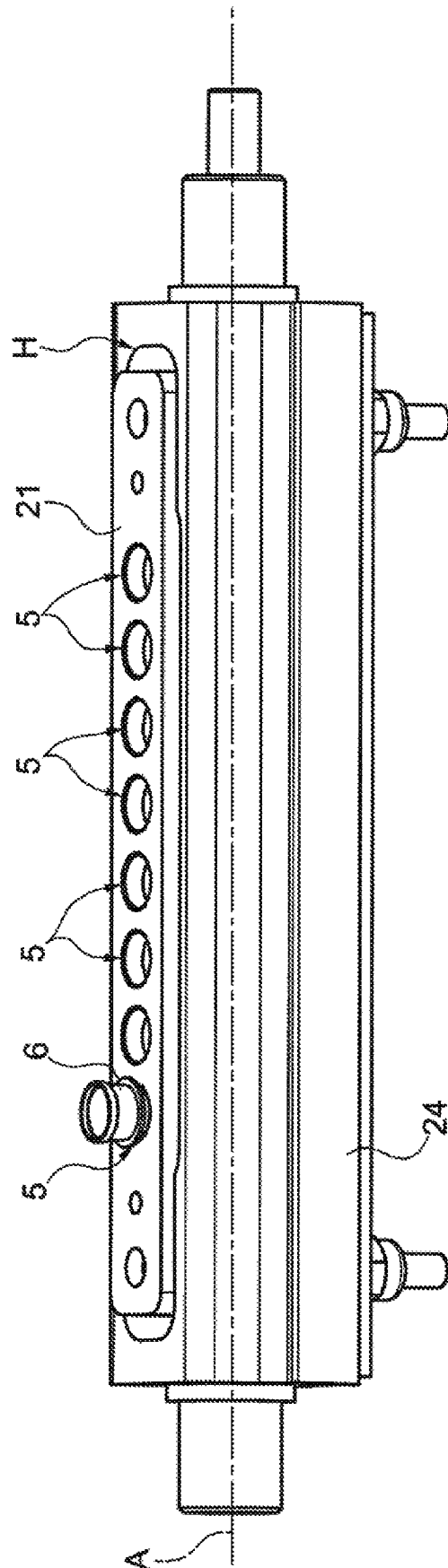


Figura 8

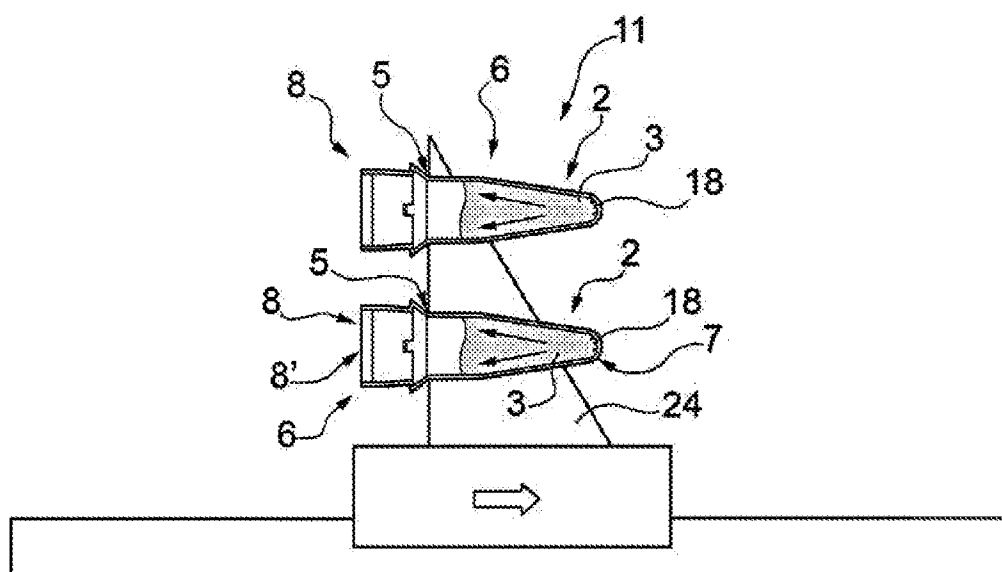


Figura 9

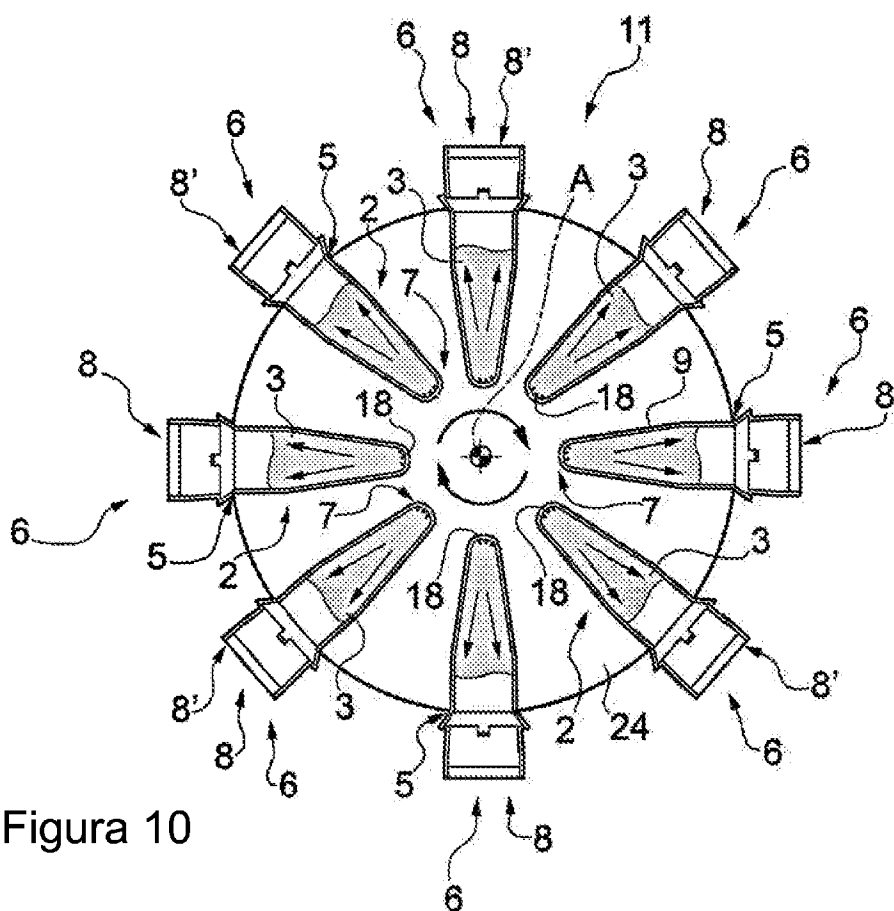
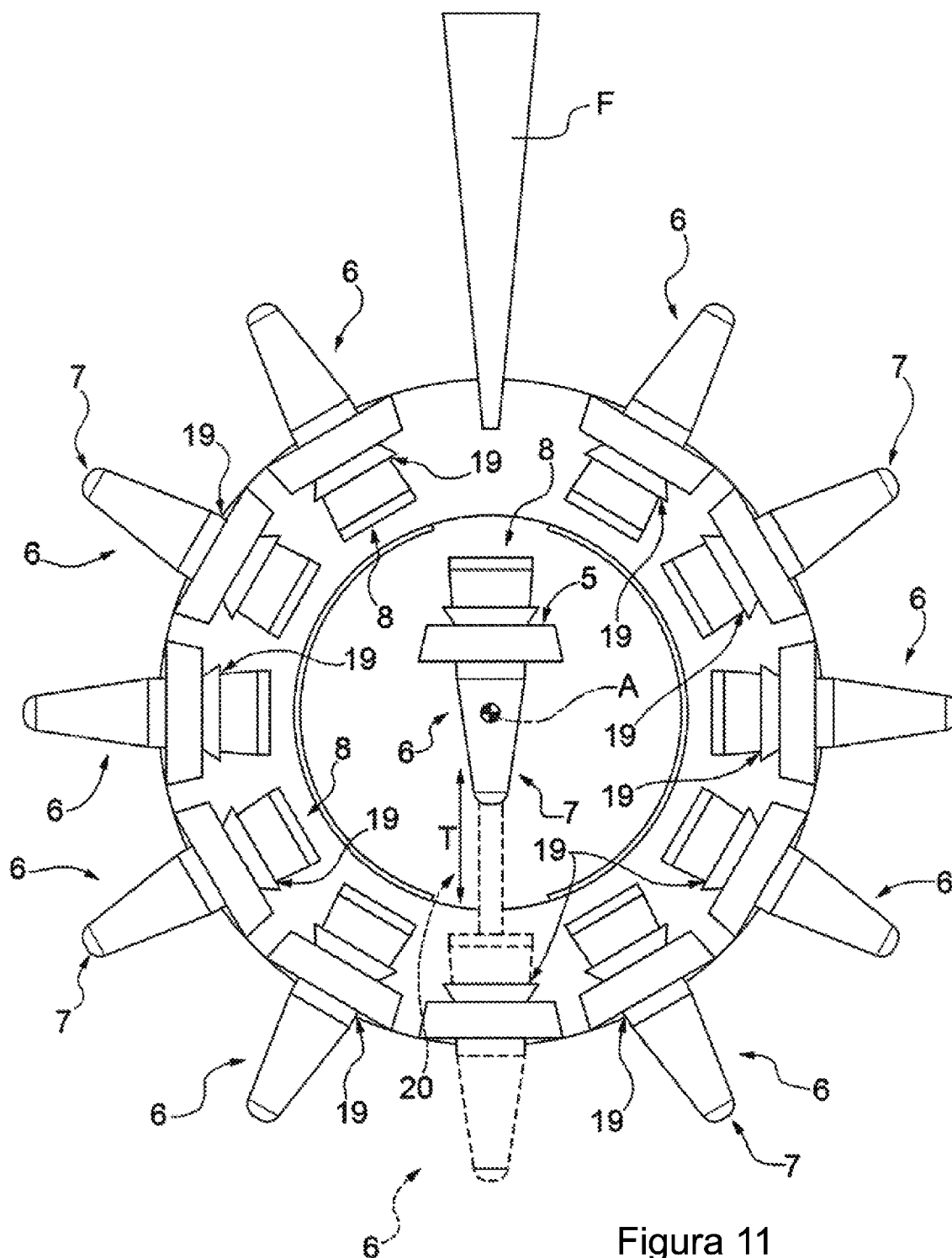


Figura 10



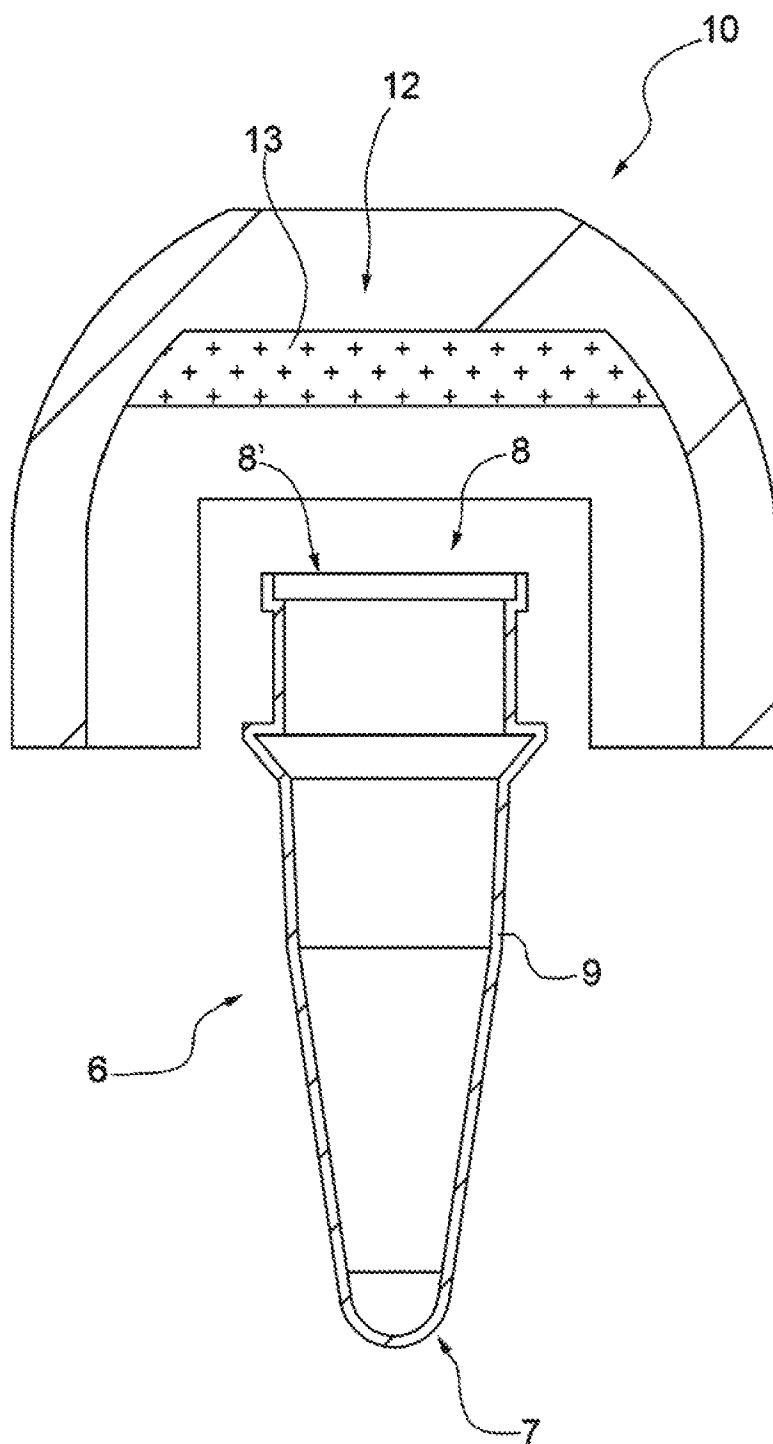


Figura 12

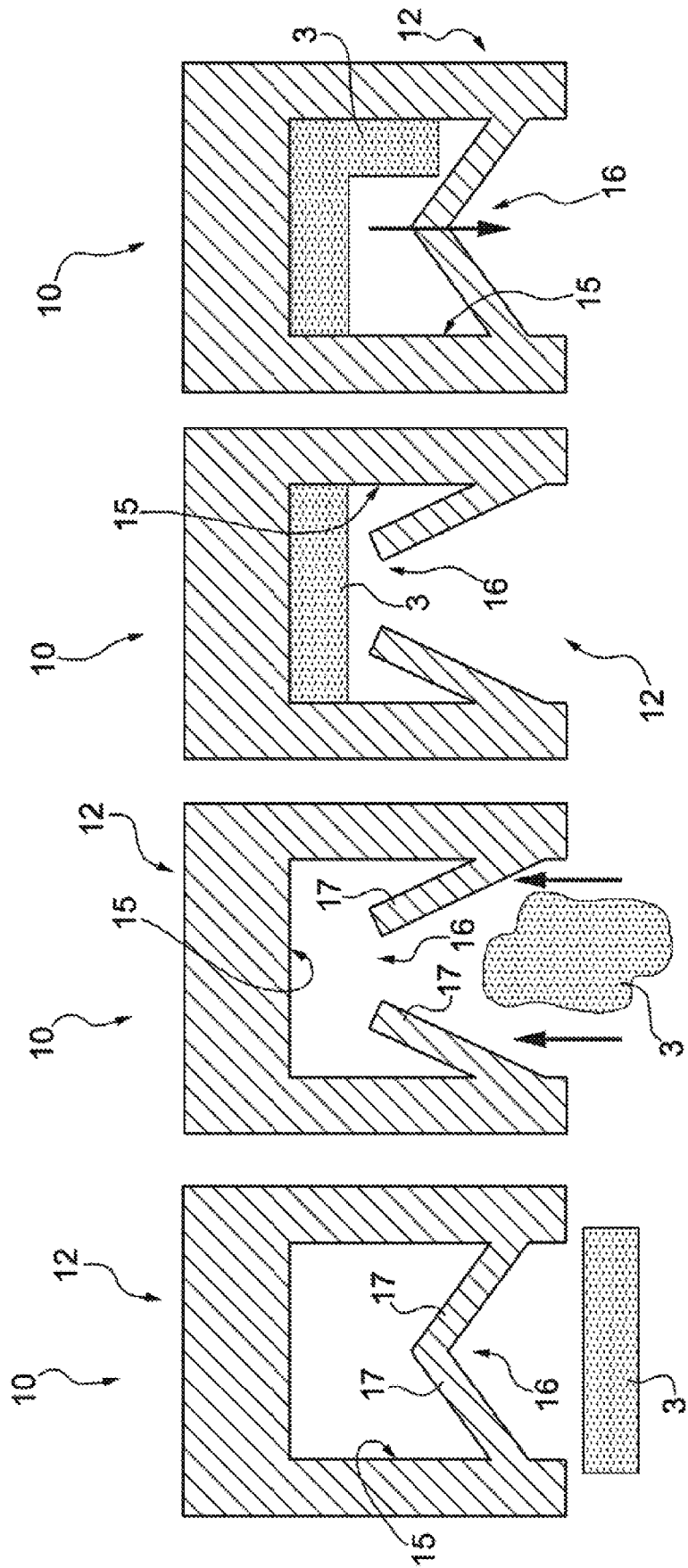


Figure 13

Figure 14

Figure 15

Figure 16

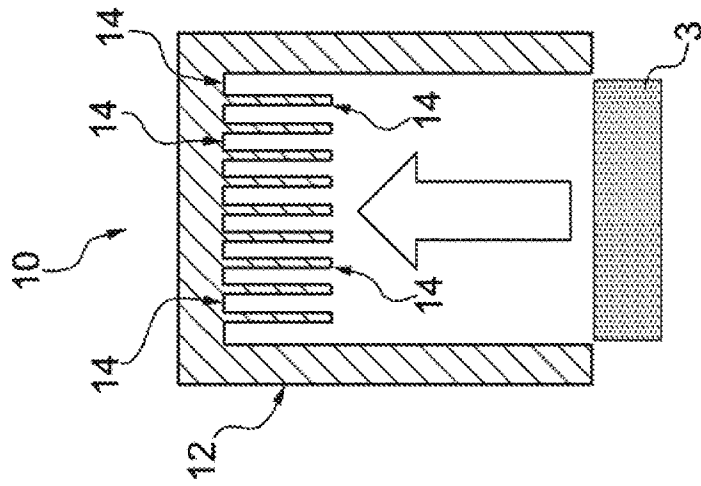


Figure 17

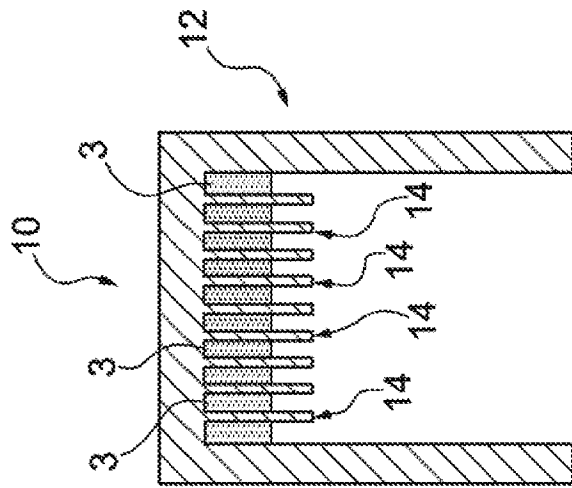


Figure 18

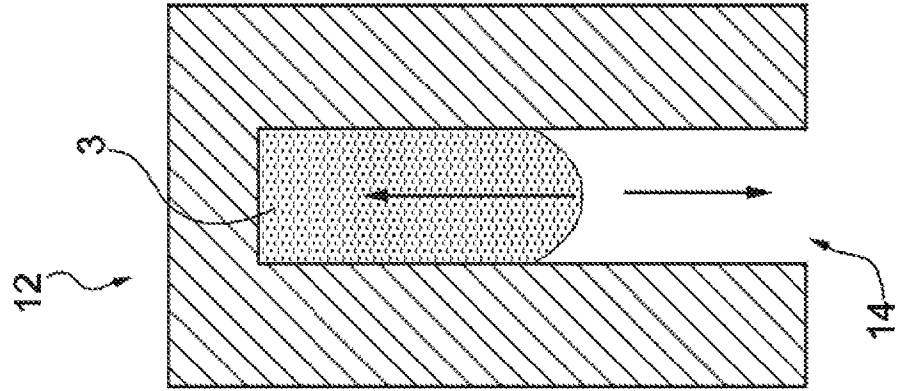


Figure 19

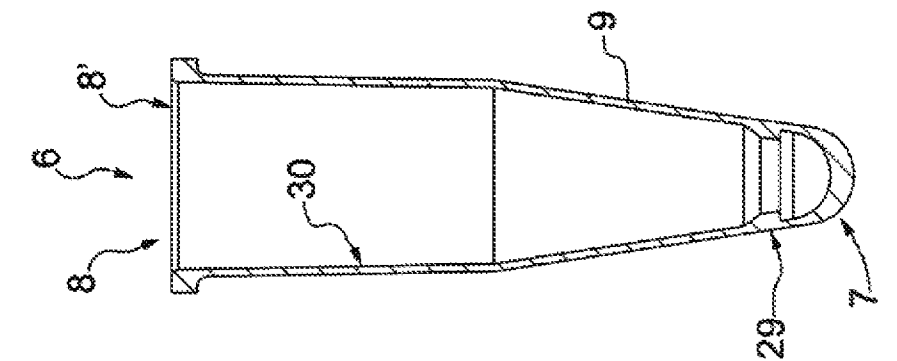


Figura 22

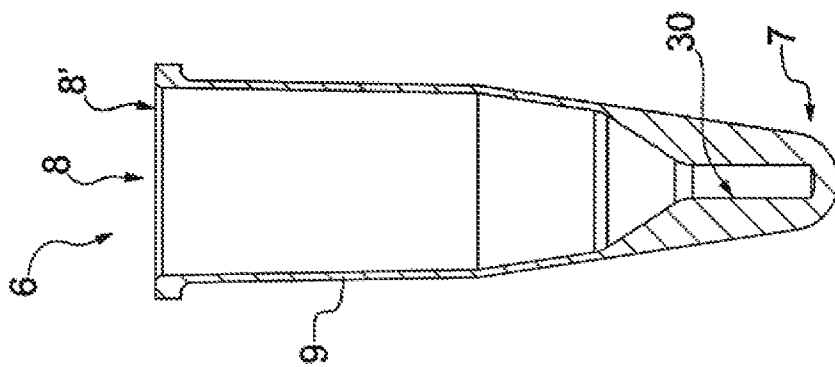


Figura 21

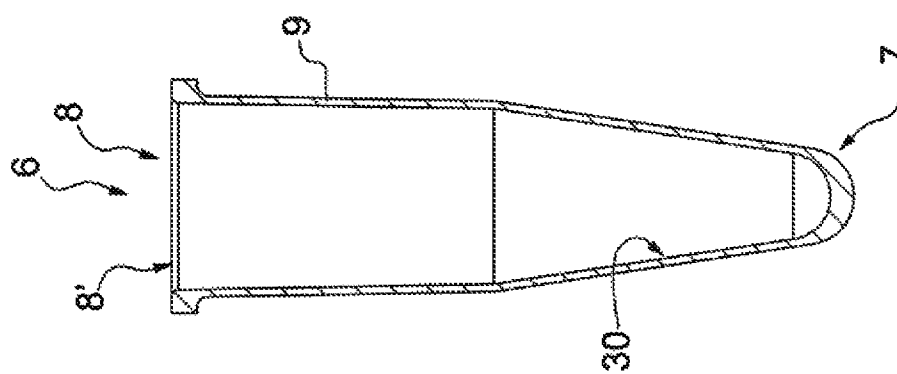


Figura 20

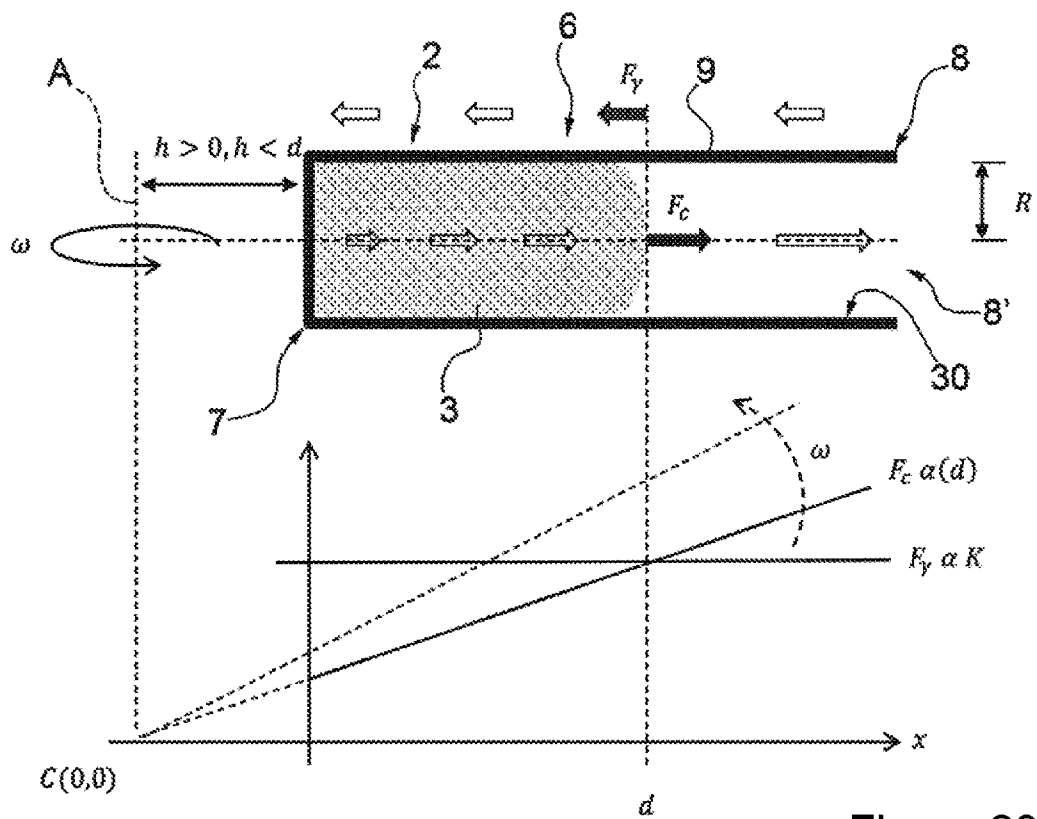


Figura 23

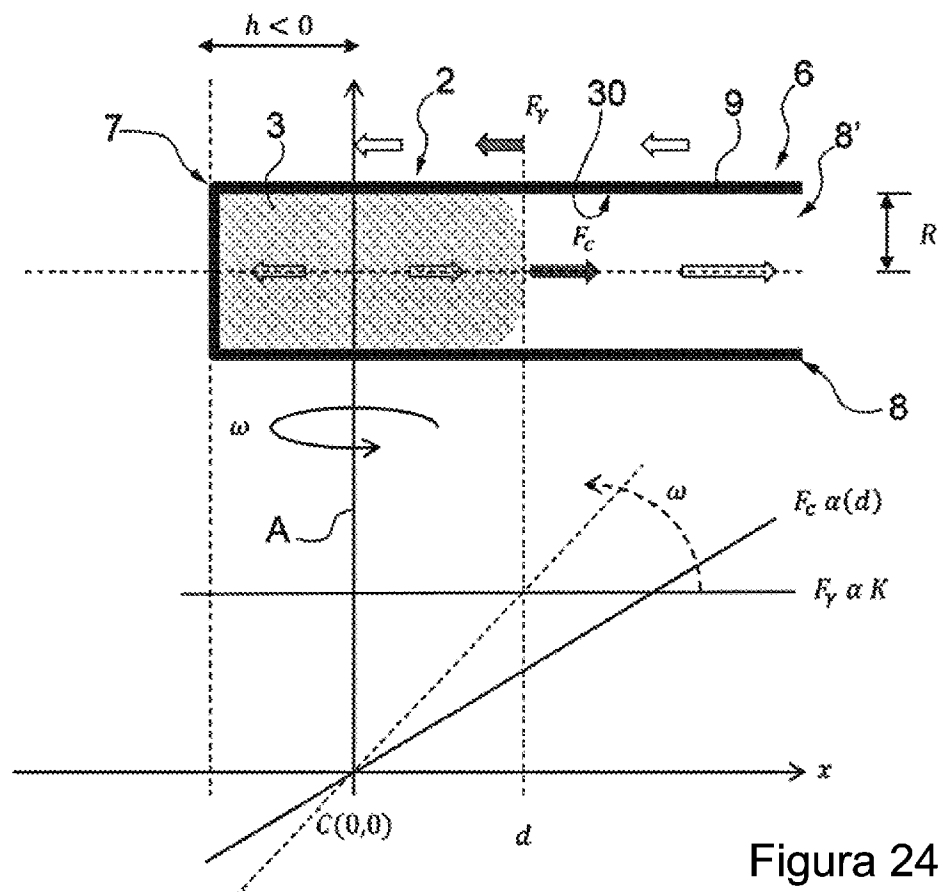


Figura 24

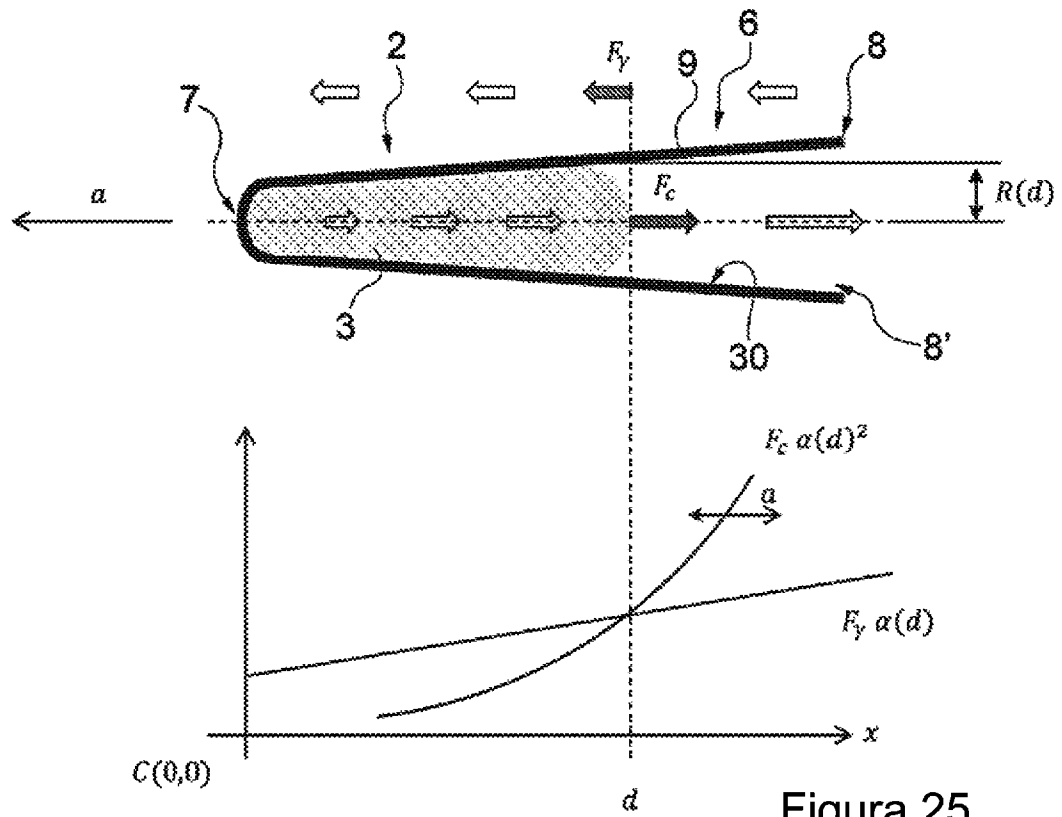


Figura 25

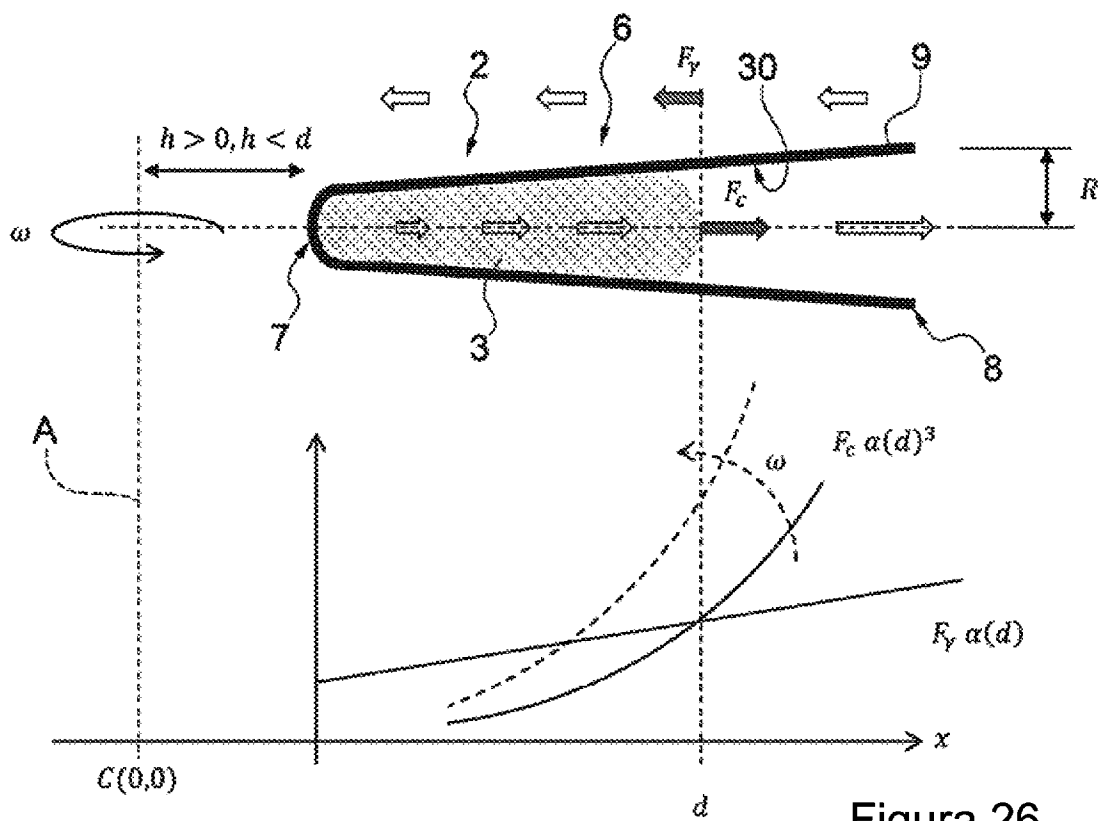


Figura 26

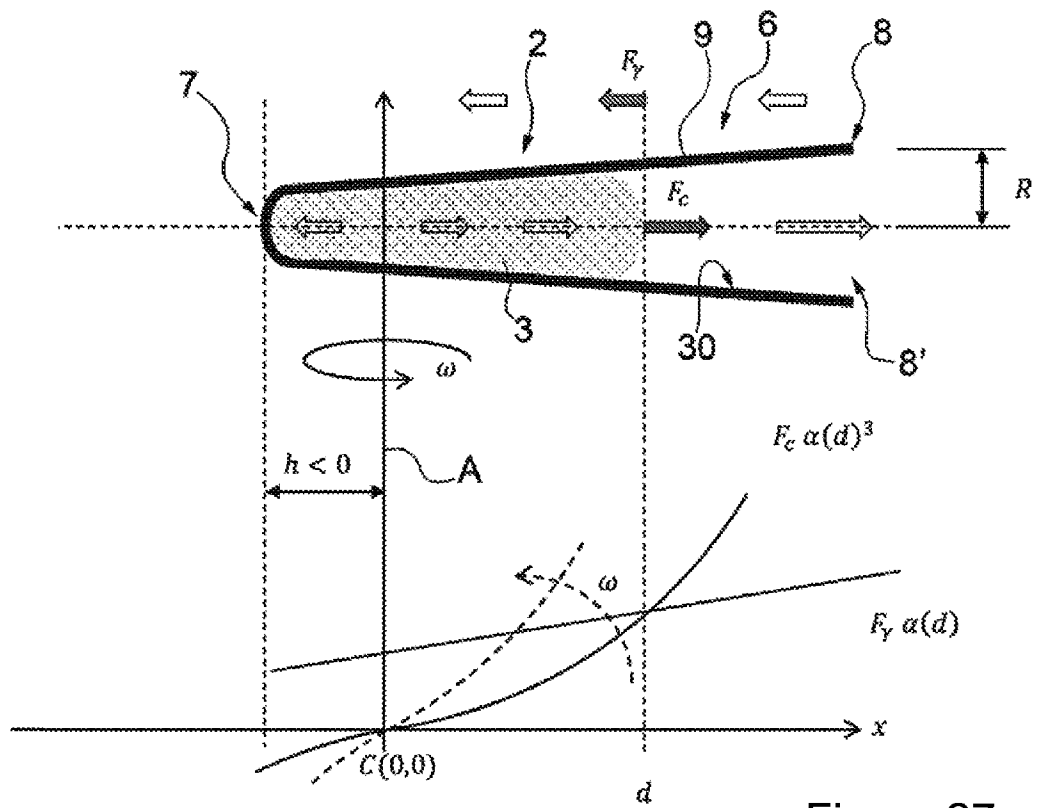
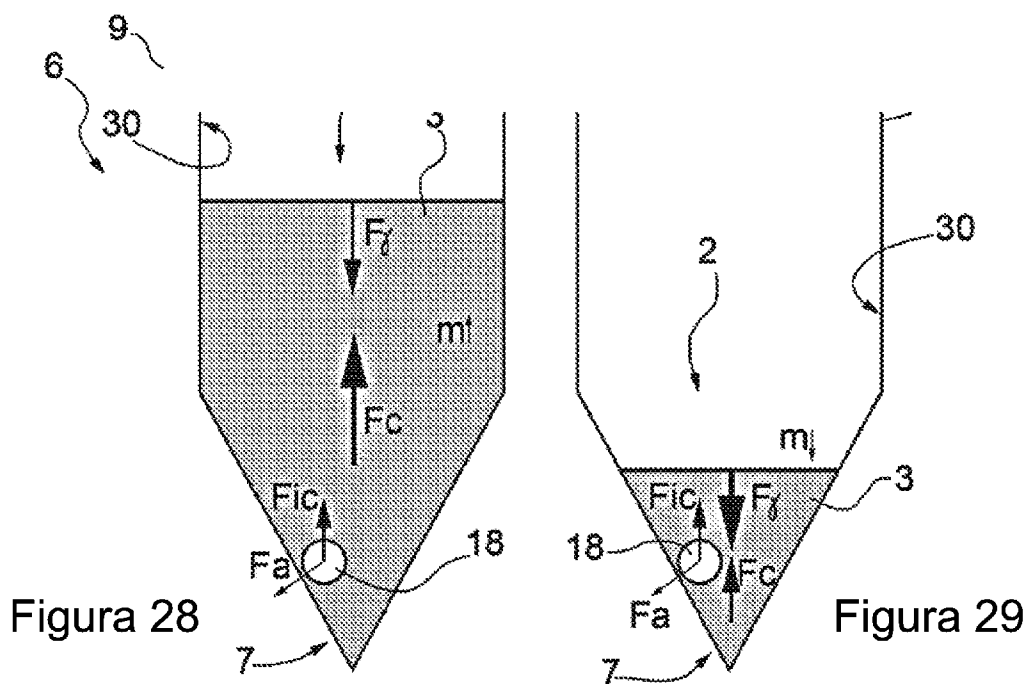


Figura 27



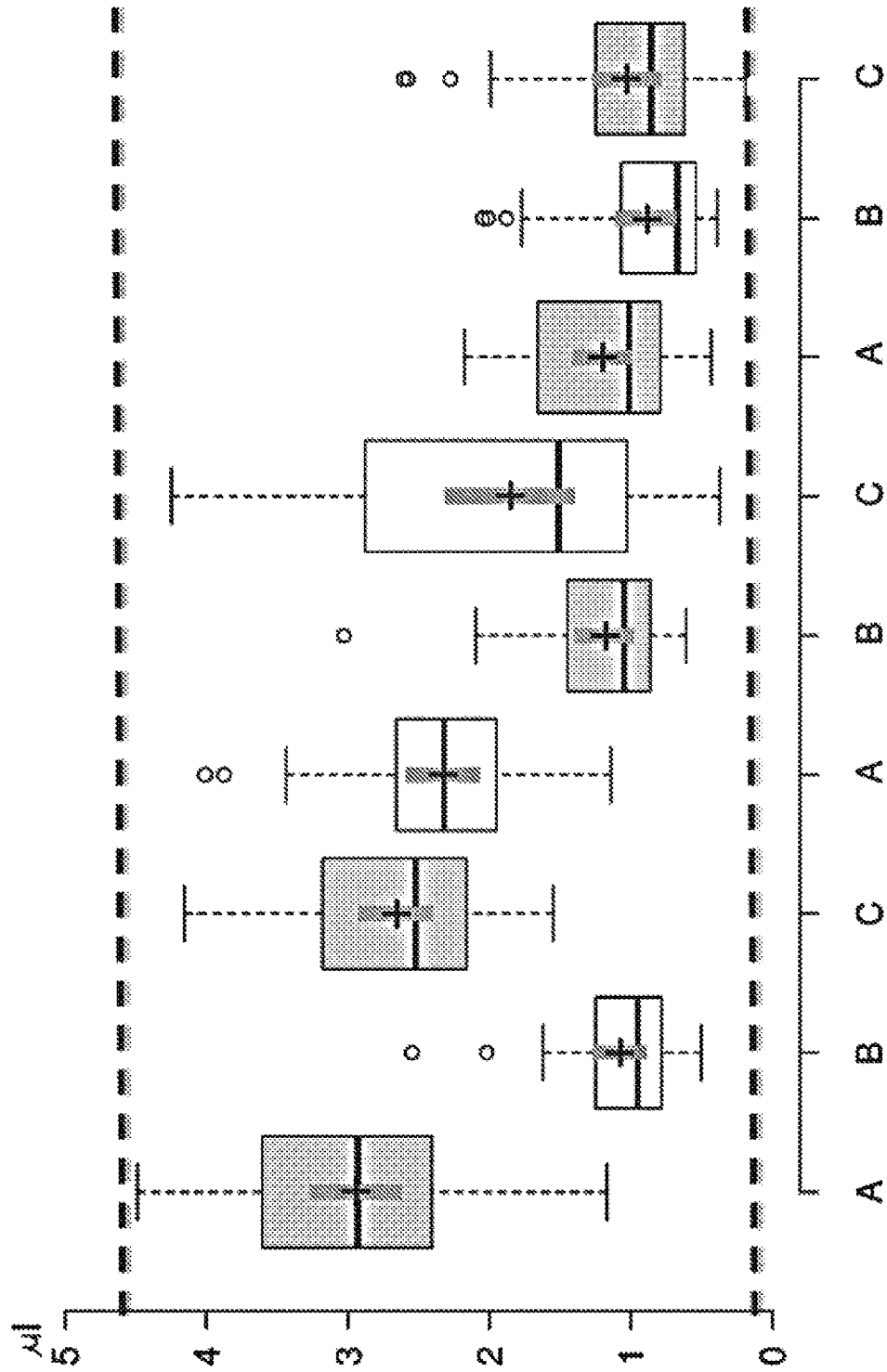


Figura 30

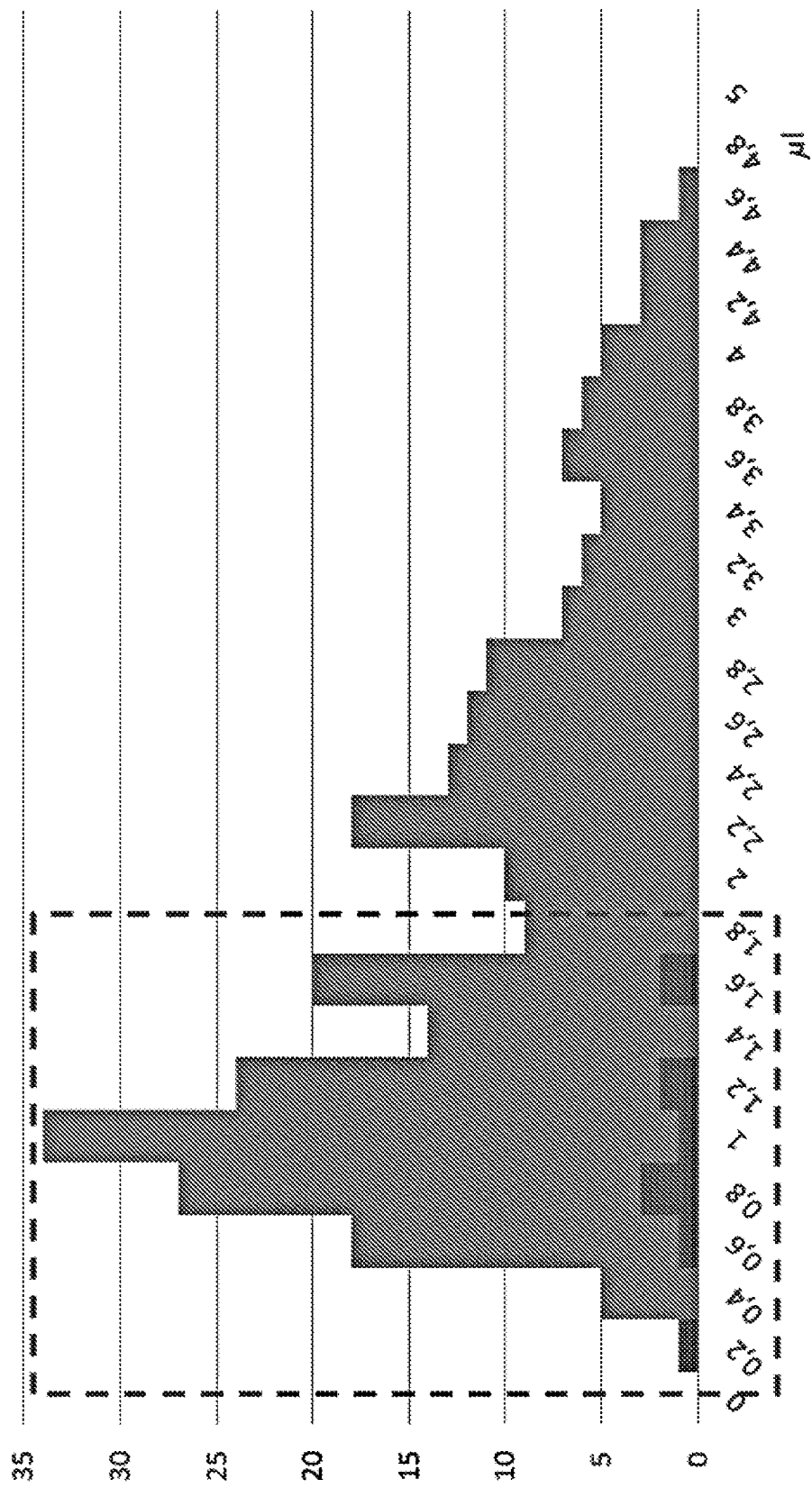


Figura 31

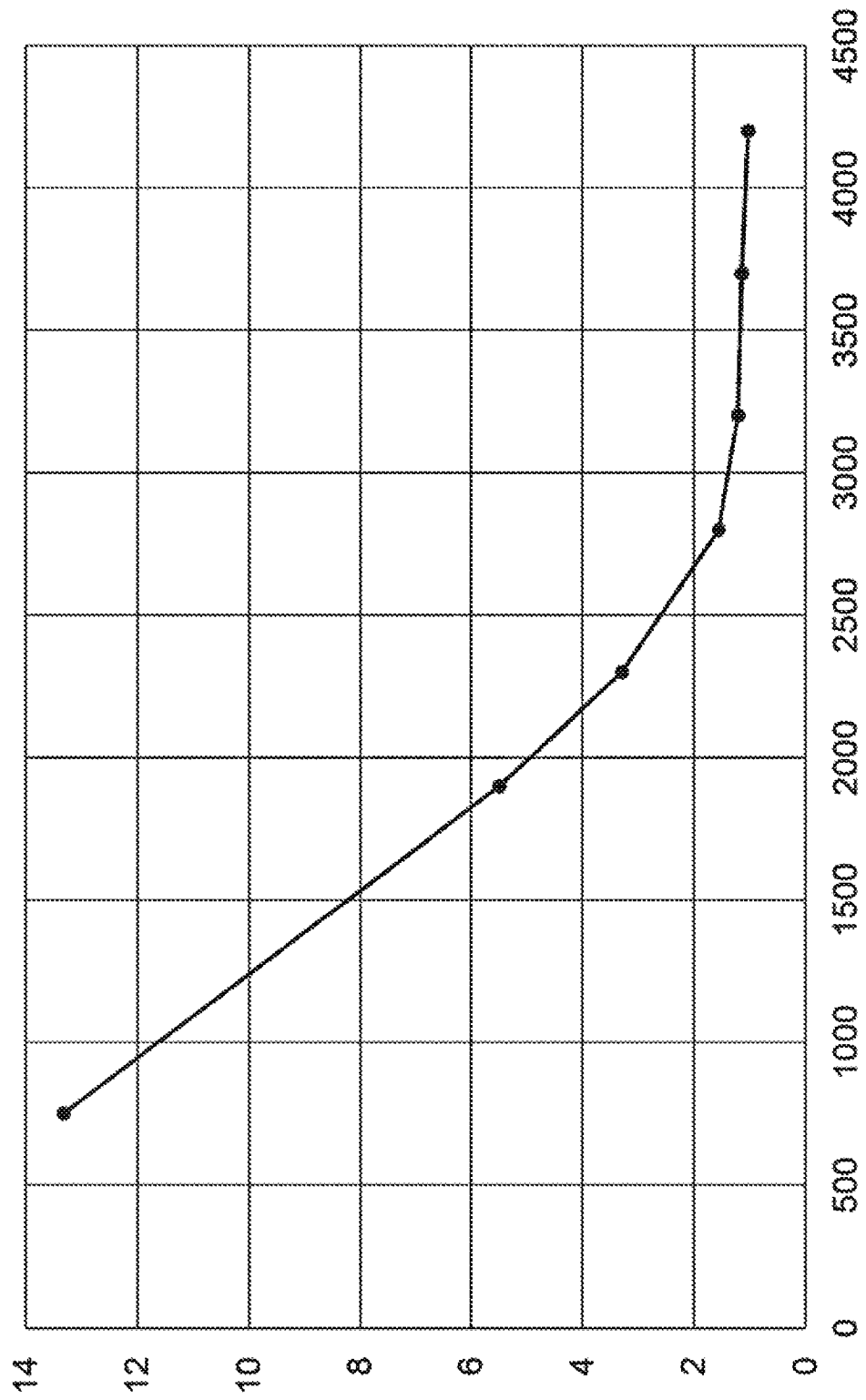


Figura 32

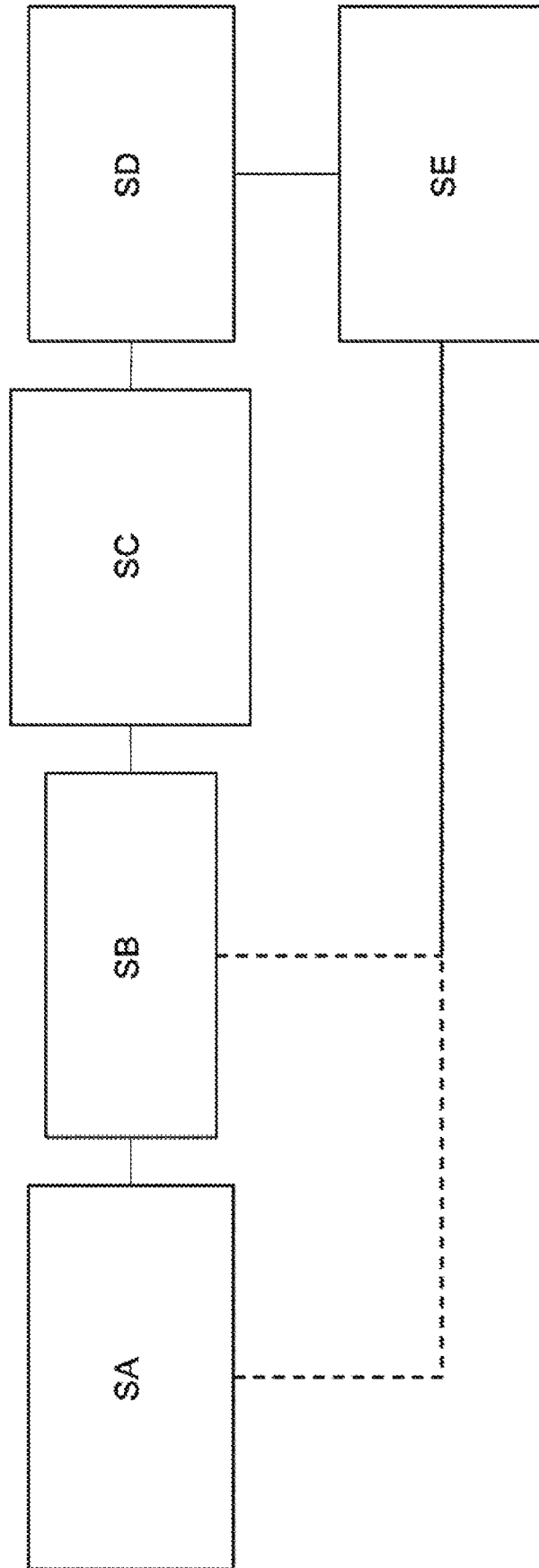


Figura 33