

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 877 855**

51 Int. Cl.:

G01N 1/31 (2006.01)

G01N 1/30 (2006.01)

G01N 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.12.2014 PCT/EP2014/076898**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.06.2015 WO15086534**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.12.2014 E 14812179 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.05.2021 EP 3080580**

54 Título: **Reactivos de tinción y otros líquidos para el procesamiento histológico de muestras biológicas y tecnología asociada**

30 Prioridad:

13.12.2013 US 201361916129 P

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

17.11.2021

73 Titular/es:

**VENTANA MEDICAL SYSTEMS, INC. (100.0%)
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755, US**

72 Inventor/es:

**KERNAG, CASEY A;
WILKINSON, CHAD;
KRAM, BRIAN HOWARD;
WEIDNER, CHARLES;
CHAMPION, DANIEL;
DURRANT, EDWARD;
POLASKE, MELINDA;
WOSINSKA, ZOFIA;
OROSZ, KRISTINA y
BARNETT, HEIDI**

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 877 855 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

Reactivos de tinción y otros líquidos para el procesamiento histológico de muestras biológicas y tecnología asociada

5

Campo técnico

La presente tecnología se relaciona, en general, con el procesamiento histológico automatizado de muestras biológicas (por ejemplo, muestras de tejido), tal como sistemas, dispositivos, procedimientos y composiciones que potencian la calidad, precisión, eficacia y/u otros aspectos de este procesamiento.

10

Antecedentes

Se puede usar una amplia variedad de técnicas para analizar muestras biológicas. Los ejemplos de técnicas de análisis útiles en este contexto incluyen microscopía, análisis de micromatrices (por ejemplo, análisis de micromatrices de proteínas y ácidos nucleicos) y espectrometría de masas. La preparación de muestras para estos y otros tipos de análisis típicamente incluye poner en contacto las muestras con una serie de líquidos de procesamiento. Algunos de estos líquidos de procesamiento (por ejemplo, reactivos de tinción y reactivos de contratinción) pueden añadir color y contraste o de otro modo cambiar las características visuales de componentes de la muestra invisibles o escasamente visibles (por ejemplo, al menos algunos tipos de células y estructuras intracelulares). Se pueden usar otros líquidos de procesamiento (por ejemplo, líquidos de desparafinación) para lograr otros objetivos de procesamiento. Si una muestra se trata con múltiples líquidos de procesamiento, tanto la aplicación como la retirada posterior de cada líquido de procesamiento pueden ser importantes para producir muestras adecuadas para su análisis. En algunos casos, el tratamiento de muestras con múltiples líquidos de procesamiento incluye aplicar manualmente los líquidos de procesamiento a portaobjetos de microscopio que portan respectivamente las muestras. Este enfoque para procesar muestras tiende a ser relativamente laborioso e impreciso.

15

20

25

Se pueden usar máquinas automatizadas para "mojar y empapar" como alternativa al procesamiento de muestras manual. Estas máquinas procesan automáticamente muestras sumergiendo soportes de portaobjetos que llevan muestras en baños abiertos de líquidos de procesamiento. Desafortunadamente, el funcionamiento de las máquinas para mojar y empapar provoca inevitablemente el arrastre de los líquidos de procesamiento de un baño a otro. Con el tiempo, este arrastre da lugar a la degradación de los líquidos de procesamiento. Además, cuando las muestras se sumergen en un baño compartido, existe una posibilidad de contaminación cruzada. Por ejemplo, se pueden desprender células de una muestra en un portaobjetos y transportarse dentro de un baño compartido sobre otro portaobjetos, incluso en un portaobjetos procesado mucho más tarde (por ejemplo, si las células quedan suspendidas en el baño). Esta forma de contaminación puede afectar de forma adversa a la exactitud de determinados tipos de análisis de muestras. Para mitigar este problema y abordar la degradación de los líquidos de procesamiento debido al arrastre, los baños de líquidos de procesamiento en las máquinas para mojar y empapar típicamente se necesitan reemplazar con frecuencia. En consecuencia, estas máquinas tienden a consumir volúmenes relativamente grandes de líquidos de procesamiento, lo que incrementa los costes económicos y ambientales asociados con el funcionamiento de estas máquinas. Los baños abiertos de líquidos de procesamiento también son propensos a pérdidas por evaporación y degradación oxidativa de algunos componentes líquidos de procesamiento. La oxidación de determinados componentes de los reactivos de tinción, por ejemplo, puede alterar el rendimiento de tinción de estos componentes y, de este modo, afectar de forma adversa a la precisión de las operaciones de tinción.

30

35

40

45

Son conocidos algunos ejemplos de máquinas de procesamiento histológico convencionales que evitan determinadas desventajas de las máquinas para mojar y empapar. Por ejemplo, el documento US 6387326 B1 describe un aparato para suministrar líquidos de procesamiento recién preparados directamente sobre portaobjetos individuales. Los portaobjetos se expulsan de uno en uno desde un dispositivo de almacenamiento de portaobjetos sobre una cinta transportadora. Las muestras portadas por los portaobjetos se tratan individualmente en diversas estaciones a medida que los portaobjetos se mueven a lo largo de la cinta transportadora. Entre otras desventajas, el aparato descrito en el documento US 6387326 B1 y máquinas similares tienden a tener limitaciones en el rendimiento que los hacen inadecuados para aplicaciones de tinción primaria, tales como aplicaciones de tinción con hematoxilina y eosina (H y E). Un laboratorio típico que realiza una tinción primaria, por ejemplo, puede procesar cientos o incluso miles de muestras por día. El uso del aparato descrito en el documento US 6387326 B1 y máquinas similares para este procesamiento sería inaceptablemente lento. Además, estas máquinas no permiten el control de las características de tinción. Dicho control puede ser importante en aplicaciones de tinción primaria.

50

55

60

El documento US 2012/276584 A1 divulga una composición de hematoxilina estabilizada que incluye uno o ambos de un compuesto huésped y un antioxidante. La composición divulgada presenta suficiente estabilidad para utilizarse en un procedimiento de tinción automatizado sin degradación excesiva antes del uso de la composición para teñir una muestra biológica. También se divulgan procedimientos de uso y preparación de la composición estabilizada.

65

5 El documento US 2005/0186114 A1 divulga un sistema automatizado proporcionado para realizar operaciones de procesamiento de portaobjetos en portaobjetos que llevan muestras biológicas. En un modo de realización, el sistema divulgado incluye una bandeja de portaobjetos que sostiene una pluralidad de portaobjetos en una posición sustancialmente horizontal y una estación de trabajo que recibe la bandeja de portaobjetos. En un modo de realización particular, una estación de trabajo suministra un reactivo a las superficies de portaobjetos sin una transferencia sustancial de reactivo (y contaminantes llevados por reactivo, tales como células desprendidas) de un portaobjetos a otro. También se proporciona un procedimiento para el procesamiento automatizado de portaobjetos.

10 El documento US 2006/252025 A1 divulga procedimientos y aparatos para retirar suavemente medios de inclusión de muestras biológicas a temperaturas por debajo del punto de fusión del medio de inclusión con una composición líquida usando procedimientos por lotes o instrumentos automatizados antes de tinción inmunohistoquímica (IHQ), de hibridación *in situ* (ISH) u otra especial o manipulaciones histoquímicas o citoquímicas.

15 El documento US 2013/244252 A1 procedimientos de tinción de material biológico para el propósito de detectar, y, en algunos ejemplos, también identificar, microorganismos. Se pueden usar procedimientos de tinción de Gram de bacterias usando una formulación decolorante de acción lenta, tal como una que incluya 1,2-propandiol o etilenglicol, para extender el tiempo de la etapa de decoloración y, permitir, por tanto, la automatización del procedimiento de tinción de Gram. También se proporcionan composiciones y kits para realizar la tinción de Gram automatizada en portaobjetos de microscopio.

El documento US 2003/175852 A1 divulga procedimientos y composiciones para mejorar el análisis de hibridación *in situ* de tejido fijado con aldehído.

25 El documento US 2004/25366 A1 divulga procedimientos y composiciones para preparar un corte histológico o muestra biológica, en particular, para conservar el ARN en el corte o muestra, al no exponer o poner en contacto la muestra o corte con una solución que está compuesta principalmente por agua. Los cortes histológicos se pueden fijar, teñir y deshidratar para su manipulación posterior, incluyendo microdissección por captura láser (MCL) para su análisis adicional usando procedimientos y/o composiciones de la invención.

30 El documento US 2007/172911 A1 divulga un procedimiento y composición que son útiles para procesar muestras biológicas. En un aspecto, una muestra biológica, tal como un corte histológico, se trata usando una técnica histoquímica y se pone en contacto con un compuesto lipídico durante el procedimiento para potenciar la definición de los rasgos característicos celulares y subcelulares que son observables en la muestra cuando se ve microscópicamente. En otros aspectos, se divulgan una composición de cubreobjetos que incluye un compuesto lipídico y un procedimiento de tapado con cubreobjetos de una muestra usando la composición de cubreobjetos.

Visión general de la tecnología

40 Un sistema de tinción histológico automatizado de acuerdo con la reivindicación 14 comprende un equipo de tinción. También puede comprender una carcasa principal.

45 El equipo de tinción incluye una carcasa de equipo de tinción que define un entorno interno del equipo de tinción, uno o más calentadores configurados para calentar internamente el equipo de tinción y, en ejemplos que no forman parte de la presente invención, un transportador. El transportador se puede configurar para mover robóticamente un portador de portaobjetos dentro de la carcasa principal hacia el equipo de tinción. En un ejemplo que no forma parte de la presente invención, el transportador mueve el portador de portaobjetos entre múltiples módulos en la carcasa principal.

50 Al menos algunos modos de realización se dirigen a un procedimiento para procesar muestras en un sistema de tinción histológico automatizado de acuerdo con la reivindicación 1.

55 El procedimiento comprende mover robóticamente un portador de portaobjetos a un equipo de tinción del sistema. El portador de portaobjetos porta portaobjetos que portan respectivamente las muestras, y las muestras están al menos parcialmente incluidas en parafina. Se dosifican automáticamente líquidos sobre los portaobjetos de acuerdo con una receta predeterminada para al menos desparafinar, teñir y contrateñir las muestras. El portador de portaobjetos se puede mover robóticamente fuera del equipo de tinción después de dosificar automáticamente los líquidos. Los líquidos tienen un disolvente común, que comprende un poliol, y un total de todo el líquido dosificado sobre los portaobjetos después de mover el portador de portaobjetos al equipo de tinción y antes de mover el portador de portaobjetos fuera del equipo de tinción tiene una mayor concentración volumétrica del mismo poliol que de alcohol monohídrico.

Breve descripción de los dibujos

65 Muchos aspectos de la presente divulgación se pueden entender mejor con referencia a los siguientes dibujos. Las dimensiones relativas en los dibujos pueden estar a escala con respecto a algunos modos de realización. Con

respecto a otros modos de realización, los dibujos pueden no estar a escala. Para facilitar la referencia, por toda la presente divulgación se pueden usar números de referencia idénticos para identificar componentes o rasgos característicos idénticos o al menos, en general, similares o análogos.

- 5 La figura 1 es una vista en alzado frontal de un sistema de procesamiento de portaobjetos automatizado.
- La figura 2 es una vista en alzado frontal del sistema de procesamiento de portaobjetos automatizado de la figura 1 que muestra los componentes internos del sistema.
- 10 La figura 3 es una vista en perspectiva en sección transversal de un aparato secador que calienta portaobjetos de microscopio que llevan muestras.
- La figura 4A es una vista en perspectiva ampliada de un aparato secador que tiene una puerta en una configuración abierta.
- 15 La figura 4B es una vista en perspectiva ampliada de un conjunto de puerta del aparato secador de la figura 4A.
- La figura 5 es una vista en perspectiva del aparato secador de la figura 4A en una configuración abierta que sostiene un portador de portaobjetos.
- 20 La figura 6A es una vista en alzado lateral en sección transversal ampliada del aparato secador de la figura 4A en una configuración cerrada que soporta el portador de portaobjetos de la figura 5.
- La figura 6B es una vista en alzado lateral en sección transversal ampliada de una parte de la figura 6B.
- 25 La figura 7 es una vista en alzado lateral en sección transversal ampliada de una parte de un conjunto de puerta del aparato secador y un portador de portaobjetos en una posición sustancialmente vertical.
- La figura 8 es una vista en perspectiva del aparato secador de la figura 4A en una configuración abierta que sostiene un portador de portaobjetos.
- 30 La figura 9 es una vista en alzado lateral en sección transversal del aparato secador de la figura 4A en una configuración cerrada sin un portador de portaobjetos.
- 35 La figura 10 es una vista en perspectiva de un horno de curado en una configuración cerrada.
- La figura 11 es una vista en perspectiva del horno de curado de la figura 10 en una configuración abierta.
- La figura 12 es una vista en perspectiva del horno de curado con un conjunto de puerta que soporta un portador de portaobjetos que sostiene portaobjetos de microscopio con cubreobjetos.
- 40 La figura 13 es una vista en alzado lateral en sección transversal de un horno de curado en una configuración cerrada.
- 45 La figura 14 es una vista en perspectiva de un horno de curado en una configuración abierta que sostiene un portador de portaobjetos con portaobjetos tapados con cubreobjetos curados.
- La figura 15 es una vista isométrica de un módulo de equipo de tinción en una configuración abierta.
- 50 La figura 16 es una vista isométrica del módulo de equipo de tinción que sostiene una bandeja.
- La figura 17 es una vista inferior del módulo de equipo de tinción que sostiene la bandeja.
- La figura 18 es una vista inferior del módulo de equipo de tinción.
- 55 La figura 19 es una vista isométrica del módulo de equipo de tinción de la figura 15 listo para procesar portaobjetos que llevan muestras situados por debajo de un aparato dosificador.
- La figura 20 es una vista en planta superior del módulo de equipo de tinción de la figura 15.
- 60 La figura 21 es una vista en alzado lateral en sección transversal del módulo de equipo de tinción tomada a lo largo de la línea 21-21 de la figura 20.
- 65 Las figuras 22A y 22B son vistas en alzado detalladas de conjuntos de cabezal que procesan portaobjetos de microscopio que llevan muestras.

- La figura 23 es una vista isométrica de una bandeja que sostiene portaobjetos de microscopio.
- Las figuras 24-26 son vistas en perspectiva de las fases de aplicación de sustancias a portaobjetos de microscopio.
- 5 La figura 27 es una vista en planta superior de los componentes inferiores del módulo de equipo de tinción a lo largo de la línea 27-27 de la figura 21.
- La figura 28 es una vista en alzado lateral en sección transversal de un colector de líquido tomada a lo largo de la línea 28-28 de la figura 27.
- 10 Las figuras 29A-31B son vistas en planta superiores y en alzado laterales que muestran las fases de un procedimiento de purga/cebado.
- La figura 32 es una vista isométrica de un aparato dosificador.
- 15 La figura 33 es una vista en alzado lateral de un conjunto de cabezal que dosifica líquido sobre un portaobjetos de microscopio.
- La figura 33 A es una vista detallada de una boquilla del conjunto de cabezal de la figura 33.
- 20 La figura 34 es una vista isométrica de un conjunto de cabezal.
- La figura 35 es una vista inferior del conjunto de cabezal de la figura 34 y un portaobjetos de microscopio.
- 25 La figura 36 es una vista en alzado lateral del conjunto de cabezal que dosifica líquido sobre una etiqueta de un portaobjetos de microscopio.
- La figura 36A es una vista detallada de una boquilla que dirige un chorro de líquido hacia la etiqueta.
- 30 La figura 37 es una vista en alzado lateral del conjunto de cabezal que dosifica líquido sobre un área de montaje del portaobjetos de microscopio.
- La figura 38 es una vista en alzado lateral del conjunto de cabezal que dosifica líquido sobre un extremo del portaobjetos de microscopio.
- 35 Las figuras 39, 40 y 41 son vistas isométrica, lateral y frontal, respectivamente, del conjunto de cabezal.
- La figura 42A es una vista en perspectiva en sección transversal del conjunto de cabezal tomada a lo largo de la línea 42A-42A de la figura 41.
- 40 La figura 42B es una vista detallada de los distribuidores del conjunto de cabezal de la figura 42A.
- La figura 43 es una vista en alzado en sección transversal del conjunto de cabezal tomada a lo largo de la línea 43-43 de la figura 40.
- 45 La figura 44A es una vista en perspectiva en sección transversal del conjunto de cabezal tomada a lo largo de la línea 44A-44A de la figura 41.
- La figura 44B es una vista detallada de los distribuidores del conjunto de cabezal de la figura 44A.
- 50 La figura 45 es una vista en alzado en sección transversal del conjunto de cabezal tomada a lo largo de la línea 45-45 de la figura 40.
- Las figuras 46A-46F son vistas en alzado en sección transversal del conjunto de cabezal tomadas a lo largo de la línea 46-46 de la figura 40.
- 55 La figura 47 es una vista en sección transversal isométrica del conjunto de cabezal tomada a lo largo de la línea 47-47 de la figura 40.
- 60 Las figuras 48A-C son vistas en sección transversal del conjunto de cabezal tomadas a lo largo de la línea 48-48 de la figura 41.
- La figura 49 es una vista isométrica de un conjunto de cabezal.
- 65 La figura 50 es una vista en planta superior del conjunto de cabezal de la figura 49.

- La figura 51 es una vista isométrica de un cabezal dosificador.
- La figura 52 es una vista en perspectiva en sección transversal del cabezal dosificador tomada a lo largo de la línea 52-52 de la figura 50.
- 5 La figura 53 es una vista isométrica de un dispositivo distribuidor de líquido.
- La figura 54 es una vista en alzado en sección transversal de un aparato de boquilla.
- 10 La figura 55 es una vista isométrica de un aparato dosificador.
- Las figuras 56-58 son vistas en alzado laterales que ilustran las fases de un procedimiento de retirada de líquidos.
- Las figuras 59-61 son vistas isométricas, frontal e inferior, respectivamente, de un conjunto de cabezal.
- 15 La figura 62 es una vista lateral en sección transversal parcial de un dispositivo de retirada de líquidos situado por encima de un portaobjetos de microscopio.
- La figura 63 es una vista lateral en sección transversal parcial del dispositivo de retirada de líquidos que succiona líquido del portaobjetos.
- 20 La figura 64A es una vista isométrica de un dispositivo de retirada de líquidos que produce una cortina de gas situada a lo largo de un portaobjetos de microscopio.
- 25 La figura 64B es una vista en planta superior de la cortina de gas y el portaobjetos de la figura 64A.
- La figura 65A es una vista isométrica del dispositivo de retirada de líquidos que recoge líquido usando la cortina de gas.
- 30 La figura 65B es una vista en planta superior de la cortina de gas y portaobjetos de la figura 65A.
- La figura 66A es una vista isométrica del dispositivo de retirada de líquidos que capta líquido en un extremo del portaobjetos.
- 35 La figura 66B es una vista en planta superior de la cortina de gas y portaobjetos de la figura 66A.
- Las figuras 67-70 son vistas en alzado laterales que ilustran las fases de retirada y dosificación de líquidos.
- La figura 71 es una vista isométrica de un dispositivo de retirada de líquidos con una cuchilla de gas lineal.
- 40 La figura 72 es una vista isométrica del dispositivo de retirada de líquidos de la figura 71 que recoge líquido a lo largo del portaobjetos.
- La figura 73 es una vista isométrica del dispositivo de retirada de líquidos de la figura 71 que retira líquido captado en una esquina del portaobjetos.
- 45 La figura 74 es una vista inferior de un dispositivo de retirada de líquidos con una cuchilla de gas que tiene ranuras alargadas.
- 50 La figura 75 es una vista inferior de un dispositivo de retirada de líquidos con dos cuchillas de gas.
- La figura 76 es una vista isométrica de dos cuchillas de gas.
- Las figuras 77 y 78 son vistas en alzado laterales de dos cuchillas de gas que captan líquido en un portaobjetos de microscopio.
- 55 La figura 79 es una vista isométrica de un equipo de tinción configurado.
- La figura 80 es una vista en alzado lateral en sección transversal tomada a lo largo de la línea 80-80 en la figura 79 que muestra un entorno interno del equipo de tinción.
- 60 Las figuras 81 y 82 son vistas en planta en sección transversal tomadas, respectivamente, a lo largo de las líneas 81-81 y 82-82 en la figura 80.
- 65 La figura 83 es un diagrama de flujo que ilustra un procedimiento para hacer funcionar el equipo de tinción mostrado en las figuras 79-82.

Las figuras 84 y 85 son gráficos de la temperatura promedio y la velocidad de flujo de aire promedio, respectivamente, dentro del entorno interno en relación con el tiempo durante el procedimiento correspondiente al diagrama de flujo mostrado en la figura 83.

5

La figura 86 es un diagrama de flujo que ilustra una parte del procedimiento correspondiente al diagrama de flujo mostrado en la figura 83 durante la que las muestras en portaobjetos portados por un portador de portaobjetos se procesan dentro del entorno interno.

10

Las figuras 87 y 88 son gráficos de la temperatura promedio y la velocidad de flujo de aire promedio, respectivamente, dentro del entorno interno en relación con el tiempo durante el procedimiento correspondiente al diagrama de flujo mostrado en la figura 86.

15

La figura 89 es una vista en perspectiva de un suministro de líquidos.

La figura 90 es una vista en despiece isométrica de un recipiente.

La figura 91 es una vista en alzado lateral en sección transversal parcial del recipiente de la figura 90.

20

La figura 92 es una vista isométrica de un recipiente para desechos.

La figura 93 es una vista en alzado lateral en sección transversal de un sensor del recipiente para desechos de la figura 92.

25 Descripción detallada

A menudo es deseable incrementar la consistencia y capacidad de control de determinados atributos (por ejemplo, la intensidad de tinción) de muestras procesadas histológicamente. El tiempo de procesamiento (es decir, la duración de un procedimiento histológico dado) y la temperatura de procesamiento (es decir, la temperatura a la que se lleva a cabo un procedimiento histológico dado) son dos variables que afectan a la mayoría, si no a todos, de estos atributos. Los sistemas histológicos automatizados configurados de acuerdo con al menos algunos modos de realización de la presente tecnología incluyen rasgos característicos que facilitan la consistencia y/o capacidad de control del tiempo de procesamiento y/o temperatura de procesamiento. Por ejemplo, al menos algunos de estos sistemas incluyen equipos de tinción que tienen cabezales de procesamiento que pueden ejecutar con precisión operaciones de dosificación y retirada de líquidos controladas. Estos equipos de tinción también pueden tener ambientes internos que se pueden mantener a temperaturas de referencia elevadas. Se espera que el rendimiento (por ejemplo, con respecto a la calidad y/o versatilidad) de estos y otros sistemas configurados de acuerdo con modos de realización de la presente tecnología exceda con mucho el de sus homólogos convencionales. Además, los sistemas configurados de acuerdo con al menos algunos modos de realización de la presente tecnología pueden incluir rasgos característicos que proporcionan otras mejoras deseables, tales como costes de procesamiento reducidos, generación de desechos reducida y rendimiento incrementado.

30

35

40

Los líquidos de procesamiento seleccionados o formulados de acuerdo con al menos algunos modos de realización de la presente tecnología pueden diferir de los líquidos de procesamiento convencionales correspondientes. Por ejemplo, los líquidos de procesamiento seleccionados o formulados de acuerdo con determinados modos de realización de la presente tecnología son menos volátiles que los líquidos convencionales correspondientes. Por este motivo y/u otros motivos, estos líquidos pueden ser muy adecuados para su uso en equipos de tinción mantenidos a temperaturas de referencia elevadas. Por el contrario, los líquidos convencionales correspondientes pueden tender a evaporarse a tasas inaceptablemente altas cuando se usan en estos equipos de tinción. La evaporación de líquidos de procesamiento en sistemas histológicos automatizados, en general, es indeseable. Además, los líquidos de procesamiento seleccionados o formulados de acuerdo con modos de realización de la presente tecnología pueden ser menos tóxicos que los líquidos de procesamiento convencionales correspondientes. Esto puede facilitar la evacuación de los líquidos de procesamiento y/o reducir o eliminar la liberación de humos nocivos de los sistemas en los que se usan los líquidos de procesamiento. Los líquidos de procesamiento usados con un sistema histológico automatizado configurado de acuerdo con un modo de realización de la presente tecnología tienen concentraciones relativamente bajas de alcohol monohídrico (por ejemplo, etanol). Por ejemplo, estos líquidos de procesamiento pueden incluir mayores concentraciones volumétricas de poliol (por ejemplo, propilenglicol) que de alcohol monohídrico. Esto puede reducir la evaporación, potenciar determinados aspectos del procesamiento de muestras y disminuir la complejidad del procedimiento, entre otras ventajas. Además, los líquidos de procesamiento seleccionados o formulados de acuerdo con modos de realización de la presente tecnología pueden incluir otros rasgos característicos que proporcionan estas y/u otras mejoras deseables.

45

50

55

60

65 Ejemplos seleccionados de arquitectura del sistema

La figura 1 es una vista en alzado de un sistema de procesamiento de portaobjetos automatizado 2 ("sistema 2").

El sistema 2 puede incluir un puerto de acceso 3 y un dispositivo de entrada en forma de pantalla táctil 5. Un usuario puede cargar el sistema con bandejas que portan portaobjetos ("bandejas de portaobjetos"), tal como colocando las bandejas de portaobjetos en el puerto de acceso 3. Una bandeja de portaobjetos dada puede portar portaobjetos que portan respectivamente muestras que se van a procesar. Antes, durante o después de cargar el sistema, el usuario usa la pantalla táctil 5 para seleccionar los procedimientos (por ejemplo, protocolos, recetas, etc.) que se van a realizar sobre las muestras. A continuación, el sistema 2 puede procesar automáticamente las muestras, aplicar cubreobjetos a los portaobjetos y retornar la bandeja de portaobjetos al puerto de acceso 3. Después de esto, los portaobjetos tapados con cubreobjetos (por ejemplo, los portaobjetos que portan cubreobjetos acoplados permanentemente a los portaobjetos) se pueden recuperar del puerto de acceso 3 para su posterior análisis, interpretación del anatomopatólogo y/o archivo.

La figura 2 es una vista en alzado lateral del sistema 2 que muestra algunos de sus componentes internos. El sistema 2 puede incluir una carcasa 7 y los módulos (por ejemplo, estaciones de trabajo) 4, 6, 8 y 10 dispuestos dentro de la carcasa 7. También, dentro de la carcasa 7, el sistema 2 puede incluir un transportador 12, un suministro de líquidos 14, un aparato de presurización 16 y un controlador 18. La carcasa 7 puede mantener un entorno interno, en general, libre de contaminación y/o ayudar a mantener una temperatura interna deseada adecuada para hacer funcionar uno o más de los módulos 4, 6, 8, 10.

Se puede portar una bandeja de portaobjetos que sostiene portaobjetos que llevan muestras por el transportador 12 entre los módulos 4, 6, 8, 10 para secar las muestras, teñir las muestras y aplicar cubreobjetos a los portaobjetos. Las muestras se pueden procesar individualmente en portaobjetos sin el uso de baños compartidos de líquidos de procesamiento. De esta manera, se pueden reducir o evitar la contaminación cruzada, el arrastre de los líquidos de procesamiento, los desechos en exceso (por ejemplo, desechos líquidos), el inconsistente rendimiento de los líquidos de procesamiento y otras desventajas de las máquinas para mojar y empapar. Además, la intensidad de tinción y/u otros atributos de posprocesamiento de las muestras pueden ser altamente controlables y ejecutables con precisión. El transportador 12 y los módulos 4, 6, 8 y 10 pueden estar bajo el control del controlador 18, que se puede controlar por un usuario que usa la pantalla táctil 5 (figura 1).

El módulo 4 puede ser un aparato calentador en forma de secador ("secador 4"), los módulos 6 pueden ser equipos de tinción ("equipos de tinción 6"), el módulo 8 puede ser un aplicador de cubreobjetos ("aplicador de cubreobjetos 8") y el módulo 10 puede ser un aparato calentador en forma de unidad de curado ("unidad de curado 10"). Los módulos se pueden disponer en un apilamiento vertical con el secador 4 y la unidad de curado 10 situados más altos que los equipos de tinción 6. Esto puede ser útil, por ejemplo, porque el secador 4 y la unidad de curado 10 pueden generar calor, que se puede liberar a través de la parte superior de la carcasa 7. Los equipos de tinción 6 se pueden conectar a un distribuidor de fluidos 19 que suministra líquidos, tales como reactivo de tinción (por ejemplo, reactivo de hematoxilina) y reactivo de contratinción (por ejemplo, reactivo de eosina), desde el suministro de líquidos 14. El distribuidor de fluidos 19 puede incluir, sin limitación, una o más tuberías, válvulas, orificios, sensores, bombas, filtros y/u otros componentes que pueden suministrar líquido de forma controlable. Un distribuidor de electrónica (no mostrado) puede acoplar de forma comunicativa los módulos al controlador 18 para proporcionar energía a y control de los componentes de los módulos y componentes de los mismos. En el presente documento, se pueden conectar módulos individuales al distribuidor de fluidos 19 y al distribuidor eléctrico a través de conexiones y enchufes comunes, respectivamente. La intercambiabilidad dada usando conexiones y enchufes comunes puede hacer posible añadir y retirar módulos rápida y fácilmente, facilitando, de este modo, la reconfiguración, mantenimiento y/o reparación del sistema.

El transportador 12 puede mover robóticamente bandejas de portaobjetos de módulo a módulo de una manera eficaz para así potenciar el rendimiento del sistema. El transportador 12 puede comprender, sin limitación, uno o más montacargas (por ejemplo, conjuntos de carril y carro), brazos robóticos, motores (por ejemplo, motores paso a paso, motores de accionamiento, etc.), conexiones o elementos de sostén de bandeja (por ejemplo, horquillas, pinzas, etc.) y/o sensores, así como otros componentes para proporcionar movimiento. En el presente documento, el transportador 12 puede incluir un montacargas y un insertador (por ejemplo, una mesa lanzadera X-Y) para funcionar como un mecanismo de transporte X-Y-Z (por ejemplo, X--de izquierda a derecha; Y--de adelante a atrás; Z--de arriba y abajo). Los sensores (no mostrados) se pueden colocar contiguos al transportador 12 para detectar la posición del transportador 12 y usar para indexar el transportador 12 en localizaciones de detección para proporcionar el posicionamiento preciso de la bandeja de portaobjetos.

Se pueden localizar sensores en diversas localizaciones por todo el sistema 2, incluyendo en el transportador 12, dentro de los módulos y en las bandejas de portaobjetos. En el presente documento, se pueden usar sensores (incluyendo, sin limitación, galgas extensométricas, acelerómetros, sensores de contacto, sensores ópticos u otros dispositivos de detección que puedan detectar determinados acontecimientos) para detectar colisiones, impactos u otros acontecimientos dentro del sistema 2. Los sensores pueden emitir una o más señales que se reciben por el controlador 18, que pueden determinar si un acontecimiento dado requiere notificación al usuario u otra acción. Por ejemplo, si se detecta un impacto inesperado de la bandeja de portaobjetos, el controlador 18 puede alertar a un usuario para que abra la carcasa 7 para que inspeccione visualmente la bandeja para determinar si los portaobjetos están situadas apropiadamente en la bandeja. Los sensores se pueden montar en un techo 13 de la carcasa 7 para ayudar a prevenir el contacto entre el techo 13 y las bandejas de portaobjetos y/o portaobjetos.

Se puede situar una estación de sostén 23 con estantes 24 espaciados verticalmente (uno identificado) contigua a y en frente del transportador 12. Se puede situar un estante 24 superior por debajo del secador 4 y se puede situar un estante inferior por encima del puerto de acceso 3. El transportador 12 puede mover robóticamente bandejas de portaobjetos de los estantes 24 al secador 4 para secar muestras biológicas húmedas, sellar en estufa muestras biológicas sobre portaobjetos o de otro modo procesar térmicamente portaobjetos que llevan muestras. En el presente documento, el secador 4 puede calentar por convección portaobjetos que llevan muestras mientras sostiene los portaobjetos en orientaciones que faciliten el secado. Se pueden usar altos caudales convectivos para proporcionar un calentamiento sustancialmente uniforme de los portaobjetos que llevan muestras para reducir (por ejemplo, minimizar) las diferencias de temperatura entre las muestras y/o portaobjetos debido, por ejemplo, a las respectivas localizaciones de las muestras y/o los portaobjetos en una bandeja de portaobjetos.

El controlador 18 puede ser parte de un sistema de gestión de información de laboratorio que se puede conectar, por ejemplo, a sistemas de tinción automatizados adicionales. El controlador 18 puede incluir, sin limitación, una o más placas de circuito impreso que incluyan cualquier número de microprocesadores que controlen, por ejemplo, el suministro de líquidos de procesamiento a los módulos y el funcionamiento de los módulos. Adicionalmente o de forma alternativa, placas de circuito impreso, microprocesadores, fuentes de alimentación, memoria, lectores (por ejemplo, lectores de etiquetas) y pueden ser parte de los módulos individuales y estar en comunicación con el controlador 18 u otro controlador, tal como un controlador remoto. El controlador 18 puede enviar órdenes a los componentes del sistema y, en general, puede incluir, sin limitación, una o más unidades de procesamiento centrales, dispositivos de procesamiento, microprocesadores, procesadores de señales digitales (DSP), circuitos integrados específicos de aplicación (ASIC), lectores y similares. Para almacenar información, el controlador 18 puede incluir, sin limitación, uno o más elementos de almacenamiento 21 (ilustrados en línea fantasma), tales como memoria volátil, memoria no volátil, memoria de solo lectura (ROM), memoria de acceso aleatorio (RAM) o similares. La información almacenada puede incluir programas de calentamiento, programas de tinción, programas de curado, programas para tapar con cubreobjetos, programas de optimización, programas de procesamiento de muestras (por ejemplo, conjuntos de operaciones arbitrarios definidos por el usuario y/o conjuntos de operaciones predefinidos), programas de calibración, programas de indexación, programas de purga/cebado u otros programas ejecutables adecuados. Los programas de procesamiento de muestras pueden incluir recetas o protocolos que se pueden seleccionar en base a preferencias del usuario, tales como las preferencias del anatomopatólogo. Se pueden ejecutar programas de optimización para optimizar el rendimiento (por ejemplo, potenciar el calentamiento, reducir el consumo de líquido de procesamiento en exceso, incrementar la productividad, potenciar la consistencia de procesamiento o similares). El sistema de procesamiento se puede optimizar determinando, por ejemplo, un programa óptimo para (1) incrementar las velocidades de procesamiento, (2) reducir el tiempo de los ciclos de calentamiento en el secador 4 y/o en la unidad de curado 10, (3) incrementar el rendimiento (por ejemplo, incrementar el número de portaobjetos procesados en una determinada duración de tiempo), (4) mejorar la consistencia y/o calidad de las tinciones y/o (5) reducir los desechos líquidos.

El suministro de líquidos 14 puede incluir ranuras para sostener los recipientes de suministro 27 (uno identificado) y puede incluir identificadores de recipientes, tales como identificadores con antenas RFID que pueden leer etiquetas RFID asociadas con los recipientes de suministro 27. Los recipientes de suministro 27 pueden incluir, sin limitación, una o más etiquetas legibles por seres humanos, etiquetas legibles por máquinas (por ejemplo, un código de barras que se va a leer por el sistema 2) u otros tipos de etiquetas. Por ejemplo, los recipientes de suministro 27 pueden incluir etiquetas RFID codificadas con información (por ejemplo, información del contenido del recipiente, fechas de fabricación, fechas de caducidad, etc.) sobre un líquido de procesamiento particular. Se analiza un ejemplo de recipiente en conexión con las figuras 90 y 91, y se analiza un ejemplo de suministro de líquidos en conexión con la figura 89. El suministro de líquidos 14 también puede incluir, sin limitación, sensores (por ejemplo, sensores de presión, sensores de temperatura, etc.), bombas (por ejemplo, bombas neumáticas), válvulas, filtros, tuberías y/u otros componentes fluídicos que pueden cooperar para suministrar líquidos a los equipos de tinción 6, por ejemplo.

El aparato de presurización 16 se puede localizar por debajo del suministro de líquidos 14 y puede incluir una pluralidad de bombas, compresores, dispositivos de vacío (por ejemplo, un soplador) y/u otros dispositivos que puedan presurizar fluidos y/o proporcionar un vacío (incluyendo un vacío parcial). Se puede suministrar aire presurizado, por ejemplo, a las cuchillas de aire de los equipos de tinción 6, y se pueden usar presiones a nivel de vacío por los dispositivos de retirada de líquidos de los equipos de tinción 6.

Los desechos líquidos se pueden suministrar a través de tuberías y en los recipientes para desechos 32, 34. Estos desechos se pueden generar dentro del sistema 2 de una variedad de fuentes. Por ejemplo, los desechos líquidos recogidos en las bandejas de portaobjetos se pueden retirar y dirigir a los recipientes para desechos 32, 34. Retirar periódicamente estos desechos líquidos puede ser útil para evitar que los desechos se derramen de las bandejas de portaobjetos durante la manipulación. En el secador 4, las bandejas de portaobjetos pueden recoger medios de montaje (por ejemplo, agua), que se pueden succionar de las bandejas de portaobjetos y bombear a uno de los recipientes para desechos 32, 34. En los equipos de tinción 6, las bandejas de portaobjetos pueden recoger líquidos de procesamiento que caen de los portaobjetos, así como líquidos que gotean inadvertidamente de las boquillas de los aparatos dosificadores. En el aplicador de cubreobjetos 8, las bandejas de portaobjetos pueden

recoger líquidos para cubreobjetos usados para aplicar cubreobjetos a los portaobjetos. Los medios de montaje, líquidos de procesamiento, líquidos para cubreobjetos y cualquier otro líquido de desecho recogido se pueden bombear a los recipientes para desechos 32, 34. Se puede abrir una puerta 35 (figura 1) de la carcasa 7 para acceder y vaciar los recipientes para desechos 32, 34.

En funcionamiento, las bandejas de portaobjetos se pueden cargar en el sistema 2 por medio del puerto de acceso 3. En referencia ahora a la figura 2, el transportador 12 puede recuperar las bandejas de portaobjetos del puerto de acceso 3 y transportar las bandejas de portaobjetos a las localizaciones deseadas. El sistema 2 puede procesar individualmente un portaobjetos que lleva muestras y/o bandeja de portaobjetos particular de acuerdo con un conjunto de operaciones arbitrario definido por el usuario, un conjunto de operaciones predefinido u otros conjuntos de operaciones. Las bandejas de portaobjetos se pueden transportar a una estación de interrogación donde los portaobjetos en la bandeja se analizan por detectores (por ejemplo, sensores ópticos, cámaras, etc.). A continuación, la bandeja de portaobjetos se puede mover al secador 4 donde las muestras se secan y/o se adhieren a los portaobjetos. En algunos procedimientos, el secador 4 puede ayudar a retirar la parafina de las muestras incluidas en parafina fundiendo y extendiendo la parafina por las superficies de los portaobjetos. Las finas capas de parafina resultantes, que tienen mayor área de superficie una vez extendidas por los portaobjetos, se pueden retirar más fácilmente desparafinando el líquido aplicado a los portaobjetos dentro de los equipos de tinción 6. Una vez que las muestras y/o portaobjetos se han secado al menos parcialmente, la bandeja de portaobjetos se puede mover a uno de los equipos de tinción 6 donde se procesan las muestras biológicas. Los equipos de tinción 6 pueden realizar la desparafinación, tinción, acondicionamiento (por ejemplo, intercambio de disolventes) y otras operaciones de procesamiento de muestras aplicando individualmente líquidos recién preparados a las muestras. Esto puede facilitar el control de las características de posprocesamiento de las muestras. Los equipos de tinción 6 pueden dosificar de forma controlable líquidos de procesamiento recién preparados sobre los portaobjetos sin salpicar sobre portaobjetos contiguos y pueden retirar de forma controlable los líquidos de procesamiento de los portaobjetos. La dosificación/retirada controlada se puede usar para procesar eficazmente las muestras mientras también se reducen los volúmenes de desechos líquidos, por ejemplo, minimizando o de otro modo limitando los volúmenes de desechos líquidos recogidos por bandejas de portaobjetos. El sistema ilustrado 2 incluye tres equipos de tinción 6 que respectivamente proporcionan un procesamiento paralelo de tres bandejas de portaobjetos para incrementar el rendimiento del sistema, pero se puede usar un mayor o menor número de equipos de tinción para prevenir una limitación excesiva del rendimiento del sistema en base al funcionamiento de los equipos de tinción 6.

Como se usa en el presente documento, los términos "reactivo" y "líquido de procesamiento" se refieren a cualquier líquido o composición líquida usada en una operación de procesamiento de muestras que implica añadir líquido o composición líquida a un portaobjetos. Los ejemplos de reactivos y líquidos de procesamiento incluyen soluciones, emulsiones, suspensiones y disolventes (puros o bien mezclas de los mismos). Estos y otros ejemplos pueden ser acuosos o no acuosos. Otros ejemplos incluyen soluciones o suspensiones de anticuerpos, soluciones o suspensiones de sondas de ácido nucleico y soluciones o suspensiones de colorante o moléculas de tinción (por ejemplo, soluciones de tinción con H y E, soluciones de tinción de Papanicolaou, etc.). Todavía otros ejemplos incluyen disolventes y/o soluciones para desparafinar muestras biológicas incluidas en parafina, soluciones detergentes acuosas e hidrocarburos (por ejemplo, alcanos, isoalcanos y compuestos aromáticos, tales como xileno). Todavía otros ejemplos incluyen disolventes (y mezclas de los mismos) usados para deshidratar o rehidratar muestras biológicas. Los equipos de tinción 6 pueden recibir una amplia gama de reactivos y líquidos de procesamiento de los recipientes 27.

El término "tinción" usado en el presente documento, en general, se refiere a cualquier tratamiento de una muestra biológica que detecta y/o diferencia la presencia, localización y/o cantidad (tal como la concentración) de una molécula particular (tal como un lípido, proteína o ácido nucleico) o estructura particular (tal como una célula normal o maligna, citosol, núcleo, aparato de Golgi o citoesqueleto) en la muestra biológica. Por ejemplo, la tinción puede proporcionar un contraste entre una molécula particular o una estructura celular particular y las partes circundantes de una muestra biológica, y la intensidad de la tinción puede proporcionar una medida de la cantidad de una molécula particular en la muestra. La tinción se puede usar para ayudar a la visualización de moléculas, estructuras celulares y organismos no solo con microscopios de campo brillante, sino también con otras herramientas de visualización, tales como microscopios de contraste de fase, microscopios electrónicos y microscopios de fluorescencia. Se puede usar alguna tinción realizada por el sistema 2 para visualizar un contorno de una célula. Otra tinción realizada por el sistema 2 puede depender de que determinados componentes celulares (tales como moléculas o estructuras) que se tiñen sin o con relativamente poca tinción de otros componentes celulares. Los ejemplos de tipos de procedimientos de tinción realizados por el sistema 2 incluyen, sin limitación, procedimientos histoquímicos, procedimientos inmunohistoquímicos y otros procedimientos basados en reacciones entre moléculas (incluyendo interacciones de unión no covalente), tales como reacciones de hibridación entre moléculas de ácido nucleico. Los procedimientos de tinción particulares incluyen, pero no se limitan a, procedimientos de tinción primaria (por ejemplo, tinción con H y E, tinción de Papanicolaou, etc.), procedimientos inmunohistoquímicos enzimáticos y procedimientos de hibridación de ARN y ADN *in situ*, tales como hibridación *in situ* con fluorescencia (FISH).

Después de procesar las muestras, el transportador 12 puede transportar las bandejas de portaobjetos del equipo

de tinción 6 al aplicador de cubreobjetos 8. El aplicador de cubreobjetos 8 puede aplicar disolvente a los portaobjetos y puede colocar cubreobjetos con adhesivo preaplicado sobre los portaobjetos. En el presente documento, la bandeja de portaobjetos puede sostener una pluralidad de portaobjetos, por ejemplo, en una posición sustancialmente horizontal, y se añaden cubreobjetos individualmente a los portaobjetos. En el presente documento, el aplicador de cubreobjetos 8 puede ser sustancialmente como se describe en los documentos US 2004/0092024 A1 o US 7468161 B2. Los aplicadores de cubreobjetos descritos en los documentos US 2004/0092024 A1 o US 7468161 B2 y su funcionamiento se pueden implementar para potenciar la manipulación de cubreobjetos, por ejemplo, detectando cubreobjetos rotos, facilitando la toma de un único cubreobjetos, incrementando la precisión de colocación del aplicador de cubreobjetos y/o incrementando el rendimiento del sistema.

Una vez que los cubreobjetos se colocan sobre los portaobjetos, el transportador 12 puede transportar la bandeja de portaobjetos del aplicador de cubreobjetos 8 a la unidad de curado 10 donde los cubreobjetos se curan sobre los portaobjetos (al menos parcialmente) y la propia bandeja se seca (al menos parcialmente) si el la bandeja ha recogido líquido. Durante el curado, los portaobjetos se pueden sostener en posiciones sustancialmente horizontales para exponer las áreas de superficie de los cubreobjetos y portaobjetos a flujos convectivos. Esto puede facilitar un curado rápido y eficaz del adhesivo. Incluso si el disolvente para cubreobjetos por debajo de un cubreobjetos dado no se retira completamente, se puede formar una película de adhesivo alrededor del cubreobjetos que sostiene el cubreobjetos en su lugar durante la manipulación posterior, por ejemplo, por un profesional sanitario, tal como un anatomopatólogo. En el presente documento, la unidad de curado 10 puede incluir uno o más calentadores radiantes o calentadores conductores, así como combinaciones de calentadores convectivos y calentadores radiantes o conductores. Una vez que los portaobjetos se tapan con cubreobjetos, la bandeja de portaobjetos se puede mover de la unidad de curado 10 de vuelta al puerto de acceso 3 para su recuperación.

El sistema 2 puede tener cualquier número de módulos dispuestos en cualquier relación adecuada entre sí. En el presente documento, tres equipos de tinción 6 y la unidad de curado 10 se pueden situar sustancialmente directamente por encima y por debajo entre sí en un apilamiento vertical. Adicionalmente o de forma alternativa, los módulos se pueden disponer uno al lado del otro en una configuración horizontal (por ejemplo, el secador 4 situado junto a la unidad de curado 10). Los módulos también se pueden disponer en un apilamiento vertical en pendiente con estaciones de trabajo dispuestas una al lado de la otra en cualquier nivel intermedio en el apilamiento inclinado. Los ejemplos de módulos que se pueden incluir en los sistemas de procesamiento de portaobjetos automatizados divulgados incluyen, pero no se limitan a, aparatos calentadores (por ejemplo, calentadores por convección o radiantes), un lector (por ejemplo, un lector de códigos), un módulo de equipo de tinción, un módulo de aplicador de cubreobjetos y un módulo de combinación, tal como un secador y desparafinador combinados, un desparafinador/equipo de tinción combinados, un desparafinador/equipo de tinción/intercambiador de disolventes combinados) y otros tipos de estaciones de trabajo (incluyendo las estaciones de trabajo divulgadas en el documento US 7468161 B2) que puedan realizar una o más operaciones de procesamiento de portaobjetos (tales como dos o más) en una única estación de trabajo. El aparato calentador de ejemplo se analiza en conexión con las figuras 3-14 y los equipos de tinción de ejemplo se analizan en conexión con las figuras 15-88. Se pueden añadir módulos adicionales al sistema de procesamiento de portaobjetos automatizado 2 para proporcionar cualquier número de funcionalidades para el procesamiento automatizado de muestras con una intervención humana mínima o nula durante el funcionamiento normal.

Las bandejas de portaobjetos pueden tener cualquier conformación adecuada, y los portaobjetos sostenidos en una bandeja de portaobjetos dada se pueden disponer de cualquier manera adecuada para sostener cualquier número adecuado de portaobjetos, por ejemplo, 5 o más portaobjetos, 10 o más portaobjetos, 20 o más portaobjetos o 30 o más portaobjetos. En el documento US 7468161 B2 se divulgan varios ejemplos de bandejas de portaobjetos de diferentes conformaciones y capacidades de sostén.

En el presente documento, las bandejas de portaobjetos pueden ser bandejas, en general, rectangulares configuradas para sostener dos filas de portaobjetos que se sostienen una al lado de la otra en ambos lados del eje largo central de la bandeja de portaobjetos de modo que las dimensiones a lo largo de los portaobjetos se dispongan hacia afuera del eje central largo de la bandeja. Las bandejas rectangulares pueden tener una parte inferior y paredes laterales que definen un depósito para la recogida de líquido. En el presente documento, la bandeja de portaobjetos puede ser una bandeja de portaobjetos circular configurada para sostener portaobjetos en posiciones radiales en la que las dimensiones a lo largo (o ejes longitudinales) de los portaobjetos se disponen hacia adentro del borde exterior de la bandeja hacia el centro de la bandeja. De otro modo, la bandeja puede ser una bandeja, en general, cuadrada configurada para sostener portaobjetos en dos o tres filas. La configuración de la bandeja de portaobjetos se puede seleccionar en base a las dimensiones de los portaobjetos, las dimensiones de los módulos y/o la configuración del transportador 12.

Las bandejas de portaobjetos pueden sostener portaobjetos con muestras en una disposición espaciada y en posiciones sustancialmente horizontales. Sostener todos los portaobjetos en separación y esencialmente en el mismo plano (por ejemplo, un plano horizontal durante la tinción) puede limitar o prevenir la contaminación cruzada de los portaobjetos durante, por ejemplo, el secado, desparafinación, tinción, lavado e intercambio de disolventes,

- y otros actos que implican dosificar líquidos sobre superficies de portaobjetos. Aunque los términos "bandeja de portaobjetos" o "bandeja" se usan en el presente documento para facilitar la referencia a elementos que portan portaobjetos, a menos que el contexto lo indique claramente de otro modo, se pueden utilizar otros portadores de portaobjetos que puedan sostener una serie de portaobjetos. El sistema 2 se puede usar con una variedad de portadores de portaobjetos que tienen, sin limitación, retenedores para portaobjetos (por ejemplo, pinzas, ventosas, etc.), separadores de portaobjetos, dispositivos de succión (por ejemplo, tubos, boquillas, etc.) usados para retirar líquidos de las bandejas, u otros rasgos característicos para sostener, manipular o de otro modo procesar portaobjetos.
- El término "portaobjetos" se refiere a cualquier sustrato (por ejemplo, sustratos fabricados, en su totalidad o en parte, de vidrio, cuarzo, plástico, silicio, etc.) de cualquier dimensión adecuada en el que se coloca una muestra biológica para su análisis, y, más en particular, a un "portaobjetos de microscopio", tal como un portaobjetos de microscopio estándar de 3 pulgadas por 1 pulgada o un portaobjetos de microscopio estándar de 75 mm por 25 mm. Los ejemplos de muestras biológicas que se pueden colocar en un portaobjetos incluyen, sin limitación, un frotis citológico, un fino corte histológico (tal como de una biopsia) y una matriz de muestras biológicas, por ejemplo, una matriz tisular, una matriz de ADN, una matriz de ARN, una matriz de proteínas o cualquier combinación de los mismos. Por tanto, los cortes histológicos, las muestras de ADN, las muestras de ARN y/o las proteínas se pueden colocar en un portaobjetos en localizaciones particulares.
- El término "muestra biológica" se refiere a cualquier muestra (por ejemplo, muestra) que incluye biomoléculas (por ejemplo, proteínas, péptidos, ácidos nucleicos, lípidos, carbohidratos y combinaciones de los mismos) que se obtiene de (o incluye) cualquier organismo, incluyendo virus. Las muestras biológicas pueden incluir muestras de tejido (por ejemplo, cortes histológicos), muestras de células (por ejemplo, frotis citológicos, tales como frotis de Papanicolaou o de sangre o muestras de células obtenidas por microdissección), muestras de organismos enteros (por ejemplo, muestras de levadura, bacterias, etc.), o fracciones, fragmentos u orgánulos celulares, tales como los obtenidos por lisis de células y separación de sus componentes por centrifugación o de otro modo. Otros ejemplos de muestras biológicas incluyen, sin limitación, sangre, suero, orina, semen, heces, líquido cefalorraquídeo, líquido intersticial, mucosidad, lágrimas, sudor, pus, tejido biopsiado (por ejemplo, obtenido por una biopsia quirúrgica o una biopsia con aguja), aspirados del pezón, leche, flujo vaginal, saliva, hisopados (por ejemplo, hisopados bucales) o cualquier material que contenga biomoléculas derivadas de los mismos.

Ejemplos seleccionados de hornos de secado y curado y procedimientos asociados

- La figura 3 es una vista en perspectiva en sección transversal de un aparato calentador en forma de aparato secador 1100 ("aparato 1100") en una configuración cerrada que sostiene un portador de portaobjetos 1200. En general, el aparato 1100 puede calentar un flujo de gas que se vuelve un flujo de gas turbulento calentado para promover una distribución de calor, en general, uniforme a través del flujo. El flujo de gas turbulento se puede convertir en un flujo de gas laminar que fluye a través de y calienta los portaobjetos que llevan muestras S (uno identificado) portados por el portador de portaobjetos 1200. Los portaobjetos que llevan muestras S se pueden orientar verticalmente para promover el drenaje de líquido, tal como los medios de montaje residuales (por ejemplo, agua), de los portaobjetos S. El flujo de gas laminar dirigido hacia arriba puede fluir a través de las muestras para inhibir, limitar o sustancialmente prevenir el movimiento hacia abajo de las muestras en relación con los portaobjetos S debido, por ejemplo, a la gravedad mientras las muestras se secan.
- El aparato 1100 puede incluir una carcasa 1122, un soplador 1110 y un calentador 1116. La carcasa 1122 puede tener una o más paredes 1119 y un conjunto de puerta 1101 que definen un espacio interior 1123. El espacio interior 1123 puede ser una cámara dividida por un tabique 1112 en una cámara trasera 1142 y una cámara de recepción de portadores o frontal 1140 ("cámara frontal 1140") que están conectadas de forma fluida para formar un bucle de circulación 1121 dentro de la carcasa 1122. El área en sección transversal (es decir, el área, en general, perpendicular a la dirección del flujo de gas) de la cámara frontal 1140 puede ser menor que el área en sección transversal de la cámara trasera 1142, de modo que un flujo a velocidad relativamente alta se desplaza sobre los portaobjetos S mientras un flujo a velocidad relativamente baja se desplaza a lo largo de la cámara trasera 1142. El conjunto de puerta 1101 puede mover el portador de portaobjetos 1200 a una posición orientada verticalmente dentro de la cámara frontal 1140 para calentar por convección los portaobjetos que llevan muestras S. El soplador 1110 puede incluir, sin limitación, uno o más ventiladores, bombas u otros dispositivos de presurización adecuados para la convección de flujo forzada. En el presente documento, el soplador 1110 se puede situar a lo largo del bucle de circulación 1121 y está configurado para dirigir el flujo de gas hacia el calentador 1116.
- El calentador 1116 se puede configurar para subir una temperatura promedio del gas que fluye a lo largo del bucle de circulación 1121. A medida que el gas fluye a lo largo del calentador 1116, el calentador 1116 puede transferir energía térmica al flujo de gas y se puede situar dentro de la cámara trasera 1142 opuesta de una fila superior de portaobjetos (separada por el tabique 1112) para mejorar el calentamiento de una fila superior de portaobjetos S. Dicho posicionamiento del calentador 1116 puede compensar la reducción potencial de la temperatura del gas que pasa sobre la fila superior de portaobjetos provocada por evaporación del líquido en una fila inferior de portaobjetos. En el presente documento, el calentador 1116 puede incluir, sin limitación, uno o más elementos calentadores

resistivos y uno o más elementos de transferencia de calor (por ejemplo, aletas, tubos, etc.). De otro modo, el calentador 1116 puede incluir tanto un calentador resistivo como calentadores no resistivos, tales como dispositivos Peltier.

5 El aparato 1100 puede incluir modificadores de flujo configurados para alterar las características del flujo de gas a lo largo de diversas partes del bucle de circulación 1121. Por ejemplo, como se muestra en la figura 3, el aparato 1100 puede incluir un modificador de flujo en forma de promotor de turbulencia 1118 situado corriente abajo del calentador 1116. El promotor de turbulencia 1118 puede incluir uno o más deflectores, placas perforadas, nervaduras, protuberancias, muescas y/o cualquier estructura configurada para crear remolinos, torbellinos u otros estados, en general, turbulentos o caóticos de movimiento del gas. Como se usa en el presente documento, "turbulento" se refiere a un flujo de gas que tiene un número de Reynolds mayor de 4000. A modo de ejemplo, la mayor parte del flujo de gas en una parte de flujo turbulento 1143 a lo largo de una mayor parte sustancial (por ejemplo, al menos un 90 %, 95 % o 98 %) del área en sección transversal perpendicular a la dirección del flujo puede tener un número de Reynolds mayor de 4000. En el presente documento, el promotor de turbulencia 1118 se puede extender entre el tabique 1112 y la pared trasera 1119 y a través de la cámara trasera 1142. De otro modo, el promotor de turbulencia 1118 se puede situar a lo largo de una superficie interior 1151 de la carcasa 1122 y/o una superficie del tabique 1112 y extenderse hacia, pero no necesariamente a través de, el bucle de circulación 1121. El flujo de gas turbulento creado por el promotor de turbulencia 1118 puede inducir la mezcla de gas a lo largo de la parte de flujo turbulento 1143 de la cámara trasera 1142, mejorando, de este modo, la eficacia de transferencia de calor, por ejemplo, duplicando o triplicando la eficacia de transferencia de calor dentro del bucle de circulación 1121. En el presente documento, el promotor de turbulencia 1118 está configurado para producir suficiente turbulencia para que el flujo de gas que sale de la parte de flujo turbulento 1143 tenga una temperatura sustancialmente uniforme a través del flujo (es decir, una temperatura sustancialmente uniforme en una dirección perpendicular a la dirección del flujo). De otro modo, el modificador de flujo puede tener otras configuraciones para promover, por ejemplo, la mezcla del flujo de gas.

Adicionalmente, el aparato 1100 puede incluir un modificador de flujo en forma de promotor de flujo laminar 1114 situado corriente abajo de la parte de flujo turbulento 1143. El promotor de flujo laminar 1114 puede incluir una o más paletas guía, canales ahusados, superficies arqueadas y/o cualquier estructura configurada para crear un flujo de gas sustancialmente laminar. Como se usa en el presente documento, "flujo laminar" o "flujo sustancialmente laminar" se refiere a un flujo de gas que tiene un número de Reynolds menor de 2100. El bucle de circulación 1121 puede tener una o más partes de flujo laminar 1156. En el presente documento, la mayor parte del flujo de gas a lo largo de la mayor parte (por ejemplo, al menos un 60 %) del área en sección transversal perpendicular a la dirección del flujo puede tener un número de Reynolds menor de 2100. Por ejemplo, la parte del bucle de circulación 1121 que contiene el promotor de flujo laminar 1114 (por ejemplo, entre la parte de flujo turbulento 1143 y la cámara frontal 1140) puede ser una parte de flujo laminar. Además, al menos una parte de la cámara frontal 1140 (por ejemplo, entre las caras que llevan muestras de los portaobjetos S y el tabique 1112) puede ser una parte de flujo laminar. En el presente documento, el aparato 1100 puede tener un flujo de gas de transición (por ejemplo, un flujo de gas que tenga un número de Reynolds de entre 2100 y 4000) en al menos una parte de las partes de flujo turbulento y/o laminar.

Como se muestra en la figura 3, el promotor de flujo laminar 1114 se puede situar en una curvatura 1153 en el bucle de circulación 1121 para guiar el gas calentado de la parte de flujo turbulento 1143 a la cámara frontal 1140. En el presente documento, el promotor de flujo laminar 1114 puede ser una pluralidad de miembros arqueados 1145a, 1145b, 1145c espaciados que pueden reducir la pérdida de altura manométrica alrededor de la curvatura 1153. Una vez corriente abajo de los elementos arqueados 1145a-1145c, el gas puede fluir hacia arriba a lo largo de las longitudes de los portaobjetos S (por ejemplo, sustancialmente paralelo a los ejes longitudinales As de los portaobjetos S (uno identificado)), por ejemplo, para evaporar líquido en los portaobjetos S, procesar térmicamente las muestras (por ejemplo, fundir cera en la muestra) y/o secar las muestras (como se analiza en mayor detalle a continuación con referencia a las figuras 6A-7). De otro modo, el promotor de flujo laminar 1114 se puede situar en cualquier parte a lo largo del bucle de circulación 1121, tal como a lo largo de una sección relativamente recta del bucle de circulación 1121.

En el presente documento, el promotor de flujo laminar 1114 también puede acelerar el flujo de gas para producir un flujo laminar a velocidad relativamente alta e incrementar la tasa de calentamiento convectivo y/o tasa de evaporación. Por ejemplo, en particular, los miembros arqueados 1145a-1145c pueden definir los canales 1147 (uno identificado) que se estrechan en la dirección corriente abajo. A medida que el gas fluye a través de los canales 1147, el flujo se puede acelerar para producir un flujo a velocidad alta. En el presente documento, una proporción de la velocidad de flujo en la cámara frontal 1140 con respecto a la velocidad de flujo en la cámara trasera 1142 puede ser igual a o mayor de 2, 3, 4, 5 o 6. La proporción se puede seleccionar en base a las tasas de calentamiento de muestras, tasas de evaporación o similares.

Un procedimiento de secado ejemplar se analiza a continuación con referencia a las figuras 4A-9. En general, el portador de portaobjetos 1200 se puede mover a una posición de carga mientras el portador de portaobjetos 1200 sostiene los portaobjetos S. El portador de portaobjetos 1200 se mueve robóticamente de la posición de carga a una posición de procesamiento para mover el portador de portaobjetos 1200 al bucle de circulación 1121. La

posición de procesamiento puede estar en ángulo en relación con la posición de carga para facilitar el secado de las muestras. Los portaobjetos de microscopio que llevan muestras S se calientan mientras el portador de portaobjetos 1200 se mantiene en la posición de procesamiento. Los detalles del procedimiento de secado se analizan a continuación.

5

La figura 4A es una vista lateral del aparato 1100 en una configuración abierta antes de que un portador de portaobjetos 1200 (mostrado esquemáticamente) se haya colocado en el conjunto de puerta 1101 por el transportador 12 (mostrado esquemáticamente), y la figura 4B es una vista en perspectiva superior ampliada del conjunto de puerta 1101. En referencia a las figuras 3-4B juntas, el conjunto de puerta 1101 se puede disponer en una parte frontal 1103 (figuras 4A y 4B) del aparato 1100 y puede incluir una puerta 1102, un dispositivo de accionamiento 1108 y un montaje cinemático 1104. La puerta 1102 se puede mover entre una configuración cerrada (por ejemplo, figura 3) y una configuración abierta (por ejemplo, figuras 4A-4B). La puerta 1102 puede tener una superficie interior 1130 que mire hacia una parte interior de la carcasa 1122 (dentro del bucle de circulación 1121) cuando la puerta 1102 está en la configuración cerrada y una superficie exterior 1132 (figura 4A) que mire hacia afuera cuando la puerta 1102 está en la configuración cerrada. La puerta 1102 se puede mover automáticamente entre las configuraciones cerrada y abierta por medio del dispositivo de accionamiento 1108. Si el aparato 1100 se para (por ejemplo, durante un corte de energía), un usuario puede abrir manualmente la puerta 1102 para recuperar cualquier portador de portaobjetos en el aparato 1100.

10

15

El dispositivo de accionamiento 1108 puede acoplar de forma pivotante la puerta 1102 a la carcasa 1122. En el presente documento, el dispositivo de accionamiento 1108 puede incluir un montaje 1111, un dispositivo de accionamiento 1113 (figura 4B) y un brazo giratorio 1107 (figura 4A). El montaje 1111 se conecta a la carcasa 1122 de modo que el dispositivo de accionamiento 1113 pueda girar el brazo 1107 (figura 4A) alrededor de un pasador 1109 del montaje 1111. El dispositivo de accionamiento 1113 puede incluir, por ejemplo, uno o más motores de accionamiento, motores paso a paso u otros dispositivos que pueden girar el brazo 1107. La configuración del dispositivo de accionamiento 1108 se puede seleccionar en base al movimiento deseado de la puerta 1102.

20

25

El montaje cinemático 1104 se puede acoplar a la puerta 1102 y puede incluir soportes 1106 (uno identificado) configurados para sostener y estabilizar el portador de portaobjetos 1200 en una amplia gama de posiciones, incluyendo una posición horizontal y una posición orientada verticalmente (por ejemplo, como se muestra en la figura 3). El montaje cinemático 1104 también puede incluir uno o más sensores de montaje cinemático 1105 configurados para detectar la presencia y/o posición del portador de portaobjetos 1200. En el presente documento, el/los sensor(es) 1105 puede(n) detectar la presencia y/o posición del portador de portaobjetos 1200 y también ayudar a inhibir o limitar el movimiento del portador de portaobjetos 1200. Por ejemplo, el/los sensor(es) 1105 puede(n) ser sensores magnéticos que puede(n) detectar la presencia/posición del portador de portaobjetos 1200 por medio de una fuerza magnética. La fuerza magnética puede ayudar a prevenir el deslizamiento del portador de portaobjetos 1200 en relación con el montaje cinemático 1104. Se pueden usar otros tipos de montajes para sostener el portador de portaobjetos 1200, si fuera necesario o deseado.

30

35

En referencia ahora a la figura 4A, cuando la puerta 1102 está en la configuración abierta, la puerta 1102 puede ser sustancialmente horizontal y configurarse para recibir el portador de portaobjetos 1200 del transportador 12. El término "sustancialmente horizontal" con referencia al conjunto de puerta 1101, en general, se refiere a un ángulo dentro de aproximadamente +/- 2 grados de la horizontal, por ejemplo, dentro de aproximadamente +/- 1 grado de la horizontal, tal como dentro de aproximadamente +/- 0,8 grados de la horizontal. Cuando la puerta 1102 es sustancialmente horizontal, puede tener una orientación de modo que las superficies interior 1130 y exterior 1132 de la puerta 1102 miren, en general, hacia arriba y hacia abajo, respectivamente.

40

45

Una vez que el transportador 12 suministra el portador de portaobjetos 1200 a la vecindad del aparato 1100, el transportador 12 puede colocar el portador de portaobjetos 1200 sobre el montaje cinemático 1104. En este punto, tanto el transportador 12 como el montaje cinemático 1104 se pueden encajar con el portador de portaobjetos 1200. Si fuera necesario, el transportador 12 puede resituar el portador de portaobjetos 1200 en relación con la puerta 1102 y/o montaje cinemático 1104 en base a las señales recibidas de los sensores de montaje cinemático 1105 y/o sensores de transportador (no mostrados). Una vez que se logra el posicionamiento deseado, el transportador 12 cede el portador de portaobjetos 1200 al conjunto de puerta 1101, como se muestra en la figura 5.

50

55

En referencia ahora a la figura 5, la puerta 1102 en la configuración abierta puede soportar el portador de portaobjetos 1200 en una posición sustancialmente horizontal de modo que las superficies más grandes de los portaobjetos (denominados conjuntamente "S") miren, en general, hacia arriba y hacia abajo. Como se ilustra, el portador de portaobjetos 1200 se muestra incluyendo una primera fila 1201 de portaobjetos S (uno identificado) y una segunda fila 1203 de portaobjetos S (uno identificado).

60

65

De otro modo, sin embargo, el portador de portaobjetos 1200 puede contener más o menos de dos filas (por ejemplo, una única fila, tres filas, etc.) y/o cada fila puede incluir cualquier número de portaobjetos (por ejemplo, uno, cinco, diez, doce, etc.).

La figura 6A es una vista lateral en sección transversal del aparato 1100 después de que la puerta 1102 que porta el portador de portaobjetos 1200 haya girado hacia arriba a una configuración cerrada orientada verticalmente. La figura 6B es una vista lateral en sección transversal ampliada de una parte del conjunto de puerta 1101 que sostiene el portador de portaobjetos 1200. En referencia a las figuras 6A-6B juntas, el portador de portaobjetos 1200 se encierra dentro de la carcasa 1122 y sostiene los portaobjetos S dentro de la cámara frontal 1140 del bucle de circulación 1121. El soplador 1110 empuja un gas (por ejemplo, aire u otro gas adecuado) sobre el calentador 1116, a través y/o sobre el promotor de turbulencia 1118, a través y/o sobre el promotor de flujo laminar 1114, y hacia arriba a lo largo de las caras que portan muestras de los portaobjetos S para calentar por convección líquida extrínseca en los portaobjetos S y/o muestras portadas por los portaobjetos S. Una vez que el gas deja la cámara frontal 1140, el gas se puede recircular por el soplador 1110. Como se ilustra, el flujo de gas se mueve a través del bucle de circulación 1121 en un sentido, en general, antihorario. Sin embargo, de otro modo, el flujo de gas puede ser en un sentido horario. El caudal a través de los portaobjetos S puede ser, en general, uniforme y puede ser de entre 1,8 m/s y 2,9 m/s (por ejemplo, 2,8 m/s). Debido a que el flujo de gas laminar se puede desplazar a través de las muestras sin empujar las muestras fuera de los portaobjetos S, se pueden usar caudales relativamente altos. Si el caudal es demasiado bajo, puede quedar líquido extrínseco en los portaobjetos, lo que permite, de este modo, la migración de muestras (por ejemplo, migración de una distancia igual a o mayor de 2 mm) y posiblemente la tinción. Si el caudal es demasiado alto, el flujo de gas puede provocar la migración de muestras (por ejemplo, el gas puede empujar las muestras hacia arriba de los portaobjetos una distancia igual a o mayor de 2 mm) o, en algunos casos, dañar las muestras. El soplador 1110 puede incrementar o disminuir selectivamente el caudal para lograr el procesamiento objetivo (por ejemplo, tasas de evaporación, tasas de drenaje, etc.) mientras que limita o previene la migración y/o daño de muestras.

Como se analiza, el secado de las muestras y/o portaobjetos se logra por calentamiento convectivo usando el calentador 1116 y el soplador 1110. En general, la temperatura del flujo de gas dentro del bucle de circulación 1121 se puede mantener dentro de un intervalo de temperaturas de procesamiento deseado, tal como un intervalo de aproximadamente 65 °C a aproximadamente 80 °C (por ejemplo, de aproximadamente 72-73 °C). Como tal, durante el procedimiento de secado, los portaobjetos S y/o muestras se calientan uniformemente de modo que en cualquier punto durante el procedimiento de secado la temperatura de los portaobjetos S individuales entre sí esté dentro de los 5 °C sí (incluyendo ninguno, todos o un subconjunto de los portaobjetos que están sustancialmente a la misma temperatura). Lograr una temperatura apropiada puede ser ventajoso porque, por ejemplo, si la temperatura no es lo suficientemente baja, puede que los portaobjetos y/o muestras no se sequen dentro del tiempo asignado para el procedimiento de secado. Además, suministrar un flujo de gas calentado que tiene una temperatura promedio mayor de 65 °C permite que el líquido dentro y/o por debajo de cualquier cera u otro material asociado con la muestra se evapore.

En referencia ahora a la figura 6B, el portador de portaobjetos 1200 se puede orientar verticalmente de modo que un eje A del portador de portaobjetos 1200 y/o ejes longitudinales As (uno identificado) de los respectivos portaobjetos S estén orientados en un ángulo θ con respecto a un plano horizontal H. Como se usa en el presente documento, "orientado verticalmente" se puede referir tanto a una posición inclinada/en ángulo como a una posición sustancialmente vertical. Como se usa en el presente documento, una posición "inclinada" o "en ángulo" se refiere a una orientación del portador de portaobjetos 1200 y/o portaobjetos S donde el portador de portaobjetos 1200 y/o eje longitudinal As (uno identificado) de los portaobjetos S se sitúan a un ángulo θ que está entre 70 grados y 90 grados (por ejemplo, entre 77 grados y 84 grados, 80 grados, 90 grados, etc.). Como se usa en el presente documento, el término "sustancialmente vertical" se refiere a una orientación del portador de portaobjetos 1200 y/o portaobjetos S donde el portador de portaobjetos 1200 y/o ejes longitudinales As de los portaobjetos S se sitúan a un ángulo θ que está dentro de aproximadamente +/- 2 grados de 90 grados (incluyendo 90 grados), por ejemplo, dentro de aproximadamente +/- 1 grado de 90 grados, tal como dentro de aproximadamente +/- 0,8 grados de 90 grados. En cualquier posición, la primera fila 1201 de portaobjetos se sitúa verticalmente por encima de la segunda fila 1203 de portaobjetos de modo que un primer extremo (1201a, 1205a) de cada portaobjetos S esté verticalmente por encima de un segundo extremo (1201b, 1205b) del mismo portaobjetos S. El portador de portaobjetos 1200 y/o portaobjetos S orientados verticalmente explotan el efecto de la gravedad para sacar líquido extrínseco de los portaobjetos S, lo que activa, de este modo, el tiempo de secado. En consecuencia, los procedimientos de la presente tecnología son más rápidos y más eficaces que los procedimientos de secado de portaobjetos horizontales convencionales. Por ejemplo, el tiempo de secado (es decir, el tiempo entre cuando la puerta 1102 recibe un portador de portaobjetos 1200 a cuando el transportador 12 retira el portador de portaobjetos 1200) puede ser de entre 2 minutos y 8 minutos (por ejemplo, 3 minutos, 4 minutos, 4,5 minutos, 5 minutos, etc.). Por ejemplo, el tiempo de secado puede ser de 4 minutos y 52 segundos.

Como se analiza anteriormente, la colocación del portador de portaobjetos 1200 y/o los portaobjetos S en una posición orientada verticalmente durante el secado utiliza la gravedad para drenar eficazmente el líquido autoestable en las superficies de montaje de los portaobjetos S. Sin embargo, una posición de este tipo también plantea la posibilidad de que una parte de una muestra en la primera fila o superior 1201 caiga y contamine un portaobjetos S en la segunda fila o inferior 1203. Dicha contaminación cruzada puede perjudicar el posterior análisis de las muestras. En consecuencia, la posición y la configuración del portador de portaobjetos 1200 se pueden ajustar para incrementar la eficacia de secado mientras se evita o limita la contaminación cruzada de los portaobjetos S. Por ejemplo, la figura 6B muestra el portador de portaobjetos 1200 y los portaobjetos S en una

posición inclinada. Los extremos etiquetados de los portaobjetos S pueden estar ser más bajos que sus extremos no etiquetados, de modo que las etiquetas (por ejemplo, etiquetas de código de barras adhesivas) puedan inhibir o limitar la migración de las muestras, si las muestras se deslizan a lo largo de las superficies de montaje de los portaobjetos. Por tanto, las etiquetas pueden servir como barreras físicas para mantener las muestras en los portaobjetos. Como se ilustra, el portador de portaobjetos 1200 incluye uno o más separadores 1202 que separan los portaobjetos S de una superficie 1204 del portador de portaobjetos 1200 y los portaobjetos S superior e inferior están espaciados horizontalmente entre sí. Como tal, el líquido y/o muestras que gotean de la fila superior 1201 (representada esquemáticamente como "D") pueden caer directamente hacia abajo sobre la superficie inclinada 1204 del portador de portaobjetos 1200, evitando, de este modo, la contaminación cruzada del portaobjetos S inferior. En comparación, la figura 7 muestra el portador de portaobjetos 1200 y los portaobjetos S en una posición sustancialmente vertical. En el presente documento, el portador de portaobjetos 1200 incluye una o más barreras 1602 entre filas contiguas de portaobjetos S. A medida que la gravedad saca líquido de las muestras y/o portaobjetos S, se puede coger el líquido D por la(s) barrera(s) 1602, previniendo, de este modo, la contaminación cruzada de los portaobjetos S inferiores. El aparato 1100 de las figuras 3-6 se puede modificar para sostener el portador de portaobjetos 1200 en dicha orientación vertical mostrada en la figura 7.

En referencia, de nuevo, a las figuras 6A y 6B, el aire ambiental puede entrar en el bucle de circulación 1121 por medio de una abertura 1606 para compensar la humedad incrementada dentro de la carcasa 1122 debido a la evaporación del líquido de los portaobjetos que llevan muestras húmedas S. El aire ambiental puede tener una humedad relativamente baja para ayudar a limitar los niveles de humedad dentro de la carcasa 1122 y, de este modo, limitar la humedad del flujo de gas a lo largo del bucle de circulación 1121. En el presente documento, la carcasa 1122 y/o paredes laterales 1119 se pueden sellar sustancialmente para retener el calor, aunque durante la apertura y cierre de la puerta 1102, el gas y la energía térmica se intercambian necesariamente con el entorno externo. Este intercambio permite que la humedad relativa dentro del espacio interior 1123 (figura 6A) y/o bucle de circulación 1121 se equilibre a un nivel apropiado y previene la acumulación de humedad a medida que se introducen las muestras húmedas.

Una vez que se completa el ciclo de secado, el portador de portaobjetos 1200 se gira hacia abajo a una posición sustancialmente horizontal, como se muestra en la figura 8. El propio transportador 12 se puede situar contiguo a la puerta 1102 y posteriormente retira el portador de portaobjetos 1200 del conjunto de puerta 1101. En el presente documento, el transportador 12 puede tener una o más extensiones que sobresalen en el espacio entre el portador de portaobjetos 1200 y la superficie interior 1130 de la puerta 1102 y se encajan en una superficie que mira hacia abajo del portador de portaobjetos 1200. En esta fase, tanto el transportador 12 como el montaje cinemático 1104 pueden confirmar el encaje con el portador de portaobjetos 1200. A continuación, el transportador 12 puede retirar automáticamente el portador de portaobjetos 1200 del montaje cinemático 1104 y retirar el portador de portaobjetos 1200 de la vecindad inmediata del aparato 1100. La retroalimentación de los sensores de montaje cinemático 1105 y/o sensores de transportador (no mostrados) puede ayudar a guiar el procedimiento de retirada del portador de portaobjetos.

La figura 9 es una vista lateral en sección transversal del aparato 1100 en la configuración cerrada, después de que se haya retirado el portador de portaobjetos 1200 y se haya cerrado la puerta 1102, o bien antes de que la puerta 1102 se abra para recibir un portador de portaobjetos 1200 del transportador 12. Independientemente, cuando el aparato 1100 está en la configuración cerrada y el portador de portaobjetos 1200 no está presente, el calentador 1116 puede generar continua o periódicamente calor para mantener una temperatura de espera deseada. En consecuencia, cuando se introduce un portador de portaobjetos posterior, existe menos tiempo de retardo para que el aparato 1100 se recupere a una temperatura de funcionamiento deseada.

En el presente documento, el aparato 1100 puede incluir rasgos característicos adicionales. Por ejemplo, el aparato 1100 puede incluir rasgos característicos de seguridad del calentador. Por ejemplo, el aparato 1100 puede incluir un sensor de calor (no mostrado) en el calentador 1116 que comprueba la temperatura del calentador 1116 y corta la energía al calentador 1116 si el calentador 1116 sobrepasa una temperatura especificada. Adicionalmente, el propio calentador 1116 puede incluir un interruptor (por ejemplo, un interruptor mecánico, interruptor electromecánico, etc.) que interrumpe la trayectoria del circuito de energía si el calentador 1116 sobrepasa una temperatura especificada. Si la temperatura del calentador retorna a un nivel apropiado (por ejemplo, por debajo de la temperatura especificada), el interruptor puede cerrar el circuito, lo que posibilita, de este modo, el suministro de energía al calentador 1116. El aparato 1100 puede incluir rasgos característicos adicionales para garantizar un secado sólido. Por ejemplo, el aparato 1100 puede incluir una o más capas de aislamiento que rodeen a la carcasa 1122 y/o paredes 1119 para retener el calor y mantener una apropiada distribución de calor. Adicionalmente, el aparato 1100 puede incluir uno o más elementos de deshumidificación que limitan la humedad en la carcasa 1122 para potenciar el secado.

La figura 10 es una vista en perspectiva de otro aparato calentador en forma de horno de curado 1800 ("horno 1800") en una configuración cerrada. El horno 1800, en general, es idéntico al aparato 1100 analizado en conexión con las figuras 3-9, salvo como se detalla a continuación. El horno 1800 está configurado para procesar térmicamente portaobjetos que portan cubreobjetos para curar los cubreobjetos sobre los portaobjetos para proteger a las muestras. El horno 1800 también puede aliviar cualquier "desorden del portador" (es decir, líquido

extrínseco autoestable en los portaobjetos y/o portador de portaobjetos) calentando los portaobjetos y/o portador de portaobjetos y evaporando líquidos superfluos (si están presentes). Además, una posición sustancialmente horizontal puede ser ventajosa para ayudar a mantener el posicionamiento o colocación del cubreobjetos en el portaobjetos (y asimismo evitar la migración de cubreobjetos). El horno 1800 puede incluir una carcasa 1822 que tiene una o más paredes 1819 (figura 13) y un conjunto de puerta 1801. El conjunto de puerta 1801 puede sostener un portador de portaobjetos para mantener los portaobjetos tapados con cubreobjetos en orientaciones sustancialmente horizontales u otras orientaciones adecuadas. Un dispositivo de accionamiento 1808 del conjunto de puerta 1801 puede incluir uno o más carriles, carros, mecanismos de accionamiento u otros componentes adecuados para mover verticalmente una puerta 1802 entre una configuración cerrada (por ejemplo, figura 10) y una configuración abierta (por ejemplo, figura 11).

Un procedimiento de curado ejemplar se analiza a continuación con referencia a las figuras 11-14. En general, un portador de portaobjetos 1200 se mueve al conjunto de puerta 1801 mientras el portador de portaobjetos 1200 sostiene los portaobjetos tapados con cubreobjetos CS. El portador de portaobjetos 1200 se mueve robóticamente por el conjunto de puerta 1801 de una primera posición (por ejemplo, una posición bajada horizontal) a una segunda posición (por ejemplo, una posición subida horizontal) para mover el portador de portaobjetos 1200 a un bucle de circulación. Los portaobjetos tapados con cubreobjetos CS se calientan mientras el portador de portaobjetos 1200 está en un bucle de circulación. Los detalles del horno 1800 y el procedimiento de curado se analizan a continuación.

La figura 11 es una vista en perspectiva del horno de curado 1800 en una configuración abierta antes de que un portador de portaobjetos 1200 (mostrado esquemáticamente) se haya colocado en el conjunto de puerta 1801 por el transportador 12 (mostrado esquemáticamente). Como se muestra en la figura 11, el conjunto de puerta 1801 se puede disponer en una parte inferior 1803 del horno 1800 y puede incluir la puerta 1802 y el dispositivo de accionamiento 1808. La puerta 1802 puede tener una superficie interior 1830 que mire hacia una parte interior de la carcasa 1822 y una superficie exterior 1832 que mire hacia afuera. En el presente documento, que incluye como se ilustra, se puede portar un montaje cinemático 1804 por la puerta 1802 y puede incluir soportes 1805 (uno identificado) orientados verticalmente configurados para sostener y estabilizar un portador de portaobjetos 1200.

Cuando la puerta 1802 está en la configuración abierta, la puerta 1802 puede ser sustancialmente horizontal y configurarse para recibir el portador de portaobjetos 1200 del transportador 12. Una vez que el transportador 12 suministra el portador de portaobjetos 1200 a la vecindad del horno de curado 1800, el transportador 12 coloca el portador de portaobjetos 1200 en el montaje cinemático 1804. En este punto, tanto el transportador 12 como el montaje cinemático 1804 se pueden encajar con el portador de portaobjetos 1200. Una vez que se logra el posicionamiento deseado, el transportador 12 cede el portador de portaobjetos 1200 a la puerta 1802, como se muestra en la figura 12.

La figura 13 es una vista lateral en sección transversal del horno de curado 1800 después de que la puerta 1802 que porta el portador de portaobjetos 1200 se haya movido a la configuración cerrada. El portador de portaobjetos 1200 se encierra dentro de la carcasa 1822 de modo que los cubreobjetos y portaobjetos (denominados conjuntamente "portaobjetos tapados con cubreobjetos CS") estén expuestos a un flujo laminar en el bucle de circulación 1821. En funcionamiento, el soplador 1810 empuja un gas sobre el calentador 1816, a través y/o sobre el promotor de turbulencia orientado verticalmente 1818, a través y/o sobre el promotor de flujo laminar 1814, y a lo largo de la cara que porta muestras de los portaobjetos tapados con cubreobjetos CS para calentar por convección y/o curar los portaobjetos tapados con cubreobjetos CS. El caudal a través de los portaobjetos tapados con cubreobjetos CS puede ser, en general, uniforme y, en promedio, puede ser de entre 5 m/s y 7 m/s (por ejemplo, 6 m/s). Si el caudal es demasiado bajo, puede que el caudal no cure eficazmente los cubreobjetos (es decir, cure el adhesivo/pegamento portado por los cubreobjetos) en el tiempo de procesamiento asignado y/o se puede dejar líquido extrínseco en el portador de portaobjetos 1200 y/o portaobjetos tapados con cubreobjetos CS. Un curado y/o secado insuficiente puede afectar a la capacidad archivística (es decir, las muestras se pueden almacenar en vertical en cajones para portaobjetos comunes sin que se peguen entre sí, la tinción se puede retener y el cubreobjetos adherir a la muestra durante al menos 10 años). Si el caudal es demasiado alto, el caudal puede provocar la migración de muestras o de cubreobjetos o, en algunos casos, dañar las muestras. En consecuencia, el caudal se puede seleccionar en base al tiempo de curado deseado mientras se limita o previene la migración de las muestras y/o cubreobjetos.

Lograr una temperatura de curado apropiada puede ser ventajoso porque, por ejemplo, si la temperatura aumenta por encima de un umbral especificado, la temperatura puede afectar a las propiedades del material del cubreobjetos. Por ejemplo, sin estar ligado a ninguna teoría, se cree que sobrepasar determinadas temperaturas puede provocar que el cubreobjetos se incruste profundamente en la muestra, lo que provoca que el cubreobjetos quede en la muestra durante el destañido y, por lo tanto, tenga un impacto negativo en las retenciones. Adicionalmente, cuanto mayor sea la temperatura en el horno 1800, mayor será la temperatura del portador de portaobjetos 1200, lo que requiera posiblemente un periodo de "enfriamiento" (o un periodo de enfriamiento más largo) debido al hecho de que el portador de portaobjetos 1200 debe estar a un temperatura de manipulación aceptable cuando salga del horno 1800. Un tiempo de enfriamiento prolongado puede tener un impacto en el rendimiento. Además, mantener una temperatura de curado promedio de menos de 100 °C puede ser ventajoso

para evitar quemar o dañar permanentemente las muestras y/o portaobjetos. Si la temperatura no es lo suficientemente baja, puede que los portaobjetos y/o muestras no se sequen dentro del tiempo asignado para el procedimiento de curado. Durante el procedimiento de curado, el portador de portaobjetos 1200 se puede encerrar o situar dentro del bucle de circulación 1821 de modo que los portaobjetos tapados con cubreobjetos CS se calienten por convección. En consecuencia, los procedimientos de la presente tecnología pueden ser más rápidos y eficaces que los procedimientos de secado horizontal convencionales. Por ejemplo, el tiempo de curado (es decir, el tiempo entre cuando la puerta 1802 recibe un portador de portaobjetos 1200 a cuando el transportador 12 retira el portador de portaobjetos 1200) puede ser de entre 2 minutos y 8 minutos (por ejemplo, 3 minutos, 4 minutos, 4,5 minutos, 5 minutos, etc.). Por ejemplo, el tiempo de curado puede ser de 4 minutos y 52 segundos. En general, la temperatura promedio del flujo de gas dentro del bucle de circulación 1821 puede estar entre 90 °C y 110 °C. Sin embargo, se pueden lograr otras temperaturas para curar otros tipos de adhesivos usados con cubreobjetos.

Una vez que se completa el ciclo de curado, el portador de portaobjetos 1200 se baja para su retirada por el transportador 12, como se muestra en la figura 14. El propio transportador 12 se sitúa contiguo a la puerta 1802 y posteriormente retira el portador de portaobjetos 1200 del conjunto de puerta 1801. En el presente documento, el transportador 12 puede tener una o más extensiones que sobresalen en el espacio entre el portador de portaobjetos 1200 y la superficie interior 1830 de la puerta 1802 y se encajan en una superficie que mira hacia abajo del portador de portaobjetos 1200. En esta fase, tanto el transportador 12 como el montaje cinemático 1804 pueden confirmar el encaje con el portador de portaobjetos 1200. A continuación, el transportador 12 puede retirar automáticamente el portador de portaobjetos 1200 del conjunto de puerta 1801 y transportar el portador de portaobjetos 1200 lejos de la vecindad inmediata del horno 1800. La retroalimentación de los sensores de montaje cinemático y/o sensores de transportador (no mostrados) puede ayudar a guiar el procedimiento de retirada del portador de portaobjetos.

El horno de curado 1800 puede incluir rasgos característicos adicionales para garantizar un curado sólido. Por ejemplo, el horno 1800 puede incluir una capa de aislamiento que rodee a la carcasa 1822 y/o paredes laterales 1819 para retener el calor y mantener una apropiada distribución de calor. La carcasa 1822 y/o paredes laterales 1819 están sustancialmente selladas para retener el calor, aunque durante la apertura y cierre de la puerta 1802, el gas se intercambia necesariamente con el entorno externo. Este intercambio permite que la humedad relativa dentro del espacio interior 1823 y/o bucle de circulación 1821 se equilibre a un nivel apropiado y previene la acumulación de humedad a medida que se introducen las muestras húmedas.

Ejemplos seleccionados de manipulación de bandeja y portaobjetos en equipos de tinción

La figura 15 es una vista isométrica de un módulo de equipo de tinción 2010 en una configuración abierta. El módulo de equipo de tinción 2010 puede incluir un manipulador de bandejas 2020, una carcasa 2022 y un aparato dosificador 2024. El manipulador de bandejas 2020 puede mover un portador de portaobjetos en forma de bandeja portátil (no mostrada en la figura 15) a través de una abertura 2023 de la carcasa 2022 y puede situar la bandeja por debajo del aparato dosificador 2024. El aparato dosificador 2024 puede incluir cuatro conjuntos de cabezal o de distribuidor 2018a, 2018b, 2018c, 2018d (conjuntamente los "conjuntos de cabezal 2018") que proporcionan suministro de líquido presurizado controlado por válvula sobre portaobjetos de microscopio que llevan muestras portados por la bandeja. Para mantener un alto rendimiento de procesamiento, los conjuntos de cabezal 2018 se pueden purgar/cebar mientras la bandeja queda situada en el módulo de equipo de tinción 2010. En los procedimientos de dosificación, los conjuntos de cabezal 2018 pueden dosificar individualmente volúmenes predeterminados de líquido recién preparado sobre portaobjetos y pueden retirar el líquido de los portaobjetos para realizar protocolos de tinción en múltiples etapas. Después de procesar los portaobjetos, el manipulador de bandejas 2020 puede mover la bandeja fuera de la carcasa 2022.

El manipulador de bandejas 2020 puede incluir un mecanismo de transporte de elementos de sostén de bandejas 2030 ("mecanismo de transporte 2030") y un elemento de sostén de bandejas en forma de montaje cinemático 2040. El mecanismo de transporte 2030 puede incluir, sin limitación, una marca de retorno y un codificador relativo usado para situar con exactitud el montaje cinemático 2040. El montaje cinemático 2040 puede incluir brazos 2041a, 2041b, 2041c (conjuntamente los "brazos 2041"), soportes 2042a, 2042b, 2042c (conjuntamente los "soportes 2042") y un sensor 2046. En el presente documento, los soportes 2042 pueden ser bolas de montaje conectadas a los extremos libres de los brazos 2041 para proporcionar restricciones multidimensionales (por ejemplo, restricciones tridimensionales). Cuando los soportes 2042 se conectan con la bandeja, el sensor 2046 puede detectar la presencia y/o posición de la bandeja.

El mecanismo de transporte 2030 y el montaje cinemático 2040 pueden minimizar o limitar el movimiento no pretendido de la bandeja que afecta al espaciado entre las superficies superiores de los portaobjetos y los conjuntos de cabezal 2018. Un espaciado incrementado puede dar lugar a salpicaduras de líquidos, mientras que un espaciado disminuido puede dar como resultado un contacto físico entre los conjuntos de cabezal 2018 y los portaobjetos que llevan muestras. Las salpicaduras pueden dar lugar a desechos líquidos de procesamiento globales incrementados y la tinción por defecto de las muestras. Si el líquido salpicado aterriza sobre los portaobjetos contiguos, las muestras en los portaobjetos contiguos se pueden teñir inapropiadamente. Si la bandeja experimenta un significativo movimiento de cabeceo (por ejemplo, movimiento de cabeceo alrededor del eje X

ilustrado) y/o movimiento de balanceo (por ejemplo, movimiento de balanceo alrededor del eje Y ilustrado), los conjuntos de cabezal 2018 se pueden poner en contacto con y romper los portaobjetos y/o pueden desprender las muestras. El movimiento de oscilación no pretendido (por ejemplo, giro alrededor del eje Z ilustrado) de la bandeja puede afectar a las distancias (por ejemplo, distancias en el eje X y distancias en el eje Y) entre los bordes de los portaobjetos y los conjuntos de cabezal 2018, lo que puede dar como resultado que el líquido de procesamiento se dosifique directamente a la bandeja. Debido a que el volumen deseado de líquido de procesamiento no se suministra sobre los portaobjetos, las muestras se podrían teñir por defecto. El mecanismo de transporte 2030 y el montaje cinemático 2040 pueden cooperar para inhibir, limitar o sustancialmente eliminar el movimiento involuntario de la bandeja (por ejemplo, movimiento de cabeceo, movimiento de balanceo y/o movimiento de oscilación) para inhibir, limitar o prevenir uno o más de los siguientes: salpicaduras de líquidos, contacto físico entre los conjuntos de cabezal 2018 y los portaobjetos que llevan muestras, desprendimiento de las muestras y portaobjetos alineados erróneamente. Al dosificar todo (o sustancialmente todo) el líquido directamente sobre los portaobjetos, los líquidos se pueden usar eficazmente y las bandejas pueden quedar sustancialmente libres de líquido por todo el procesamiento. Como tal, los volúmenes de líquido de procesamiento usados por el módulo de equipo de tinción 2010 pueden ser significativamente menores que los volúmenes de líquido usados por equipos de tinción de portaobjetos automatizados convencionales.

La figura 16 es una vista isométrica del módulo de equipo de tinción 2010 después de que un transportador de bandejas 2052 (mostrado esquemáticamente en línea fantasma) haya colocado una bandeja 2050 sobre el montaje cinemático 2040. El transportador de bandejas 2052 puede resituar la bandeja 2050 en base a las señales del sensor 2046 (figura 15). La bandeja 2050 puede sostener portaobjetos en orientaciones sustancialmente horizontales de modo que las superficies grandes de los portaobjetos miren, en general, hacia arriba y hacia abajo. El término "sustancialmente horizontal", en general, se refiere a un ángulo dentro de aproximadamente +/- 3 grados de la horizontal, por ejemplo, dentro de aproximadamente +/- 1 grado de la horizontal, tal como dentro de aproximadamente +/- 0,8 grados de la horizontal. Sustancialmente horizontal también se refiere a intervalos de ángulos pequeños de la horizontal, por ejemplo, ángulos de entre aproximadamente 0,1 grados y 1,8 grados de la horizontal, tales como ángulos de entre aproximadamente 0,2 grados y aproximadamente 1,2 grados, por ejemplo, ángulos de entre aproximadamente 0,3 grados y aproximadamente 0,8 grados. En particular, un ángulo con superficies superiores de los portaobjetos sustancialmente horizontales en relación con un plano horizontal imaginario puede ser de entre aproximadamente 0 grados y aproximadamente 3 grados a lo largo de su eje corto, y un ángulo con respecto al plano horizontal imaginario de entre aproximadamente 0 grados y 2 grados a lo largo de su eje largo, de nuevo, mirando las superficies grandes de los portaobjetos, en general, hacia arriba y hacia abajo. La bandeja ilustrada 2050 puede sostener veinte portaobjetos, pero se muestra sosteniendo solo dos portaobjetos 2053, 2054.

La figura 17 es una vista inferior del módulo de equipo de tinción 2010 que sostiene la bandeja 2050. La bandeja 2050 puede incluir los rasgos característicos de recepción 2092a, 2092b, 2092c (conjuntamente los "rasgos característicos de recepción 2092") que se conectan con los respectivos soportes 2042a, 2042b, 2042c (figura 15). Los rasgos característicos de recepción 2092 pueden ser rasgos característicos curvados, rebajos, ranuras alargadas u otros rasgos característicos que se encajen con los soportes 2042. En el presente documento, los rasgos característicos de recepción 2092 pueden ser superficies parcialmente esféricas o muescas arqueadas a lo largo de las que los soportes 2042 se puedan deslizar para proporcionar autonivelación de la bandeja 2050, manteniendo, de este modo, la bandeja 2050 sustancialmente horizontal por todo el procedimiento.

El mecanismo de transporte 2030 puede incluir, sin limitación, uno o más motores 2088 (por ejemplo, motores de accionamiento, motores paso a paso, etc.) y un dispositivo de accionamiento 2089. El dispositivo de accionamiento 2089 puede incluir, sin limitación, carriles, carros, brazos extensibles, correas, cadenas, mecanismos de engranajes o combinaciones de los mismos para proporcionar la traslación de la bandeja 2050 a lo largo de un único eje o múltiples ejes. El mecanismo de transporte 2030 puede mover la bandeja 2050 de una posición de carga/descarga de bandeja (mostrada en las figuras 16 y 17) a una posición de procesamiento (mostrada en la figura 18) con una cámara 2080 (figura 16) del módulo de equipo de tinción 2010. Debido a los pequeños huecos entre las superficies de portaobjetos y los conjuntos de cabezal 2018, son posibles interferencias si un portaobjetos está alineado erróneamente dentro de la bandeja 2050 o si la bandeja 2050 está alineada erróneamente en el montaje cinemático 2040, y dichas interferencias pueden dar como resultado un acontecimiento de parada. En el caso de parada del módulo de equipo de tinción 2010, un usuario puede manipular manualmente el mecanismo de transporte 2030 para situar la bandeja 2050 a una posición accesible adecuada para manualmente recuperar y/o resituar la bandeja 2050.

La figura 18 muestra el módulo de equipo de tinción 2010 después de que el mecanismo de transporte 2030 haya situado la bandeja 2050, en general, por debajo del aparato dosificador 2024. La figura 19 es una vista isométrica del aparato dosificador 2024 listo para procesar portaobjetos. El aparato dosificador 2024 y la bandeja 2050 se pueden mover en direcciones ortogonales para situar con exactitud los portaobjetos en relación con las trayectorias de desplazamiento de los conjuntos de cabezal 2018. Después de procesar los portaobjetos, el aparato dosificador 2024 se puede sostener estacionario o mover mientras la bandeja 2050 se indexa en relación con los conjuntos de cabezal 2018. Se pueden procesar los siguientes cuatro portaobjetos. Este procedimiento se puede repetir hasta que se procesen todos los portaobjetos portados por la bandeja 2050.

En referencia a las figuras 19 y 20, un mecanismo de accionamiento de dosificador 2128 ("mecanismo de accionamiento 2128") puede mover el aparato de dosificación 2024 en la dirección del eje Y (es decir, una dirección paralela al eje Y ilustrado). Las trayectorias de desplazamiento de los conjuntos de cabezal 2018 se pueden alinear con los ejes largos de las guías que se extienden en la dirección del eje Y, de modo que los conjuntos de cabezal 2018 pasen a lo largo de las longitudes de los portaobjetos. En el presente documento, el mecanismo de accionamiento 2128 puede incluir, sin limitación, uno o más carriles, carros, brazos extensibles, mecanismos de engranajes o combinaciones de los mismos para proporcionar la traslación a lo largo de un único eje. En el presente documento, que incluye como se ilustra, el mecanismo de accionamiento 2128 puede incluir un motor 2131 y un dispositivo de traslación 2132. El dispositivo de traslación 2132 incluye un carril 2135 y un carro 2136 (figura 19) que se puede mover a lo largo del carril 2135. Un bastidor 2108 del aparato dosificador 2024 puede portar los conjuntos de cabezal 2018 y se acopla al carro 2136.

Los conjuntos de cabezal 2018b, 2018c pueden aplicar líquidos a portaobjetos situados debajo de una abertura 2120 en una placa 2124, y los conjuntos de cabezal 2018d, 2018a pueden aplicar líquidos a portaobjetos situados debajo de una abertura 2122 (figura 20) en la placa 2124. El mecanismo de transporte 2030 puede mover la bandeja 2050 en la dirección del eje X (es decir, una dirección paralela al eje X ilustrado como se indica por las flechas 2123, 2125 en la figura 20) para situar secuencialmente portaobjetos debajo de los conjuntos de cabezal 2018. El movimiento en un único eje de la bandeja 2050 puede facilitar la alineación lateral de los portaobjetos con los conjuntos de cabezal 2018. La figura 21 muestra los conjuntos de cabezal 2018c, 2018d situados por encima de la bandeja 2050. La figura 22A es una vista detallada del conjunto de cabezal 2018 situado por encima de un portaobjetos 2160 en una zona de procesamiento 2170. (Las mangueras y otros componentes del módulo de equipo de tinción no se muestran para evitar eclipsar los rasgos característicos en las imágenes). El conjunto de cabezal 2018 puede incluir un cabezal dosificador 2141, válvulas 2143, 2145 y tuberías 2147. La figura 22B muestra la bandeja 2050 movida para situar otro portaobjetos en la zona de procesamiento 2170.

Las figuras 23-26 son vistas de las fases de aplicación de sustancias a portaobjetos de microscopio. En general, los portaobjetos se pueden situar secuencialmente por debajo y procesarse individualmente por los conjuntos de cabezal 2018. El procesamiento de portaobjetos se analiza en conexión con un único conjunto de cabezal 2018. Sin embargo, múltiples conjuntos de cabezal 2018 pueden procesar simultánea o secuencialmente portaobjetos de forma similar. La figura 23 muestra veinte portaobjetos espaciados entre sí en dos filas. Cuando la bandeja 2050 está en orientación sustancialmente horizontal, las áreas de montaje de los portaobjetos pueden mirar hacia arriba. Sin embargo, los portaobjetos se pueden sostener en otras disposiciones y en diferentes orientaciones, si fuera necesario o deseado.

En referencia a las figuras 22A y 24, el conjunto de cabezal 2018 está listo para procesar portaobjetos en la zona de procesamiento 2170 (ilustrada en línea fantasma). Cada dosificación distribuida puede formar una película relativamente gruesa (o charco) sobre cualquier muestra en el portaobjetos 2160 (figura 22A) para incubarse en un modo deseado, tal como un modo cuasiestático. Cada dosificación, por ejemplo, puede formar un charco que tiene una conformación al menos parcialmente mantenida por la tensión de superficie. En el presente documento, el conjunto de cabezal 2018 se puede mover longitudinalmente a lo largo del portaobjetos estacionario 2160 a una velocidad en un intervalo de aproximadamente 1 pulgada/segundo a aproximadamente 15 pulgadas/segundo y se puede acelerar hasta 100 pulgadas/segundo². Se pueden usar otras velocidades para hacer coincidir el flujo de líquido/tiempos de válvula para las operaciones de dosificación o retorno. Por ejemplo, el conjunto de cabezal 2018 se puede mover de forma relativamente lenta (por ejemplo, de 1 pulgada/segundo a aproximadamente 2 pulgadas/segundo) durante las operaciones de retorno, tal como el movimiento del conjunto de cabezal 2018 a una posición de retorno. De otro modo, el conjunto de cabezal 2018 se puede mover longitudinalmente a lo largo del portaobjetos 2160 mientras el portaobjetos 2160 se mueve en la dirección X, dirección Y y/o dirección Z. Por ejemplo, el portaobjetos 2160 se puede mover en la dirección X para resituarse lateralmente periódica o continuamente el portaobjetos 2160 durante el procedimiento de dosificación.

La figura 25 muestra el conjunto de cabezal 2018 después de procesar el portaobjetos 2160. El conjunto de cabezal 2018, entonces, puede procesar una posición de portaobjetos 2210 en la zona de procesamiento 2170, y, después de procesar el portaobjetos 2210, la bandeja 2050 se puede mover en la dirección X (indicada por la flecha 2192) para mover los portaobjetos 2270, 2271 a la zona de procesamiento 2170. En el presente documento, se puede producir el movimiento de bandejas después de que el movimiento en el eje Y del conjunto de cabezal 2018 se haya iniciado o completado para minimizar la posibilidad de impactos con interferencia y/o potenciar el rendimiento del sistema. El conjunto de cabezal 2018 se puede mover a una posición "segura" para proporcionar puntos de interferencia que están espaciados de la trayectoria de la bandeja 2050, que se puede mover a una velocidad seleccionada para mantener los tiempos de procesamiento lo más bajos posible sin comprometer la distribución de líquido controlada. Por ejemplo, la bandeja 2050 se puede mover a una velocidad en un intervalo de aproximadamente 5 pulgadas/segundo a aproximadamente 6 pulgadas/segundo. Se pueden usar otras velocidades, si fuera necesario o deseado. Las figuras 22B y 26 muestran uno de los conjuntos de cabezal 2018 listo para procesar el portaobjetos 2270. Se muestra un charco 2240 dosificado sobre una superficie del portaobjetos 2160. Cada uno de los conjuntos de cabezal 2018 puede procesar secuencialmente los portaobjetos dentro de un cuadrante dado. En el presente documento, la bandeja 2050 se puede mover durante el procedimiento

de dosificación. Por ejemplo, las bandejas 2050 se pueden mover en relación con el conjunto de cabezal 2018 mientras el conjunto de cabezal 2018 dosifica líquido para formar, por ejemplo, charcos conformados en zigzag (como se ve desde arriba), charcos serpenteantes u otros charcos conformados. El movimiento de la bandeja 2050 y el conjunto de cabezal 2018 se pueden coordinar para producir una amplia gama de charcos conformados diferentes.

La figura 27 es una vista del módulo de equipo de tinción 2010 tomada a lo largo de la línea 27-27 de la figura 21 con la bandeja no mostrada. La figura 28 es una vista en sección transversal de un colector de líquido 2300 tomada a lo largo de la línea 28-28 de la figura 27 y una vista frontal de dos conjuntos de cabezal 2018d, 2018c. En referencia ahora a la figura 27, el colector de líquido 2300 puede ser una bandeja o plato con los depósitos 2310a, 2310b, 2310c, 2310d (conjuntamente los "depósitos 2310") espaciados situados para recoger líquido de los conjuntos de cabezal 2018a, 2018b, 2018c, 2018d, respectivamente. La descripción de un depósito 2310 se aplica igualmente a los demás depósitos 2310, a menos que se indique de otro modo.

En referencia ahora a la figura 28, el depósito 2310d puede incluir un drenaje 2314 y una superficie en pendiente 2330 para dirigir líquido al drenaje 2314. El drenaje 2314 se puede acoplar de forma fluidica a un módulo para desechos (o recipiente para desechos) u otro componente por una o más tuberías. El líquido se puede drenar continua o periódicamente del depósito 2310d. En el presente documento, el depósito 2310d puede tener una conformación cónica. De otro modo, el depósito 2310d puede tener una conformación frustocónica, pero el depósito 2310d puede tener otras configuraciones. Los conjuntos de cabezal 2018 pueden dosificar líquido directamente en los depósitos 2310 para realizar, por ejemplo, ciclos de purga/cebado.

Las figuras 29A-29B muestran las fases de un ciclo de purga/cebado. En general, los conjuntos de conjuntos de cabezal 2018 pueden dosificar secuencialmente líquido directamente en los depósitos 2310. Cuando la bandeja 2050 se sitúa para exponer aproximadamente la mitad de los depósitos 2310, un par de conjuntos de cabezal 2018 puede dosificar líquido en los depósitos 2310 expuestos. La bandeja 2050 se puede mover para exponer la otra mitad de los depósitos 2310. Otro par de conjuntos de cabezal 2018 puede dosificar líquido en esos depósitos 2310 expuestos. Los conjuntos de cabezal 2018 pueden dosificar secuencialmente líquido mientras la bandeja 2050 se sitúa dentro del módulo de equipo de tinción 2010 para minimizar, limitar o evitar los tiempos fuera de línea, la manipulación en exceso y/o traspasos de bandejas. Como tal, se puede mantener un alto nivel de rendimiento, incluso si se realiza un gran número de ciclos de purga/cebado. Adicionalmente, se pueden evitar los problemas de transporte provocados al transportar de forma repetida bandejas dentro y fuera del módulo de equipo de tinción. En un procedimiento de purga, los depósitos 2310 pueden recoger chorros de líquido de los conjuntos de cabezal 2018 producidos cuando se bombea líquido a través de los cabezales dosificadores 2141 para limpiar cualquier burbuja de aire de los pasos internos. En un procedimiento de cebado, los depósitos 2310 pueden recoger cualquier líquido en exceso cuando rebosan los conjuntos de cabezal 2018 con líquido de procesamiento que se va a dosificar. Después de realizar el procedimiento de purga/cebado, la bandeja 2050 se puede retornar a la posición de procesamiento de portaobjetos para situar portaobjetos por debajo de cada uno de los conjuntos de cabezal.

Las figuras 29A y 29B muestran la bandeja 2050 en una posición de procesamiento de portaobjetos. En referencia a la figura 29B, se puede suministrar líquido de procesamiento sobre cuatro portaobjetos mientras la bandeja 2050 obstruye un conjunto de trayectorias de suministro 2380 verticales del conjunto de cabezal 2018d y obstruye un conjunto de trayectorias de suministro 2382 verticales del conjunto de cabezal 2018c. Aunque las trayectorias de suministro 2380 se ilustran como una única línea discontinua, cada trayectoria de suministro 2380 se puede extender de una boquilla de los conjuntos de cabezal 2018 a uno de los depósitos 2310. La bandeja 2050 puede recoger líquido dosificado que no se recoge por los portaobjetos. Por ejemplo, la bandeja 2050 puede recoger líquido que cae de los portaobjetos o gotas que caen de los conjuntos de cabezal 2018 (por ejemplo, gotas que caen mientras la bandeja 2050 se mueve para indexar los portaobjetos).

La bandeja 2050 se puede mover de la posición de procesamiento de portaobjetos (figuras 29A y 29B) a una posición de purga/cebado 2404 (figuras 30A y 30B) para desobstruir las trayectorias de suministro 2380. Los conjuntos de cabezal 2018d, 2018a (el conjunto de cabezal 2018a está detrás del conjunto de cabezal 2018d en la figura 30B) pueden emitir líquido a lo largo de las trayectorias de suministro 2380 desobstruidas. Los depósitos 2310a (figura 30A), 2310d pueden recoger el líquido. La bandeja 2050 se puede mover de la posición de purga/cebado 2404 (figuras 30A y 30B) a otra posición de purga/cebado 2410 (figuras 31A y 31B) para desobstruir el conjunto de trayectorias de suministro 2382 verticales. Los conjuntos de cabezal 2018b, 2018c pueden realizar un ciclo de purga/cebado (los conjuntos de cabezal 2018b están detrás del conjunto de cabezal 2018c en la figura 31B). En el presente documento, se pueden suministrar chorros de líquido de procesamiento a lo largo de las trayectorias de suministro 2382 verticales.

Ejemplos seleccionados de dosificación de líquidos en equipos de tinción

La figura 32 es una vista isométrica de un aparato dosificador 3024. El aparato dosificador 3024 puede proporcionar suministro de líquido presurizado controlado por válvula y movimientos controlados de los conjuntos de cabezal o de distribuidor 3018a, 3018b, 3018c, 3018d (conjuntamente los "conjuntos de cabezal 3018"). Un sistema de

manipulación de líquido 3013 puede suministrar líquido al aparato dosificador 3024 y puede incluir, sin limitación, una fuente de líquido 3014 y un sistema de transporte de líquido 3015 que incluye conductos u otros elementos de transporte de líquido adecuados. Un controlador 3017 puede enviar órdenes al aparato dosificador 3024 para que dosifique y distribuya líquidos accionados por protocolo sobre zonas de procesamiento (es decir, áreas de tinción de muestras de una bandeja). Se puede lograr la distribución de líquido controlada, por ejemplo, humedeciendo áreas de etiqueta de portaobjetos de microscopio con sustancias hidrófobas fluidizables (por ejemplo, para crear barreras en áreas de etiqueta de los portaobjetos), empleando velocidades de salida de líquido específicas (por ejemplo, velocidades de salida de líquido que no goteen), dosificando volúmenes específicos de líquido (por ejemplo, volúmenes de líquido menores de un límite de volumen superior), moviendo una bandeja a velocidades y aceleraciones objetivo, dosificando en localizaciones de dosificación apropiadas a lo largo de los portaobjetos y/o dosificando desde alturas de dosificación objetivo (por ejemplo, alturas adecuadas para minimizar o limitar las salpicaduras, los chapoteos, rebotes de líquido, etc.).

El conjunto de cabezal 3018a se puede mover en una dirección sustancialmente paralela a un eje longitudinal 3021 del portaobjetos 3020 sostenido por una bandeja (no mostrada) mientras el conjunto de cabezal 3018a dosifica líquido. La figura 33 es una vista lateral del conjunto de cabezal 3018a con un mecanismo de dosificación de líquidos 3019 ("mecanismo dosificador 3019") que dosifica líquido 3030 para formar una película de grosor abierto que cubre una muestra 3034 localizada en una superficie superior 3044 del portaobjetos 3020. El mecanismo dosificador 3019 puede incluir un cabezal dosificador 3141, las series de boquillas 3052, 3054 y distribuidores compartidos dentro del cabezal dosificador 3141. Una tubería 3059 del sistema de transporte de líquido 3015 puede suministrar líquido de una fuente de líquido 3058 (por ejemplo, múltiples recipientes que portan respectivamente líquidos de procesamiento) al mecanismo dosificador 3019. El líquido fluye a través del cabezal dosificador 3141 y sale por medio de las boquillas 3052. La figura 33A muestra un extremo plano o no biselado de la boquilla 3052 a través de la que fluye el chorro de líquido. Una tubería 3063 de la figura 33 puede suministrar líquido de una fuente de líquido 3062 al mecanismo dosificador 3019. El líquido fluye a través del cabezal dosificador 3141 y sale por medio de las boquillas 3054. En el presente documento, el cabezal dosificador 3141 puede tener un distribuidor compartido interno compuesto por dos distribuidores separados, cada uno compartido por múltiples líquidos para aislar líquidos incompatibles para prevenir interacciones de líquidos indeseables. En el presente documento, un distribuidor puede compartir hasta cuatro líquidos compatibles que se dosifican secuencialmente por medio de las boquillas 3052 y el otro distribuidor comparte hasta cuatro líquidos compatibles que se dosifican secuencialmente por medio de las boquillas 3054.

Las figuras 34 y 35 son vistas isométrica e inferior, respectivamente, del conjunto de cabezal 3018a. La descripción de la serie de boquillas 3052 se aplica igualmente a la serie de boquillas 3054, salvo que se indique de otro modo. En referencia a la figura 35, la serie de boquillas 3052 puede ser una fila que se extiende a lo ancho (borde de portaobjetos con borde de portaobjetos) en relación con las localizaciones de las muestras a lo largo del portaobjetos 3020 (ilustrado en línea fantasma) de modo que la serie de boquillas 3052, en general, esté alineada con un ancho W del portaobjetos de microscopio 3020. Las boquillas 3052 pueden estar espaciadas de forma uniforme o no uniforme en una dirección (indicada por la flecha 3060) que, en general, es paralela al ancho W del portaobjetos. Un ángulo, si lo hay, definido por la dirección del espaciado y el ancho W del portaobjetos puede ser menor de aproximadamente 5 grados, 3 grados o 2 grados. Una longitud L de la serie de boquillas 3052 puede ser menor que el ancho W del portaobjetos de modo que todos los chorros de líquido se dirijan hacia la superficie superior 3044 del portaobjetos 3020. En el presente documento, la longitud L de la serie puede ser de aproximadamente un 70 %, 80 %, 90 % o 95 % del ancho W del portaobjetos. Sin embargo, se pueden usar otras longitudes de la serie para dirigir los chorros de líquido hacia una región interior del portaobjetos 3020 para mantener el líquido espaciado de los bordes del portaobjetos 3020. Si el líquido dosificado alcanza una posición cerca de los bordes del portaobjetos 3020 (por ejemplo, de hasta aproximadamente 0,05 pulgadas del borde del portaobjetos 3020), la tensión de superficie puede ayudar a evitar que el líquido caiga del portaobjetos 3020. Las boquillas 3052 están espaciadas en una disposición, en general, lineal. De otro modo, las boquillas 3052 pueden estar espaciadas en una disposición conformada en U, disposición conformada en V, disposición de dientes de sierra (por ejemplo, con boquillas 3052 de diferentes tamaños) u otra disposición adecuada con cualquier número deseado de boquillas 3052 y cualquier geometría de boquilla deseada.

Las figuras 36-38 muestran las fases de dosificación de líquidos. En general, el mecanismo dosificador 3019 puede suministrar líquido a una velocidad de salida de líquido antisalpicaduras para minimizar o limitar las salpicaduras para evitar el procesamiento erróneo de los portaobjetos de microscopio que portan muestras cercanos. En los procedimientos de dosificación de "pintura", el mecanismo dosificador 3019 puede producir líneas continuas e ininterrumpidas de líquido en la superficie superior 3044. En los procedimientos de dosificación en "múltiples etapas", el líquido se puede dosificar en ráfagas cortas en localizaciones objetivo específicas a lo largo del portaobjetos 3020. Las tuberías de líquido o volúmenes discretos se pueden extender a lo largo de la superficie superior 3044 para cubrir la muestra 3034 con líquido. En el presente documento, el líquido dosificado puede formar una matriz de volúmenes de líquido o carriles de volúmenes de líquido que se pueden transformar dinámicamente en una película consolidada (por ejemplo, una película gruesa o un charco). Debido a que las posiciones de dosificación relativas a la longitud del portaobjetos 3020 pueden variar entre líquidos, las posiciones de dosificación longitudinales se pueden seleccionar en base a características del líquido individuales, así como la variabilidad de las dimensiones de los portaobjetos y la colocación de los portaobjetos (por ejemplo, colocación de

portaobjetos en el portador de portaobjetos/bandeja).

Las figuras 36 y 36A muestran las boquillas 3052 localizadas por encima de un área de etiqueta del portaobjetos 3020. En referencia a la figura 36A, las boquillas 3052 están orientadas verticalmente para definir una trayectoria de flujo 3102 que es sustancialmente perpendicular a la superficie superior 3044 del portaobjetos 3020. El término "sustancialmente perpendicular", en general, se refiere a un ángulo dentro de aproximadamente +/- 5 grados de 90 grados. Por ejemplo, un ángulo α definido por la trayectoria de flujo 3102 y la superficie superior 3044 puede estar dentro de aproximadamente +/- 5 grados de 90 grados, tal como dentro de aproximadamente +/- 3 grados de 90 grados. Si el portaobjetos 3020 es horizontal, la trayectoria de flujo 3102 puede estar en una orientación sustancialmente vertical. El término "sustancialmente vertical", en general, se refiere a intervalos de pequeños ángulos de la vertical, por ejemplo, ángulos de entre aproximadamente 0 grados y 3 grados de la vertical, tales como ángulos de menos de aproximadamente 2 grados de la vertical, por ejemplo, ángulos de menos de 1 grado de la vertical. La orientación de las boquillas 3052 se puede seleccionar en base a la interacción de líquidos deseada con el líquido en el portaobjetos 3020. A modo de ejemplo, las boquillas 3052 pueden estar en orientaciones no verticales, por ejemplo, para producir chorros de líquido que empujan líquido a lo largo del portaobjetos 3020. En el presente documento, las boquillas 3052 pueden estar en orientaciones sustancialmente verticales, y las boquillas 3054 pueden estar en orientaciones no verticales.

La figura 36 muestra un retenedor para portaobjetos 3110 ("retenedor 3110") de una bandeja (no mostrada) que sostiene el portaobjetos 3020. Si el líquido se pone en contacto con el retenedor 3110, el líquido puede tender a absorberse a lo largo del retenedor 3110. Esta absorción puede reducir el líquido disponible para el procesamiento de muestras y/o provocar la formación de residuos líquidos indeseables. Las reducciones de líquido disponible para el procesamiento de muestras debidas a la absorción pueden ser relativamente imprecisas y pueden afectar de forma adversa a la precisión del procesamiento de muestras. Para evitar la absorción, el mecanismo dosificador 3019 puede dosificar líquido 3030a sobre la etiqueta 3026 para formar una barrera que evite que el líquido dosificado posteriormente se ponga en contacto con el retenedor 3110. El líquido 3030a puede comprender, sin limitación, sustancias hidrófobas, cera, líquido de desparafinación u otras sustancias adecuadas. El líquido 3030a se puede seleccionar para repeler de forma hidrófoba los líquidos acuosos dosificados más tarde. La barrera puede ser temporal, evaporándose finalmente el residuo del líquido 3030a. De forma alternativa, el líquido 3030a se puede seleccionar para solidificarse y formar una barrera física después de dosificarse.

La figura 37 muestra una barrera 3104 compuesta por el líquido 3030a. La barrera 3104 cubre un borde 3116 de la etiqueta 3026 y se puede extender a lo largo de la mayor parte del ancho W_L (figura 32) de la etiqueta 3026. En el presente documento, la barrera 3104 se puede extender a lo largo de la mayor parte del ancho W_L . Por ejemplo, la barrera 3104 se puede extender a lo largo de al menos aproximadamente un 70 %, 80 %, 90 % o 95 % del ancho W_L . En el presente documento, toda la etiqueta 3026 puede estar cubierta por la barrera 3104. La etiqueta 3026 puede incluir un código legible por máquina (tal como un código de barras o infoglifo uni o multidimensional, una etiqueta RFID, una red de difracción de Bragg, una banda magnética o un nano código de barras) con instrucciones codificadas que especifican el tipo, la secuencia y el momento del/de los líquido(s) suministrado(s) para el tratamiento de una muestra particular. En el presente documento, la etiqueta 3026 puede ser una etiqueta de código de barras adherida a la superficie superior 3044.

El mecanismo dosificador 3019 puede dosificar líquido 3030b (por ejemplo, reactivo de tinción) a una velocidad de salida (es decir, una velocidad de salida antisalpicaduras) que sea menor que una velocidad de salida con salpicaduras a la que el líquido 3030b tendería a salpicar una película o charco de líquido al menos parcialmente soportado en la superficie superior 3044 por la tensión de superficie. En el presente documento, se puede suministrar el líquido 3030b a una velocidad de salida antisalpicaduras mayor de 50 cm/segundo, mayor de 57 cm/segundo, dentro de un intervalo de 50 cm/segundo a 60 cm/segundo, dentro de un intervalo de 54 cm/segundo a 57 cm/segundo, por encima de otro umbral adecuado o dentro de otro intervalo adecuado. El caudal volumétrico correspondiente puede ser, por ejemplo, de 0,9 a 1,4 ml/segundo, tal como de 1,1 a 1,2 ml/segundo. En el presente documento, se pueden aplicar 100 μ l a 1500 μ l de líquido 3030b a la superficie superior 3044 en menos de aproximadamente 5 segundos sin ninguna salpicadura. En el presente documento, se pueden suministrar 100 μ l de líquido 3030b sobre la superficie superior 3044 en menos de aproximadamente 0,1 segundos y se pueden suministrar 1500 μ l del líquido 3030b sobre la superficie superior 3044 en menos de aproximadamente 1,5 segundos. Al minimizar o limitar las salpicaduras, sustancialmente todo el líquido dosificado 3030b se recoge en la superficie superior 3044. Por ejemplo, al menos aproximadamente un 90 % (por ejemplo, al menos aproximadamente un 99 %) en volumen del líquido dosificado 3030b se puede recoger en la superficie superior 3044. Por tanto, menos de aproximadamente un 10 % (por ejemplo, menos de aproximadamente un 1 %) en volumen del líquido dosificado 3030b cae en la bandeja o salpica sobre los portaobjetos contiguos. En particular, de aproximadamente un 99 % a aproximadamente un 99,9 % o un 100 % en volumen del líquido dosificado 3030b se puede recoger en la superficie superior 3044.

Adicionalmente o de forma alternativa, el líquido 3030b se puede suministrar a una velocidad de salida de líquido mayor que la velocidad de salida de líquido trampolín. La velocidad de salida de líquido trampolín es un caudal en el que al menos una parte significativa del chorro 3130 tendería a rebotar de una superficie 3122 de la película o charco en el portaobjetos 3020. La velocidad de salida del chorro 3130 puede ser lo suficientemente alta como

para evitar los efectos trampolín, pero lo suficientemente baja como para evitar salpicaduras apreciables. En el presente documento, el líquido 3030b puede salir de las boquillas 3052, con diámetros interiores de aproximadamente 0,24 pulgadas (0,6 mm), a una velocidad de flujo en un intervalo de aproximadamente 55 cm/segundo a aproximadamente 60 cm/segundo. En el presente documento, el líquido 3030b puede salir de las boquillas 3052 a una velocidad de flujo igual a aproximadamente 57 cm/segundo. La velocidad de salida del chorro 3130 se puede seleccionar, por ejemplo, en base al número de boquillas, diámetros interiores de las boquillas, presiones de líquido, orientación de las boquillas, altura de las boquillas, características del líquido 3030b (por ejemplo, viscosidad, densidad, tensión de superficie, etc.), características de la superficie del portaobjetos 3020 y/o características ambientales (por ejemplo, flujo de aire circundante, temperatura, humedad, etc.). En el presente documento, al menos una boquilla 3052 puede estar espaciada de la superficie superior del portaobjetos de microscopio en una distancia en un intervalo de aproximadamente 5 mm a aproximadamente 10 mm.

La figura 38 muestra las boquillas 3052 dosificando el líquido 3030b sobre una parte de extremo 3150 del portaobjetos 3020 y una película de líquido 3030b cubriendo la mayor parte de la longitud longitudinal de un área de procesamiento 3098 (figura 32), tal como una región de montaje o un área de tinción. La velocidad del mecanismo dosificador 3019, la trayectoria del mecanismo dosificador 3019, el caudal volumétrico de líquido y/o el momento de dosificación se pueden seleccionar en base a la cobertura de líquido deseada. El mecanismo dosificador 3019 se puede mover hacia adelante y hacia atrás a lo largo del portaobjetos 3020 mientras que dosifica líquido continuo o periódicamente para mantener la cobertura deseada. En dichos procedimientos, los chorros de líquido dosificados se pueden combinar con una película o charco tras el contacto.

El procedimiento de las figuras 36-38 se puede usar para dosificar una amplia gama de líquidos. Al sobrehumedecer de forma voluntaria con líquido de desparafinación (u otro líquido hidrófobo oleoso), se puede dosificar un volumen suficiente de líquido de desparafinación en el área de procesamiento 3098 (figura 32) para proporcionar una extensión de líquido apropiada, por ejemplo, para crear la barrera 3104 (figuras 37 y 38) para mitigar la absorción de líquido involuntaria a lo largo del retenedor 3110 (figura 36). Se pueden dosificar volúmenes de líquido de desparafinación relativamente grandes (por ejemplo, 0,92 ml (+11 %/-11 %)) para la humectación inicial del área de etiqueta y de tejido, y el siguiente volumen de desparafinación más grande (por ejemplo, 0,58 ml (+20 %/-20 %)) se puede usar para segundas dosificaciones (incluyendo dosificaciones de desparafinación clave), y se pueden usar volúmenes de desparafinación relativamente pequeños (por ejemplo, 0,44 ml (+59 %/-62 %)) para dosificaciones de desparafinación adicionales. Se pueden dosificar otros volúmenes de líquidos de desparafinación en otras secuencias. Se puede dosificar líquido de acondicionamiento (por ejemplo, líquido de transferencia o puente) para mantener un grosor de líquido cinético mínimo por encima de la muestra 3034, pero el volumen de líquido de acondicionamiento puede ser lo suficientemente bajo como para prevenir que se extienda al área de etiqueta, lo que puede afectar a la barrera 3104. En el presente documento, el líquido de acondicionamiento que comprende éter di(propilenglicol)propílico se puede suministrar con una velocidad de salida de líquido igual a aproximadamente 54 cm/segundo para dosificar un volumen de aproximadamente 0,4 ml (+50 %/-50 %). En el presente documento, el líquido de lavado se puede suministrar con una velocidad de salida de líquido igual a aproximadamente 57 cm/segundo para dosificar un volumen de aproximadamente 1,0 ml (+10 %/-10 %), 0,9 ml (+22 %/-22 %) o 1,1 ml (+10 %/-10 %). La velocidad de salida de líquido del reactivo de tinción (por ejemplo, reactivo de hematoxilina) puede ser igual a aproximadamente 57 cm/segundo para dosificar un volumen de aproximadamente 1,05 ml (+14/-14 %). La velocidad de salida de líquido del reactivo fijador de tinción puede ser igual a aproximadamente 57 cm/segundo para dosificar un volumen de aproximadamente 1,2 ml (+16/-16 %). La velocidad de salida de líquido del reactivo de contratinción (por ejemplo, reactivo de eosina) puede ser igual a aproximadamente 57 cm/segundo para dosificar un volumen de aproximadamente 1,35 ml (+11/-11 %). Se pueden seleccionar otras velocidades de salida de líquido en base a, por ejemplo, las características del líquido, el espaciado entre los portaobjetos, los volúmenes de procesamiento objetivo, los tiempos de dosificación objetivo, los tiempos de procesamiento objetivo y/u otros parámetros de procesamiento.

Se pueden registrar localizaciones de dosificación, tanto a lo largo de la longitud como del ancho del portaobjetos, con respecto a límites de portaobjetos particulares, para lograr la cobertura deseada (por ejemplo, cobertura de líquido completa y uniforme del área de procesamiento) mientras se limita o previene el contacto involuntario con el líquido. El ancho del conjunto de cabezal 3018, el número de boquillas (por ejemplo, el número de boquillas 3052, el número de boquillas 3054, etc.), el espaciado entre las boquillas (por ejemplo, el espaciado entre las boquillas 3052, 3054), los movimientos de bandejas y los volúmenes de dosificación se pueden seleccionar para acomodar la capacidad de extensión del volumen dosificado y las tolerancias posicionales que sufren un impacto por la manipulación de bandejas. En general, tanto las rutinas de dosificación de "pintura" como las rutinas de dosificación en "múltiples etapas" pueden lograr una cobertura de líquido de toda el área de procesamiento (o de al menos aproximadamente un 90 %, 95 % o 100 % del área del área de procesamiento 3098 de la figura 32), pero las dosificaciones de pintura pueden tener menos posibilidad de chapoteo que las dosificaciones en múltiples etapas. Esto se debe a que los dosificadores de pintura pueden tener interrupciones limitadas en el flujo de líquido entre las boquillas y el líquido dosificado. Las dosificaciones de pintura también pueden reducir o limitar los tiempos de procesamiento debidos al movimiento a velocidad relativamente alta coordinado de los conjuntos de cabezal 3018. A diferencia de las dosificaciones de pintura que se basan en caudales de líquido/sincronización de las válvulas que se hacen coincidir con el movimiento del conjunto de cabezal 3018, las dosificaciones en múltiples etapas pueden depender de múltiples dosificaciones con tiempos de válvula relativamente cortos y, en general, se

pueden implementar independientemente de la velocidad de movimiento del conjunto de cabezal 3018. Para la tinción con hematoxilina y eosina, se pueden usar tanto rutinas de dosificación de pintura como en múltiples etapas para promover una calidad de la tinción uniforme y consistente. La dosificación en múltiples etapas y el movimiento de líquido asistido (por ejemplo, movimiento de líquido asistido por cuchilla de aire) pueden potenciar el enjuague (por ejemplo, enjuague después de aplicar hematoxilina). El tiempo total para lograr la dosificación y retirada de líquidos puede tener un impacto en la capacidad de lograr un tiempo de procesamiento global deseado, así como la capacidad de soportar tiempos de incubación cortos (por ejemplo, 2 minutos, 1 minuto, 30 segundos, 20 segundos, etc.). El procedimiento de dosificación analizado en conexión con las figuras 36-38 se puede modificar para reducir los tiempos de procesamiento. Por ejemplo, la muestra 3034 se puede procesar sin utilizar el líquido 3030a analizado en conexión con las figuras 36 y 37. El mecanismo dosificador 3019 puede dosificar inicialmente líquido 3030b (figura 37) sobre una región de la superficie superior 3044 espaciada de la etiqueta 3026 para prevenir el contacto físico entre la etiqueta 3026 (o retenedor 3110) y el líquido 3030b.

En referencia, de nuevo, a la figura 32, el controlador 3017 puede contener instrucciones para enviar órdenes a los cuatro conjuntos de cabezal 3018 para procesar hasta cuatro portaobjetos en paralelo usando, sin limitación, rutinas de dosificación de etiqueta a extremo (analizadas con respecto a la figura 36), rutinas de dosificación de extremo a etiqueta, rutinas de dosificación de extremo a etiqueta a centro u otras rutinas de dosificación. En las rutinas de dosificación de extremo a etiqueta, se puede aplicar líquido a toda la longitud del portaobjetos 3020. En las rutinas de dosificación de extremo a etiqueta a centro, se puede suministrar líquido mientras se mueve el conjunto de cabezal 3018 a lo largo de toda la longitud del portaobjetos 3020. Después de que se aplica líquido a lo largo de la longitud del portaobjetos 3020, el conjunto de cabezal 3018 se puede mover de vuelta al centro del portaobjetos mientras continúa dosificando líquido. El controlador 3017 puede ajustar el procesamiento en base a una o más señales de sensores que detectan el desbordamiento de un colector de líquido (por ejemplo, una bandeja de purga o un plato de purga) o bien bandeja de portaobjetos, así como sensores que pueden detectar, sin limitación, una velocidad de flujo inadecuado (por ejemplo, velocidad de flujo bajo debida a la contaminación), bloqueos en las boquillas, cambios en la sincronización de las válvulas (por ejemplo, sincronización de las válvulas que puede afectar a la fiabilidad de procesamiento), absorción a lo largo de los rasgos característicos de retención de portaobjetos (por ejemplo, el retenedor 3110, bridas o pies de una bandeja), contaminación (por ejemplo, contaminación en superficie de portaobjetos no nominal) y/o la incapacidad del módulo de equipo de tinción para retirar burbujas/bolsas de aire a lo largo de las trayectorias de flujo usando, por ejemplo, rutinas de dosificación, tales como ciclos de purga, ciclos de cebado, combinaciones de los mismos (por ejemplo, ciclos de purga/cebado). En el caso de parada del módulo de equipo de tinción 3010 o la parada de desbordamiento de líquido, todas las válvulas de dosificación de líquidos de los conjuntos de cabezal 3018 se pueden apagar.

El módulo de equipo de tinción 3010 puede procesar bandejas independientemente del contenido posicional de los portaobjetos dentro de las bandejas. El controlador 3017 puede ejecutar instrucciones para mover los conjuntos de cabezal 3018 independientemente de si un portaobjetos está por debajo del conjunto de cabezal 3018. Se pueden realizar movimientos y retrasos para dosificar y retirar líquidos en todas las posiciones de portaobjetos para un procesamiento consistente entre las bandejas. Sin embargo, el módulo de equipo de tinción 3010 solo dosifica líquido en las posiciones de portaobjetos en las que se sitúa un portaobjetos. Por tanto, los tiempos de procesamiento para bandejas llenas (es decir, bandejas completamente llenas de portaobjetos de microscopio) pueden ser los mismos que los tiempos de procesamiento para bandejas parcialmente llenas.

El aparato dosificador 3024 puede tener conjuntos de cabezal con diferentes configuraciones. Las figuras 39-48C muestran el conjunto de cabezal 3018 y sus componentes y funcionalidad. Las válvulas y los componentes líquidos se analizan, en general, en conexión con las figuras 39-41. Los distribuidores y los rasgos característicos de vacío se analizan, en general, en conexión con las figuras 42A-48C. Las figuras 49-53 muestran otro conjunto de cabezal y sus componentes y funcionalidad. Un experto en la técnica pertinente entenderá que el módulo de equipo de tinción 3010 puede tener otros conjuntos de cabezal sin varios de los rasgos característicos descritos a continuación con referencia a las figuras 39-53.

En referencia ahora a las figuras 39-41 juntas, el conjunto de cabezal 3018 puede incluir una serie de tuberías 3160a, 3160b, 3160c, 3160d (conjuntamente las "tuberías 3160") y una serie de tuberías 3162a, 3162b, 3162c, 3162d (conjuntamente las "tuberías 3162"). Las tuberías 3160, 3162 pueden incluir uno o más elementos de flujo que facilitan la dosificación de líquidos controlada. Dichos elementos de flujo pueden ser orificios configurados para producir presiones de líquido, en general, uniformes dentro del cabezal dosificador 3141. En el presente documento, los orificios se pueden configurar para inducir la mayor parte de la caída de presión (por ejemplo, al menos aproximadamente un 80 % de una caída de presión total) a lo largo de la tubería respectiva en una localización para minimizar o limitar la variación de presión, si la hay, inducida de otra geometría del sistema (por ejemplo, longitudes de tubos, elevación, accesorios, válvulas, etc.) lo que da como resultado una dosificación de líquidos controlada/con poca variación. En el presente documento, los orificios pueden incluir un orificio de joya y una carcasa que contiene el orificio de joya. El orificio de joya puede ser un orificio de rubí que tenga una abertura con un diámetro interior de aproximadamente 0,18 pulgadas (0,3046 mm). También se pueden usar otros orificios con diferentes configuraciones y diámetros.

El conjunto de cabezal 3018 puede incluir las válvulas 3170a, 3170b, 3170c, 3170d (conjuntamente las "válvulas

3170") y las válvulas 3172a, 3172b, 3172c, 3172d (conjuntamente las "válvulas 3172") que están alternadas para permitir una densidad de direccionamiento incrementada en el cabezal dosificador 3141, pero se pueden usar otras disposiciones de montaje. Las configuraciones de las válvulas 3170, 3172 se pueden seleccionar en base a, por ejemplo, la compatibilidad de los materiales, las presiones de funcionamiento, los tiempos de respuesta objetivo, etc. Al montar las válvulas 3170, 3172 directamente en el cabezal dosificador 3141, se pueden reducir o evitar las caídas provocadas por la acción de "bombeo" del movimiento del conjunto de cabezal 3018. Las válvulas 3170, 3172 se pueden hacer funcionar para dosificar líquido a velocidades de salida apropiadas y para cebar las boquillas 3052, 3054 antes de dosificarse sobre el portaobjetos. Se pueden realizar ciclos de purga/cebado periódicos para mitigar la oclusión/taponamiento de la boquilla provocada, por ejemplo, por precipitado de hematoxilina o sales de tinción azuladas. En un estado de dosificación de líquidos único, el conjunto de cabezal 3018 puede dosificar líquido de procesamiento de solo una de las tuberías 3160, 3162. Por ejemplo, la válvula 3170a puede estar en un estado abierto para dosificar líquido de procesamiento de la tubería 3160a mientras las válvulas 3170b, 3170c, 3170d y las válvulas 3172 están en estados cerrados. Después de dosificar el líquido de procesamiento, la válvula 3170a se puede conmutar del estado abierto a un estado cerrado, y una de las válvulas 3170b, 3170c, 3170d se puede conmutar del estado cerrado a un estado abierto para dosificar otro líquido. En un estado de dosificación de líquidos mixto, dos o más válvulas (por ejemplo, dos o más válvulas 3170 o dos o más válvulas 3172) pueden estar en estados abiertos para suministrar múltiples líquidos en un único distribuidor en el que se mezclan los líquidos. La mezcla puede fluir fuera del distribuidor y del conjunto de cabezal 3018. En algunas rutinas de tinción, el conjunto de cabezal 3018 puede conmutar entre estados de dosificación de líquidos únicos y estados de dosificación de líquidos mixtos.

La figura 42A es una vista en sección transversal del conjunto de cabezal 3018 tomada a lo largo de la línea 42A-42A de la figura 41. El conjunto de cabezal 3018 incluye un distribuidor 3166 para distribuir líquido de las tuberías 3160 a las boquillas 3052 y un distribuidor 3164 para distribuir líquido de las tuberías 3162 a las boquillas 3054. Los líquidos suministrados a través de las tuberías 3160 pueden ser incompatibles con los líquidos suministrados a través de las tuberías 3162. Los dos distribuidores 3164, 3166 pueden separar físicamente líquidos que tienen una alta posibilidad de interacciones indeseables. Si el reactivo fijador de tinción (por ejemplo, azulado) y hematoxilina se ponen en contacto entre sí, la hematoxilina, incluso a concentraciones relativamente bajas, puede precipitar y ocluir o taponar las boquillas. Si el reactivo fijador de tinción se pone en contacto con determinados líquidos de lavado o de acondicionamiento, pueden existir artefactos de tinción no pretendidos. Para evitar estos problemas, el reactivo fijador de tinción puede fluir a través del distribuidor 3166 y el reactivo de hematoxilina, líquido de lavado y líquido de acondicionamiento pueden fluir a través del distribuidor 3164. La asignación de líquidos (por ejemplo, líquido de desparafinación, líquido de acondicionamiento, líquido de lavado y reactivo de hematoxilina que comparten un distribuidor, mientras que el reactivo de eosina, reactivo fijador de tinción y reactivo diferenciador de tinción comparten otro distribuidor) no solo mantiene los líquidos apropiados separados entre sí, sino que también puede permitir un intercambio de líquidos eficaz. El líquido de acondicionamiento, líquido de desparafinación, líquido de lavado y reactivo de hematoxilina se pueden suministrar a través de las tuberías 3162a, 3162b, 3162c, 3162d, respectivamente. El reactivo fijador de tinción, reactivo de eosina, líquido de lavado (por ejemplo, líquido de lavado compatible con azulado) y reactivo diferenciador de tinción (por ejemplo, lavado ácido) se pueden suministrar a través de las tuberías 3160a, 3160b, 3160c, 3160d, respectivamente. Se pueden seleccionar otras asignaciones de líquidos a las tuberías 3160, 3162 en base a la compatibilidad de los líquidos en un protocolo de tinción dado.

La figura 42B es una vista detallada del distribuidor 3166. La figura 43 es una vista en sección transversal del conjunto de cabezal 3018 tomada a lo largo de la línea 43-43 de la figura 40. El distribuidor 3166 puede incluir una cámara de distribución 3186, entradas 3188a-d (conjuntamente las "entradas 3188") y salidas 3189. Cada válvula 3170 puede controlar el flujo de líquido a través de una entrada 3188 respectiva, que se abre a la cámara de distribución 3186. El tamaño, conformación y configuración de la cámara de distribución 3186 se pueden seleccionar en base a, por ejemplo, el flujo de líquido deseado a través del distribuidor 3166. Los líquidos de procesamiento se pueden suministrar individualmente a través de las entradas 3188 respectivas y en la cámara de distribución 3186, que, a su vez, distribuye el líquido de procesamiento a las salidas 3189. El número de entradas, localización de las entradas y dimensiones (por ejemplo, diámetros) de las entradas se pueden seleccionar en base al flujo deseado a través del distribuidor 3166.

En referencia ahora a las figuras 42A y 42B, la tubería 3059c puede suministrar líquido (representado por flechas) de una fuente de líquido 3058c a la tubería 3160c. El líquido fluye a través de la tubería 3160c y prosigue a lo largo de un paso de alimentación de válvula 3181c. La válvula 3170c, en un estado abierto, suministra el líquido en un paso de salida de válvula 3182c. En referencia ahora a la figura 42B, el líquido fluye a lo largo del paso de salida de válvula 3182c, a través de la entrada 3188c y a la cámara de distribución 3186. El líquido fluye a través de la cámara de distribución 3186, las salidas 3189 y los canales 3191 y sale por medio de la fila de salidas de boquilla 3212.

Como se muestra en la figura 42B, la boquilla 3052 se puede extender ligeramente en la cámara de distribución 3186 para mitigar las rebabas u otros rasgos característicos que puedan impedir el flujo de líquido y puede estar fabricada, en su totalidad o en parte, de metal (por ejemplo, acero inoxidable, aluminio o similares), plástico u otros materiales adecuados para ponerse en contacto con los líquidos de procesamiento y puede tener longitudes en un

intervalo de aproximadamente 5 mm a aproximadamente 25 mm. Por ejemplo, las boquillas 3052 pueden ser agujas de metal huecas. Adicionalmente, las boquillas 3052 pueden comprender uno o más revestimientos para potenciar el rendimiento. Las superficies interiores y/o superficies exteriores de las boquillas 3052 pueden incluir un revestimiento hidrófobo para evitar las gotas en suspensión. Se pueden usar revestimientos antiadherentes (por ejemplo, revestimientos de politetrafluoroetileno), revestimientos de fricción baja u otros tipos de revestimientos para reducir el arrastre de líquidos entre los ciclos de dosificación. Los diámetros interiores de las boquillas 3052, 3054 pueden ser lo suficientemente pequeños y la presión de suministro de líquidos lo suficientemente alta para lograr las velocidades de salida/caudales deseados para cada tipo de líquido. En el presente documento, por ejemplo, los diámetros interiores de las boquillas 3052, 3054 pueden ser de 0,6 mm (0,24 pulgadas), pero se pueden seleccionar otros diámetros interiores en base a las contrapresiones deseadas.

Las boquillas 3052 pueden tener alguna variación de la tolerancia debida a las tolerancias de fabricación que afectan donde tienden a formarse gotas en suspensión. Esto se debe a que se tienden a formar gotas en suspensión en la boquilla 3052 con el diámetro interior más grande. Una de las boquillas 3052 (o un grupo de boquillas 3052) puede tener diámetros interiores ligeramente más grandes para promover las gotas en suspensión, si las hay, en esa boquilla de diámetro interior más grande 3052. En el presente documento, seis boquillas 3052 pueden tener diámetros interiores de 0,233 pulgadas +/- 0,005 pulgadas (0,69 mm +/- 0,13 mm) y el diámetro interior de otra boquilla 3052 puede ser de 0,263 pulgadas +/- 0,005 pulgadas (0,69 mm +/- 0,13 mm) de modo que la boquilla 3052 de 0,263 pulgadas de diámetro será la más grande, incluso si todas las demás boquillas 3052 están en los extremos de extremo de sus intervalos de tolerancia. La boquilla de diámetro interior más grande 3052 tendrá la resistencia más baja al flujo de líquido y las gotículas, si las hay, se formarán preferentemente en la salida de esa boquilla 3052. En el presente documento, la boquilla de diámetro interior más grande 3052 se puede situar y/u orientar para evitar que las gotas en suspensión caigan sobre un portaobjetos. Por ejemplo, la boquilla de diámetro interior más grande 3052 puede estar en ángulo de modo que su salida 3212 esté espaciada del portaobjetos (por ejemplo, con respecto al lado del portaobjetos). Durante los periodos de flujo alto (por ejemplo, durante la dosificación), el líquido puede incidir sobre la superficie superior del portaobjetos, pero durante los periodos de flujo bajo, cualquier gota en la salida 3212 de la boquilla de diámetro más grande 3052 caerá sin ponerse en contacto con el portaobjetos, no interfiriendo, por tanto, con el líquido de incubación.

La figura 44A es una vista en sección transversal del conjunto de cabezal 3018 tomada a lo largo de la línea 44A-44A de la figura 41. La figura 44B es una vista detallada del distribuidor 3164. La figura 45 es una vista en sección transversal del conjunto de cabezal 3018 tomada a lo largo de la línea 45-45 de la figura 40. En referencia a la figura 44B, el distribuidor 3164 puede incluir una cámara de distribución 3196, entradas 3198a-d (conjuntamente las "entradas 3198") y salidas 3199. Cada válvula 3172 puede controlar el flujo de líquido a través de una entrada 3198 respectiva, que se abre a la cámara de distribución 3196. En referencia ahora a las figuras 44A y 44B, la tubería 3162b suministra líquido (representado por flechas) a un paso de alimentación de válvula 3190b. El líquido prosigue a lo largo del paso de alimentación de válvula 3190b a la válvula 3172b, lo que, a su vez, suministra el líquido en un paso de salida de válvula 3192b. El líquido fluye a la cámara de distribución 3196 y sale por medio de las boquillas 3054.

Las figuras 46A-46F muestran las fases de funcionamiento del conjunto de cabezal 3018. En general, cuando se conmuta a un nuevo líquido, las válvulas de vacío 3200, 3202 se estimulan (es decir, se abren) para retirar líquido del distribuidor 3166. Se puede abrir una válvula conectada a una de las tuberías 3160 para desplazar el líquido de procesamiento previo y llenar el distribuidor 3166 con nuevo líquido. Se pueden minimizar los tramos muertos y se puede realizar un procedimiento de intercambio de líquidos para inhibir, limitar o sustancialmente eliminar la contaminación cruzada y/o arrastre. Para reducir los volúmenes de purga/cebado para los intercambios de líquidos, los distribuidores 3164, 3166 se pueden configurar para proporcionar un flujo pasante uniforme de líquidos para limitar o prevenir las bolsas de velocidades de flujo bajo. Al dosificarse longitudinalmente en los portaobjetos y hacer coincidir los tamaños del distribuidor con el ancho del portaobjetos, se pueden reducir además los volúmenes del distribuidor. Un único ciclo de purga/cebado, en general, puede incluir (1) un procedimiento de purga que implica aplicar un vacío y/o enjuagar un distribuidor con el siguiente líquido que se va a dosificar y (2) un ciclo de cebado que implica dosificar el siguiente líquido a través del distribuidor y las boquillas. Los intercambios de líquidos pueden incluir múltiples etapas de intercambio. Por ejemplo, un intercambio de hematoxilina a líquido de lavado puede incluir múltiples intercambios (por ejemplo, procedimientos de intercambio de tres miniciclos) con tiempos de espera para limpiar más eficazmente el distribuidor. Se analizan las fases de dosificar secuencialmente dos líquidos en conexión con las figuras 46A-46F.

La figura 46A es una vista en sección transversal del conjunto de cabezal 3018 tomada a lo largo de la línea 46-46 de la figura 40. La válvula 3170c (figura 39) puede estar en un estado abierto para dosificar líquido (representado por las flechas 3221) de las boquillas 3052. La figura 46B muestra el distribuidor 3166 lleno de líquido y todas las válvulas 3170 en un estado cerrado. La figura 46C muestra el líquido que se evacúa de la cámara de distribución 3186 abriendo las válvulas 3200, 3202. Después de evacuar la cámara de distribución 3186, la válvula 3170b (figura 39) se puede encender para suministrar otro líquido en la cámara de distribución 3196. La figura 46D muestra el intercambio de líquido 3221 con otro líquido representado por flechas de línea discontinua 3222. El líquido 3222 fluye hacia las válvulas 3200, 3202 hasta que el distribuidor 3166 está completamente lleno del líquido 3222, que también puede fluir a través de las boquillas 3052. La figura 46E muestra las boquillas 3052 llenas del

líquido 3222 y todas las válvulas 3170 cerradas. Una vez que las boquillas 3052 se sitúan por encima del portaobjetos que se va a procesar, la válvula 3170b se puede abrir para dosificar el líquido 3221, como se muestra en la figura 46F. El procedimiento de intercambio de líquidos descrito en conexión con las figuras 46A-46F se puede realizar para dosificar líquido de una cualquiera de las tuberías 3160, 3162.

5 La figura 47 es una vista en sección transversal del conjunto de cabezal 3018 tomada a lo largo de la línea 47-47 de la figura 40. El conjunto de cabezal 3018 puede incluir una cámara de vacío 3230 en comunicación fluida con una fuente de vacío 3240. La fuente de vacío 3240 puede aplicar un vacío por medio de una tubería 3250 para aspirar fluido de la cámara de vacío 3230. En el presente documento, la fuente de vacío 3240 puede incluir, sin limitación, uno o más dispositivos de presurización, bombas u otros tipos de dispositivos que pueden aplicar una presión de vacío mayor de -0,3 psi con un caudal de 4 l/min, aunque también se pueden usar otras presiones de vacío y caudales. En el presente documento, un vacío puede aspirar líquido lejos de las salidas de las boquillas para mitigar las gotas en suspensión. Adicionalmente o de forma alternativa, se pueden usar vacíos para retirar líquido del conjunto de cabezal 3018, por ejemplo, para realizar un ciclo de enjuague/purga, una rutina de calibración, etc. La tubería 3250 puede incluir, sin limitación, una o más válvulas (por ejemplo, válvulas unidireccionales, válvulas de retención, etc.), conectores, sensores, orificios y/u otros componentes fluidicos.

20 La figura 48A es una vista en sección transversal del conjunto de cabezal 3018 tomada a lo largo de la línea 48-48 de la figura 41. Las figuras 48B y 48C son vistas detalladas de partes del conjunto de cabezal 3018 en dos estados de evacuación diferentes. En el estado de evacuación mostrado en la figura 48B, la válvula 3202 y la válvula 3200 (figura 47) permiten el flujo de líquido entre el distribuidor 3166 y la cámara de vacío 3230. El líquido L₁ (representado por flechas) se aspira hacia arriba a través de las boquillas 3052 y a la cámara de distribución 3186. L₁ fluye a través de un paso 3260 y a las válvulas 3200, 3202, lo que, a su vez, suministra L₁ en un paso 3262. L₁ fluye a través del paso 3262, la cámara de vacío 3230 y la tubería 3250 (figura 47), evacuando, de este modo, el distribuidor 3166. En el estado de evacuación mostrado en la figura 48C, la válvula 3202 se ha abierto para permitir el flujo de líquido entre el distribuidor 3164 y la cámara de vacío 3230. El líquido L₂ se aspira hacia arriba a través de las boquillas 3054 y a la cámara de distribución 3196. L₂ fluye a través de un paso 3264 y a la válvula 3202, lo que, a su vez, suministra el L₂ en el paso 3262. L₂ fluye a través del paso 3262, la cámara de vacío 3230 y la tubería 3250 (figura 47), evacuando, de este modo, el distribuidor 3164. En algunos modos de funcionamiento, uno de los distribuidores 3164, 3166 puede estar vacío y mantener a vacío mientras el otro distribuidor 3164, 3166 está lleno de líquido de procesamiento. Por tanto, solo un líquido de procesamiento estará listo para dosificarse en cualquier momento dado. Se puede usar el vacío para evitar o limitar las gotas en suspensión u otros problemas que pueden afectar de forma adversa a la tinción.

35 Los distribuidores 3164, 3166 dobles y la cámara de vacío 3230 pueden ayudar a minimizar la complejidad y mejorar la fiabilidad de la gestión fluidica y por ruta de conexiones y también las diferencias de características de flujo entre los cuadrantes de bandejas de portaobjetos y entre los módulos de equipo de tinción. Los distribuidores 3164, 3166, sus válvulas asociadas (por ejemplo, las válvulas 3170, 3172), cables, tuberías (por ejemplo, las tuberías 3160, 3162) y conexiones fluidicas se pueden mover a lo largo de los portaobjetos múltiples veces por todo un protocolo para distribuir líquidos de forma consistente a lo largo de cada portaobjetos, independientemente de la localización de los portaobjetos. Se puede seleccionar un radio de curvatura de la cadena de energía, tubos flexibles y compatibles con el material y un diseño fluidoico de modo que cada tubería de dosificación individual tenga el volumen de la caída de presión como se define por un orificio restrictor de precisión, como se analiza anteriormente, y que las tuberías de suministro compartidas tengan tan poca caída de presión como sea posible.

45 La figura 49 es una vista isométrica de un conjunto de cabezal 3300. La figura 50 es una vista en planta superior del conjunto de cabezal 3300. En referencia a las figuras 49 y 50 juntas, el conjunto de cabezal 3300 puede incluir un mecanismo dosificador 3310 y un dispositivo de retirada de líquidos 3320. El mecanismo dosificador 3310 incluye un cabezal dosificador 3330 y válvulas 3340a, 3340b, 3340c, 3340d (conjuntamente las "válvulas 3340") situadas en una disposición radial. Las válvulas 3340 controlan el suministro de líquidos de las tuberías 3350a, 3350b, 3350c, 3350d (conjuntamente las "tuberías 3350"). Se puede aplicar un vacío por medio de las tuberías 3362, 3364 para evacuar líquido del cabezal dosificador 3330. En referencia ahora a las figuras 49 y 51, el dispositivo de retirada de líquidos 3320 tiene una tubería 3380 (figura 49) acoplada de forma fluidoica a la boquilla 3387 (figura 51) y tuberías 3382, 3384 (figura 49) acopladas de forma fluidoica a una cuchilla de aire 3389 conformada en V (figura 51), respectivamente. El aire suministrado por medio de las tuberías 3382, 3384 (figura 49) sale de la cuchilla de aire 3389 (figura 51).

60 La figura 52 es una vista en sección transversal del conjunto de cabezal 3300 tomada a lo largo de la línea 52-52 de la figura 50. Un distribuidor 3420 incluye una entrada 3412, cámara de distribución 3430 y un dispositivo distribuidor de líquido 3440. La cámara de distribución 3430 puede tener un volumen relativamente pequeño para minimizar o limitar el volumen de líquido dentro del conjunto de cabezal 3300. Las entradas 3412 se pueden situar circunferencialmente alrededor de la cámara de distribución 3430 para ayudar a igualar la presión dentro de la cámara de distribución 3430. Cuando la válvula 3340b está en un estado abierto, el líquido de la tubería 3350b fluye a través de los pasos 3400, 3410 y la entrada 3412. El líquido fluye a través de la cámara de distribución 3430 y el dispositivo distribuidor de líquido 3440 sale por medio de boquillas 3460.

La figura 53 es una vista isométrica del dispositivo distribuidor de líquido 3440. El dispositivo distribuidor de líquido 3440 puede incluir un haz de tuberías 3492 y un separador de flujo 3490. En el presente documento, cada tubería 3492 puede acoplar de forma fluidica una salida de distribuidor 3432 del separador de flujo 3490 a una boquilla. El dispositivo distribuidor de líquido 3440 puede tener otras configuraciones para distribuir líquido a otros tipos de boquillas.

La figura 54 es una vista en sección transversal de un aparato de boquilla 3500. El aparato de boquilla 3500 puede incluir un cuerpo principal 3504 y boquillas 3506 acopladas al cuerpo principal 3504. El aparato de boquilla 3500 se puede incorporar en los conjuntos de cabezal divulgados en el presente documento para producir flujos, en general, uniformes. El líquido puede fluir a través de un paso principal 3510 y los canales de boquilla 3512 (uno identificado) de las boquillas 3506. En el presente documento, cada tubería 3492 se puede situar en uno de los canales 3512. Sin embargo, se pueden usar otros componentes y configuraciones para dosificar líquido.

Ejemplos seleccionados de retirada de líquidos en equipos de tinción

Los sistemas histológicos automatizados configurados de acuerdo con la presente tecnología pueden incluir equipos de tinción que se configuran para retirar volúmenes de líquido dosificado en tiempos controlados con precisión sin desplazar los volúmenes de líquido con otros líquidos. Por ejemplo, un cabezal de procesamiento configurado de acuerdo con la presente tecnología usa una cuchilla de aire y un puerto de vacío asociado para recolectar y retirar respectivamente volúmenes de líquido dosificado. Esta manera de dosificar y retirar volúmenes de líquido puede facilitar el lavado y otras operaciones de procesamiento de muestras que usan charcos estacionarios o películas gruesas con conformaciones mantenidas al menos parcialmente por la tensión de superficie. Se espera que al menos parcialmente descubrir una muestra manipulando un líquido de procesamiento dosificado previamente antes de poner en contacto la muestra con otro líquido de procesamiento potencie la consistencia y capacidad de control de los tiempos de procesamiento. A modo de teoría, y no para limitar el alcance de la presente tecnología, esta ventaja se puede asociar con la reducción de las imprecisiones de sincronización asociadas con la dilución imprecisa de los líquidos de procesamiento que se producen durante los intercambios líquido-líquido directos. De forma alternativa o además, lavar una muestra en una piscina estacionaria de líquido puede provocar que el residuo se libere de la muestra de forma más uniforme y con precisión de lo que se produciría si la muestra se lavara en un chorro de líquido que fluye. También son posibles otros mecanismos. Además, los rasgos característicos de retirada de líquidos pueden tener ventajas diferentes o adicionales, tales como reducción de desechos líquidos.

La figura 55 es una vista isométrica de un aparato dosificador 4024 que incluye cuatro conjuntos de cabezal 4018a, 4018b, 4018c, 4018d (conjuntamente los "conjuntos de cabezal 4018"). Las figuras 56-58 ilustran las fases de un procedimiento de retirada de líquidos realizado por el conjunto de cabezal 4018a. Con referencia a las figuras 55-58 juntas, el conjunto de cabezal 4018a se puede situar sobre un portaobjetos de microscopio 4020 ("portaobjetos 4020") para dosificar líquido sobre una superficie superior del portaobjetos 4020. Después de que el líquido se ha puesto en contacto con la muestra durante una duración de tiempo deseada, el conjunto de cabezal 4018a puede soplar el líquido a lo largo del portaobjetos 4020 (por ejemplo, longitudinalmente) y aplicar un vacío parcial para retirar sin contacto el líquido recogido del portaobjetos 4020. Por ejemplo, el conjunto de cabezal 4018a se puede mover (como se indica por flechas) en relación con el portaobjetos 4020 mientras sopla el líquido y, simultáneamente, aplica el vacío parcial. Después de esto, los líquidos adicionales secuencialmente se pueden aplicar a y retirar del portaobjetos 4020. En algunos casos, la dosificación de un líquido posterior comienza mientras se retira un líquido dosificado previamente, tal como en el mismo paso del conjunto de cabezal 4018a a lo largo de la longitud del portaobjetos 4020. En otros casos, la retirada de un líquido dosificado previamente se puede completar cuando comienza la dosificación de un líquido posterior.

En referencia a la figura 56, se puede localizar un volumen suficiente de líquido 4340 en la superficie superior 4044 del portaobjetos 4020 para mantener un volumen de líquido deseado (por ejemplo, un volumen de líquido cinético) durante la mayor parte o todo un periodo de tiempo objetivo (por ejemplo, un tiempo de incubación objetivo) para el contacto entre la muestra y el líquido 4340. El volumen de líquido 4340 puede proporcionar suficiente masa para procesar total o incrementalmente la muestra 4034 de manera deseada durante un protocolo de procesamiento de muestras predeterminado. Un generador de flujo 4352 (por ejemplo, una bomba, un compresor de aire, un soplador, un ventilador, etc.) puede presurizar gas (por ejemplo, aire, nitrógeno u otro gas) que se suministre a un dispositivo de retirada de líquidos 4330 del conjunto de cabezal 4018a. El dispositivo de retirada de líquidos 4330 recibe el gas presurizado y produce una cortina de gas 4360 (representada por flechas). A medida que el conjunto de cabezal 4018a se mueve (indicado por la flecha 4025) alejándose de una posición inicial, la cortina de gas 4360 empuja el volumen de líquido 4340 (por ejemplo, un charco o una película gruesa de líquido 4340) hacia el extremo 4143 del portaobjetos estacionario 4020 y también puede impulsar el líquido 4340 hacia un elemento de succión 4370 del dispositivo de retirada de líquidos 4330.

La figura 57 muestra el dispositivo de retirada de líquidos 4330 en una posición intermedia, en general, a medio camino entre los extremos 4143, 4366 de portaobjetos. El volumen de líquido 4340 está contenido en una sección de la superficie superior 4044 delante de la cortina de gas 4360 y una sección del área de montaje detrás de la cortina de gas 4360 puede estar sustancialmente libre del líquido 4340. El elemento de succión 4370 puede aplicar

- un vacío parcial para succionar el líquido 4340 del portaobjetos 4020. El conjunto de cabezal 4018a puede continuar moviéndose hacia el extremo 4143 de portaobjetos y/o hasta que el volumen de líquido 4340 se capte en el extremo 4143 de portaobjetos. La figura 58 muestra el volumen de líquido 4340 captado por la cortina de gas 4360 en un borde 4147 a lo largo del extremo 4143 de portaobjetos. El líquido 4340 se puede succionar en el elemento de succión 4370 para limitar el volumen de líquido 4340, si lo hay, que cae del portaobjetos 4020 a una bandeja (no mostrada) que porta el portaobjetos 4020. En el presente documento, sustancialmente ningún líquido 4340 puede caer del portaobjetos 4020 para mantener sustancialmente todos los líquidos de procesamiento en el portaobjetos.
- Las figuras 59, 60 y 61 son vistas isométrica, inferior y frontal del conjunto de cabezal 4018a. Una cuchilla de gas 4350 puede estar conformada en V para rodear parcialmente al elemento de succión 4370. La cuchilla de gas 4350 se puede usar con una variedad de gases adecuados, tales como aire, nitrógeno, mezclas de aire/nitrógeno u otros gases compatibles con los líquidos de procesamiento y las muestras de tejido. Como tal, aunque el término "cuchilla de aire" se puede usar en el presente documento para facilitar la referencia, a menos que el contexto lo indique claramente de otro modo, el término se refiere a cuchillas de gas que pueden producir cortinas de gas compuestas por cualquier gas adecuado. Por tanto, la cuchilla de gas 4350 puede emitir chorros de aire (por ejemplo, aire ambiental, aire filtrado, etc.) para producir una cortina de aire, chorros de nitrógeno para producir una cortina de nitrógeno o chorros de otros gases para producir otros tipos de cortinas de gas.
- En referencia ahora a la figura 59, la cuchilla de gas 4350 puede incluir un distribuidor con partes laterales 4390a, 4390b y una parte de vértice 4392. Las partes laterales 4390a, 4390b, en general, son similares entre sí y, en consecuencia, la descripción de una parte lateral se aplica igualmente a la otra parte lateral, a menos que se indique de otro modo. La parte lateral 4390a puede tener una serie de agujeros 4400a (uno identificado) seleccionados en base a, por ejemplo, el ancho deseado de la cortina de gas 4360. En el presente documento, la parte lateral 4390a puede tener de aproximadamente 10 a aproximadamente 20 agujeros. Como se ilustra, la parte lateral 4390a tiene dieciséis agujeros 4400a linealmente dispuestos. Para producir una cortina de gas sustancialmente conformada en V, en general, uniforme, los agujeros 4400a, 4400b (conjuntamente los "agujeros 4400") pueden tener un cabeceo, en general, uniforme (es decir, distancias entre los centros de los agujeros 4400 contiguos). Para producir una cortina de gas conformada en V no uniforme, los agujeros 4400 pueden estar espaciados de forma no uniforme. Se pueden seleccionar otros números, patrones y espaciados de los agujeros 4400 en base a la configuración y conformación deseadas de la cortina de gas.
- En referencia ahora a la figura 60, se puede definir un ángulo β por la serie de agujeros 4400a y la serie de agujeros 4400b y se puede seleccionar en base a factores geométricos, tales como el ancho de una superficie de portaobjetos correspondiente y la relación geométrica entre los agujeros 4400 y el elemento de succión 4370. Además o de forma alternativa, el ángulo β se puede seleccionar en base a las propiedades (por ejemplo, viscosidad, capacidad de extensión, etc.) del líquido que se va a recoger. En el presente documento, el ángulo β puede estar en un intervalo de aproximadamente 80 grados a aproximadamente 100 grados. En el presente documento, el ángulo β puede ser de aproximadamente 90 grados (es decir, 90 grados +/- 3 grados). De otro modo, el ángulo β puede ser mayor de 100 grados para recoger un volumen relativamente grande de líquido de viscosidad relativamente baja. Aún, de otro modo, el ángulo β puede ser menor de 80 grados para recoger un pequeño volumen de líquido de viscosidad relativamente alta.
- Un ancho W_h del conjunto de agujeros 4400 se mide en una dirección, en general, perpendicular a la trayectoria de desplazamiento del conjunto de cabezal 4018a durante el uso o bien la dirección del eje longitudinal del portaobjetos. En el presente documento, el ancho W_h se puede seleccionar de modo que la cortina de gas 4360 se extienda a través de la mayor parte del ancho del portaobjetos 4020. Por ejemplo, el ancho W_h puede ser igual a o mayor de aproximadamente 25 mm, 30 mm, 40 mm, 50 mm, para portaobjetos que tienen anchos de 25 mm, 30 mm, 40 mm, 50 mm, respectivamente.
- El elemento de succión 4370 se puede situar, en general, a lo largo de una línea central 4413 del cabezal dosificador 4141 del conjunto de cabezal 4018a. Sin embargo, el elemento de succión 4370 se puede localizar en otras localizaciones, si fuera necesario o deseado. El elemento de succión 4370 puede incluir un cuerpo tubular 4410 y un puerto de entrada 4412. El cuerpo tubular 4410 está espaciado de la cuchilla de gas 4350 de modo que el puerto de entrada 4412 se sitúe directamente entre las dos series de agujeros 4400a, 4400b. En el presente documento, la entrada 4412 se puede situar hacia atrás de los agujeros distales o delanteros 4400a, 4400b (es decir, los dos agujeros 4400a, 4400b identificados en la figura 60), que producen partes sobresalientes de la cortina de gas. El puerto de entrada 4412 puede tener una abertura circular con un ancho máximo en un intervalo de aproximadamente 0,5 mm a aproximadamente 2 mm, de aproximadamente 0,5 mm a aproximadamente 4 mm, de aproximadamente 3,2 mm a aproximadamente 4 mm o dentro de otro intervalo adecuado. De otro modo, el puerto de entrada 4412 puede tener aberturas no circulares (por ejemplo, aberturas elípticas, aberturas poligonales, etc.) para lograr un nivel de vacío deseado. Además, la abertura del puerto de entrada 4412 puede ser abocardada o anular.
- La figura 61 muestra el elemento de succión 4370 extendiéndose hacia abajo más allá de los agujeros 4400a, 4400b y la superficie inferior de la cuchilla de gas 4350. Una tubería 4357 acopla de forma fluidica una fuente de

vacío 4353 al elemento de succión 4370. La fuente de vacío 4353 puede incluir una o más bombas o dispositivos de presurización que pueden aplicar un vacío parcial de modo que el caudal a través del elemento de succión 4370 esté en o por encima de un caudal objetivo (por ejemplo, 30 litros/minuto, 40 litros/minuto, 50 litros/minuto). En el presente documento, la fuente de vacío 4353 puede producir una presión de vacío en un intervalo de aproximadamente -10 psi a aproximadamente -0,5 psi (por ejemplo, -2,2 psi +/- 0,2 psi) para producir un caudal a través del elemento de succión 4370 en un intervalo de aproximadamente 37 litros/minuto a 50 litros/minuto. Se pueden usar otras disposiciones (por ejemplo, sistemas fluidicos, fuentes de vacío, etc.) para proporcionar presión de vacío al conjunto de cabezal 4018a.

Las figuras 62 y 63 son vistas laterales en sección transversal parcial del dispositivo de retirada de líquidos 4330 situado por encima del portaobjetos 4020. Se puede seleccionar un ángulo α (es decir, ángulo de ataque de la cuchilla de gas) entre la cortina de gas 4360 y la superficie superior 4044 del portaobjetos 4020 en base a, sin limitación, las presiones de trabajo, la altura del conjunto de cabezal 4018a, las velocidades de desplazamiento del conjunto de cabezal y/o características del líquido 4340. En el presente documento, la cortina de gas 4360 puede que no sea perpendicular a la superficie superior 4044 del portaobjetos 4020. Por ejemplo, el ángulo α puede estar en un intervalo de aproximadamente 70 grados a aproximadamente 80 grados. En el presente documento, el ángulo α puede ser de aproximadamente 4075 grados (por ejemplo, 75 grados +/- 2 grados) de modo que la cortina de gas 4360 pueda empujar eficazmente el volumen de líquido 4340 a lo largo de la superficie superior 4044 sin empujar un volumen apreciable del líquido 4340 fuera el portaobjetos 4020, incluso cuando las partes sobresalientes de la cortina de gas 4360 se muevan más allá del extremo distal 4143 del portaobjetos 4020. En el presente documento, el ángulo α puede ser de aproximadamente 70 grados (por ejemplo, 70 grados +/- 2 grados) para potenciar el empuje de líquidos de viscosidad relativamente alta. Se puede seleccionar un ángulo α constante a través del portaobjetos 4020 para empujar un volumen de líquido con propiedades, en general, uniformes. De otro modo, se puede seleccionar un ángulo α variable para empujar un volumen de líquido con propiedades no uniformes. Por ejemplo, una parte de la cortina de gas que define un ángulo α relativamente pequeño puede ser muy adecuada para empujar un líquido de viscosidad baja y una parte de la cortina de gas que define un ángulo α relativamente grande puede ser muy adecuada para empujar un líquido de viscosidad alta. También se pueden usar otros ángulos de ataque porque la distribución del líquido residual en el portaobjetos 4020 se puede ver influenciada en gran medida por el ángulo α de la cuchilla de gas, así como los movimientos del conjunto de cabezal a través del portaobjetos 4020 y la altura del conjunto de cabezal en relación con un portaobjetos 4020.

La figura 63 muestra el elemento de succión 4370 aplicando un vacío parcial suficiente para aspirar el líquido 4340 hacia arriba a través del puerto de entrada 4412 sin que una estructura sólida del conjunto de cabezal se ponga en contacto con el volumen de líquido 4340 y/o el portaobjetos 4020. Las presiones de cuchilla de gas pueden ser lo suficientemente bajas como para minimizar o limitar la sobrehumectación y lo suficientemente altas como para mantener los volúmenes residuales en o por debajo de un nivel objetivo. La altura H del puerto de entrada 4412 puede ser de aproximadamente 0,8 mm a aproximadamente 3 mm para lograr niveles de volumen residual relativamente bajos en el portaobjetos 4020. En el presente documento, la altura H puede estar en un intervalo de aproximadamente 1 mm a aproximadamente 2 mm (es decir, 1 mm a 2 mm +/- 0,5 mm), pero se pueden seleccionar otras alturas en base al nivel de vacío. En el presente documento, el caudal a través del elemento de succión 4370 puede estar en un intervalo de aproximadamente 37 litros/minuto a aproximadamente 50 litros/minuto a una presión dinámica de entre aproximadamente -1 psi a aproximadamente -0,2 psi, tal como de aproximadamente -0,38 a aproximadamente -0,3 psi para una altura H igual a o menor de aproximadamente 3 mm. Sin embargo, se pueden usar otras alturas y presiones en base a las propiedades del líquido que tengan un impacto en la dinámica de fluidos de impacto, tales como viscosidad, tensión de superficie, densidad o similares. En el presente documento, el elemento de succión 4370 se puede configurar para producir un nivel de vacío en un intervalo de aproximadamente 12 mmHg a aproximadamente 35 mmHg. El funcionamiento de la fuente de vacío 4353 se puede ajustar para lograr dichos niveles de vacío u otros niveles de vacío deseados.

Las figuras 64A-66B ilustran las fases de retirada del líquido 4340 del portaobjetos 4020. Después de que el líquido 4340 se ha puesto en contacto con la muestra 4034 durante una duración de tiempo deseada, la cuchilla de gas 4350 puede suministrar uno o más chorros de gas hacia el portaobjetos 4020 para producir la cortina de gas 4360. La cuchilla de gas 4350 se puede configurar para producir la cortina de gas 4360 usando no más de un chorro de gas o usando dos o más chorros de gas. Antes, durante y/o después de mover el dispositivo de retirada de líquidos 4330, el conjunto de cabezal 4018 puede retirar sin contacto el líquido 4340 del portaobjetos 4020 usando el elemento de succión 4370. A medida que la cuchilla de gas 4350 se mueve en relación con el portaobjetos 4020, por ejemplo, la cortina de gas 4360 puede confinar y mover el volumen de líquido 4340 lejos de los bordes longitudinales 4540, 4542 del portaobjetos 4020 mientras el elemento de succión 4370 aplica un vacío parcial para retirar el líquido 4340 del portaobjetos 4020 sin ponerse en contacto físicamente con el portaobjetos 4020. A continuación, se analizan diferentes fases del procedimiento de retirada de líquidos.

La figura 64A muestra el dispositivo de retirada de líquidos 4330 y la cortina de gas 4360 sustancialmente conformada en V situada a lo largo del portaobjetos 4020. La figura 64B es una vista en planta superior de la cortina de gas 4360 y el portaobjetos 4020. En referencia a las figuras 64A y 64B juntas, el dispositivo de retirada de líquidos 4330 se localiza en una posición inicial y dirige la cortina de gas 4360 (mostrada en la figura 64B) hacia

la superficie superior 4044. El volumen de líquido 4340 puede ser una película (por ejemplo, una película gruesa) o charco con una conformación al menos parcialmente mantenida por la tensión de superficie. La cortina de gas 4360 en la posición inicial se puede localizar a lo largo de la etiqueta 4026. De otro modo, la mayor parte o toda la cortina de gas 4360 en la posición inicial se puede localizar más allá del extremo 4366 de etiqueta del portaobjetos 4020 para posibilitar la retirada de líquidos de la mayor parte o toda la etiqueta 4026. Sin embargo, la recogida a vacío se puede retrasar para que se inicie más allá de los rasgos característicos de retención (por ejemplo, retenedor para portaobjetos, bridas, pinzas, etc.) que sostienen el extremo 4364 de etiqueta del portaobjetos 4020 para prevenir que el líquido 4340 se saque activamente en los rasgos característicos de retención de la bandeja de portaobjetos. Aún, de otro modo, la cortina de gas 4360 en la posición inicial se puede localizar a lo largo del área de montaje del portaobjetos 4020, y la recogida a vacío puede comenzar antes de o después de mover la cortina de gas 4360 a lo largo del portaobjetos 4020.

El consumo de gas/caudal de cuchilla de gas 4350 puede estar en un intervalo de aproximadamente 8 litros/minuto a aproximadamente 9 litros/minuto, por ejemplo, de aproximadamente 8,6 litros/minuto para proporcionar una presión de cuchilla de gas de entrada de aproximadamente 7 psi +/- 0,2 psi. Las presiones de cuchilla de gas y/o caudales excesivamente altos podrían dar lugar a la pérdida de distribución de líquido retirado (sobrehumectación) y las presiones y/o caudales excesivamente bajos podrían dar lugar a volúmenes residuales altos residuales. La cuchilla de gas 4350 y el elemento de succión 4370 cooperan para producir un diferencial de presión para impulsar la región proximal 4580 del volumen de líquido 4340 lejos de los bordes longitudinales 4540, 4542. En el presente documento, la cuchilla de gas 4350 y el elemento de succión 4370 pueden producir una región de presión baja 4380 (figura 64A) que define al menos parcialmente una zona de recogida 4550 (ilustrada en línea fantasma) en la que el líquido 4340 tiende a recogerse. La zona de recogida 4550 se puede situar directamente por debajo del puerto de entrada 4412 del elemento de succión 4370. Por ejemplo, el puerto de entrada 4412 se puede situar próximo al vértice 4596 (figura 64B) de la cortina de gas 4360 de modo que la mayor parte de la zona de recogida 4550 se sitúe, en general, por debajo del puerto de entrada 4412. El vértice 4596 puede estar en ángulo o curvado.

En referencia ahora a la figura 64B, la cortina de gas 4360 tiene partes de cortina 4590, 4592 y una sección de vértice 4596. Las partes de cortina 4590, 4592 se pueden situar a lo largo de planos imaginarios 4594, 4595 que se intersecan a un ángulo α en un intervalo de aproximadamente 80 grados a aproximadamente 100 grados. La sección de vértice 4596 se puede mover a lo largo de una región central 4600 de la superficie superior 4044 de modo que las partes de cortina 4590, 4592 confinen la región proximal 4580 del volumen de líquido 4340. A medida que el dispositivo de retirada de líquidos 4330 se mueve longitudinalmente a lo largo del portaobjetos 4020, un diferencial de presión puede impulsar el líquido 4340 hacia un eje longitudinal central 4021 del portaobjetos 4020, así como la zona de recogida 4550. En el presente documento, la cortina de gas 4360 puede ser una cortina de gas, en general, uniforme que se extiende a través del ancho W del portaobjetos 4020. Por ejemplo, la cortina de gas 4360 puede ser, en general, una cortina de gas ininterrumpida y continua que se extiende entre los bordes longitudinales 4540, 4542.

Las figuras 65A y 65B muestran el dispositivo de retirada de líquidos 4330 moviéndose a lo largo de una trayectoria de procesamiento 4551, en general, paralela al eje longitudinal 4021 del portaobjetos 4020. El elemento de succión 4370 puede proporcionar un vacío parcial para producir una región de presión baja en la zona de recogida 4550 donde se puede producir la succión (flujo) del líquido 4340. Un gradiente de presión entre la región de presión baja y la presión ambiental, junto con la interacción del flujo de gas entre la cuchilla de gas 4350 y el elemento de succión 4370 puede impulsar el líquido 4340 hacia la zona de recogida 4550. Una región 4624 de la superficie superior 4044 situada detrás de la cortina de gas 4360 puede estar sustancialmente libre del líquido 4340. Sin embargo, puede existir un pequeño volumen de líquido residual en la región 4624, pero la mayor parte del volumen total del líquido 4340 en el portaobjetos 4020 se puede localizar entre la cortina de gas 4360 y el extremo 4143 del portaobjetos 4020. Dependiendo de las características (por ejemplo, tensión de superficie) del líquido 4340, la mayor parte o sustancialmente todo el volumen de líquido 4340 se puede mantener delante de la cortina de gas 4360 que se mueve a lo largo de la trayectoria de procesamiento 4551. A medida que la cortina de gas 4360 avanza distalmente, el líquido 4340 tiende a fluir a lo largo de las partes de cortina 4590, 4592, respectivamente, como se indica por las flechas 4629, y las partes de cortina 4590, 4592 pueden impulsar las partes exteriores 4620, 4622 (figura 65B) del charco de líquido 4340 lejos de los bordes longitudinales 4540, 4542, respectivamente, para reducir la probabilidad de que el líquido 4340 caiga del portaobjetos 4020. De forma ventajosa, el movimiento longitudinal y la posición de la cortina de gas 4360 permite que el conjunto de cabezal 4018 se mueva a velocidades relativamente altas mientras se mantiene el volumen de líquido 4340 en el portaobjetos 4020.

La cuchilla de gas 4350 y el elemento de succión 4370 se pueden alinear con el portaobjetos 4020 de modo que el líquido 4340 se dirija eficazmente por la cortina de gas 4360 hacia el elemento de succión 4370 porque la posición a lo ancho del dispositivo de retirada de líquidos 4330 en relación con los bordes de portaobjetos 4540, 4542 puede tener un impacto en el volumen residual y la distribución de líquido residual. A medida que el dispositivo de retirada de líquidos 4330 se mueve en relación con el portaobjetos 4020, la zona de recogida 4550 se puede situar, en general, a lo largo de la región central 4600 de la superficie superior 4044. En el presente documento, la cortina de gas 4360 y la zona de recogida 4550 se pueden alinear centralmente por encima del portaobjetos 20 dentro de +/- 0,05 pulgadas (1,27 mm) del eje longitudinal 4021. Si el elemento de succión 4370 no está lo suficientemente cerca de la superficie superior 4044, también pueden resultar mayores volúmenes residuales.

Como tal, la posición de la zona de recogida 4500, la altura de la cuchilla de gas 4350, la altura del elemento de succión 4370 se pueden seleccionar para lograr la retirada de líquidos deseada (incluyendo la cantidad y distribución de volúmenes residuales).

5 La figura 66A muestra el dispositivo de retirada de líquidos 4330 situado en el extremo 4143 del portaobjetos 4020. La figura 66B es una vista en planta superior de la cortina de gas 4360 de la figura 66A. Las partes de cortina 4590, 4592 se pueden extender hacia afuera más allá de los bordes longitudinales 4540, 4542, respectivamente, y el borde 4147 de modo que el volumen de líquido 4340 esté contenido por la cortina de gas 4360 y el borde de portaobjetos 4147. La cuchilla de gas 4350 y el vacío se pueden apagar cuando el elemento de succión 4370 alcanza el extremo 4143 del portaobjetos 4020 para prevenir que el líquido se sobrehumedezca en el lado trasero del portaobjetos 4020 y también puede dejar una gotícula residual (por ejemplo, una pequeña gotícula residual en una localización a lo largo de la superficie superior 4044 por debajo del elemento de succión 4370). El tamaño de la gotícula se puede minimizar o limitar por la configuración de la cuchilla de gas 4350 y las características de vacío definidas, por ejemplo, por las presiones de suministro, diseño fluido, la relación geométrica entre la cuchilla de gas 4350 y el vacío, y/o la altura del elemento de succión 4370 y la cuchilla de gas 4350 con respecto a la superficie superior 4044. Si el elemento de succión 4370 está demasiado lejos/más allá de la superficie superior 4044 (o fuera del borde 4147), la captura de líquido se puede ver afectada y puede dar lugar a mayores volúmenes residuales y posibilidad de sobrehumectación. Por tanto, la posición final del elemento de succión 4370 se puede seleccionar para lograr la retirada de líquidos deseada al tiempo que volúmenes residuales y/o sobrehumectación.

20 Para minimizar o limitar el hueco entre el puerto de entrada 4412 y la superficie superior 4044 del portaobjetos 4020 en el extremo distal 4143 del portaobjetos 4020, se diseña una pendiente vertical nominal fija (por ejemplo, el eje Z) en el eje de movimiento de vacío asistido por la cuchilla de gas, lo que lleva al elemento de succión 4370 más cerca de la superficie superior 4044 en el extremo 4143 de portaobjetos que en el extremo 4366 de etiqueta para lograr huecos relativamente pequeños mientras se previenen interferencias entre el conjunto de cabezal 4018 y los rasgos característicos de portaobjetos y bandeja. En el presente documento, la altura del elemento de succión 4370 en el extremo 4143 puede ser igual a o menor de aproximadamente 2 mm+1 mm/-0,5 mm.

30 El procedimiento de retirada de líquidos de las figuras 64A-66B se puede realizar para retirar la mayor parte o sustancialmente todo el volumen de líquido 4340. En el presente documento, el dispositivo de retirada de líquidos 4330 puede retirar al menos un 90 % del volumen de líquido en la superficie superior 4044. De otro modo, el elemento de succión 4370 y la cuchilla de gas 4350 se pueden configurar para cooperar para retirar al menos un 95 %, 98 % o 99 % en volumen del líquido 4340 de la superficie superior 4044. Adicionalmente o de forma alternativa, el procedimiento de retirada de líquidos se puede controlar en base a volúmenes residuales máximos objetivo. En el presente documento, el dispositivo de retirada de líquidos 4330 puede retirar un volumen suficiente del líquido 4340 de modo que un volumen residual máximo en la superficie superior 4044 después de la retirada de líquidos sea menor que el volumen residual máximo. En un procedimiento, el volumen de líquido 4340 en la superficie superior 4044 puede ser de aproximadamente 0,5 ml a aproximadamente 0,9 ml de líquido de procesamiento, y el dispositivo de retirada de líquidos 4330 puede retirar un volumen suficiente de líquido de modo que el volumen residual máximo de líquido 4340 en la superficie superior 4044 sea igual a o menor de aproximadamente 50 µl. El dispositivo de retirada de líquidos 4330 también puede retirar otros volúmenes de líquido para mantener el volumen residual máximo de líquido en el portaobjetos 4020 a o por debajo de un volumen aceptable, tal como 30 µl para líquidos de desparafinación, líquidos de acondicionamiento (por ejemplo, líquidos puente), líquidos de lavado y reactivos diferenciadores de tinción, 20 µl para reactivos de tinción (por ejemplo, reactivos de hematoxilina), reactivos de contratinción (por ejemplo, reactivos de eosina) y reactivos fijadores de tinción (por ejemplo, azulado) y 10 µl para limitar o prevenir interferencias con el procesamiento posterior. Por ejemplo, el volumen residual máximo de líquido de acondicionamiento se puede mantener lo suficientemente bajo como para prevenir la interferencia con el posterior tapado con cubreobjetos, potenciar capacidad de manipulación, satisfacer los requisitos de capacidad archivística y/o limitar la liberación de humos indeseables.

50 En el presente documento, la cuchilla de gas 4350 y el elemento de succión 4370 pueden cooperar para aspirar el líquido 4340 del portaobjetos 4020 mientras se mantiene un volumen total de líquido, si lo hay, que cae del portaobjetos 4020 igual a o menor de un volumen de caída máximo. El volumen de caída puede ser igual a aproximadamente un 5 %, 3 % o 2 % en volumen de un volumen total de líquido 4340 en el portaobjetos 4020 antes de comenzar el procedimiento de retirada de líquidos. Como tal, la cuchilla de gas 4350 y el elemento de succión 4370 se pueden configurar para cooperar para aspirar al menos aproximadamente un 95 %, 97 % o 98 % del volumen autoestable del líquido 4340 (es decir, líquido 4340 localizado a lo largo de la superficie 4044 y no incorporado en la muestra 4034) en el elemento de succión 4370.

60 Las figuras 67-70 ilustran las fases de retirada del líquido 4340 y dosificación de otro líquido 4652. En general, el conjunto de cabezal 4018a puede mover y/o retirar al menos una parte del volumen de líquido 4340 de la muestra 4034 para descubrir al menos parcialmente la muestra 4034. El conjunto de cabezal 4018a puede dosificar líquido 4652 que se pone en contacto con la muestra 4034 descubierta. Este procedimiento se puede repetir para retirar y dosificar secuencialmente cualquier número de líquidos. La figura 67 muestra el portaobjetos que lleva muestras 4020 después de que el conjunto de cabezal 4018a ha comenzado a descubrir la muestra 4034. Una vez que las boquillas 4052 o boquillas 4054 del mecanismo dosificador 4019 se sitúan por encima del portaobjetos 4020, se

puede dosificar otro líquido. El conjunto de cabezal 4018a se puede mover a lo largo del portaobjetos 4020 para descubrir además la muestra 4034. La figura 68 muestra el portaobjetos que lleva muestras 4030 después de que se ha descubierto la mayor parte de la muestra 4034. Las boquillas 4052 dosifican líquido 4652 sobre el área de montaje del portaobjetos 4020 localizada detrás de la cortina de gas 4360, que sirve como barrera para prevenir el contacto entre el volumen del líquido 4340 y el volumen del líquido 4652. A medida que el conjunto de cabezal 4018a se mueve y dosifica continua o intermitentemente líquido 4652 a lo largo del portaobjetos 4020, el dispositivo de retirada de líquidos 4330 puede retirar continua o intermitentemente el líquido 4340 del portaobjetos 4020. La figura 69 muestra el líquido 4652 en contacto con la muestra 4034 y el elemento de succión 4370 aspirando el líquido 4340 del extremo 4143 del portaobjetos 4020. A medida que el conjunto de cabezal 4018a continúa moviéndose más allá del extremo 4143 del portaobjetos 4020, el mecanismo dosificador 4019 puede suministrar el líquido 4652 para cubrir la longitud deseada del área de montaje del portaobjetos 4020. La figura 70 muestra las boquillas 4052 situadas, en general, por encima del extremo 4143 del portaobjetos 4020. La mayor parte o toda el área de montaje de la superficie superior 4044 se puede cubrir por el volumen de líquido 4340.

El procedimiento de retirada y dosificación de las figuras 67-70 se puede usar para retirar el grueso de los reactivos de tinción, contratinción y fijadores de tinción sin desplazar estos reactivos con líquido de lavado que fluye continuamente. Esto puede mejorar la calidad de la tinción, la calidad de la contratinción, la capacidad de control de la tinción, la capacidad de control de la contratinción y/u otros aspectos del procesamiento de muestras. Por ejemplo, cuando el grueso de los reactivos de tinción, contratinción y fijadores de tinción se desplaza con líquidos de lavado que fluyen continuamente, se pueden producir cambios insignificantes en los atributos (por ejemplo, intensidad de tinción, intensidad de contratinción, tono de la tinción y/o tono de la contratinción) de las muestras. Aunque a menudo son sutiles, los cambios en los atributos durante los periodos de intercambio pueden tender a ser imprecisos y/o irregulares. Por lo tanto, puede ser deseable reducir o eliminar los cambios en los atributos durante los periodos de intercambio. En al menos algunos casos, se espera que la retirada del grueso de los reactivos de tinción, contratinción y fijadores de tinción con gas y, a continuación, la retirada de los volúmenes residuales de estos reactivos con volúmenes, en general, estacionarios de líquido de lavado reduzca o elimine los cambios en los atributos durante los periodos de intercambio.

La figura 71 es una vista isométrica de un dispositivo de retirada de líquidos 4700 con una cuchilla de gas 4710 lineal (por ejemplo, uniplanar) y un elemento de succión 4712. La cuchilla de gas 4710 tiene una pluralidad de agujeros espaciados configurados para generar una cortina de gas 4720. La cortina de gas lineal 4720 ilustrada se extiende a través del ancho W del portaobjetos 4020 de modo que la cortina de gas 4720 se extienda más allá del borde 4540 del portaobjetos 4020. La cuchilla de gas 4710 se puede mover a lo largo de una trayectoria de procesamiento 4729 que, en general, es paralela a una línea central o eje longitudinal central 4021 del portaobjetos 4020. La cortina de gas 4720 en avance puede tender a impulsar un volumen de líquido 4740 hacia una zona de recogida de presión baja 4742 (ilustrada en línea fantasma), que se sitúa próxima al borde 4542 del portaobjetos 4020. El elemento de succión 4712 tiene una boquilla de entrada 4750 con un puerto de entrada 4752 situada para aspirar líquido (por ejemplo, líquido conjunto) en la zona de recogida 4742.

La figura 72 muestra el dispositivo de retirada de líquidos 4700 que empuja el líquido 4740 a lo largo del portaobjetos 4020 mientras el elemento de succión 4712 succiona el líquido 4740. A medida que el dispositivo de retirada de líquidos 4700 avanza distalmente hacia el extremo 4143 del portaobjetos 4020, el líquido 4740 tiende a fluir a lo largo de la cortina de gas 4720 como se indica por la flecha 4770. Como tal, el líquido 4740 se puede mover lejos del borde longitudinal 4540. Si el líquido 4740 alcanza el borde 4147, la tensión de superficie puede ayudar a mantener el líquido 4740 en la superficie superior 4044 del portaobjetos 4020.

La figura 73 muestra el puerto de entrada 4752 situado en una esquina 4780 del portaobjetos 4020. El líquido 4740 se captura entre los bordes 4147, 4542. En el presente documento, la altura del puerto de entrada 4752 puede disminuir a medida que se acerca a la esquina 4780 para ayudar a tomar el volumen de líquido 4740.

Los dispositivos de retirada de líquidos de la presente tecnología pueden tener una amplia gama de diferentes tipos de salidas y cuchillas de gas. La figura 74 es una vista inferior de un dispositivo de retirada de líquidos 4800 que incluye una cuchilla de gas 4810 no lineal (por ejemplo, multiplanar o no planar) y un elemento de succión 4814. La cuchilla de gas 4810 puede estar conformada en V y tiene una serie de ranuras alargadas 4820 a través de las que fluye gas para producir una cortina de gas. De otro modo, la cuchilla de gas 4810 puede ser una cuchilla de gas conformada en U. Las dimensiones (por ejemplo, longitudes, anchos, etc.) de las ranuras alargadas 4820 se pueden seleccionar para lograr una cortina de gas deseada. Los dispositivos de retirada de líquidos pueden tener cualquier número de cuchillas de gas de configuraciones diferentes, incluyendo configuraciones con conformación en V, configuraciones con conformación en U, configuraciones lineales. La figura 75 es una vista inferior de un dispositivo de retirada de líquidos 4840 con dos cuchillas de gas 4842, 4844. Un elemento de succión 4852 está localizado entre las cuchillas de gas 4842, 4844, y un elemento de succión 4845 está próximo a un vértice 4846 de la cuchilla de gas 4844. En funcionamiento, la cuchilla de gas 4844 sobresaliente y el elemento de succión 4845 pueden cooperar para retirar la mayor parte de un volumen de líquido en un portaobjetos de microscopio. Los volúmenes residuales de líquido se pueden retirar posteriormente usando la cuchilla de gas de arrastre 4842 y el elemento de succión 4852.

Los dispositivos de retirada de líquidos divulgados en el presente documento pueden incluir una pluralidad de elementos de succión que pueden retirar simultánea o secuencialmente líquido de un portaobjetos de microscopio. A modo de ejemplo, se pueden situar una pluralidad de elementos de succión entre los lados de una cortina de gas. El número, posición y espaciado de los elementos de succión se pueden seleccionar en base a la configuración de la cortina de gas. Por ejemplo, se pueden usar dos elementos de succión con una cuchilla de gas conformada en W que produce una cortina de gas conformada en W. Se pueden utilizar otros números de elementos de succión para cuchillas de gas que tengan otras configuraciones.

La figura 76 es una vista isométrica de dos cuchillas de gas 4910, 4912. Las figuras 77 y 78 son vistas laterales de las dos cuchillas de gas 4910, 4912. En referencia ahora a la figura 76, las cuchillas de gas 4910, 4912 están espaciadas para producir cortinas de gas 4920, 4922, respectivamente, que definen un hueco de contención 4914 para contener un volumen de líquido 4916 (por ejemplo, una película, un charco, etc.). Las cuchillas de gas 4910, 4912 se pueden mover juntas para trasladar el volumen de líquido 4916 a lo largo del portaobjetos 4020. Por ejemplo, las cuchillas de gas 4910, 4912 se pueden mover hacia adelante y hacia atrás para trasladar el volumen de líquido 4916 a través de una o más muestras 4930 (una identificada en las figuras 77 y 78). La figura 77 muestra el volumen de líquido 4916 que cubre parcialmente una muestra 4930, y la figura 78 muestra el volumen de líquido 4916 que cubre tres muestras 4930. La distancia D entre las cuchillas de gas 4910, 4912 se puede incrementar o disminuir para incrementar o disminuir el tamaño del hueco 4914.

Los conjuntos de cabezal, dispositivos de retirada de líquidos y sus componentes se pueden usar con una variedad de sistemas de vacío, sistemas de gas presurizado y módulos de equipo de tinción. Por ejemplo, el dispositivo de retirada de líquidos 4700 analizado en conexión con las figuras 71-73, los dispositivos de retirada de líquidos 4800, 4840 analizados en conexión con las figuras 74 y 75, y las cuchillas de gas 4910, 4912 analizadas en conexión con las figuras 76-78 se pueden incorporar en una amplia gama de diferentes tipos de conjuntos de cabezal y en comunicación fluida con diferentes tipos de sistemas de vacío/sistemas de gas presurizado, etc.

Ejemplos seleccionados de gestión térmica en equipos de tinción

La implementación de la consistencia y capacidad de control de la temperatura de procesamiento potenciadas en un sistema de tinción histológico automatizado puede ser desafiante técnicamente por una serie de motivos. En primer lugar, la temperatura en un laboratorio de histología típico varía típicamente con el tiempo debido a los ciclos de los equipos de calefacción y aire acondicionado y/u otros factores. En segundo lugar, los sistemas de tinción histológicos automatizados se localizan, a menudo, cerca de otros equipos (por ejemplo, autoclaves, campanas, etc.) que provocan de forma inconsistente calentamiento y/o enfriamiento locales. En tercer lugar, las sensibilidades a la temperatura entre los diversos componentes de un sistema de tinción histológico automatizado y entre las diversas operaciones realizadas dentro de un sistema de tinción histológico automatizado pueden variar significativamente. Como otra consideración, los líquidos de procesamiento usados en los sistemas de tinción histológicos automatizados convencionales tienden a ser altamente volátiles y, por lo tanto, se pueden evaporar a una tasa inaceptablemente alta a temperaturas altas. La evaporación, en general, es indeseable porque tiende a asociarse con un enfriamiento por evaporación inconsistente de las muestras durante el procesamiento dependiente de la temperatura, el secado prematuro de las muestras y artefactos de secado asociados, olores nocivos y riesgos de explosión intensificados, entre otros problemas. Además, el enfriamiento por evaporación inconsistente puede ser proporcionalmente más problemático a temperaturas altas que a temperaturas bajas, puesto que la disminución del bulbo húmedo se incrementa proporcionalmente con la temperatura del bulbo seco a humedad relativa constante. Los problemas a temperaturas relativamente bajas incluyen, entre otros, una escasa cinética de reacción (por ejemplo, inaceptablemente lenta) para al menos algunas reacciones de tinción.

Dada la presencia de algunos o todos los desafíos técnicos asociados establecidos anteriormente y/u otros desafíos técnicos no establecidos en el presente documento, seleccionar una estrategia para potenciar la consistencia y capacidad de control de la temperatura de procesamiento en un sistema de tinción histológico automatizado no es trivial. En el presente documento, esta estrategia puede incluir calentar un entorno interno de un equipo de tinción del sistema para provocar una temperatura de referencia (por ejemplo, de punto de fijación, de estado estacionario y/o promedio) del entorno interno para que esté dentro de un intervalo mayor que las temperaturas ambientales. Procesar muestras a temperaturas elevadas en lugar de a temperaturas disminuidas puede ser ventajoso, por ejemplo, porque puede distinguir lo suficientemente el procesamiento de la variabilidad térmica ambiental (es decir, el "ruido" térmico ambiental) sin ralentizar indebidamente la cinética de la tinción y/u otras reacciones de procesamiento de muestras dependiente de la temperatura. El procesamiento de muestras a temperaturas elevadas puede mejorar realmente la cinética de al menos algunas reacciones de procesamiento de muestras y, por lo tanto, puede incrementar el rendimiento del sistema. Como otra ventaja potencial, mantener un entorno interno de un equipo de tinción a una temperatura de referencia dentro de un intervalo mayor que las temperaturas ambientales se puede lograr por medio de calentamiento sin enfriamiento acompañante. Evitar la complejidad, el volumen, el consumo de energía y/u otras desventajas de los sistemas de enfriamiento puede ser un beneficio significativo. Cuando las muestras se procesan a temperaturas elevadas, la evaporación y otros desafíos de la compatibilidad de los líquidos de procesamiento se pueden abordar, por ejemplo, por la selección de diferentes líquidos de procesamiento (por ejemplo, menos volátiles). Un análisis más detallado de este y otros aspectos del procesamiento de líquidos usados conjuntamente con sistemas de tinción histológicos automatizados

configurados de acuerdo con la presente tecnología se proporciona a continuación en una subsección separada.

Se puede seleccionar una temperatura de referencia elevada adecuada para el procesamiento de muestras como límite superior de las temperaturas ambientales esperadas más un tampón adecuado. Se espera que las temperaturas sostenidas en la mayoría de los entornos de laboratorio de histología caigan dentro de un intervalo de 15 °C a 32 °C. Se espera que el equipo localizado comúnmente cerca de sistemas de tinción histológicos automatizados en estos entornos incremente la temperatura local alrededor de los sistemas en de 0 °C a 4 °C en la mayoría de los casos. Un tampón adecuado puede ser, por ejemplo, de 1 °C a 14 °C. En al menos algunos casos, la fiabilidad de determinados componentes (por ejemplo, válvulas) dentro o cerca de un equipo de tinción de un sistema de tinción histológico automatizado puede comenzar a disminuir indebidamente y/u otras consecuencias negativas se pueden asociar con temperaturas por encima de 43 °C, 45 °C, 50 °C u otro umbral adecuado. Con estas y/u otras consideraciones en mente, el procesamiento de muestras (por ejemplo, tinción) se puede llevar a cabo a una temperatura de referencia dentro de un intervalo de 37 °C a 43 °C. En particular, una temperatura de referencia de un entorno interno dentro de un equipo de tinción durante el procesamiento de muestras (por ejemplo, tinción) es de aproximadamente 40 °C. De otro modo, se pueden usar otras temperaturas de referencia adecuadas, tal como otras temperaturas de referencia adecuadas dentro de un intervalo de 35 °C a 50 °C.

Los equipos de tinción dentro de los sistemas de la presente tecnología se pueden calentar internamente por diferentes tipos de calentadores. Por ejemplo, un equipo de tinción puede incluir uno o más calentadores que calientan internamente el equipo de tinción principalmente por convección forzada y uno o más calentadores que calientan internamente el equipo de tinción principalmente por convección natural y/o radiación térmica. Estos calentadores pueden funcionar simultánea o no simultáneamente. Cuando están presentes, los calentadores que calientan principalmente por diferentes modalidades de calentamiento respectivas se pueden complementar entre sí. Por ejemplo, un calentador por convección forzada puede ser muy adecuado para elevar la temperatura de un entorno interno de un equipo de tinción a una temperatura de referencia deseada relativamente rápido, pero también es propenso a promover la evaporación indeseable de los líquidos de procesamiento usados dentro del entorno interno. Por el contrario, un calentador con una masa significativa que se calienta de forma conductora y transfiere calor a un entorno interno de un equipo de tinción principalmente por convección natural y/o radiación térmica puede alcanzar una temperatura de referencia deseada relativamente de forma lenta, pero puede ser muy adecuado para mantener la temperatura de referencia con el tiempo sin promover la evaporación indeseable de los líquidos de procesamiento usados dentro del entorno interno. También son posibles otras sinergias.

La figura 79 es una vista isométrica de un equipo de tinción 5000. Las figuras 80-82 son vistas en sección transversal que ilustran componentes dentro de un entorno interno 5002 del equipo de tinción 5000. En particular, la figura 80 es una vista lateral en sección transversal tomada a lo largo de la línea 80-80 en la figura 79. Las figuras 81 y 82 son vistas en planta en sección transversal tomadas, respectivamente, a lo largo de las líneas 81-81 y 82-82 en la figura 80. Con referencia a las figuras 79-82 juntas, el equipo de tinción 5000 puede incluir una carcasa de equipo de tinción 5004 que define el entorno interno 5002. Como se ilustra, el equipo de tinción 5000 incluye una placa 5006 dispuesta horizontalmente en una elevación intermedia dentro del entorno interno 5002. La placa 5006 puede actuar como una masa térmica con suficiente volumen para modular la amplitud y/o frecuencia de las no uniformidades de temperatura transitoria dentro del entorno interno 5002. Por ejemplo, la placa 5006 puede tener un grosor uniforme o no uniforme mayor de 0,5 centímetros, tal como mayor de 1 centímetro. Además, la placa 5006 puede estar fabricada de un material térmicamente conductor, tal como aluminio. Esto puede activar la transferencia de calor entre la placa 5006 y el gas (por ejemplo, aire) dentro del entorno interno 5002, lo que puede, a su vez, activar el equilibrio de las no uniformidades de temperatura dentro del entorno interno 5002. De otro modo, la placa 5006 se puede reemplazar o complementar con una masa térmica que tenga otra forma, posición y/o composición adecuadas. Todavía, de otro modo, el equipo de tinción 5000 puede estar sin masa térmica.

La placa 5006 puede compartimentar al menos parcialmente el entorno interno 5002 en una región superior 5002a y una región inferior 5002b. Por ejemplo, la placa 5006 puede ocupar al menos un 50 % en área de una división planar entre las regiones superior e inferior 5002a, 5002b. De forma alternativa, el entorno interno 5002 puede estar no compartimentado o compartimentado por una estructura de compartimentación distinta de la placa 5006. El equipo de tinción 5000 puede incluir un portal 5008 a través del que se puede recibir un portador de portaobjetos 5009 en la región inferior 5002b. El portal 5008 puede incluir una puerta 5010 configurada para abrirse ladeándose hacia el entorno interno 5002 en lugar de ladeándose lejos del entorno interno 5002. Esto puede ser útil, por ejemplo, para prevenir que la puerta 5010 obstruya el movimiento del portador de portaobjetos 5009 lateralmente con respecto a una posición de traspaso justo fuera del portal 5008 cuando la puerta 5010 está abierta. El portal 5008 también puede incluir un sensor de puerta 5011 configurado para detectar si la puerta 5010 está abierta o cerrada. Por ejemplo, el sensor de puerta 5011 puede incluir dos sensores separados que detectan respectivamente la presencia de la puerta 5010 en una configuración abierta y una configuración cerrada. El sensor de puerta 5011 se puede conectar de forma funcional a un controlador (no mostrado), que puede usar información del sensor de puerta 5011 para gestionar el movimiento robótico del portador de portaobjetos 5009.

Una vez en el interior del entorno interno 5002, el portador de portaobjetos 5009 se puede soportar dentro de la

región inferior 5002b por debajo de un par de aberturas 5012 en la placa 5006. El equipo de tinción 5000 puede incluir cabezales de procesamiento 5014 (por ejemplo, conjuntos de cabezal) dispuestos al menos principalmente dentro de la región superior 5002a. Por ejemplo, los cabezales de procesamiento 5014 se pueden extender de la región superior 5002a hacia la región inferior 5002b hacia el portador de portaobjetos 5009 a través de las aberturas 5012, tales como dos cabezales de procesamiento 5014 a través de una abertura 5012 y otros dos cabezales de procesamiento 5014 a través de la otra abertura 5012 o en otra disposición adecuada. De forma alternativa, los cabezales de procesamiento 5014 se pueden disponer totalmente dentro de la región superior 5002a. La placa 5006 puede tener una primera superficie principal 5016 que mira hacia abajo hacia el portador de portaobjetos 5009 y una segunda superficie principal 5018 que mira hacia arriba. Las muestras (no mostradas) portadas por portaobjetos 5020 (uno identificado) en el portador de portaobjetos 5009 pueden estar relativamente cerca de la primera superficie principal 5016 de la placa 5006. Por ejemplo, los portaobjetos 5020 individuales pueden tener una superficie principal en la que se dispone una muestra, y las superficies principales de los portaobjetos 5020 pueden tener menos de 2 centímetros, menos de 3 centímetros y/o menos de 5 centímetros de la primera superficie principal 5016 de la placa 5006. En esta vecindad, el efecto modulador de temperatura de la placa 5006 puede ser más fuerte de lo que lo es en otras partes del entorno interno 5002.

El equipo de tinción 5000 puede incluir uno o más calentadores internos. Estos calentadores se pueden configurar individualmente para calentar internamente el equipo de tinción 5000 principalmente por convección forzada, convección natural, radiación térmica o una combinación de las mismas. Por ejemplo, el equipo de tinción 5000 puede incluir uno o más elementos de calentamiento conductores 5022 acoplados de forma funcional a la placa 5006. Como se ilustra, el equipo de tinción 5000 incluye cuatro elementos de calentamiento conductores 5022 (identificados individualmente como los elementos de calentamiento conductores 5022a-5022d) acoplados de forma funcional a partes espaciadas lateralmente de la placa 5006 a lo largo de la segunda superficie principal 5018 de la placa 5006. De otro modo, el equipo de tinción 5000 puede incluir otro número, tipo y/o posición adecuados de elementos de calentamiento conductores 5022 o ningún elemento de calentamiento conductor 5022. Los elementos de calentamiento conductores 5022 se pueden controlar independientemente. Por ejemplo, el equipo de tinción 5000 puede incluir sensores de temperatura (no mostrados) asociados de forma funcional con partes espaciadas lateralmente respectivas de la placa 5006. Estos sensores de temperatura pueden proporcionar entrada a los respectivos bucles de control de retroalimentación que controlan el funcionamiento de los respectivos elementos de calentamiento conductores 5022. Además o de forma alternativa, el equipo de tinción 5000 puede incluir un sensor de temperatura 5023 configurado para medir una temperatura del aire dentro del entorno interno 5002.

El equipo de tinción 5000 puede incluir además uno o más calentadores por convección forzada 5024. Como se ilustra, el equipo de tinción 5000 incluye dos calentadores por convección forzada 5024 (identificados individualmente como los calentadores por convección forzada 5024a y 5024b) dispuestos dentro de la región inferior 5002b. De otro modo, el equipo de tinción 5000 puede incluir otro número, tipo y/o posición adecuados de calentadores por convección forzada 5024 o ningún calentador por convección forzada 5024. Los calentadores por convección forzada 5024 individuales pueden incluir un elemento de calentamiento (no mostrado), un disipador de calor 5026 acoplado de forma funcional (por ejemplo, de forma conductora) al elemento de calentamiento y un ventilador 5028 configurado para propulsar gas (por ejemplo, aire) sobre una superficie del disipador de calor 5026. Los disipadores de calor 5026 pueden estar fabricados de un material térmicamente conductor (por ejemplo, aluminio) y pueden incluir rasgos característicos con área de superficie relativamente alta para promover la transferencia de calor al gas propulsado. Por ejemplo, los disipadores de calor 5026 pueden incluir, respectivamente, series de alambres de aluminio cilíndricos 5029 que se extienden hacia arriba (uno identificado). Los ventiladores 5028 pueden estar espaciados lateralmente del portador de portaobjetos 5009 y configurarse para soplar gas diagonalmente hacia arriba. Por ejemplo, los ventiladores 5028 se pueden orientar para tener una dirección de salida predominante a un ángulo de 20 grados a 70 grados con respecto a la horizontal, tal como de 30 grados a 60 grados con respecto a la horizontal. Al tener esta orientación, los ventiladores 5028 pueden tender a soplar gas hacia un hueco entre el portador de portaobjetos 5009 y la primera superficie principal 5016 de la placa 5006. En al menos algunos casos, el movimiento constante de gas a través de este hueco puede potenciar la uniformidad de temperatura dentro del hueco.

La figura 83 es un diagrama de flujo que ilustra un procedimiento 5100 para hacer funcionar el equipo de tinción 5000. Con referencia a las figuras 79-83 juntas, el procedimiento 5100 puede comenzar con el equipo de tinción 5000 en un estado inactivo (bloque 5102). En este estado, el equipo de tinción 5000 puede consumir poca o ninguna energía. Desde el estado inactivo, el equipo de tinción 5000 se puede calentar (bloque 5104). Calentar el equipo de tinción 5000 puede incluir hacer funcionar los elementos de calentamiento conductores 5022 y/o los calentadores por convección forzada 5024 para lograr una temperatura de referencia adecuada dentro del entorno interno 5002. En al menos algunos casos, el equipo de tinción 5000 se calienta mientras las muestras destinadas para su procesamiento dentro del entorno interno 5002 se someten a procesamiento que no implica el uso del equipo de tinción 5000, tal como el procesamiento dentro de un horno de secado (no mostrado). Esto puede permitir que el equipo de tinción 5000 se caliente sin retrasar el procesamiento de las muestras. Después de que se calienta el equipo de tinción 5000, si aún no se necesita el procesamiento de muestras usando el equipo de tinción 5000, el equipo de tinción 5000 se puede mantener en un estado de espera (bloque 5106). Mientras está en el estado de espera, el entorno interno 5002 puede estar libre, pero todavía mantenerse a una temperatura de

referencia dentro de un intervalo mayor que las temperaturas ambientales. En el presente documento, el equipo de tinción 5000 se puede mantener en el estado de espera en todo momento o prácticamente en todo momento cuando un sistema que incluye el equipo de tinción 5000 está encendido y el equipo de tinción 5000 no está en uso. Esto puede ser útil, por ejemplo, para permitir que el equipo de tinción 5000 tenga una asignación de potencia en vatios relativamente baja mientras todavía está listo para procesar muestras bajo demanda en un periodo de tiempo aceptable. Cuando un sistema incluye múltiples equipos de tinción 5000 y, en otros casos, la asignación de potencia en vatios disponible para el equipo de tinción 5000 puede ser relativamente pequeña, tal como de 200 vatios o menos.

El procesamiento de muestras dentro del equipo de tinción 5000 puede comenzar cuando el portador de portaobjetos 5009 se introduce en el entorno interno 5002 (bloque 5108). La introducción del portador de portaobjetos 5009 puede incluir abrir el portal 5008, mover (por ejemplo, mover robóticamente) el portador de portaobjetos 5009 hacia y al entorno interno 5002, y, a continuación, cerrar el portal 5008. Una vez en el interior del entorno interno 5002, las muestras se pueden procesar (bloque 5110). A continuación se proporciona una descripción del procesamiento de muestras con referencia a la figura 86. En al menos algunos casos, después de que se hayan procesado las muestras, el portador de portaobjetos 5009 se sostiene durante un periodo de tiempo dentro del equipo de tinción 5000 (bloque 5112). Este puede ser el caso, por ejemplo, cuando una estación de procesamiento a la que se va a suministrar el portador de portaobjetos 5009 después de salir del equipo de tinción 5000 aún no está disponible. Cuando dicha estación de procesamiento se vuelve disponible, o en otro momento adecuado, el portador de portaobjetos 5009 se puede retirar del equipo de tinción 5000 (bloque 5114). La retirada del portador de portaobjetos 5009 puede incluir abrir el portal 5008, mover (por ejemplo, mover robóticamente) el portador de portaobjetos 5009 fuera del entorno interno 5002 y, a continuación, cerrar el portal 5008. A continuación, el procedimiento 5100 puede incluir determinar si el equipo de tinción 5000 se debe parar. De lo contrario, el equipo de tinción 5000 se puede volver a poner en estado de espera hasta que se necesite para procesar muestras adicionales.

Durante todo o una parte adecuada del procedimiento 5100, el equipo de tinción 5000 se puede calentar internamente, tal como haciendo funcionar los elementos de calentamiento conductores 5022 y/o los calentadores por convección forzada 5024. Esto puede provocar que una temperatura promedio dentro del entorno interno 5002 sea mayor que una temperatura ambiental, tal como una temperatura ambiental promedio alrededor de un exterior de la carcasa de equipo de tinción 5004 dentro de una carcasa principal (no mostrada) de un sistema que incluye el equipo de tinción 5000. El funcionamiento de los elementos de calentamiento conductores 5022 y/o los calentadores por convección forzada 5024 se puede controlar para gestionar la temperatura dentro del entorno interno 5002. Por ejemplo, los elementos de calentamiento conductores 5022 y/o los calentadores por convección forzada 5024 se pueden hacer funcionar de forma bimodal, progresiva y/o de otra manera adecuada usando uno o más bucles de retroalimentación. La entrada a los bucles de retroalimentación puede incluir mediciones de temperatura del aire (por ejemplo, del sensor de temperatura 5023), mediciones de temperaturas de material sólido (por ejemplo, de uno o más sensores de temperatura conectados a la placa 5006) y/o mediciones de otras características dinámicas adecuadas correspondientes al funcionamiento de los elementos de calentamiento conductores 5022 y/o los calentadores por convección forzada 5024.

En el presente documento, los elementos de calentamiento conductores 5022 y los calentadores por convección forzada 5024 pueden funcionar conjuntamente. De otro modo, los elementos de calentamiento conductores 5022 funcionan conjuntamente y los calentadores por convección forzada 5024 pueden funcionar conjuntamente independientemente de los elementos de calentamiento conductores 5022. Todavía, de otro modo, uno o más de los elementos de calentamiento conductores 5022 individuales pueden funcionar independientemente y/o uno o más de los calentadores por convección forzada 5024 individuales pueden funcionar independientemente. El funcionamiento independiente de al menos algunos de los elementos de calentamiento conductores 5022 individuales y/o los calentadores por convección forzada 5024 individuales puede facilitar la modulación de las no uniformidades de temperatura dentro del entorno interno 5002. Por ejemplo, los elementos de calentamiento conductores 5022 individuales pueden funcionar de forma asíncrona para compensar al menos parcialmente las no uniformidades de temperatura detectadas entre diferentes partes espaciadas lateralmente de la placa 5006. De forma alternativa o además, los elementos de calentamiento conductores 5022 individuales y los calentadores por convección forzada 5024 individuales pueden funcionar independientemente en algunos casos y conjuntamente en otros casos. Por ejemplo, si la temperatura del aire dentro del entorno interno 5002 excede un umbral superior fijado, todos los elementos de calentamiento conductores 5022 y los calentadores por convección forzada 5024 se pueden apagar para prevenir que el equipo de tinción 5000 se sobrecaliente. Si la temperatura medida sigue aumentando más allá de otro umbral, se puede apagar la alimentación del equipo de tinción 5000. Esto puede ser útil, por ejemplo, para reducir o eliminar el riesgo de dañar térmicamente las muestras dentro del entorno interno 5002.

La figura 84 es un gráfico 5200 de la temperatura promedio dentro del entorno interno 5002 (eje y) en relación con el tiempo (eje x) durante el procedimiento 5100. De forma similar, la figura 85 es un gráfico 5300 de la velocidad de flujo de aire promedio dentro del entorno interno 5002 (eje y) en relación con el tiempo (eje x) durante el procedimiento 5100. Para simplificar la ilustración, la escala de temperatura promedio, la escala de velocidad de flujo de aire promedio y las escalas de tiempo en las figuras 84 y 85 son arbitrarias. Con referencia a las figuras

79-85 juntas, cuando el equipo de tinción 5000 está inactivo, la temperatura promedio puede ser la misma que o cercana a una temperatura ambiental. Durante este periodo, los calentadores por convección forzada 5024 pueden estar apagados y la velocidad de flujo de aire promedio puede ser baja. Por el contrario, durante el periodo de calentamiento, los calentadores por convección forzada 5024 se pueden hacer funcionar de forma intensa, la velocidad de flujo de aire promedio puede ser alta y la temperatura promedio se puede incrementar. Cuando la temperatura promedio alcanza una temperatura de referencia adecuada para el estado de espera, el funcionamiento de los elementos de calentamiento conductores 5022 y los calentadores por convección forzada 5024 se puede controlar en base a la retroalimentación. Un ciclo de servicio u otro parámetro de funcionamiento similar de los calentadores por convección forzada 5024 puede ser menor cuando el equipo de tinción 5000 está en el estado de espera que cuando el equipo de tinción 5000 se calienta. En consecuencia, como se muestra en la figura 85, la velocidad de flujo de aire promedio cuando el equipo de tinción 5000 está en el estado de espera puede ser menor que cuando el equipo de tinción 5000 se calienta.

Poco antes de que se abra la puerta 5010 y se introduzca el portador de portaobjetos 5009 en el entorno interno 5002, la circulación activa de gas dentro del entorno interno 5002 se puede suspender o ralentizar para reducir la pérdida de calor a través del portal 5008. Por ejemplo, los calentadores por convección forzada 5024 se pueden apagar o hacer funcionar a un nivel relativamente bajo. Esto puede persistir hasta que el portador de portaobjetos 5009 se introduzca completamente en el entorno interno 5002 y la puerta 5010 se cierre de nuevo. Como se muestra en la figura 85, la velocidad de flujo de aire promedio mientras se introduce el portador de portaobjetos 5009 puede ser relativamente baja, por ejemplo, tal como menor de 0,1 metros por segundo. Incluso si los calentadores por convección forzada 5024 están apagados mientras se introduce el portador de portaobjetos 5009, la convección natural, la convección forzada residual y/u otros fenómenos pueden provocar que la velocidad de flujo de aire promedio sea mayor que cuando el equipo de tinción 5000 está inactivo. Como se muestra en la figura 84, con menos calentamiento de los calentadores por convección forzada 5024 y con alguna pérdida de calor a través del portal 5008, la temperatura promedio puede disminuir mientras se introduce el portador de portaobjetos 5009. Después de esto, mientras el portador de portaobjetos 5009 está dentro del entorno interno 5002 y las muestras se procesan, la temperatura promedio puede ser relativamente alta, tal como de aproximadamente 40 °C u otra temperatura de procesamiento de muestras adecuada dentro de uno de los intervalos de temperaturas de procesamiento de muestras analizados anteriormente. Las muestras pueden estar al menos sustancialmente en equilibrio térmico con el entorno interno 5002 mientras se procesan. Por ejemplo, una diferencia de temperatura promedio entre las muestras puede ser menor de 3 °C (por ejemplo, menor de 2 °C) mientras se procesan las muestras. Un desglose más detallado de la temperatura promedio y la velocidad de flujo de aire promedio mientras se procesan las muestras se proporciona a continuación con referencia a las figuras 87 y 88.

Mientras las muestras se mantienen dentro del entorno interno 5002 después del procesamiento, la circulación activa de gas dentro del entorno interno 5002 puede suspenderse o ralentizarse. Por ejemplo, los calentadores por convección forzada 5024 se pueden apagar o hacer funcionar a un nivel relativamente bajo. Esto puede ser útil, por ejemplo, para reducir la evaporación innecesaria de líquido (por ejemplo, líquido de acondicionamiento) en el que se sumergen las muestras. Mientras el portador de portaobjetos 5009 se retira del entorno interno 5002, los calentadores por convección forzada 5024 pueden quedar apagados o funcionando a un nivel relativamente bajo para reducir la pérdida de calor a través del portal 5008. Como se muestra en la figura 85, la velocidad de flujo de aire promedio mientras se sostienen las muestras y mientras se retira el portador de portaobjetos 5009 puede ser relativamente baja, tal como menor de 0,1 metros por segundo. Como se muestra en la figura 84, con menos calentamiento de los calentadores por convección forzada 5024, la temperatura promedio puede disminuir mientras se sostienen las muestras. A continuación, con alguna pérdida de calor a través del portal 5008, la temperatura promedio puede continuar disminuyendo. Después de que se retira el portador de portaobjetos 5009 y se cierra el portal 5008, la temperatura promedio puede progresar hacia la temperatura promedio cuando el equipo de tinción 5000 está inactivo o la temperatura promedio con el equipo de tinción 5000 está en el estado de espera dependiendo de si se necesita el equipo de tinción 5000 para procesar muestras adicionales.

La figura 86 es un diagrama de flujo que ilustra un procedimiento de procesamiento de muestras 5400 correspondiente a la parte de procesamiento de muestras del procedimiento 5100 (figura 83). El procedimiento 5400 puede incluir, en primer lugar, desparafinar las muestras (bloque 5402). Luego, las muestras se pueden acondicionar una primera vez (bloque 5404), tal como reduciendo la hidrofobia de las muestras y/o de otro modo preparando químicamente las muestras para su tinción. A continuación, las muestras se pueden someter a un primer lavado (bloque 5406). Después del primer lavado, las muestras se pueden teñir (bloque 5408) (por ejemplo, teñir no inmunohistoquímicamente) y, a continuación, someterse a un segundo lavado (bloque 5410). En algunos casos, la tinción se diferencia y destiñe (bloque 5412) y las muestras se someten posteriormente a un tercer lavado (bloque 5414). Después del tercer lavado, o directamente después del segundo lavado si no se realiza ninguna diferenciación ni destinción de la tinción, la tinción se puede fijar y ajustar su tono (bloque 5416), por ejemplo, tal como por azulado o violáceo. A continuación, las muestras pueden someterse a un cuarto lavado (bloque 5418). Luego, las muestras se pueden contrateñir (bloque 5420) y, a continuación, someterse a un quinto lavado (bloque 5422) que también puede servir para diferenciar y destiñir la contratinción. Finalmente, las muestras se pueden acondicionar una segunda vez (bloque 5424), por ejemplo, incrementando la hidrofobia de las muestras y/o de otro modo preparando químicamente las muestras para su tapado con cubreobjetos.

La figura 87 es un gráfico 5500 de la temperatura promedio dentro del entorno interno 5002 (eje y) en relación con el tiempo (eje x) durante el procedimiento 5400. De forma similar, la figura 88 es un gráfico 5600 de la velocidad de flujo de aire promedio dentro del entorno interno 5002 (eje y) en relación con el tiempo (eje x) durante el procedimiento 5400. Para simplificar la ilustración, la escala de temperatura promedio, la escala de velocidad de flujo de aire promedio y las escalas de tiempo en las figuras 87 y 88 son arbitrarias. Con referencia a las figuras 79-88 juntas, durante la desparafinación, la primera transferencia y el primer lavado, los calentadores por convección forzada 5024 se pueden hacer funcionar de forma intensa, la velocidad de flujo de aire promedio puede ser relativamente alta y la temperatura promedio se puede incrementar de forma constante. Para cuando se completa el primer lavado, la temperatura promedio y la velocidad de flujo de aire promedio se pueden estabilizar en los valores de referencia respectivos. Si la desparafinación, la primera transferencia y el primer lavado no se incluyen en el procedimiento 5400 (por ejemplo, Cuando el procedimiento 5400 se basa en una receta de "tinción solamente"), las muestras se pueden retener hasta que se alcance la temperatura de referencia.

Durante la tinción, la circulación activa de gas dentro del entorno interno 5002 se puede suspender o ralentizar. Por ejemplo, los calentadores por convección forzada 5024 se pueden apagar o hacer funcionar a un nivel relativamente bajo. Esto puede ser útil, por ejemplo, para reducir la evaporación innecesaria del líquido de tinción en el que se sumergen las muestras durante incubaciones relativamente largas. Como se muestra en la figura 88, la velocidad de flujo de aire promedio durante la tinción puede ser relativamente baja, tal como menor de 0,1 metros por segundo. Como se muestra en la figura 87, con menos calentamiento de los calentadores por convección forzada 5024, la temperatura promedio puede disminuir. Durante el segundo lavado, la velocidad de flujo de aire promedio puede ser relativamente alta y la temperatura promedio se puede incrementar. Después de esto, la velocidad de flujo de aire promedio y la temperatura promedio se pueden estabilizar en los valores de referencia respectivos hasta la segunda transferencia. Durante la segunda transferencia, el funcionamiento de los calentadores por convección forzada 5024 puede pasar al funcionamiento descrito anteriormente con referencia a las figuras 84 y 85 mientras se mantienen las muestras. Por ejemplo, durante la segunda transferencia, los calentadores por convección forzada 5024 se pueden apagar o hacer funcionar a un nivel relativamente bajo.

En el presente documento, la temperatura promedio durante diferentes partes del procedimiento 5400 puede ser ajustable para afectar a los atributos de las muestras procesadas usando el equipo de tinción 5000. Por ejemplo, la temperatura promedio inmediatamente antes y/o durante la tinción se puede seleccionar para controlar la intensidad de la tinción resultante. De forma similar, la temperatura promedio inmediatamente antes y/o durante la contratinción se puede seleccionar para controlar la intensidad de la contratinción resultante. De forma alternativa o además, estas temperaturas promedio se pueden seleccionar conjuntamente entre sí para controlar el equilibrio del color de las muestras teñidas. Por ejemplo, la temperatura promedio inmediatamente antes y/o durante la tinción se puede seleccionar para que sea la misma que o diferente de la temperatura promedio inmediatamente antes y/o durante la contratinción. De otro modo, la temperatura promedio durante diferentes partes del procedimiento 5400 puede no ser ajustable.

Las recetas de acuerdo con las que se procesan las muestras pueden tener uno o más componentes de temperatura. Por ejemplo, una receta dada puede especificar una temperatura promedio para la tinción y una temperatura promedio para la contratinción. Cuando las muestras se procesan de acuerdo con la receta, el funcionamiento de los elementos de calentamiento conductores 5022 y los calentadores por convección forzada 5024 se puede controlar para lograr las temperaturas especificadas. Las temperaturas promedio se pueden calcular automáticamente en base a la indicación de un usuario de un atributo deseado para las muestras. Por ejemplo, un usuario puede seleccionar de una lista de atributos para las muestras (por ejemplo, niveles de intensidad de tinción) y el sistema puede calcular las temperaturas apropiadas solo o conjuntamente con los tiempos apropiados necesarios para lograr los atributos seleccionados. Los atributos pueden incluir, por ejemplo, intensidad de tinción, tono de la tinción, intensidad de contratinción, tono de la contratinción y/o equilibrio del color de la tinción. De otro modo, las temperaturas promedio se pueden introducir manualmente. Como con otras operaciones adecuadas llevadas a cabo dentro del sistema, un controlador (no mostrado) puede usar circuitos de procesamiento (tampoco mostrados) para ejecutar instrucciones legibles por ordenador almacenadas en la memoria (tampoco mostrada) en una forma no transitoria para controlar el calentamiento y operaciones relacionadas dentro del equipo de tinción 5000.

Ejemplos seleccionados de líquidos de procesamiento de muestras

El procesamiento de muestras usando un sistema histológico automatizado puede incluir poner en contacto las muestras y una serie de líquidos. La serie de líquidos puede incluir, por ejemplo, un líquido de desparafinación, un líquido de acondicionamiento, un reactivo de tinción, un reactivo diferenciador de tinción, un reactivo fijador de tinción, un reactivo de contratinción, un líquido de lavado y un líquido para cubreobjetos. Con referencia a la figura 86, durante la desparafinación, una composición de parafina en la que se incluyen las muestras se puede retirar al menos parcialmente para exponer las muestras para su procesamiento adicional. En al menos algunos casos, la desparafinación incluye iteraciones (por ejemplo, 4, 5, 6, 7, 8 u otro número adecuado de iteraciones) de dosificación de un líquido de desparafinación sobre portaobjetos que portan respectivamente las muestras, lo que permite que el líquido de desparafinación dosificado quede en contacto con una composición de parafina en la que se incluyen las muestras durante un periodo de tiempo adecuado para solubilizar una parte de la composición de

parafina (por ejemplo, mientras el líquido de desparafinación está en forma de charco que tiene una conformación mantenida al menos parcialmente por la tensión de superficie), y, a continuación, retirar el líquido de desparafinación dosificado junto con una parte solubilizada de la composición de parafina. El tiempo durante el que el líquido de desparafinación dosificado está en contacto con las muestras puede ser, por ejemplo, un tiempo dentro de un intervalo de 15 segundos a 45 segundos. En un ejemplo particular, el tiempo es de 30 segundos. Los líquidos de desparafinación convencionales típicamente incluyen al menos xileno, que tiene una toxicidad y volatilidad relativamente altas y un punto de inflamación relativamente bajo. Las alternativas convencionales a xileno incluyen monoterpenos, tales como limoneno y pineno. Aunque los monoterpenos tienden a ser menos tóxicos que el xileno, otras propiedades de los monoterpenos pueden ser muy similares a las de xileno. Por ejemplo, los monoterpenos pueden tener volatilidades relativamente altas y puntos de inflamación relativamente bajos.

Los equipos de tinción de funcionamiento de los sistemas histológicos automatizados a temperaturas de referencia elevadas pueden impedir o al menos complicar el uso de xileno, monoterpenos y otros líquidos de desparafinación convencionales, por ejemplo, tal como exacerbando la evaporación problemática de estos líquidos de desparafinación. Sin embargo, las temperaturas de referencia elevadas también pueden facilitar el uso de diferentes líquidos de desparafinación, tales como líquidos de desparafinación que serían disolventes comparativamente escasos de composiciones de parafina a temperaturas ambientales. En lugar de xileno o monoterpenos, los líquidos de desparafinación seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología pueden incluir uno o más alcanos, tales como uno o más alcanos de destilados de petróleo. Las toxicidades y volatilidades de estos líquidos de desparafinación pueden ser menores y los puntos de inflamación de estos líquidos de desparafinación pueden mayores que los de los líquidos de desparafinación convencionales, tales como xileno y monoterpenos. Debido a estas y/u otras diferencias, los líquidos de desparafinación seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología pueden ser relativamente muy adecuados para su uso en equipos de tinción que funcionan a temperaturas de referencia elevadas.

Además de o en lugar de ser relativamente muy adecuados para su uso en equipos de tinción que funcionan a temperaturas de referencia elevadas, los líquidos de desparafinación seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología son muy adecuados para otros usos para los que xileno, monoterpenos y otros líquidos de desparafinación convencionales serían escasamente adecuados. Como ejemplo, los líquidos de desparafinación seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología son muy adecuados para formar barreras hidrófobas en las superficies que llevan muestras de los portaobjetos. Estas barreras hidrófobas pueden bloquear al menos parcialmente la migración indeseable de líquidos menos hidrófobos (por ejemplo, hidrófilos) durante el procesamiento de muestras posterior a la desparafinación. La formación de barreras hidrófobas para reducir la humectación de las etiquetas en las superficies que llevan muestras de los portaobjetos se analiza anteriormente con referencia a las figuras 36-38. También son posibles otros usos de las barreras hidrófobas.

Los líquidos de desparafinación seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología tienen una concentración de alcanos C9-C18 mayor de un 50 % en volumen, tal como una concentración de alcanos C10-C16 mayor de un 50 % en volumen. La concentración de alcanos puede incluir un único alcano o múltiples alcanos. Además, los alcanos pueden ser lineales, ramificados, cíclicos o de otra forma adecuada. Los líquidos de desparafinación seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología tienen una concentración de alcanos C14-C16 de un 10 % a un 30 % en volumen y una concentración de alcanos C9-C15 de un 70 % a un 90 % en volumen. Por ejemplo, un líquido de desparafinación seleccionado o formulado de acuerdo con la presente tecnología puede incluir un 20 % en volumen de destilado de petróleo con alcanos C14-C16 y un 80 % en volumen de destilado de petróleo con alcanos C9-C15. Los destilados de petróleo con alcanos C14-C16 adecuados incluyen, por ejemplo, Linpar® 1416V, disponible de Sasol Limited (Johannesburgo, Sudáfrica). Los destilados de petróleo con alcanos C9-C15 adecuados incluyen, por ejemplo, Drakesol® 165AT, disponible de Calumet Specialty Products Partners, L.P. (Indianápolis, Indiana). Los puntos de inflamación de estos y otros líquidos de desparafinación seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología pueden ser superiores a 80 °C, tales como mayores de 100 °C.

En lugar de estar completamente libres de terpenos, los líquidos de desparafinación seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología pueden incluir un monoterpeno (por ejemplo, limoneno o pineno) u otro terpeno adecuado junto con un componente menos volátil. El terpeno, por ejemplo, puede ser muy adecuado para disolver parafina y el componente menos volátil puede ser muy adecuado para formar una barrera hidrófoba. Los ejemplos de componentes menos volátiles adecuados incluyen lípidos, tales como aceites vegetales (por ejemplo, aceite de cacahuete). Un líquido de desparafinación seleccionado o formulado de acuerdo con la presente tecnología puede incluir un 80 % de limoneno y un 20 % de aceite vegetal. En al menos algunos casos, estos líquidos de desparafinación pueden ser biodegradables.

Después de desparafinar, las muestras pueden tener una hidrofobia residual que sería incompatible con la tinción. El primer acondicionamiento de las muestras después de la desparafinación puede incluir la reducción de esta hidrofobia. En al menos algunos casos, el primer acondicionamiento incluye dosificar un líquido de acondicionamiento sobre los portaobjetos, lo que permite que el líquido de acondicionamiento dosificado quede en contacto con las muestras durante un periodo de tiempo adecuado para acondicionar total o incrementalmente las

muestras (por ejemplo, mientras el líquido de acondicionamiento está en forma de charco que tiene una conformación mantenida al menos parcialmente por la tensión de superficie), y, a continuación, retirar el líquido de acondicionamiento dosificado. El tiempo durante el que el líquido de acondicionamiento dosificado está en contacto con las muestras puede ser, por ejemplo, un tiempo dentro de un intervalo de 5 segundos a 15 segundos. En un ejemplo particular, el tiempo es de 10 segundos. El líquido de acondicionamiento puede ser un líquido que sea soluble tanto en un líquido de desparafinación hidrófobo como en agua.

Los procedimientos convencionales para acondicionar muestras después de desparafinar y antes de teñir típicamente incluyen al menos poner en contacto las muestras con etanol anhidro y, a continuación, con mezclas de etanol graduado y agua que tienen concentraciones decrecientes de etanol y concentraciones crecientes de agua. Por ejemplo, un procedimiento convencional puede incluir poner en contacto las muestras con etanol anhidro, a continuación, una mezcla de un 95% de etanol y un 5 % de agua y, a continuación, una mezcla de un 90 % de etanol y un 10 % de agua. El contacto inicial con etanol anhidro puede servir para desplazar el líquido de desparafinación. El contacto posterior con mezclas de etanol graduado y agua puede servir para preparar las muestras para el contacto con soluciones acuosas. Sin el contacto inicial con etanol anhidro, es probable que persista el líquido de desparafinación residual. Sin el contacto posterior con mezclas de etanol graduado y agua (es decir, si las muestras se pusieran en contacto con una solución acuosa directamente después de ponerse en contacto con etanol anhidro), es probable que las muestras delicadas se dañen.

El uso de etanol anhidro y mezclas de etanol graduado y agua para acondicionar las muestras desparafinadas en procedimientos convencionales es problemático por varios motivos. El etanol, como el xileno y los monoterpenos, tiene un punto de inflamación relativamente bajo y una volatilidad relativamente alta. Por estos y/u otros motivos, el etanol puede ser escasamente adecuado para su uso a temperaturas de referencia elevadas, que tienden a exacerbar la evaporación problemática. Incluso se puede producir una evaporación problemática del etanol a temperaturas ambientales. Además, el etanol anhidro absorbe fácilmente la humedad del aire. Por este motivo, los protocolos asociados con el almacenamiento y uso de etanol anhidro tienden a ser pesados. Como aún otra desventaja, la fontanería y/u otros componentes separados para etanol anhidro y para cada mezcla de etanol graduado y agua diferente puede incrementar apreciablemente el coste, complejidad y/o volumen de los sistemas histológicos automatizados.

En lugar de etanol anhidro y mezclas de etanol graduado y agua, los líquidos de acondicionamiento seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología pueden incluir uno o más éteres glicólicos, tales como uno o más éteres glicólicos basados en propileno (por ejemplo, éteres propilenglicólicos, éteres di(propilenglicólicos) y éteres tri(propilenglicólicos)), éteres glicólicos basados en etileno (por ejemplo, éteres etilenglicólicos, éteres di(etilenglicólicos) y éteres tri(etilenglicólicos)) y análogos funcionales de los mismos. Los puntos de inflamación y las volatilidades de estos líquidos de acondicionamiento pueden ser mayores y menores, respectivamente, que los de los líquidos de acondicionamiento convencionales, tales como etanol y mezclas de etanol graduado y agua. Debido a estas y/u otras diferencias, los líquidos de acondicionamiento seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología pueden ser relativamente muy adecuados para su uso a temperaturas de referencia elevadas. Además, en relación con el alcohol anhidro, los líquidos de acondicionamiento seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología pueden tener tiempos de vida útil más largos y pueden tener pocos requisitos de almacenamiento y uso especiales, si los hay.

En al menos algunos casos, los líquidos de acondicionamiento seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología pueden estar configurados para su uso en una única formulación. Por ejemplo, en estos casos, puede ser posible, sin obstáculo, poner en contacto una muestra con uno o más volúmenes de una única formulación de un líquido de acondicionamiento para desplazar cantidades residuales de un líquido de desparafinación (por ejemplo, un alcano C9-C18) y, a continuación, poner en contacto la muestra con un lavado acuoso sin contacto intermedio entre la muestra y una formulación diluida del líquido de acondicionamiento. El riesgo de daño a estas muestras puede ser insignificante o al menos menor de lo que sería si las muestras se pusieran en contacto con la misma solución acuosa directamente después de ponerse en contacto con etanol anhidro. Además, el número de operaciones implicadas en el acondicionamiento de muestras usando líquidos de acondicionamiento seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología puede ser menor de lo que sería usando líquidos de acondicionamiento convencionales. Por ejemplo, acondicionar muestras en procedimientos de acuerdo con la presente tecnología incluye tres o menos iteraciones de dosificación de un líquido de acondicionamiento sobre portaobjetos que portan respectivamente las muestras, lo que permite que el líquido de acondicionamiento dosificado quede en contacto con las muestras durante un periodo de tiempo adecuado para acondicionar total o incrementalmente las muestras, y, a continuación, retirar el líquido de acondicionamiento dosificado. Un procedimiento de procesamiento de muestras de acuerdo con la presente tecnología puede incluir dos de dichas iteraciones. Por el contrario, un procedimiento de procesamiento de muestras convencional típico incluye cinco o más iteraciones correspondientes. El número relativamente bajo de iteraciones asociadas con el acondicionamiento en los procedimientos de procesamiento de muestras de acuerdo con la presente tecnología puede incrementar el rendimiento de procesamiento de muestras y/o tener otros beneficios.

Los líquidos de acondicionamiento seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología tienen

mayores concentraciones volumétricas de poliol que de alcohol monohídrico o de agua. Por ejemplo, los líquidos de acondicionamiento pueden ser no acuosos y pueden incluir más de un 50 % en volumen de éter glicólico, tal como más de un 50 % en volumen de éter di(propilenglicólico) y/o éter tri(propilenglicólico). Un líquido de acondicionamiento no acuoso seleccionado o formulado de acuerdo puede incluir al menos sustancialmente de forma exclusiva una mezcla de éter di(propilenglicólico)metílico y éter di(propilenglicólico)propílico. De otro modo, un líquido de acondicionamiento no acuoso seleccionado o formulado de acuerdo con la presente tecnología puede incluir al menos sustancialmente de forma exclusiva éter di(propilenglicólico)propílico. Los éteres glicólicos adecuados incluyen, por ejemplo, los productos DOWANOL disponibles de Dow Chemical Company (Midland, Michigan). Estos y otros líquidos de acondicionamiento seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología pueden tener puntos de inflamación mayores de 70 °C, tal como mayores de 80 °C.

Después de desparafinar y acondicionar, el primer lavado puede incluir iteraciones (por ejemplo, 2, 3 u otro número adecuado de iteraciones) de dosificación de un líquido de lavado sobre los portaobjetos, lo que permite que el líquido de lavado dosificado quede en contacto con las muestras durante un periodo de tiempo adecuado para lavar total o incrementalmente las muestras (por ejemplo, mientras el líquido de lavado está en forma de charco que tiene una conformación mantenida al menos parcialmente por la tensión de superficie), y, a continuación, retirar el líquido de lavado dosificado. El tiempo durante el que el líquido de lavado dosificado está en contacto con las muestras puede ser, por ejemplo, un tiempo dentro de un intervalo de 5 segundos a 15 segundos. En un procedimiento de procesamiento de muestras de acuerdo con la presente tecnología, este tiempo puede ser de 10 segundos. Convencionalmente, se usa agua desionizada pura como líquido de lavado. Por el contrario, los líquidos de lavado seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología pueden incluir agua desionizada junto con un disolvente. El disolvente es un poliol, tal como propilenglicol. Por ejemplo, el líquido de lavado puede incluir de un 40 % a un 60 % en volumen de poliol, tal como de un 40 % a un 60 % en volumen de propilenglicol. Como se analiza además a continuación, el disolvente en el líquido de lavado es el mismo que los disolventes incluidos en otros líquidos que se ponen en contacto con las muestras después del primer lavado. La inclusión del disolvente en el líquido de lavado puede ser útil para acondicionar las muestras para que se pongan en contacto con estos otros líquidos. Como se analiza a continuación, en al menos algunos casos, el líquido de lavado se usa para diferenciar y desteñir la contratinción además del lavado. En estos casos, la concentración de disolvente en el líquido de lavado se puede seleccionar tanto para facilitar el rendimiento del líquido de lavado para diferenciar y desteñir la contratinción como para promover la compatibilidad con otros líquidos de procesamiento de muestras.

Los líquidos de lavado seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología pueden incluir un tensioactivo para facilitar la extensión de los líquidos de lavado sobre las superficies que llevan muestras de los portaobjetos. El tensioactivo se puede seleccionar para que tenga poco o ningún impacto negativo sobre las operaciones de procesamiento de muestras posteriores al primer lavado. Por ejemplo, el tensioactivo puede ser no iónico para reducir o prevenir el tamponamiento indeseable. En al menos algunos casos, el tensioactivo incluye un alcohol etoxilado y/o un éter glicólico. Los tensioactivos de alcohol etoxilado adecuados incluyen, por ejemplo, TOMADOL® 900 disponible de Air Products and Chemicals, Inc. (Allentown, Pensilvania) y Mergol SH® disponible de Stepan Company (Northfield, Illinois). Los tensioactivos de éter glicólico adecuados incluyen, por ejemplo, TERGITOL® NP-9 disponible de Dow Chemical Company (Midland, Michigan).

Después del primer lavado, la tinción de las muestras puede incluir dosificar un reactivo de tinción sobre los portaobjetos, lo que permite que el reactivo de tinción dosificado quede en contacto con las muestras durante un tiempo de incubación de tinción adecuado para teñir las muestras (por ejemplo, mientras el reactivo de tinción está en forma de charco que tiene una conformación mantenida al menos parcialmente por la tensión de superficie), y, a continuación, retirar el reactivo de tinción dosificado. El tiempo de incubación de tinción puede estar, por ejemplo, dentro de un intervalo de 1 minuto a 20 minutos. En un procedimiento de procesamiento de muestras de acuerdo con la presente tecnología, el tiempo de incubación de tinción puede ser de 2 minutos. El reactivo de tinción se puede seleccionar o formular para teñir adecuadamente los componentes nucleares de las muestras sin provocar una tinción inaceptable de los componentes no nucleares de las muestras u otras formas de tinción de fondo inespecífica inaceptable. El reactivo de tinción puede ser un reactivo de tinción no inmunohistoquímica, tal como un reactivo de tinción no inmunohistoquímica que incluya hematoxilina/hemateína, un mordiente, y comprenda el disolvente común. El disolvente puede servir para mantener a la hemateína y los complejos hemateína-mordiente en solución. En los reactivos de tinción convencionales, el disolvente, a menudo, es etanol. Como se analiza anteriormente conjuntamente con el líquido de acondicionamiento, el uso de etanol en sistemas histológicos automatizados, tales como sistemas histológicos automatizados que incluyen equipos de tinción configurados para funcionar a temperaturas de referencia elevadas, puede ser problemático. Además, las incubaciones de tinción tienden a ser relativamente largas, lo que puede exacerbar el efecto negativo potencial de la tendencia del etanol a evaporarse rápidamente.

En lugar de etanol, los reactivos de tinción seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología incluyen un poliol, tal como etilenglicol, propilenglicol o una combinación de los mismos. Por ejemplo, los reactivos de tinción pueden incluir más de un 10 % en volumen de poliol, tal como de un 10 % a un 40 % en volumen de poliol. Como se analiza a continuación, los reactivos de tinción seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología pueden incluir concentraciones relativamente bajas de mordiente. Esto puede permitir el uso de concentraciones relativamente altas de disolvente, tales como concentraciones mayores de un 20 % en

volumen. En los reactivos de tinción convencionales con concentraciones promedio o altas de mordiente, estas concentraciones de disolvente pueden prevenir que el mordiente se disuelva adecuadamente.

5 Las variables que pueden afectar a la intensidad y selectividad de la tinción con hematoxilina incluyen el pH del reactivo de tinción, la concentración de mordiente en el reactivo de tinción, la concentración de hematoxilina/hemateína en el reactivo de tinción y la temperatura de incubación de tinción. Independientemente, el pH del reactivo de tinción, la concentración de hematoxilina/hemateína en el reactivo de tinción y la temperatura de incubación de tinción tienden a ser directamente proporcionales a la tasa a la que se incrementa la intensidad de tinción, mientras que la concentración de mordiente en el reactivo de tinción tiende a ser inversamente proporcional a la tasa a la que se incrementa la intensidad de tinción. En general, la tasa a la que se incrementa la intensidad de tinción es inversamente proporcional a la selectividad de la tinción. Por tanto, independientemente, el pH del reactivo de tinción, la concentración de hematoxilina/hemateína en el reactivo de tinción y la temperatura de incubación de tinción tienden a ser inversamente proporcionales a la selectividad de la tinción, mientras que la concentración de mordiente en el reactivo de tinción tiende a ser directamente proporcional a la selectividad de la tinción. Las mismas correlaciones también se pueden aplicar al efecto del pH del reactivo de tinción, la concentración de hematoxilina/hemateína en el reactivo de tinción y la concentración de mordiente en el reactivo de tinción sobre el tiempo de vida útil.

20 Las mayores tasas a las que incrementa la intensidad de tinción, mayor selectividad de la tinción y mayor tiempo de vida útil tienden a ser propiedades deseables. Por ejemplo, las mayores tasas a las que se incrementa la intensidad de tinción pueden potenciar el rendimiento de procesamiento de muestras, el mayor tiempo de vida útil puede potenciar la conveniencia para los usuarios y la mayor selectividad de la tinción puede potenciar la calidad de la tinción. Aunque las variables que afectan a estos rasgos característicos se pueden considerar independientemente, en realidad, pueden estar altamente interrelacionadas.

25 Los atributos de los reactivos de tinción seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología pueden permitir que los reactivos de tinción aprovechen una o más de las interrelaciones entre estas variables para potenciar el equilibrio de la velocidad de la tinción, selectividad de la tinción y el tiempo de vida útil. Además, los reactivos de tinción seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología pueden tener propiedades que faciliten el ajuste de tono y/o intensidad de la tinción nuclear por medio del tiempo y/o temperatura. Estos reactivos de tinción pueden ser muy adecuados para su uso en al menos algunos equipos de tinción que tienen entornos internos de temperatura controlada en sistemas histológicos automatizados configurados de acuerdo con la presente tecnología.

35 Durante la tinción con hematoxilina, la intensidad de tinción se puede incrementar de forma constante hasta que se alcanza el equilibrio. En equilibrio, la tasa de depósito de los complejos hemateína-mordiente del reactivo de tinción sobre la muestra y la tasa de liberación de los complejos hemateína-mordiente de la muestra al reactivo de tinción puede ser aproximadamente igual. La intensidad de tinción en equilibrio tiende a ser altamente dependiente de la concentración de hematoxilina/hemateína en el reactivo de tinción. Los reactivos de tinción con concentraciones de hematoxilina/hemateína relativamente bajas pueden alcanzar el equilibrio a intensidades de tinción relativamente bajas. Por tanto, estos reactivos de tinción pueden no producir tinciones oscuras incluso después de largos tiempos de incubación de tinción. Esto, junto con la suposición convencional de que los tiempos de incubación de tinción bajos para producir tinciones claras usando reactivos de tinción con concentraciones de hematoxilina/hemateína relativamente altas son demasiado difíciles de controlar, ha motivado el uso convencional de dos o más formulaciones diferentes de reactivos de tinción de hematoxilina/hemateína para producir una gama completa de intensidades de tinción con hematoxilina. Por ejemplo, un conjunto convencional de reactivos de tinción para producir una gama completa de intensidades de tinción con hematoxilina típicamente incluye al menos uno o más reactivos de tinción con concentraciones de hematoxilina/hemateína relativamente altas para producir tinciones oscuras que no se pueden producir usando reactivos de tinción con concentraciones de hematoxilina/hemateína relativamente bajas y uno o más reactivos de tinción con concentraciones de hematoxilina/hemateína relativamente bajas para producir tinciones claras que se consideran demasiado difíciles de producir usando reactivos de tinción con concentraciones de hematoxilina/hemateína relativamente altas.

55 Los sistemas histológicos automatizados configurados de acuerdo con la presente tecnología y conjuntos de líquidos seleccionados o formulados para su uso con estos sistemas pueden lograr de forma fiable una gama completa de intensidades de tinción con hematoxilina usando una única formulación de reactivo de tinción de hematoxilina. Por ejemplo, el control del tiempo de incubación de tinción que se puede lograr con estos sistemas puede hacer posible lograr de forma fiable tinciones claras usando reactivos de tinción con concentraciones de hematoxilina/hemateína relativamente altas. En consecuencia, los reactivos de tinción seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología pueden tener concentraciones de hematoxilina/hemateína relativamente altas, tales como concentraciones de hematoxilina/hemateína dentro de un intervalo de 5 a 6,5 gramos por litro, dentro de un intervalo de 5,75 a 6,3 gramos por litro o dentro de otro intervalo adecuado. En al menos algunos casos, las concentraciones de hematoxilina/hemateína de los reactivos de tinción se seleccionan para que sean tan altas como sea posible sin disminuir inaceptablemente el tiempo de vida útil debido a la formación de precipitado. Los reactivos de tinción pueden incluir además yodato de sodio u otro agente oxidante adecuado para acelerar químicamente la maduración de hematoxilina en hemateína. La concentración de yodato de sodio en los

reactivos de tinción puede ser, por ejemplo, menor que un 10 % en peso.

El uso de reactivos de tinción que tienen concentraciones de hematoxilina/hemateína relativamente altas puede reducir de forma ventajosa los tiempos de incubación de tinción e incrementar, de este modo, el rendimiento de procesamiento de muestras. Se espera que esta ventaja pueda existir incluso con respecto a los reactivos de tinción que tienen un pH relativamente bajo. Por tanto, puede ser posible aprovechar el beneficio esperado del pH relativamente bajo sobre la selectividad de la tinción sin sacrificar indebidamente la velocidad de la tinción. El pH de los reactivos de tinción que tienen concentraciones de hematoxilina/hemateína relativamente altas y otros reactivos de tinción seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología puede estar, por ejemplo, dentro de un intervalo de 2,4 a 2,6, dentro de un intervalo de 2,45 a 2,54, o dentro de otro intervalo adecuado. En al menos algunos casos, el pH se selecciona para que sea lo más bajo posible sin correr el riesgo de daño inaceptable a las muestras, tal como daño debido a la hidrólisis ácida de los lípidos dentro de las muestras. Estos reactivos de tinción pueden estar tamponados o no tamponados. Cuando están tamponados, los reactivos de tinción pueden incluir un agente de tamponamiento adecuado, tal como ácido ftálico, cloroacetatos, sulfatos, glicina y alanina.

Los reactivos de tinción seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología pueden tener una sensibilidad potenciada a la temperatura. Cuando se usa en equipos de tinción de temperatura controlada de sistemas histológicos automatizados configurados de acuerdo con la presente tecnología, la temperatura de incubación de tinción se puede usar sola o conjuntamente con el tiempo de incubación de tinción para controlar la intensidad de tinción. En general, mayores temperaturas pueden provocar que se incremente la velocidad de la tinción y que disminuya la selectividad de la tinción y menores temperaturas pueden provocar que disminuya la velocidad de la tinción y que se incremente la selectividad de la tinción. La temperatura también puede afectar a la intensidad de tinción en equilibrio. En al menos algunos casos, los reactivos de tinción dependientes de la temperatura seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología pueden tener concentraciones de mordiente relativamente bajas. La intensidad de tinción en equilibrio usando estos reactivos de tinción puede ser significativamente más sensible a la temperatura que la intensidad de tinción en equilibrio usando reactivos de tinción que tienen mayores concentraciones de mordiente.

Se espera que la tinción que usa un reactivo de tinción que tiene una concentración de mordiente relativamente baja se pueda llevar al equilibrio a temperaturas de incubación de tinción diferentes para lograr una gama completa de intensidades de tinción. De forma alternativa, la tinción que usa estos reactivos de tinción se puede detener antes de que alcance el equilibrio, y la temperatura y el tiempo se pueden usar juntos para lograr algunas o todas las intensidades dentro del intervalo completo de intensidades de tinción. En al menos algunos casos, la temperatura y tiempo de incubación de tinción se pueden modificar fácilmente. Por tanto, un usuario puede usar un único reactivo de tinción y seleccionar la temperatura para favorecer la velocidad de la tinción a expensas de alguna selectividad de la tinción o para favorecer la selectividad de la tinción a expensas de alguna velocidad de la tinción dependiendo de las circunstancias. Las concentraciones adecuadas de mordiente en reactivos de tinción dependientes de la temperatura seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología pueden ser de menos de un 150 % (por ejemplo, menos de un 125 % o menos de un 100 %) de la concentración de hematoxilina/hemateína en los reactivos de tinción. El mordiente puede ser una sal de aluminio, tal como sulfato de aluminio hidratado. Se pueden usar sales de otros metales (por ejemplo, hierro, cobre, vanadio, molibdeno, wolframio, indio, níquel, cinc, bario, cobalto y manganeso) en lugar de la sal de aluminio para lograr diferentes tonos y/o selectividades de la tinción.

Los reactivos de tinción seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología pueden incluir otros componentes adecuados además del disolvente, hematoxilina/hemateína, tampón y mordiente. Por ejemplo, los reactivos de tinción pueden incluir uno o más antioxidantes. Los antioxidantes pueden ser útiles, por ejemplo, para reducir la formación de precipitado y, de este modo, extender el tiempo de vida útil de los reactivos de tinción. Cuando están presentes, los antioxidantes adecuados incluyen, entre otros, antioxidantes fenólicos, tales como ácido gálico e hidroquinona. Como otro ejemplo, los reactivos de tinción pueden incluir uno o más estabilizantes, tales como beta-ciclodextrina u otras ciclodextrinas adecuadas. Un reactivo de tinción seleccionado o formulado de acuerdo con la presente tecnología puede incluir 747 ml de agua desionizada, 252,7 ml de etilenglicol, 6,06 gramos de hematoxilina, 0,65 gramos de yodato de sodio, 26,67 gramos de sulfato de aluminio hidratado, 9,32 gramos de hidroquinona y 11,35 gramos de beta-ciclodextrina.

Después de la tinción, el segundo lavado se puede usar para retirar reactivo de tinción residual de las muestras y para incrementar el pH del contenido líquido de las muestras lo suficientemente como para parar otra tinción. El segundo lavado puede incluir el uso del mismo líquido de lavado y protocolo analizado anteriormente para el primer lavado. Después del segundo lavado, se puede realizar la diferenciación de la tinción para retirar al menos parcialmente la tinción de mucina y otras partes no nucleares de las muestras. En al menos algunos casos, la destinción de la tinción para aclarar la tinción nuclear de las muestras se produce conjuntamente con la diferenciación de la tinción. La diferenciación y destinción de la tinción puede incluir dosificar un líquido diferenciador de tinción sobre los portaobjetos, lo que permite que el líquido diferenciador de tinción dosificado quede en contacto con las muestras durante un periodo de tiempo adecuado para provocar suficiente diferenciación y destinción de la tinción (por ejemplo, mientras el líquido diferenciador de tinción está en forma de

charco que tiene una conformación mantenida al menos parcialmente por la tensión de superficie), y, a continuación, retirar el líquido diferenciador de tinción dosificado. El tiempo durante el que el líquido diferenciador de tinción dosificado está en contacto con las muestras puede ser, por ejemplo, un tiempo dentro de un intervalo de 30 a 120 segundos.

5 El líquido diferenciador de tinción puede ser ácido y puede incluir agua desionizada, un ácido (por ejemplo, ácido acético) y comprende el disolvente común. Como con el líquido de lavado y el reactivo de tinción, el disolvente es un poliol, tal como etilenglicol, propilenglicol o una combinación de los mismos. Por ejemplo, el líquido diferenciador de tinción puede incluir más de un 10 % en volumen de poliol, tal como de un 10 % a un 40 % en volumen de poliol.

10 El uso de al menos algunos líquidos diferenciadores de tinción convencionales, especialmente conjuntamente con incubaciones diferenciadoras de tinción relativamente largas, puede provocar daño morfológico a las estructuras dentro de las muestras. El uso de un disolvente de poliol en líquidos diferenciadores de tinción configurados de acuerdo con la presente tecnología puede ayudar a acondicionar estas estructuras frente a este tipo de daño morfológico. Además o de forma alternativa, los líquidos diferenciadores de tinción configurados de acuerdo con la presente tecnología pueden incluir concentraciones relativamente bajas de ácido para reducir además la

15 posibilidad de provocar daño morfológico a las estructuras dentro de las muestras. Por ejemplo, el pH de estos líquidos diferenciadores de tinción puede ser mayor de 2,5, por ejemplo, mayor de 2,7. Un líquido diferenciador de tinción seleccionado o formulado de acuerdo con la presente tecnología puede incluir aproximadamente 700 ml de agua desionizada, 4 ml de ácido acético glacial y 250 ml de propilenglicol. El pH del líquido diferenciador de tinción puede estar, por ejemplo, dentro de un intervalo de 2,9 a 3,1.

En al menos algunos casos, además de usarse para diferenciar y desteñir la tinción, el líquido diferenciador de tinción se puede usar para retirar y/o reducir la formación de precipitados que contienen hematoxilina dentro de los componentes de sistemas histológicos automatizados. Por ejemplo, en estos casos, el líquido diferenciador de tinción se puede limpiar con descarga a través de tuberías y otros componentes del sistema que habitualmente

25 portan el reactivo de tinción para retirar y/o reducir la formación de precipitados que contienen hematoxilina. Además de o en lugar de usar el líquido diferenciador de tinción, los sistemas configurados de acuerdo con la presente tecnología pueden usar uno o más de otros líquidos de limpieza para este propósito y/u otros propósitos. Un líquido de limpieza seleccionado o formulado de acuerdo con la presente tecnología puede incluir aproximadamente 480 ml de agua desionizada, 500 ml de propilenglicol y 16,67 ml de ácido clorhídrico 6 N. Un líquido de limpieza seleccionado o formulado de acuerdo con la presente tecnología puede incluir 450 ml de agua desionizada, 500 ml de propilenglicol, 59 gramos de citrato trisódico dihidratado y 50 ml de ácido clorhídrico 1 N.

Después de la diferenciación y destinción de la tinción, el tercer lavado se puede usar para retirar el líquido diferenciador de tinción residual de las muestras. El tercer lavado puede incluir el uso del mismo líquido de lavado y protocolo analizado anteriormente en el contexto de los primer y segundo lavados. Después del tercer lavado, la fijación de tinción y el ajuste de tono (por ejemplo, azulado o violáceo) pueden incluir exponer las muestras a un entorno que tiende a estabilizar los complejos hematoxilina-mordiente-ADN y a cambiar el tono de la tinción. La fijación de tinción y el ajuste de tono pueden incluir dosificar un reactivo fijador de tinción sobre los portaobjetos, lo

40 que permite que el reactivo fijador de tinción dosificado quede en contacto con las muestras durante un periodo de tiempo adecuado para provocar suficiente fijación de tinción y ajuste de tono (por ejemplo, mientras el reactivo fijador de tinción está en forma de charco que tiene una conformación mantenida al menos parcialmente por la tensión de superficie), y, a continuación, retirar el reactivo fijador de tinción dosificado. El tiempo durante el que el reactivo fijador de tinción dosificado está en contacto con las muestras puede ser, por ejemplo, de

45 aproximadamente 30 segundos. El reactivo fijador de tinción puede incluir una solución alcalina (por ejemplo, una solución alcalina tamponada) y un disolvente. Como con el líquido de lavado, el reactivo de tinción y el líquido diferenciador de tinción, el disolvente es un poliol, tal como etilenglicol, propilenglicol o una combinación de los mismos. Por ejemplo, el reactivo fijador de tinción puede incluir más de un 10 % en volumen de poliol, tal como de un 10 % a un 60 % en volumen de poliol. Un reactivo fijador de tinción seleccionado o formulado de acuerdo con la presente tecnología puede incluir aproximadamente 700 ml de agua desionizada, 12,1 gramos de tris(hidroximetil)aminometano, 28,4 ml de ácido clorhídrico y 250 ml de propilenglicol.

El pH del reactivo fijador de tinción se puede seleccionar para cambiar el tono de la tinción. Por ejemplo, los reactivos fijadores de tinción que tienen un pH mayor pueden provocar una progresión más rápida a un color azul que los reactivos fijadores de tinción que tienen un pH menor. Por tanto, dado un periodo de tiempo fijado durante el que las muestras se exponen a un reactivo fijador de tinción, si el reactivo fijador de tinción tiene un pH relativamente alto (por ejemplo, mayor de 9), la tinción resultante puede ser azul, mientras que si el reactivo fijador de tinción tiene un pH relativamente bajo (por ejemplo, menos de 8), la tinción resultante puede ser violeta. Además, cuando el periodo de tiempo durante el que las muestras se exponen a un reactivo fijador de tinción es relativamente largo y el reactivo fijador de tinción tenga un pH relativamente bajo (por ejemplo, menos de 8), se pueden usar la temperatura durante la fijación de tinción y el ajuste de tono para cambiar el tono de la tinción, tal como el nivel relativo de azulado. Como se analiza anteriormente en el contexto de cambio de temperatura para

60 ajustar la intensidad de tinción, la temperatura puede ser más conveniente de ajustar que las propiedades (por ejemplo, el pH) de un líquido usado durante el procesamiento de muestras. Por lo tanto, la capacidad de controlar el tono por medio de la temperatura puede ser un rasgo característico útil. El ajuste de temperatura también se puede usar conjuntamente con el ajuste de pH para lograr un tono deseado, tal como un nivel deseado de azulado.

Después de la fijación de tinción y el ajuste de tono, el cuarto lavado se puede usar para retirar el reactivo fijador de tinción residual de las muestras. El cuarto lavado puede incluir el uso del mismo líquido de lavado analizado anteriormente en el contexto de los primer, segundo y tercer lavados. En al menos algunos casos, el cuarto lavado incluye un mayor número de iteraciones que los primer, segundo y tercer lavados, tal como tres en lugar de dos. Después del cuarto lavado, la contratinción de las muestras puede incluir dosificar un reactivo de contratinción sobre los portaobjetos, lo que permite que el reactivo de contratinción dosificado quede en contacto con las muestras durante un tiempo de incubación de contratinción adecuado para contratinción las muestras (por ejemplo, mientras el reactivo de contratinción está en forma de charco que tiene una conformación mantenida al menos parcialmente por la tensión de superficie), y, a continuación, retirar el reactivo de contratinción dosificado. El tiempo de incubación de contratinción puede ser, por ejemplo, un tiempo dentro de un intervalo de 30 segundos a 5 minutos. En un procedimiento de procesamiento de muestras de acuerdo con la presente tecnología, el tiempo de incubación de contratinción puede ser de 2 minutos.

El reactivo de contratinción se puede seleccionar o formular para contratinción adecuadamente las muestras, tal como para permitir una diferenciación apropiada entre el tejido citoplásmico y conjuntivo. Además, el reactivo de contratinción se puede seleccionar o formular además para lograr un tono de la tinción deseado, tal como para tener un pH que provoque un tono de la tinción deseado. Los reactivos de contratinción seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología pueden incluir agua desionizada, un colorante de contratinción (por ejemplo, eosina) y comprender el disolvente común para mantener el colorante de contratinción en solución. Como con el líquido de lavado, el reactivo de tinción, el líquido diferenciador de tinción y el reactivo fijador de tinción, el disolvente es un poliol, tal como etilenglicol, propilenglicol o una combinación de los mismos. Por ejemplo, el reactivo de contratinción puede incluir más de un 30 % en volumen de poliol, tal como de un 30 % a un 70 % en volumen de poliol y, en algunos casos, de un 40 % a un 60 % de poliol. Un reactivo de contratinción seleccionado o formulado de acuerdo con la presente tecnología puede incluir aproximadamente 500 ml de agua desionizada, 750 miligramos de eosina Y, 1 ml de ácido acético glacial y 500 ml de propilenglicol. El reactivo de contratinción puede tener un pH, por ejemplo, dentro de un intervalo de 3,65 a 4,25. Este pH puede ser menor que el pH de los reactivos de contratinción de eosina convencionales. Puede ser posible, por ejemplo, prevenir que la eosina Y se convierta en un ácido libre a menores valores de pH (por ejemplo, valores de pH menores de 4) en propilenglicol que en etanol. Otros reactivos de contratinción seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología pueden incluir mayores concentraciones de eosina, tales como una concentración de 5,4 gramos de eosina Y por litro. Estos reactivos de contratinción, por ejemplo, pueden depender fuertemente de la destinción para lograr una intensidad de contratinción deseada.

Después de la contratinción, el quinto lavado se puede usar para retirar el reactivo de contratinción residual de las muestras. El quinto lavado también se puede usar para diferenciar y desteñir la contratinción. Cuando la contratinción es una contratinción de eosina, la diferenciación de la contratinción puede provocar que los eritrocitos, el colágeno y el citoplasma de las células musculares o epiteliales dentro de las muestras se tiñan en tres tonalidades de rosa diferentes, teniendo el citoplasma la tonalidad más clara, teniendo los eritrocitos la tonalidad más oscura y teniendo el colágeno una tonalidad intermedia. La diferenciación y destinción de la contratinción convencionales típicamente se lleva a cabo al menos conjuntamente con muestras de deshidratación. Por ejemplo, la diferenciación y destinción de la contratinción convencionales típicamente incluye al menos poner en contacto muestras con mezclas de etanol graduado y agua que tienen concentraciones crecientes de etanol y concentraciones decrecientes de agua y, a continuación, poner en contacto las muestras con alcohol anhidro.

El quinto lavado puede incluir el uso del mismo líquido de lavado analizado anteriormente en el contexto de los primer, segundo, tercer y cuarto lavados. En algunos casos, la duración de una o más iteraciones del quinto lavado es ajustable para controlar el nivel de diferenciación y destinción de la contratinción. Por ejemplo, el quinto lavado puede incluir una primera iteración durante la que las muestras se exponen al líquido de lavado durante aproximadamente 20 segundos, seguido de una segunda iteración durante la que las muestras se exponen al líquido de lavado durante un período de tiempo dentro de un intervalo de 30 a 80 segundos. En un procedimiento de procesamiento de muestras de acuerdo con la presente tecnología, el período de tiempo durante el que las muestras se exponen al líquido de lavado durante la segunda iteración puede ser de 50 segundos. La primera iteración puede funcionar principalmente para retirar el reactivo de contratinción residual de las muestras. La segunda iteración puede funcionar principalmente para permitir la diferenciación y destinción variables de la contratinción. La tinción con eosina tiende a ser relativamente sensible a las faltas de uniformidad asociadas con la evaporación durante la diferenciación y destinción de la contratinción. Por tanto, en al menos algunos casos, el tiempo total durante el que las muestras se ponen en contacto con el líquido de lavado durante el quinto lavado es menor que 100 segundos. El rendimiento del líquido de lavado para diferenciar y desteñir la contratinción puede influir a su formulación. Por ejemplo, las concentraciones de agua significativamente mayores de un 50 % en el líquido de lavado pueden tender a provocar una diferenciación de la contratinción no estándar, tal como que el citoplasma de las muestras sea más oscuro que los eritrocitos de las muestras. Las concentraciones de agua significativamente menores de un 50 % en el líquido de lavado pueden tender a producir niveles inadecuados de diferenciación y destinción de la contratinción. Por tanto, como se describe anteriormente, el líquido de lavado puede tener una concentración de agua de aproximadamente un 50 %, tal como un 50 % +/-3 %.

Después del quinto lavado, las muestras pueden tener una hidrofilia residual que sea incompatible con el tapado con cubreobjetos. El segundo acondicionamiento de las muestras después del quinto lavado puede incluir reducir esta hidrofilia. En al menos algunos casos, el segundo acondicionamiento incluye dosificar un líquido de acondicionamiento sobre los portaobjetos, lo que permite que el líquido de acondicionamiento dosificado quede en contacto con las muestras durante un periodo de tiempo adecuado para acondicionar total o incrementalmente las muestras (por ejemplo, mientras el líquido de acondicionamiento está en forma de charco que tiene una conformación mantenida al menos parcialmente por la tensión de superficie), y, a continuación, retirar el líquido de acondicionamiento dosificado. El tiempo durante el que el líquido de acondicionamiento dosificado está en contacto con las muestras puede ser, por ejemplo, un tiempo dentro de un intervalo de 5 segundos a 15 segundos. En un ejemplo particular, el tiempo es de 10 segundos. El líquido de acondicionamiento puede ser el mismo líquido de acondicionamiento usado durante el primer acondicionamiento. En al menos algunos casos, además de ser muy adecuado para cambiar la hidrofobia/hidrofilia de las muestras, el líquido de acondicionamiento es muy adecuado para proteger a las muestras durante el periodo de tiempo entre el quinto lavado y el tapado con cubreobjetos. Por ejemplo, éteres di(propilenglicólicos) y éteres tri(propilenglicólicos) (por ejemplo, éter tri(propilenglicol)butílico) y otros líquidos de acondicionamiento seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología pueden ser superiores a xileno para prevenir un secado potencialmente destructivo del tejido durante este periodo de tiempo. Por tanto, el uso de estos líquidos de acondicionamiento puede reducir o eliminar las restricciones sobre la duración de este periodo de tiempo. Esto puede ser útil, por ejemplo, para reducir las restricciones de tiempo en la gestión del procedimiento unánime y/o para proporcionar un margen de tiempo durante el que se puedan realizar operaciones adicionales en las muestras.

Como se analiza anteriormente, el acondicionamiento convencional de muestras para su tapado con cubreobjetos típicamente se lleva a cabo al menos conjuntamente con la diferenciación de la contratinción usando mezclas de etanol graduado y agua seguido de etanol anhidro. Después de esto, las muestras típicamente se ponen en contacto al menos con xileno para detener la diferenciación de la contratinción y para acondicionar además las muestras para su interacción con un adhesivo para cubreobjetos. Sin embargo, como se analiza anteriormente en el contexto del primer acondicionamiento, el uso de etanol y xileno en sistemas histológicos automatizados puede ser problemático, en particular, cuando los sistemas funcionan a temperaturas de referencia elevadas. El éter di(propilenglicólico) y otros líquidos de acondicionamiento seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología reducen o eliminan la necesidad de etanol. En al menos algunos casos, los líquidos de acondicionamiento acondicionan parcialmente las muestras para su tapado con cubreobjetos y se usa un líquido para cubreobjetos en lugar de xileno después del líquido de acondicionamiento durante el segundo acondicionamiento para acondicionar además las muestras para su interacción con un adhesivo para cubreobjetos. El líquido para cubreobjetos se puede seleccionar o formular para que sea inmiscible con agua (por ejemplo, para reducir o eliminar la filtración del colorante de las muestras archivadas) y para que sea lo suficientemente volátil para curarse adecuadamente durante un procedimiento de secado de duración razonable (por ejemplo, 5 minutos).

El líquido para cubreobjetos puede incluir un terpeno, tal como un monoterpeno (por ejemplo, limoneno). El uso de monoterpenos en el líquido para cubreobjetos tiende a ser significativamente menos problemático que el uso de monoterpenos en el líquido de acondicionamiento. Por ejemplo, la cantidad de líquido para cubreobjetos de monoterpeno suficiente para preparar muestras para su tapado con cubreobjetos tras el uso de líquido de acondicionamiento de éter di(propilenglicólico) puede ser mucho menor que la cantidad de líquido de acondicionamiento de éter di(propilenglicólico) usado durante el primer acondicionamiento y la fase inicial del segundo acondicionamiento. En al menos algunos casos, la cantidad utilizada de líquido para cubreobjetos de monoterpeno es lo suficientemente baja para que se evapore completamente después de su uso sin provocar vapores nocivos perceptibles. En estos casos, puesto que puede que no haya ningún desecho de monoterpeno líquido, puede que tampoco haya necesidad de protocolos especiales, si los hay, para poner remedio y/o manipular los líquidos de desecho del sistema debido a la presencia de monoterpenos en estos líquidos.

En los sistemas histológicos automatizados configurados de acuerdo con la presente tecnología, el líquido para cubreobjetos se puede aplicar a las muestras dentro de un equipo de tinción, dentro de un aplicador de cubreobjetos después de que las muestras salgan del equipo de tinción, o en otra localización adecuada. El uso del líquido para cubreobjetos puede incluir dosificar en primer lugar el líquido para cubreobjetos sobre los portaobjetos y, a continuación, retirar el líquido para cubreobjetos dosificado. Por ejemplo, el líquido para cubreobjetos se puede dosificar cerca de los bordes de los portaobjetos y se puede pasar a través de los portaobjetos usando una cuchilla de aire. Esto puede servir para retirar cualquier líquido de acondicionamiento residual que quede en los portaobjetos. A continuación, el líquido para cubreobjetos se puede dosificar una, dos, tres veces u otro número adecuado de veces cerca de los centros de los portaobjetos y dejarlo en su lugar mientras se aplican cubreobjetos a los portaobjetos.

Como se analiza anteriormente, los reactivos de tinción y los reactivos de contratinción seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología incluyen disolventes distintos de etanol para mantener respectivamente la tinción y la contratinción en solución. En el presente documento, estos disolventes son comunes, tales como iguales, dentro de la misma clase química o de otro modo funcionalmente análogos. Además, los líquidos usados conjuntamente con un reactivo de tinción y un reactivo de contratinción dados incluyen un disolvente igual que, dentro de la misma clase química que o de otro modo funcionalmente análogo al disolvente común del reactivo de

tinción y el reactivo de contratinción. Se espera que este uso de un disolvente común potencie la consistencia y calidad de procesamiento de muestras. Este beneficio, por ejemplo, se puede asociar con eficacia y/o consistencia potenciadas con las que un líquido dado desplaza cantidades residuales de un líquido previamente dosificado cuando los líquidos tienen un disolvente común. También son posibles otros mecanismos y beneficios complementarios o alternativos.

En conjuntos de líquidos seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología, un reactivo de tinción, un reactivo de contratinción y un líquido de lavado individualmente pueden incluir más de un 10 % en volumen de poliol. En al menos algunos de estos y otros conjuntos de líquidos seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología, todos, todos salvo uno, o todos salvo dos de un reactivo de tinción, un líquido diferenciador de tinción, un reactivo fijador de tinción, un reactivo de contratinción y un líquido de lavado puede incluir más de un 10 % en volumen de poliol, tal como más de un 10 % en volumen del mismo poliol, tal como más de un 10 % en volumen de propilenglicol. En los procedimientos de procesamiento de muestras de acuerdo con la presente tecnología, un total de todo el líquido dosificado sobre los portaobjetos después de que los portaobjetos se puedan mover a un equipo de tinción (por ejemplo, a un entorno interno de temperatura controlada de un equipo de tinción) y antes de que los portaobjetos salgan del equipo de tinción tiene una mayor concentración volumétrica de poliol que de alcohol monohídrico. En al menos algunos casos, el líquido total dosificado está al menos sustancialmente libre de alcohol monohídrico o al menos tiene una concentración volumétrica de alcohol monohídrico menor de un 3 %. Además, el líquido total dosificado puede estar al menos sustancialmente libre de xileno.

Debido, al menos en parte, al uso de relativamente pocas (por ejemplo, una) formulaciones de líquido de acondicionamiento, el uso del mismo líquido tanto para el lavado como para la diferenciación de la contratinción, la capacidad de lograr una gama completa de intensidades de tinción con relativamente pocas (por ejemplo, una) formulaciones de reactivo de tinción y/u otros factores, los procedimientos de procesamiento de muestras de acuerdo con la presente tecnología pueden incluir el uso de menos tipos de líquidos diferentes de los que se usarían durante los procedimientos de procesamiento de muestras convencionales. De forma similar, los conjuntos completo de líquidos seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología pueden incluir menos líquidos constituyentes que los conjuntos convencionales con funcionalidad correspondiente. Los líquidos que pertenecen a conjuntos de líquidos seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología pueden estar respectivamente contenidos en y aspirar de diferentes recipientes de suministro correspondientes de sistemas histológicos automatizados configurados de acuerdo con la presente tecnología. Estos sistemas pueden ser autónomos de forma fluidica y hacerse funcionar con menos recipientes de suministro, tuberías de fontanería y/u otros componentes de manipulación de líquidos que los que se incluyen en los sistemas convencionales de funcionalidad correspondiente. Entre otros beneficios potenciales, esto puede reducir el coste, complejidad y/o volumen de los sistemas histológicos automatizados.

La selección de los líquidos de procesamiento, el orden en el que se dosifican los líquidos de procesamiento seleccionados, el número de iteraciones de dosificación y retirada para cada líquido de procesamiento y la duración del contacto líquido-muestra (por ejemplo, tiempo de incubación) para cada iteración se pueden basar en una receta predeterminada. En al menos algunos casos, las muestras sumergidas en un volumen de líquido dado se descubren al menos parcialmente antes de ponerse en contacto con otro volumen de líquido del mismo líquido de procesamiento (por ejemplo, en una iteración posterior de la misma operación de procesamiento) o de un líquido de procesamiento diferente (por ejemplo, para comenzar una nueva operación de procesamiento). Como se analiza anteriormente, esto puede potenciar el rendimiento (por ejemplo, la precisión) de al menos algunas operaciones de procesamiento de muestras. En algunos casos, estas mejoras son más pronunciadas en el contexto de tinción progresiva que en el contexto de tinción regresiva. Como tal, puede existir menos necesidad de diferenciar y desteñir la tinción en al menos algunos procedimientos de procesamiento de muestras de acuerdo con la presente tecnología de la que existe en los procedimientos de procesamiento de muestras convencionales.

Los procedimientos de procesamiento de muestras de acuerdo con la presente tecnología pueden incluir, dentro de un equipo de tinción, dosificar automáticamente líquidos de no más de 6 formulaciones diferentes sobre portaobjetos de acuerdo con una receta predeterminada para al menos desparafinar, teñir, fijar la tinción, contratañir y diferenciar la contratinción de muestras portadas por los portaobjetos. Un conjunto completo de líquidos para ejecutar un procedimiento puede incluir un líquido de desparafinación, un líquido de acondicionamiento, un reactivo de tinción, un reactivo fijador de tinción, un reactivo de contratinción y un líquido de lavado. De forma similar, los procedimientos de procesamiento de muestras de acuerdo con la presente tecnología pueden incluir, dentro de un equipo de tinción, dosificar automáticamente líquidos de no más de 7 formulaciones diferentes sobre portaobjetos de acuerdo con una receta predeterminada para al menos desparafinar, teñir, diferenciar la tinción, contratañir y diferenciar la contratinción de muestras portadas por los portaobjetos. Un conjunto completo de líquidos para ejecutar estos procedimientos puede incluir un líquido de desparafinación, un líquido de acondicionamiento, un reactivo de tinción, un líquido diferenciador de tinción, un reactivo fijador de tinción, un reactivo de contratinción y un líquido de lavado. Otros líquidos que se pueden incluir en estos y otros conjuntos de líquidos seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología incluyen, por ejemplo, un líquido para cubreobjetos y un líquido de limpieza. En al menos algunos casos, todos los constituyentes de conjuntos completos de líquidos seleccionados o formulados de acuerdo con modos de realización de la presente tecnología están configurados para su uso sin dilución.

Ejemplos seleccionados de sistemas de soporte

5 La figura 89 es una vista en perspectiva del suministro de líquidos 6100. El suministro de líquidos 6100 puede incluir una o más bombas 6110, filtros 6112 (uno identificado) y un asiento para recipientes 6120. El asiento para recipientes 6120 puede incluir una serie de ranuras para recipientes 6122 (una identificada) para sostener recipientes. Los recipientes que contienen líquidos de procesamiento se pueden colocar en las ranuras 6122 y conectar a las diversas bombas 6110 que bombean los líquidos de procesamiento a los equipos de tinción 6. La figura 89 muestra un recipiente 6130 situado en una ranura 6122 y otro recipiente 6132 listo para insertarse en otra ranura 6122. Cuando un recipiente está vacío, el suministro de líquidos 6100 puede conmutar automáticamente a otro recipiente y puede alertar a un usuario de modo que el recipiente vacío se pueda reemplazar por un nuevo recipiente sin interrumpir el flujo de trabajo del sistema. Los líquidos de procesamiento usados en cantidades altas, tales como líquido de desparafinación y líquido de lavado, se pueden suministrar de un recipiente para líquido a granel o múltiples recipientes. Se puede usar una amplia gama de accesorios diferentes para acoplar de forma fluidica los recipientes a los componentes fluidicos del suministro de líquidos 6100.

20 El recipiente 6132 puede incluir uno o más rasgos característicos para garantizar que se bombean los líquidos correctos a los componentes apropiados. El asiento 6120 puede incluir uno o más lectores situados para obtener información de líquido de procesamiento de cada recipiente, y dicha información de líquido de procesamiento puede ser parte de un código de barras, un elemento magnético (por ejemplo, una banda magnética) o una etiqueta RFID. Cuando se incluye una etiqueta RFID en el recipiente 6132, el asiento 6120 puede leer la etiqueta RFID para confirmar que se ha instalado el líquido apropiado en el asiento apropiado. En referencia a las figuras 2 y 89, el controlador 18 (figura 2) puede recibir la información del asiento 6120 para (1) determinar los protocolos de tinción en base a los líquidos de procesamiento disponibles, (2) rastrear el uso de los líquidos de procesamiento para determinar el reemplazo de los recipientes programado y/o (3) de otro modo enviar órdenes a los componentes del sistema 2 en base a, al menos en parte, el número y los tipos de líquidos de procesamiento disponibles.

30 La figura 90 es una vista en despiece isométrica del recipiente 6132. El recipiente 6132 puede incluir un conjunto de sombrero 6200 y un receptáculo 6202. El conjunto de sombrero 6200 puede incluir brazos 6210 para sostenerse de forma segura sobre el receptáculo 6202 cuando los miembros arqueados 6220 (uno identificado) de los brazos 6210 se sitúan en un rasgo característico de recepción 6230 (por ejemplo, agujeros pasantes, rebajos, etc.) del receptáculo 6202. Los brazos 6210 se pueden desviar hacia adentro para mantener los miembros arqueados 6220 bloqueados en el rasgo característico de recepción 6230. Un usuario puede separar los brazos 6210 hasta que los miembros arqueados 6220 se muevan fuera del rasgo característico de recepción 6230 y, a continuación, puede mover el conjunto de sombrero 6200 lejos del receptáculo 6202.

40 La figura 91 es una vista en sección transversal parcial del recipiente 6132. El conjunto de sombrero 6200 y receptáculo 6202 pueden tener asas 6300, 6302 que se pueden engranar, respectivamente. Cuando están ensamblados, un usuario puede agarrar convenientemente las asas 6300, 6302 para transportar manualmente el recipiente 6132. También se pueden usar otros tipos de disposiciones de asa, si fuera necesario o deseado. El conjunto de sombrero 6200 puede incluir un conducto 6250 (por ejemplo, un miembro tubular) que se extienda hacia abajo a través de una cámara 6252 del receptáculo 6202. Un extremo 6254 del conducto 6250 se puede situar al menos próximo a una parte inferior 6256 de la cámara 6252, o en cualquier otra localización deseada con la cámara 6252. En el presente documento, el extremo 6254 se puede situar dentro de una distancia umbral (por ejemplo, 0,5 pulgadas (1,3 cm)) de la parte inferior 6256. El conducto 6250 puede tener una sección en ángulo 6261 de modo que el extremo 6254 esté localizado contiguo a una pared lateral 6260 y localizado en la región más profunda de la cámara 6252 usada para limitar el volumen muerto. El líquido se puede aspirar a través del conducto 6250 incluso cuando un volumen mínimo de líquido está contenido por el receptáculo 6202. Como se muestra en la figura 91, una región relativamente profunda de la cámara 6252 se puede situar próxima a una pared lateral 6260 del receptáculo 6202 para minimizar además los volúmenes muertos, si los hay.

55 Los sistemas divulgados en el presente documento también pueden usar otros tipos de recipientes, incluyendo recipientes de bolsa en caja que incluyen, sin limitación, bolsas plegables, tubos sellados en las bolsas, cubierta y cajas. Dichos recipientes de bolsa en caja se divulgan en el documento US 7303725 B2.

60 La figura 92 es una vista isométrica de un recipiente para desechos. El recipiente para desechos 7100 puede incluir uno o más conjuntos de sensor 7110 que pueden detectar la cantidad de desechos líquidos en una cámara 7111. Los desechos se pueden suministrar a través de tubos de alimentación 7113 en la cámara 7111. Los conjuntos de sensor 7110 pueden incluir sensores 7115 y varillas guía 7120 a lo largo de las que los sensores 7115 se mueven en la dirección vertical. El recipiente para desechos 7100 puede ser parte de recipientes para desechos (por ejemplo, los recipientes para desechos 32, 34 de la figura 2) o estar en cualquier otra localización dentro del sistema 2.

65 La figura 93 es una vista en sección transversal del sensor 7115. El sensor 7115 puede flotar para detectar el volumen de desechos contenidos en la cámara 7111 y puede incluir un sensor de flotación 7142 y una pantalla

5 protectora 7144. La pantalla protectora 7144 puede evitar que las partículas (por ejemplo, un precipitado del reactivo de tinción) entren en la cámara de sensor 7145. El sensor 7142 y la pantalla protectora 7144 se pueden deslizar juntos a lo largo de la varilla 7120 mientras que la pantalla protectora 7144 previene o limita que sustancias (por ejemplo, partículas que pueden afectar al funcionamiento del sensor 7142) entren en la cámara 7145. Se pueden utilizar otras configuraciones de sensores.

Conclusión

10 Aunque las etapas de los procedimientos se pueden presentar en el presente documento en un orden particular, en modos de realización alternativos, las etapas pueden tener otro orden adecuado. Además, mientras que los líquidos de procesamiento seleccionados o formulados de acuerdo con la presente tecnología están libres de alcohol monohídrico (por ejemplo, etanol) y/o xileno, los líquidos de procesamiento seleccionados o formulados de acuerdo con otros modos de realización de la presente tecnología pueden incluir alcohol monohídrico (por ejemplo, etanol) y/o xileno.

15 Determinados aspectos de la presente tecnología pueden tomar la forma de instrucciones ejecutables por ordenador, incluyendo las rutinas ejecutadas por un controlador u otro procesador de datos. En el presente documento, un controlador u otro procesador de datos se programa, configura y/o construye específicamente para realizar una o más de estas instrucciones ejecutables por ordenador. Además, algunos aspectos de la presente tecnología pueden tomar la forma de datos (por ejemplo, datos no transitorios) almacenados o distribuidos en medios legibles por ordenador, incluyendo discos de ordenador magnéticos u ópticamente legibles y/o extraíbles, así como medios distribuidos electrónicamente a través de redes. En consecuencia, las estructuras de datos y las transmisiones de datos particulares para aspectos de la presente tecnología se engloban dentro del alcance de la presente tecnología. La presente tecnología también engloba procedimientos tanto de programación de medios legibles por ordenador para realizar etapas particulares como de ejecución de las etapas.

20 Los procedimientos divulgados en el presente documento incluyen y engloban, además de los procedimientos de puesta en práctica de la presente tecnología (por ejemplo, procedimientos de fabricación y uso de los dispositivos y sistemas divulgados), procedimientos de instrucción de otros para poner en práctica la presente tecnología. Por ejemplo, un procedimiento puede incluir situar un portador de portaobjetos en una primera posición mientras el portador de portaobjetos sostiene una pluralidad de portaobjetos de microscopio, mover robóticamente el portador de portaobjetos de la primera posición a una segunda posición para mover el portador de portaobjetos a un bucle de circulación definido por un aparato calentador, y calentar por convección los portaobjetos mientras el portador de portaobjetos está en la segunda posición.

35 Por toda la presente divulgación, los términos en singular "un", "una" y "el" incluyen referentes al plural a menos que el contexto lo indique claramente de otro modo. De forma similar, a menos que la palabra "o" se limite expresamente para que signifique solo un elemento único exclusivo de los demás elementos en referencia a una lista de dos o más elementos, entonces, el uso de "o" en una lista de este tipo se debe interpretar como que incluye (a) cualquier elemento único en la lista, (b) todos los elementos en la lista o (c) cualquier combinación de los elementos en la lista. Adicionalmente, los términos "que comprende" y similares se usan por toda la presente divulgación para significar que incluyen al menos el/los rasgo(s) característico(s) enumerado(s), de modo que cualquier número mayor del/de los mismo(s) rasgo(s) característico(s) y/o uno o más tipos adicionales de rasgos característicos no se excluyan. En el presente documento se pueden usar términos direccionales, tales como "superior", "inferior", "frontal", "trasero", "vertical" y "horizontal", para expresar y aclarar la relación entre diversos elementos. Se debe entender que dichos términos no indican una orientación absoluta.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para procesar muestras en un sistema de tinción histológico automatizado, comprendiendo el procedimiento:

5 mover robóticamente un portador de portaobjetos (5009) a un equipo de tinción (5000) del sistema, en el que el portador de portaobjetos (5009) porta portaobjetos (5020), los portaobjetos (5020) portan respectivamente las muestras, y las muestras están al menos parcialmente incluidas en parafina;

10 dosificar automáticamente líquidos sobre los portaobjetos (5020) de acuerdo con una receta predeterminada para al menos desparafinar, teñir y contrateñir las muestras; y

mover robóticamente el portador de portaobjetos (5009) fuera del equipo de tinción (5000) después de dosificar automáticamente los líquidos,

15 **caracterizado por**

que los líquidos tienen un disolvente común, en el que el disolvente común comprende un poliol, y en el que un total de todo el líquido dosificado sobre los portaobjetos (5020) después de mover el portador de portaobjetos (5009) al equipo de tinción (5000) y antes de mover el portador de portaobjetos (5009) fuera del equipo de tinción (5000) tiene una mayor concentración volumétrica del mismo poliol que de alcohol monohídrico.

2. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que:

25 mover robóticamente el portador de portaobjetos (5009) al equipo de tinción (5000) incluye mover robóticamente el portador de portaobjetos (5009) a un entorno interno de temperatura controlada (5002) del equipo de tinción (5000); y

30 dosificar automáticamente los líquidos incluye dosificar automáticamente los líquidos mientras que una temperatura promedio del entorno interno (5002) es mayor que la temperatura ambiental.

3. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en el que dosificar automáticamente los líquidos incluye dosificar automáticamente un líquido de desparafinación, un líquido de acondicionamiento, un reactivo de tinción, un reactivo fijador de tinción, un reactivo de contratinción y un líquido de lavado.

4. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 3, en el que el líquido de desparafinación tiene una concentración de alcanos C14-C16 de un 10 % a un 30 % en volumen y una concentración de alcanos C9-C15 de un 70 % a un 90 % en volumen.

5. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 4, en el que el líquido de acondicionamiento incluye más de un 50 % en volumen de éter glicólico.

6. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 5, en el que el reactivo de tinción, el reactivo de contratinción y el líquido de lavado incluyen más de un 10 % en volumen del mismo poliol.

7. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 6, en el que el reactivo de tinción, el reactivo fijador de tinción, el reactivo de contratinción y el líquido de lavado incluyen más de un 10 % en volumen de propilenglicol.

50 8. El procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 3 a 7, en el que dosificar automáticamente los líquidos incluye dosificar automáticamente un líquido diferenciador de tinción, en el que no se dosifican más de siete formulaciones diferentes, en el que los líquidos se aspiran respectivamente de no más de siete recipientes de suministro diferentes.

55 9. Un conjunto de líquidos contenidos respectivamente en recipientes, incluyendo el conjunto un reactivo de tinción, un reactivo fijador de tinción, un reactivo de contratinción y un líquido de lavado, en el que:

el reactivo de tinción, el reactivo fijador de tinción, el reactivo de contratinción y el líquido de lavado están configurados para su uso sin dilución;

60 **caracterizado por**

que los líquidos tienen un disolvente común, en el que el disolvente común comprende un poliol, en el que el reactivo de tinción, el reactivo fijador de tinción, el reactivo de contratinción y el líquido de lavado incluyen mayores concentraciones volumétricas del mismo poliol que de alcohol monohídrico.

65

10. El conjunto de líquidos de acuerdo con la reivindicación 9, en el que el reactivo de tinción, el reactivo fijador de tinción, el reactivo de contratinción y el líquido de lavado incluyen más de un 10 % en volumen del mismo poliol.
- 5 11. El conjunto de líquidos de acuerdo con la reivindicación 10, en el que el reactivo de tinción, el reactivo fijador de tinción, el reactivo de contratinción y el líquido de lavado incluyen más de un 10 % en volumen de propilenglicol.
- 10 12. El conjunto de líquidos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, en el que el conjunto incluye además un líquido de desparafinación que tiene una concentración de alcanos C14-C16 de un 10 % a un 30 % en volumen y una concentración de alcanos C9-C15 de un 70 % a un 90 % en volumen.
- 15 13. El conjunto de líquidos de acuerdo con la reivindicación 12, en el que el conjunto incluye además un líquido de acondicionamiento no acuoso, en el que el líquido de acondicionamiento no acuoso incluye más de un 50 % en volumen de éter glicólico.
- 15 14. Un sistema de tinción histológico automatizado, que comprende:
un equipo de tinción (5000); y
20 cualquiera de los conjuntos de líquidos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 13 conectado de forma funcional al equipo de tinción (5000).
- 25 15. El sistema de acuerdo con la reivindicación 14, en el que el equipo de tinción (5000) incluye:
una carcasa de equipo de tinción (5004) que define un entorno interno (5002) del equipo de tinción (5000);
25 uno o más calentadores configurados para calentar internamente el equipo de tinción (5000); y un portador de portaobjetos, en el que:
30 el portador de portaobjetos (5009) porta portaobjetos (5020),
los portaobjetos (5020) portan respectivamente muestras al menos parcialmente incluidas en parafina; y
el sistema es autónomo de forma fluidica y se hace funcionar para ejecutar una receta predeterminada para al menos desparafinar, teñir y contrateñir las muestras.

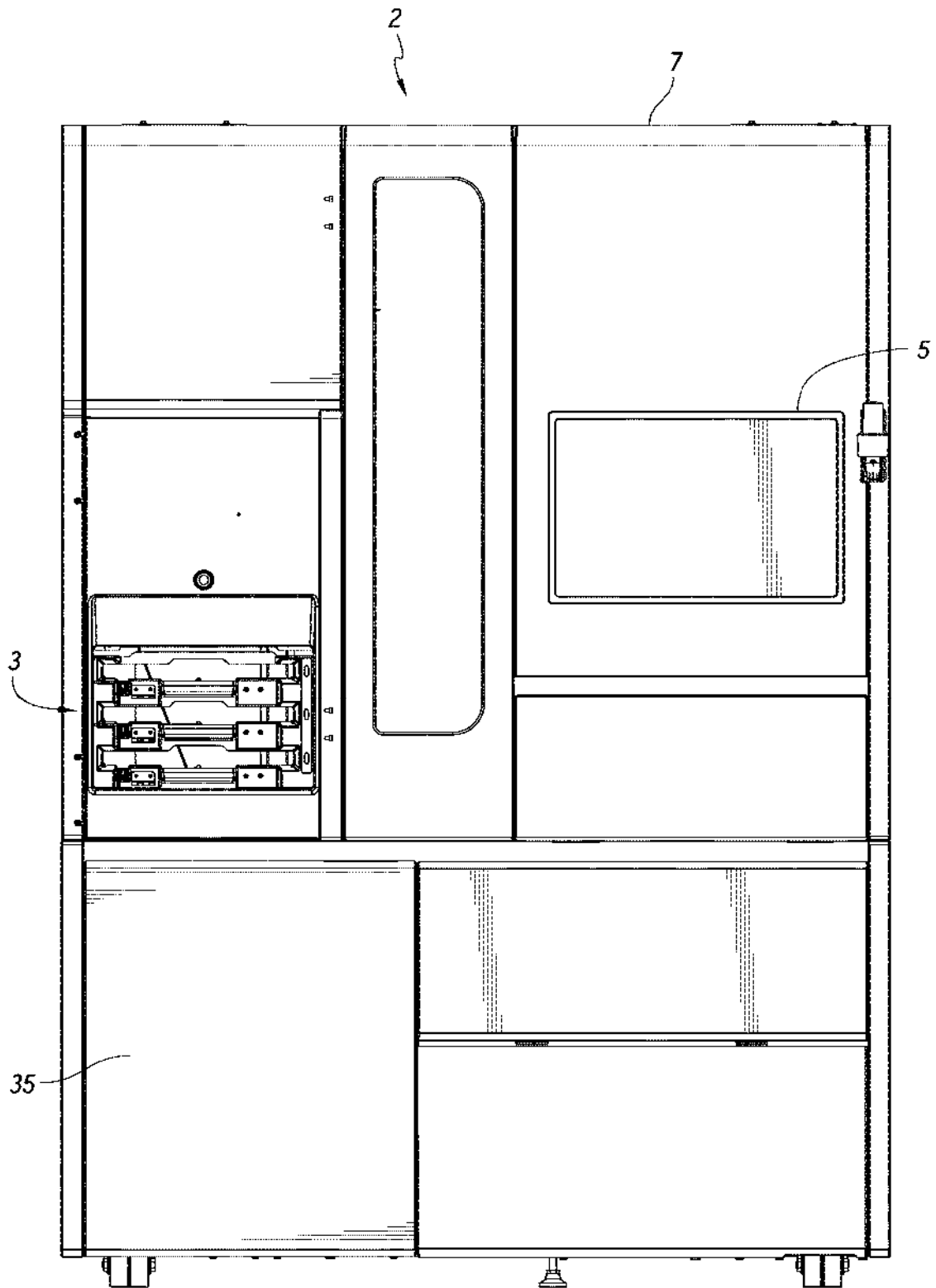


FIG. 1

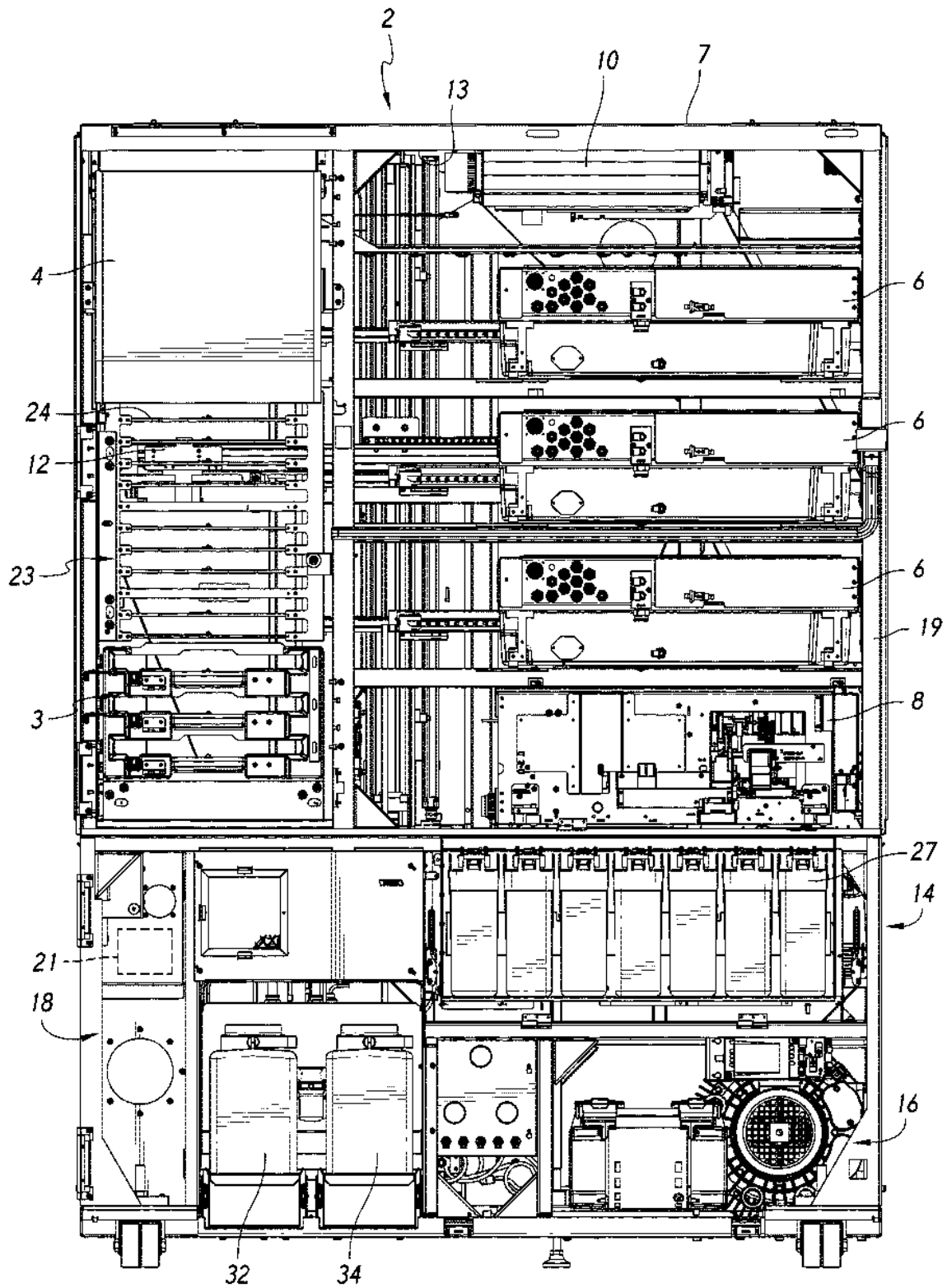
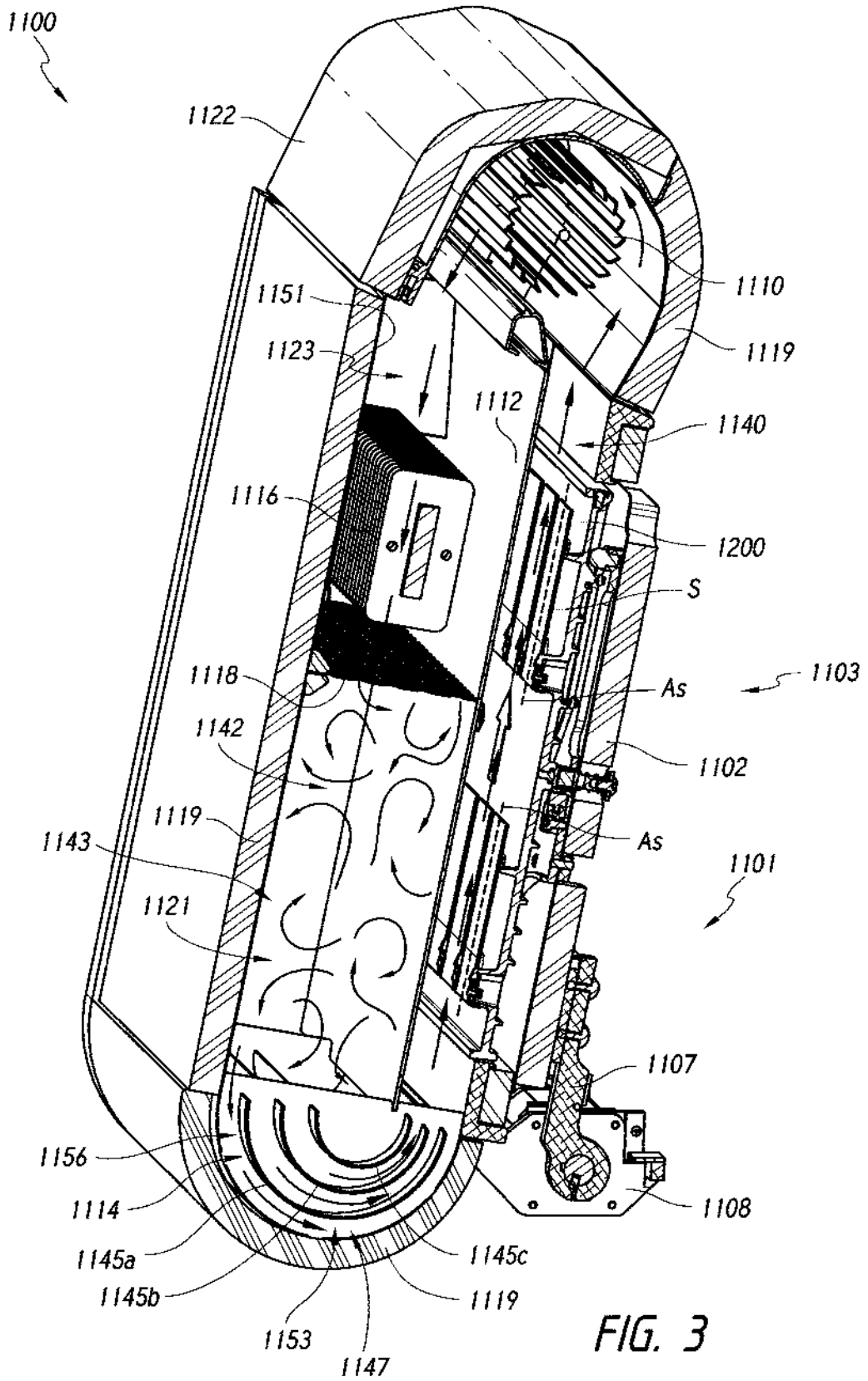
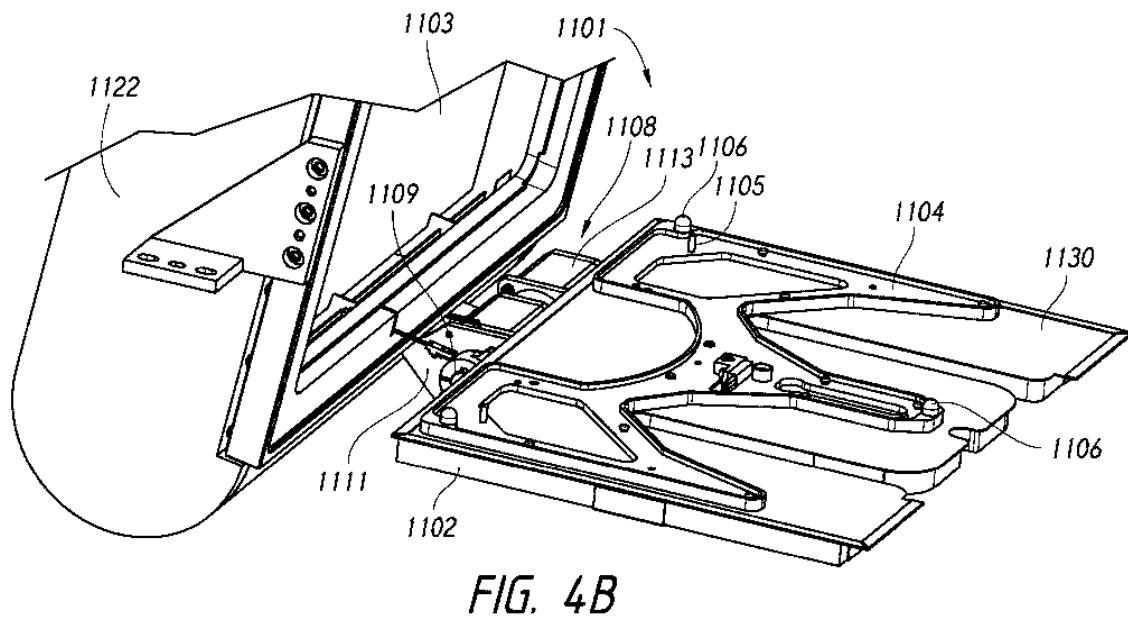
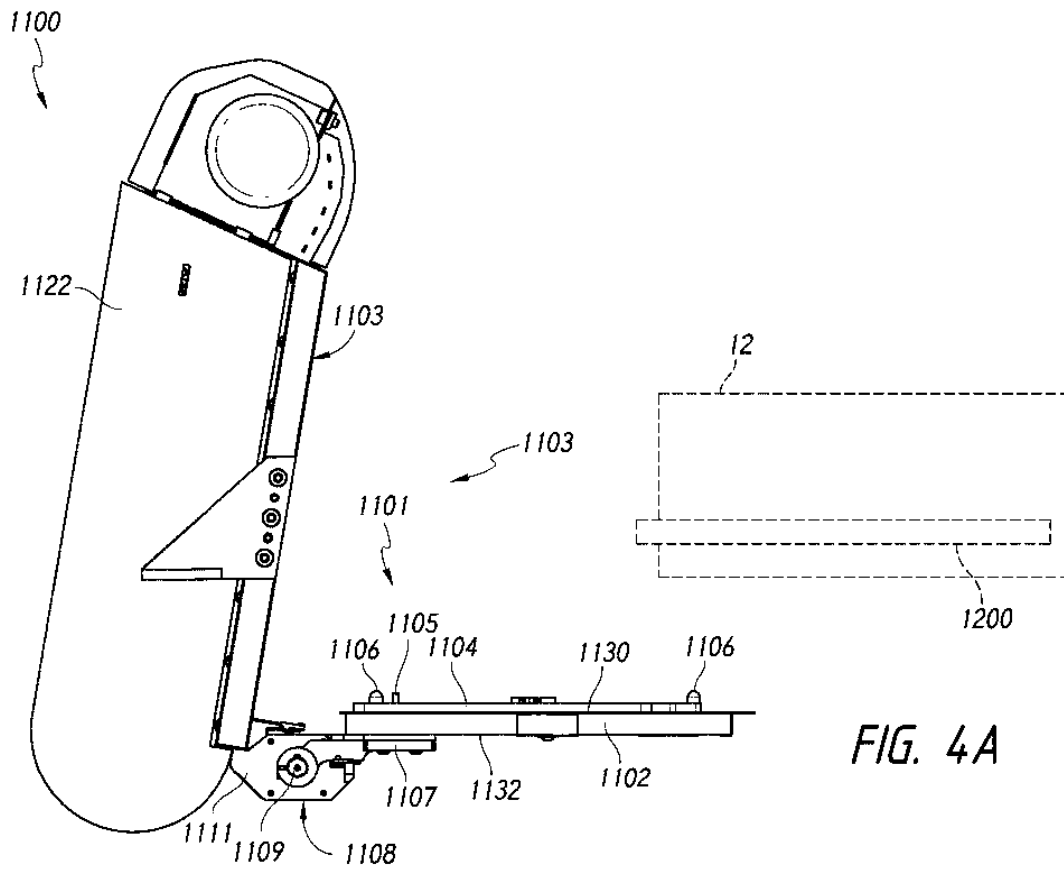


FIG. 2





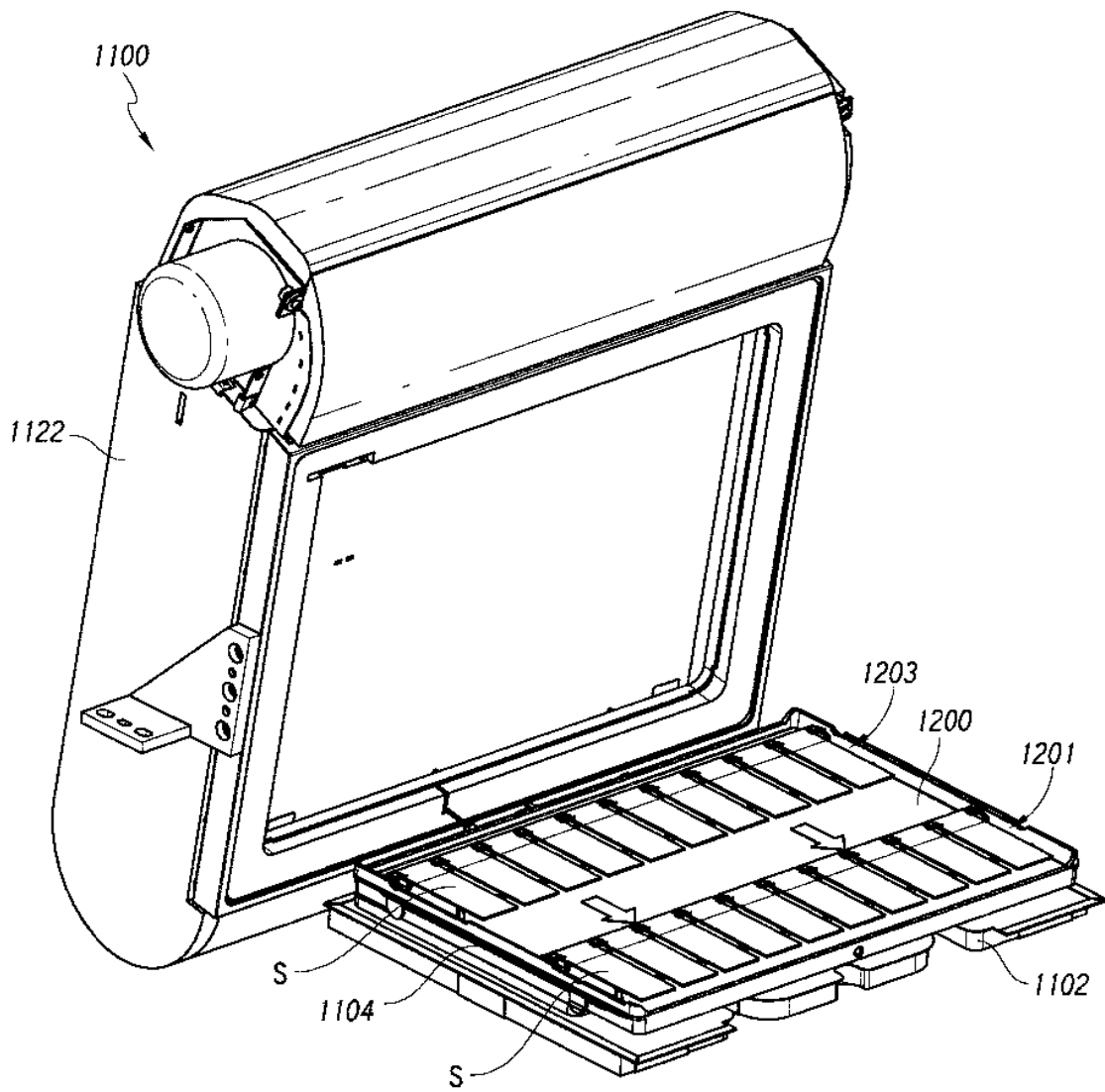


FIG. 5

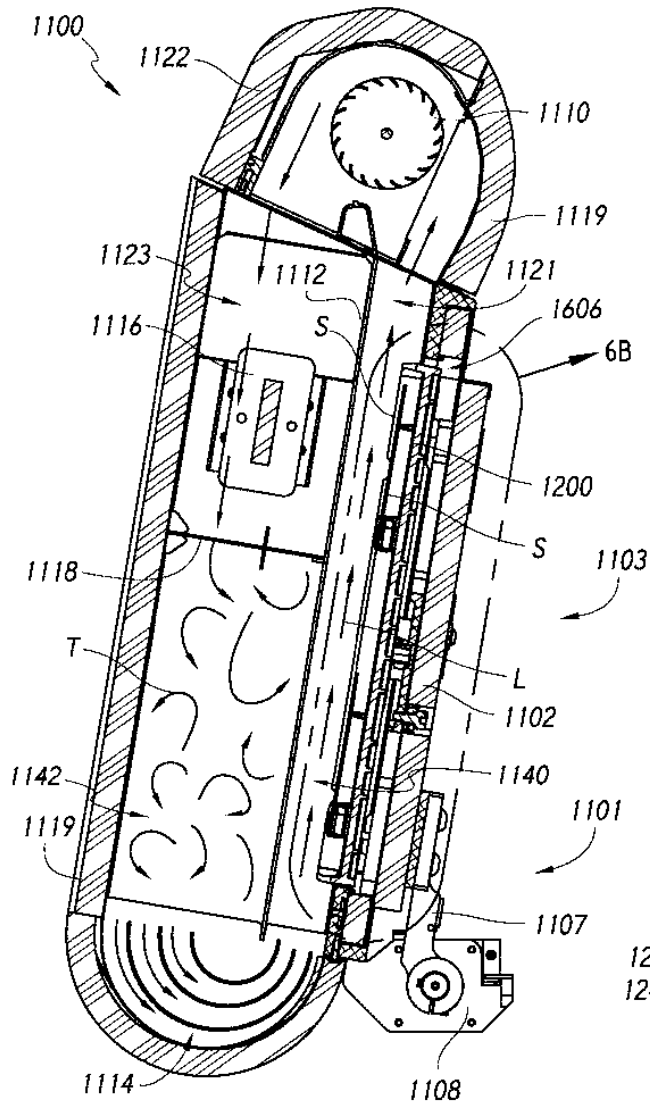


FIG. 6A

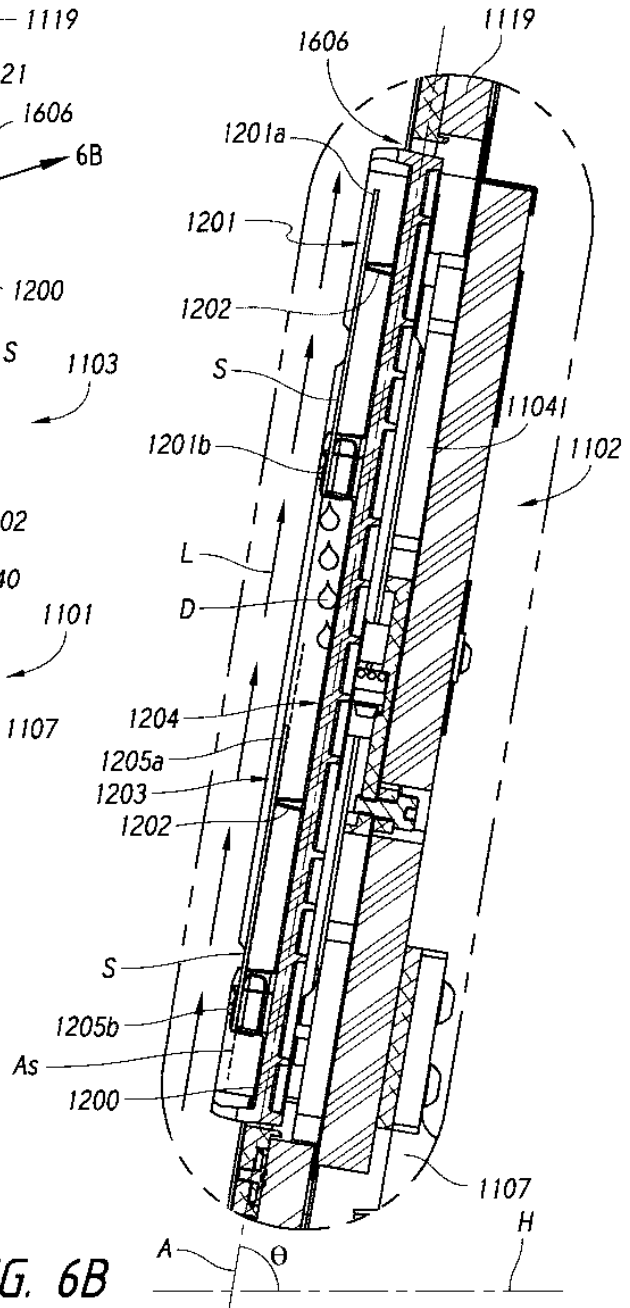


FIG. 6B

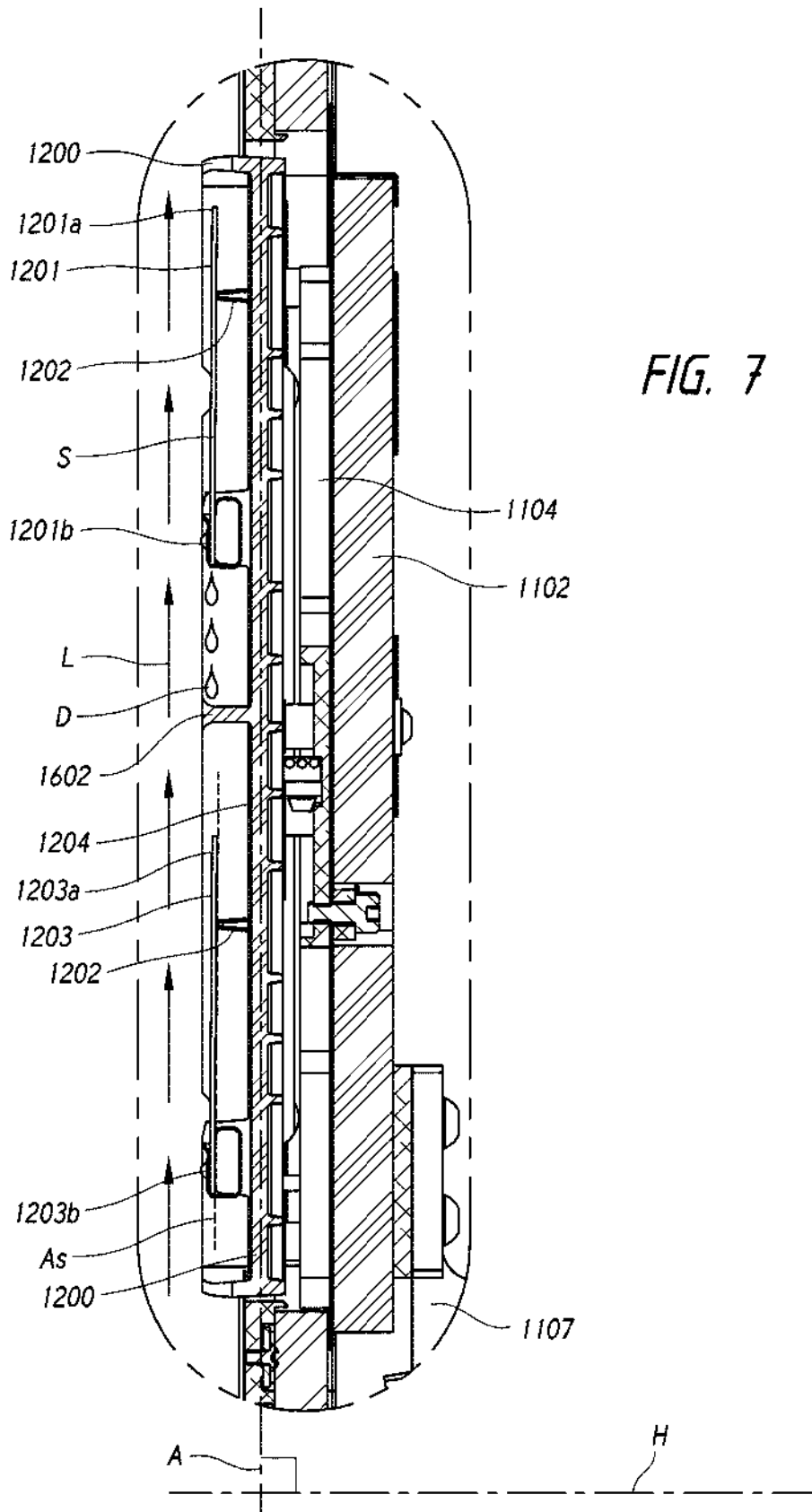


FIG. 7

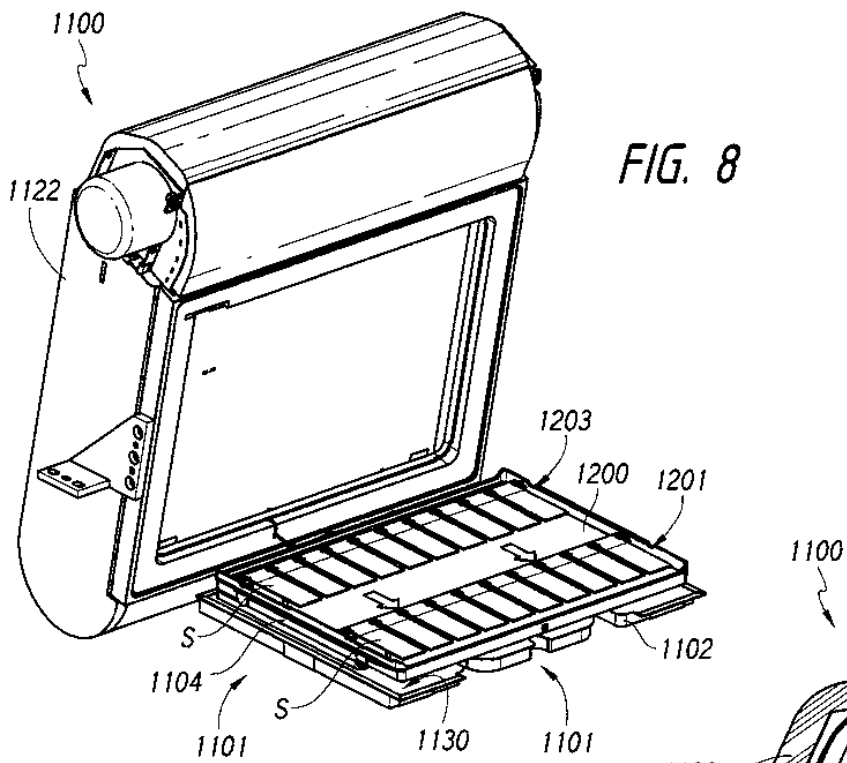
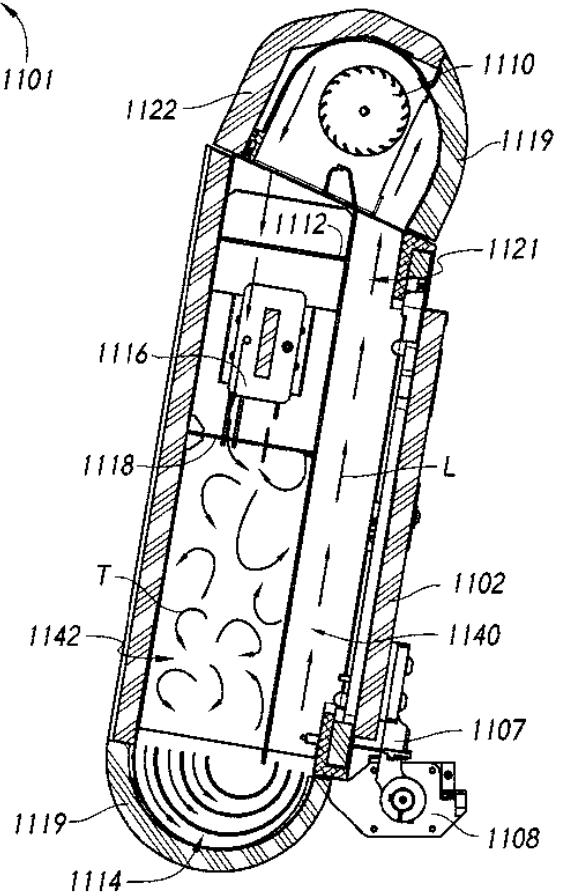


FIG. 9



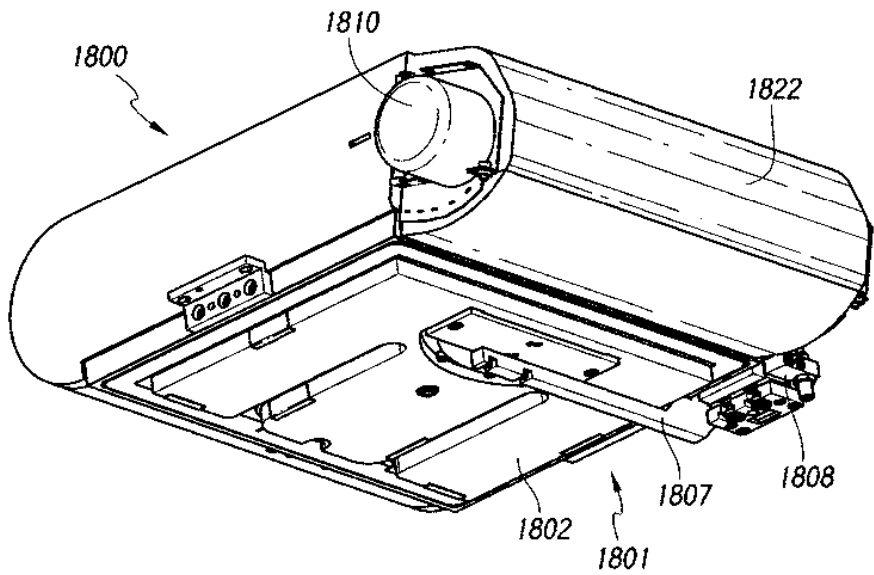


FIG. 10

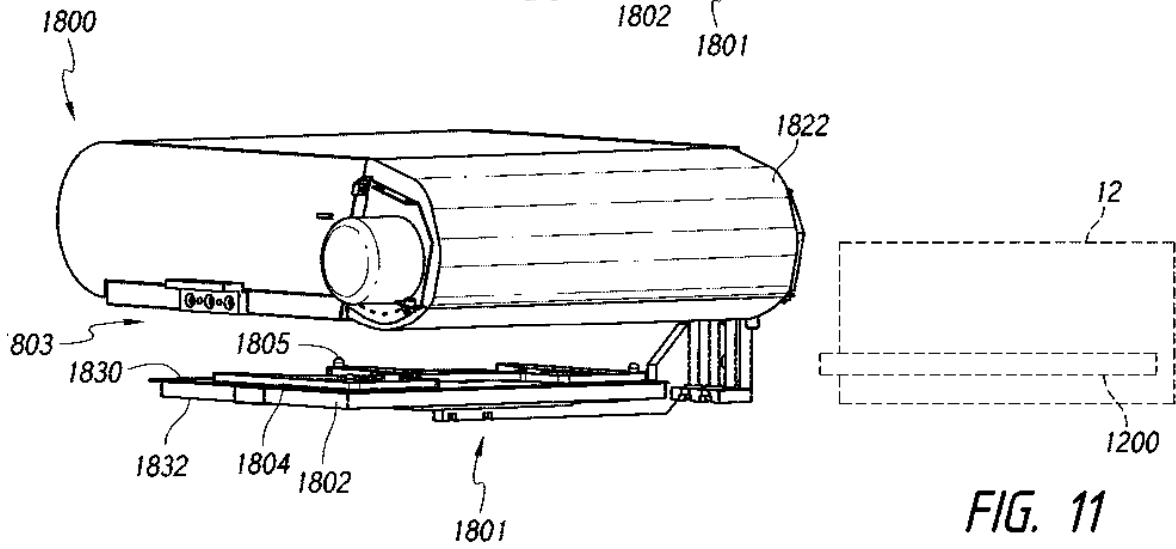


FIG. 11

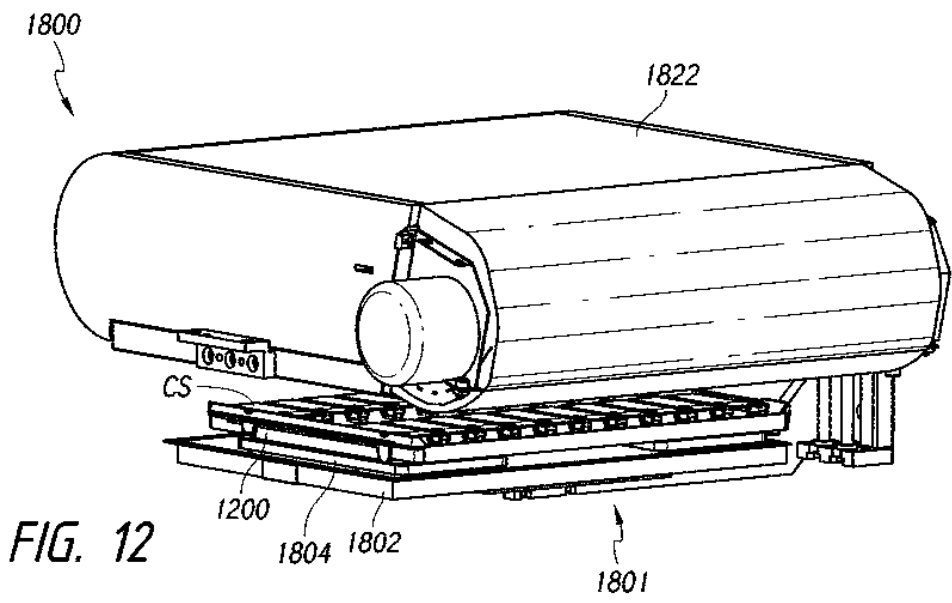
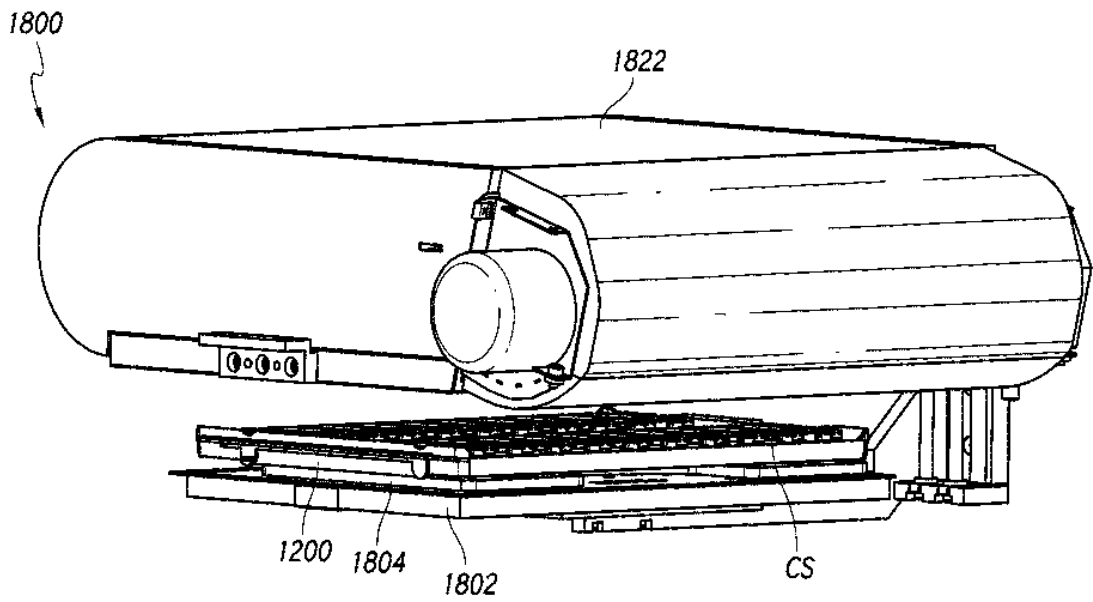
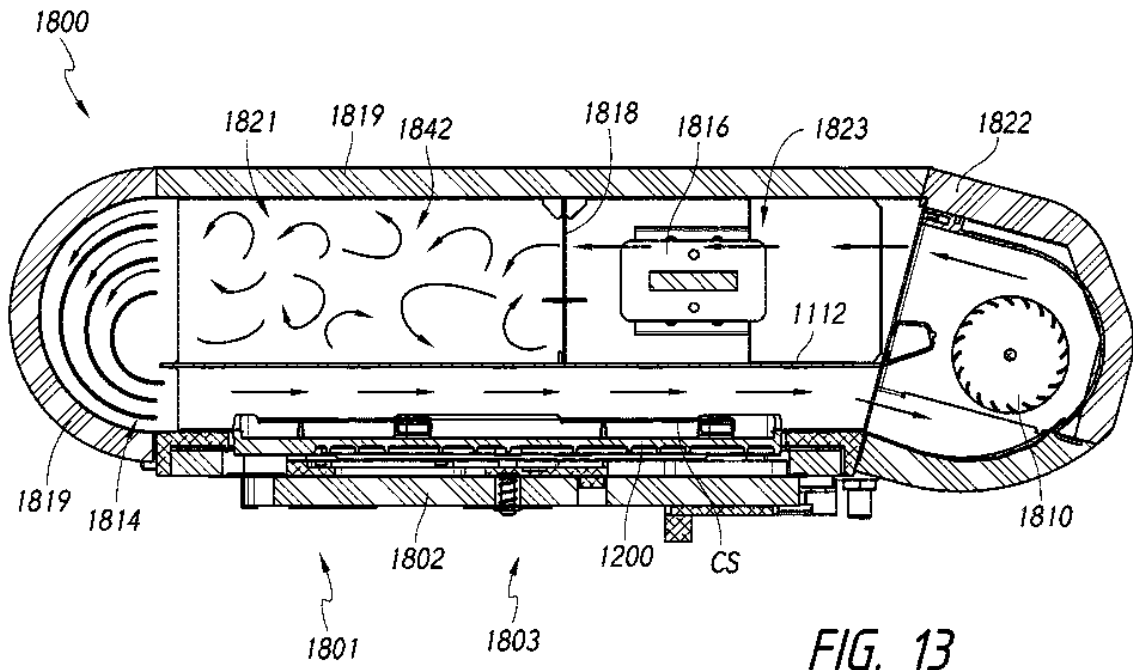
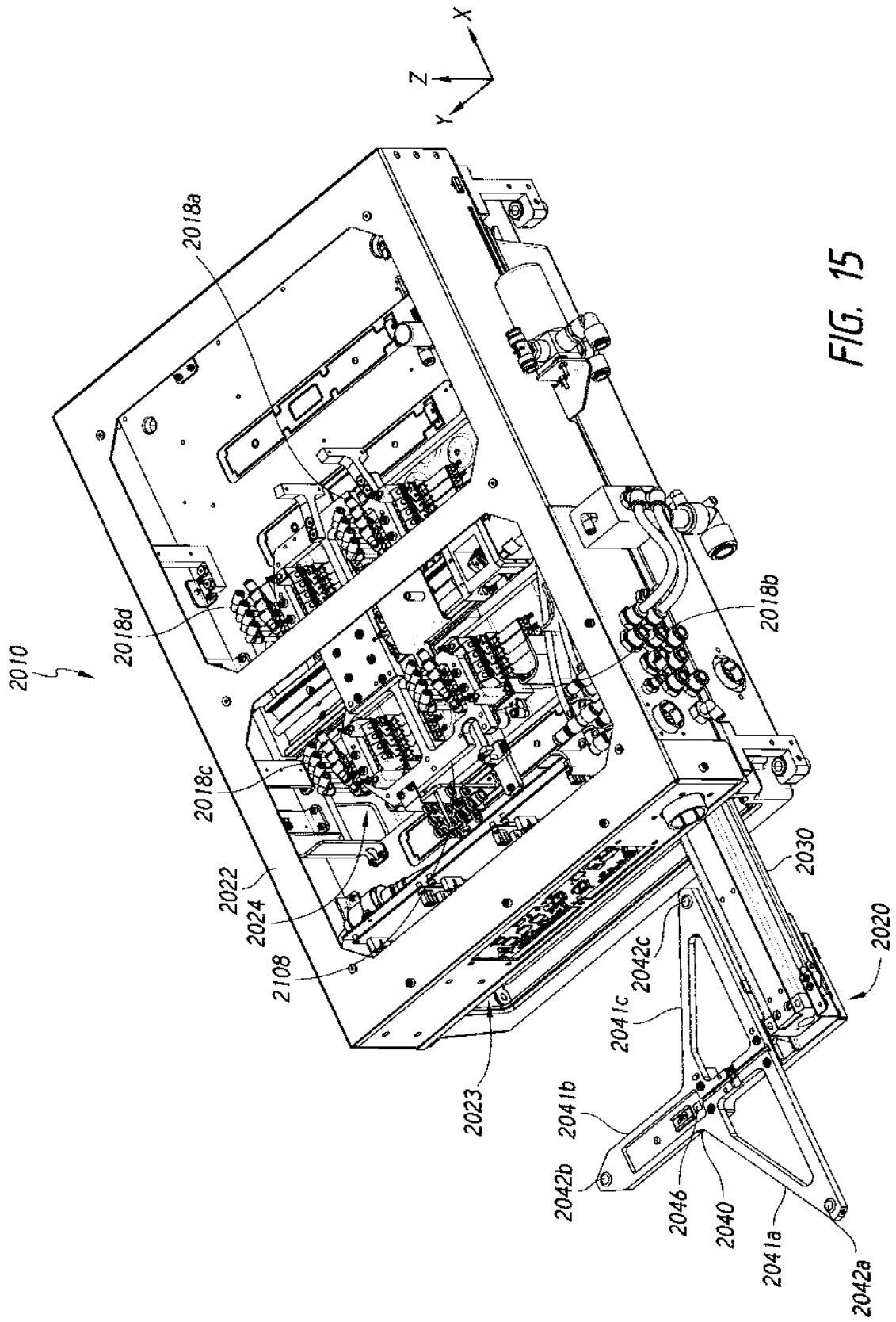
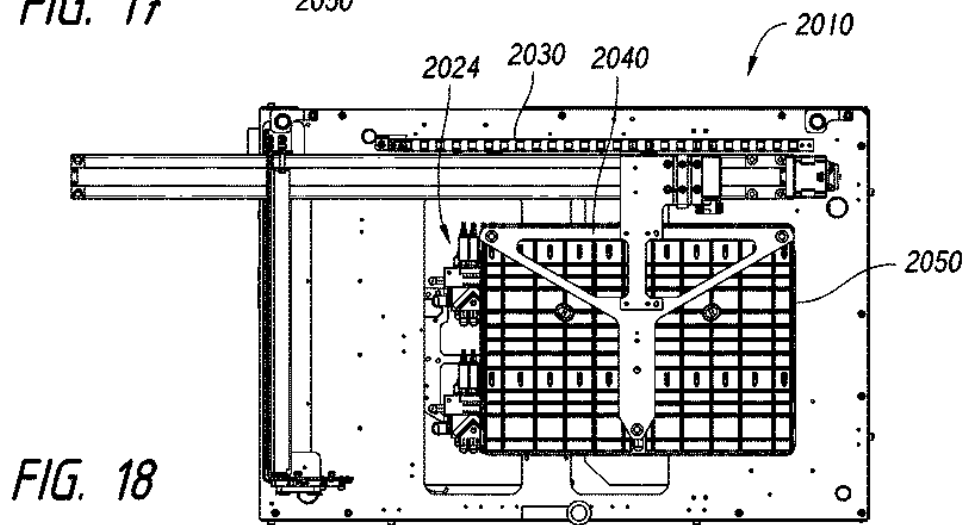
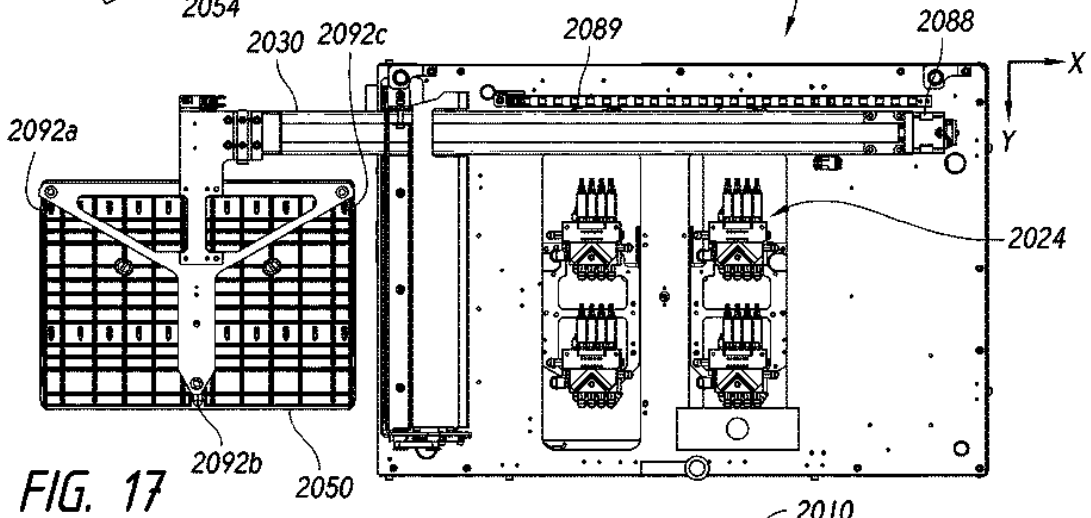
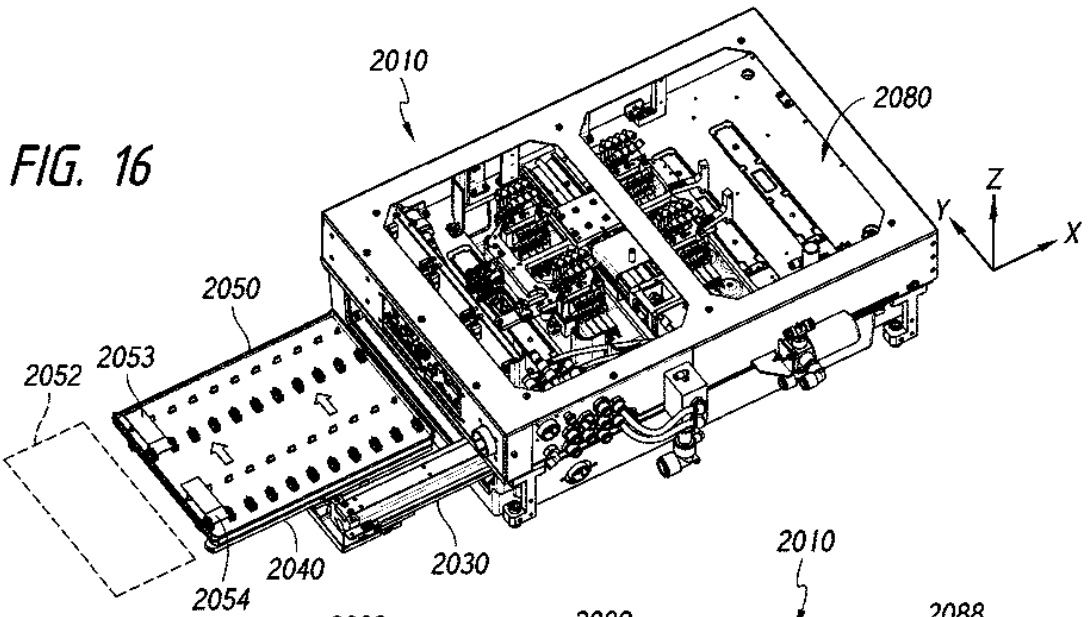
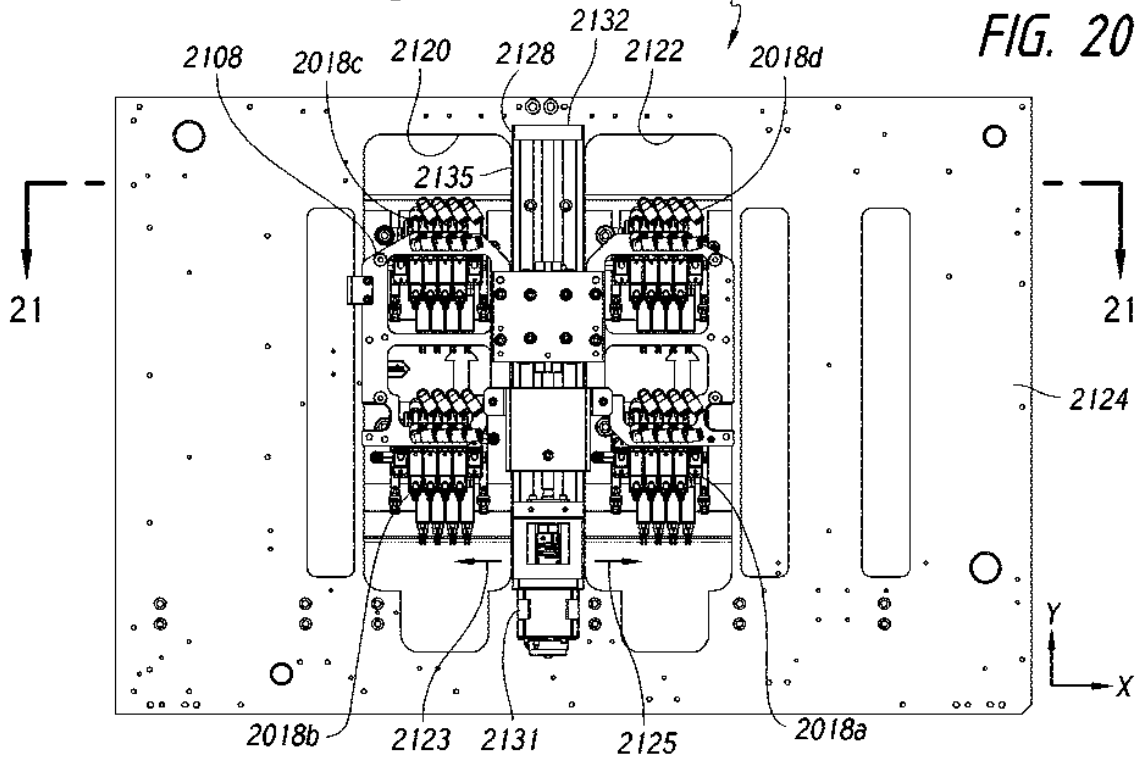
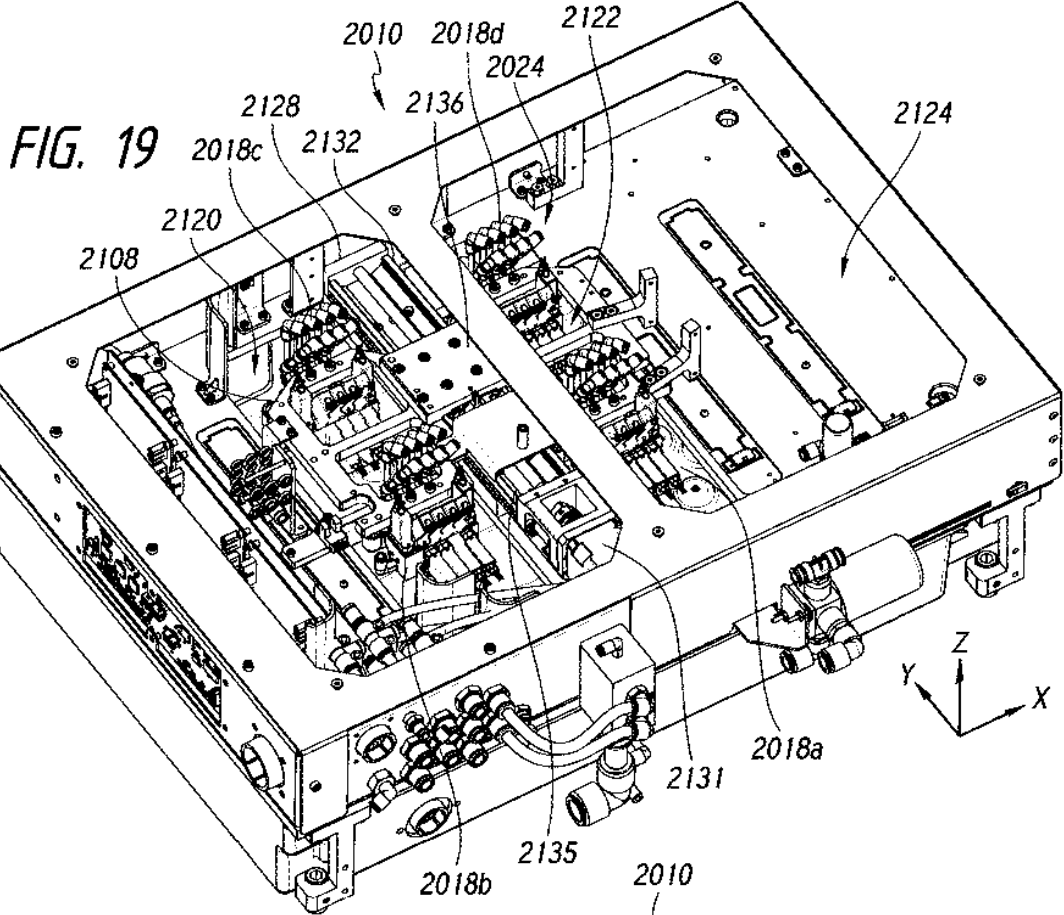


FIG. 12









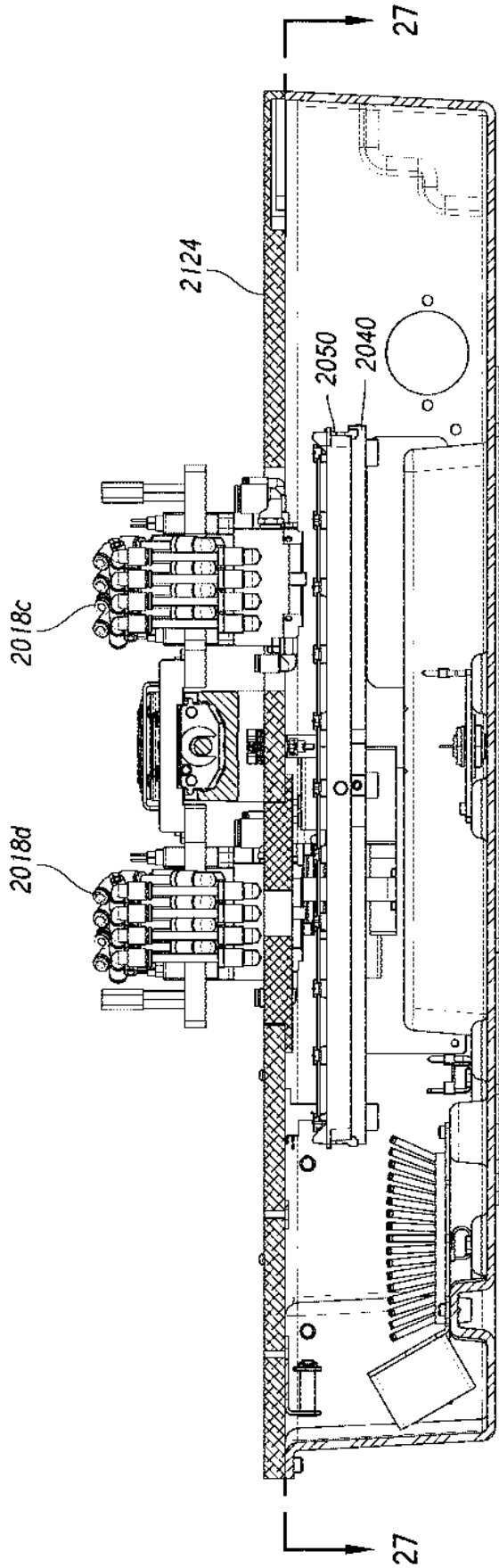


FIG. 21

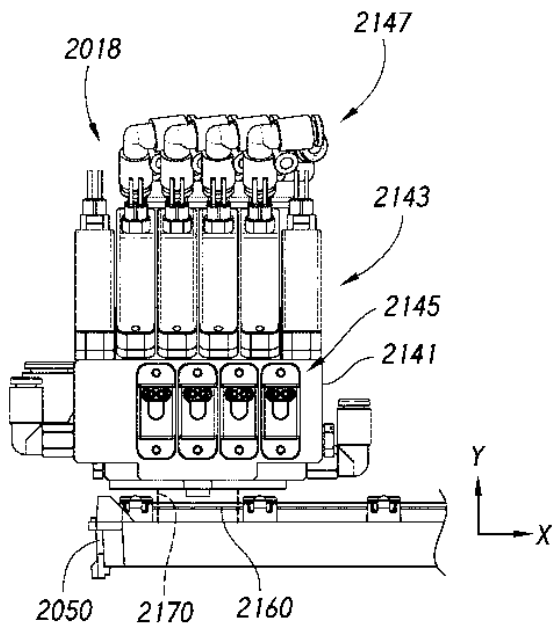


FIG. 22A

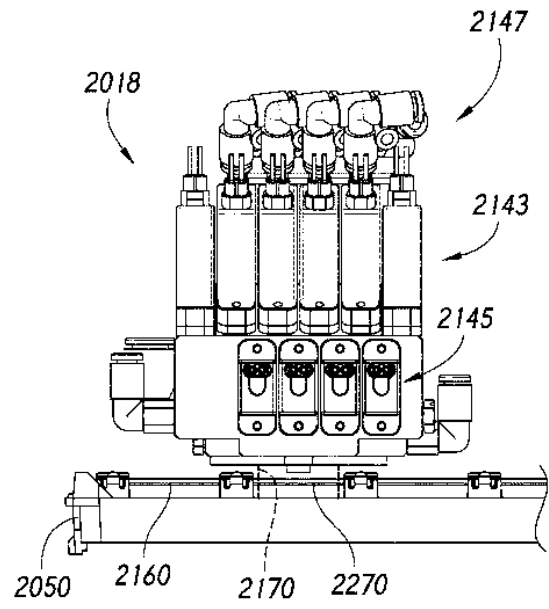
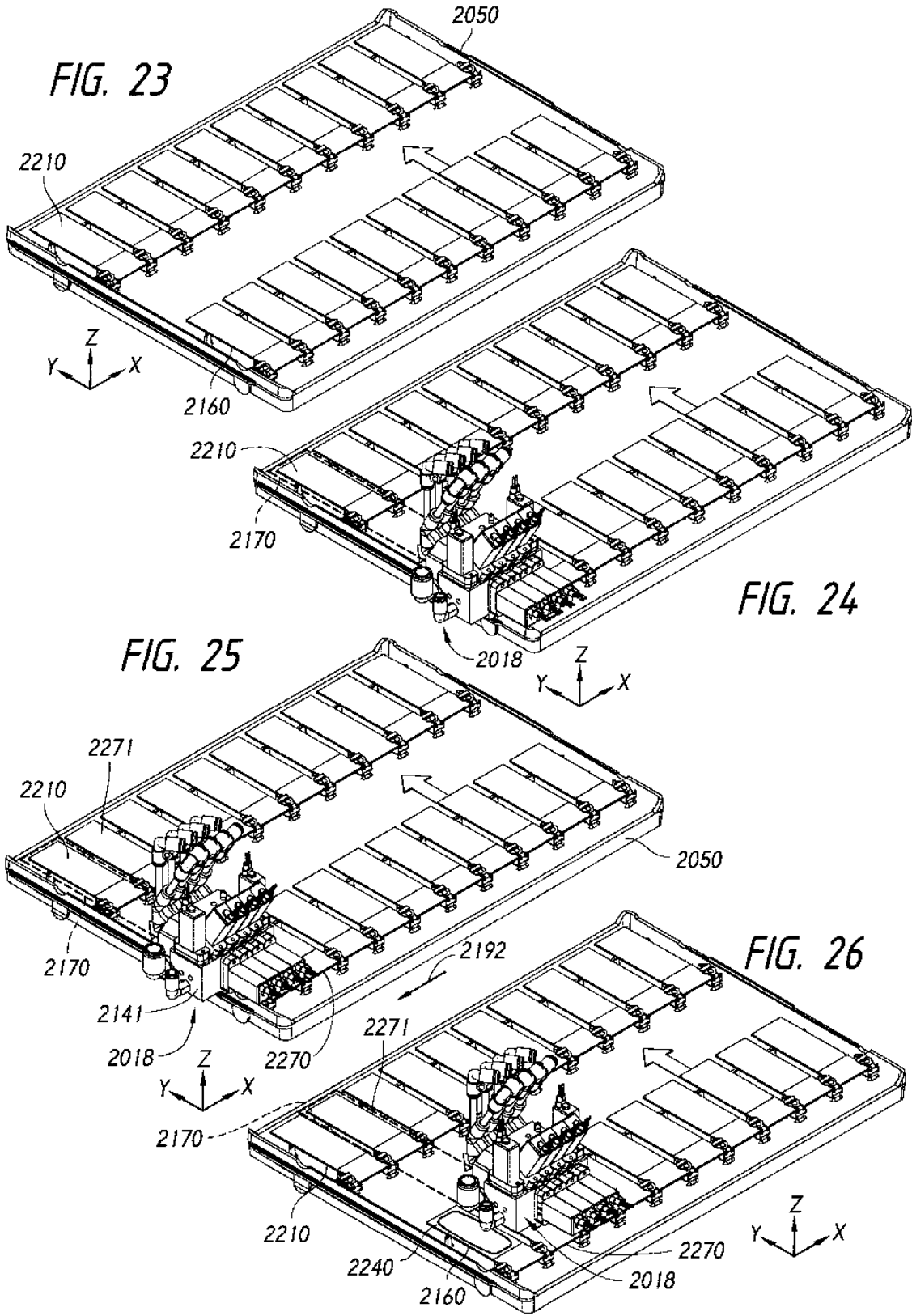


FIG. 22B



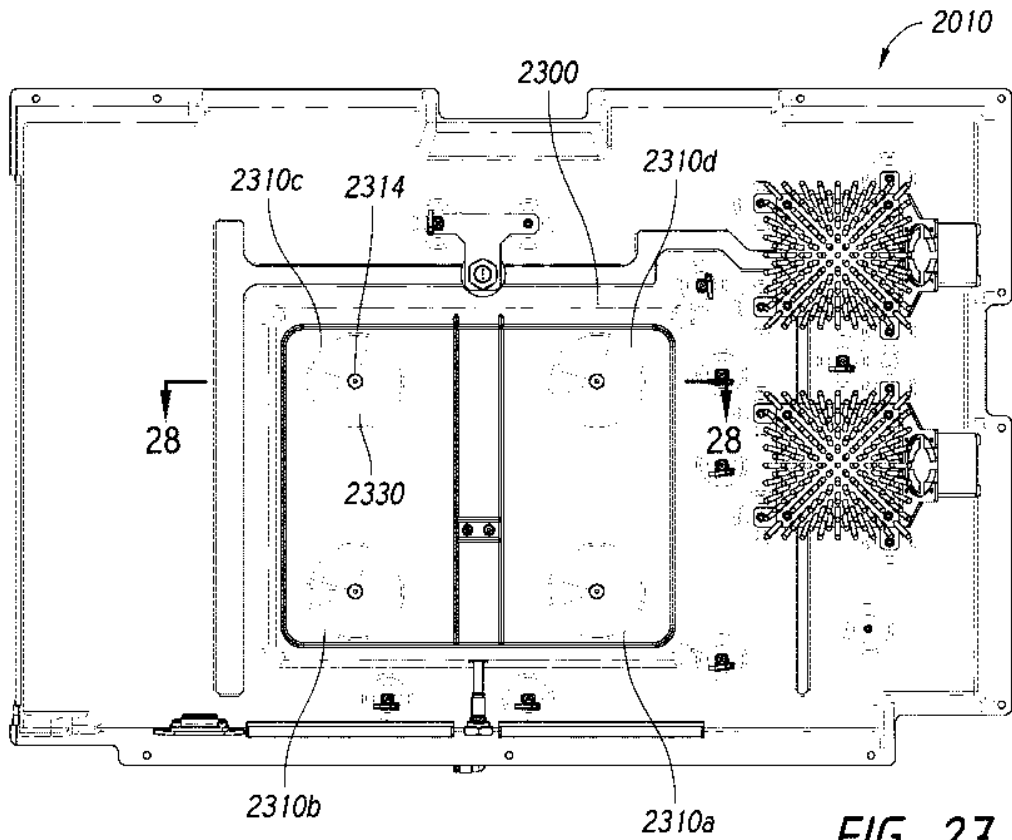


FIG. 27

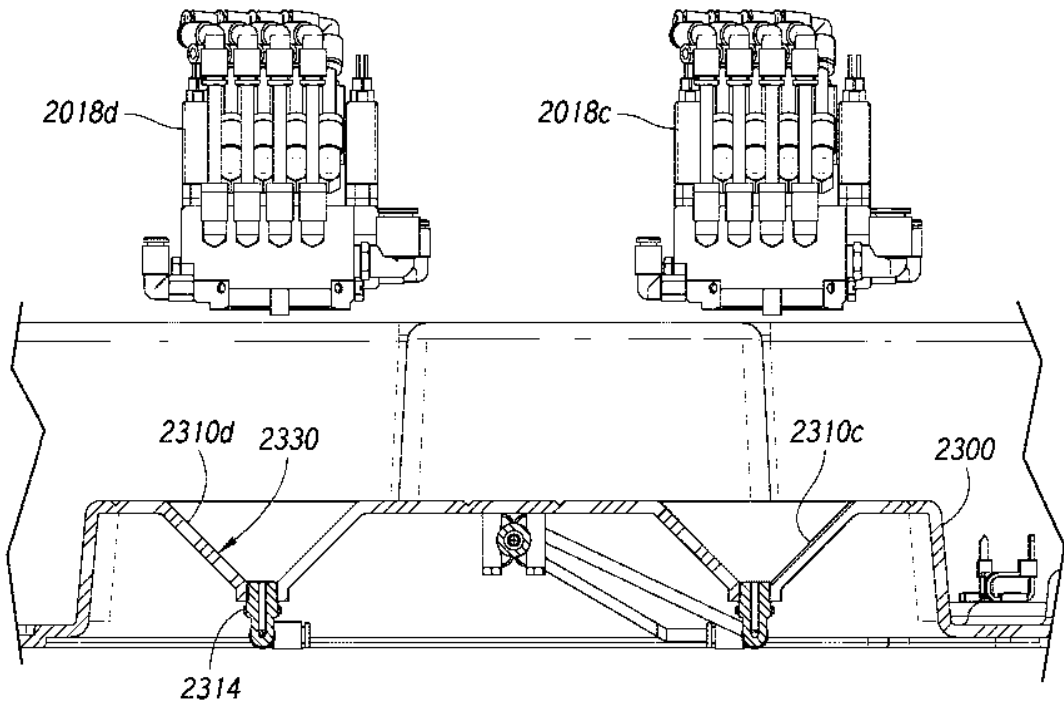


FIG. 28

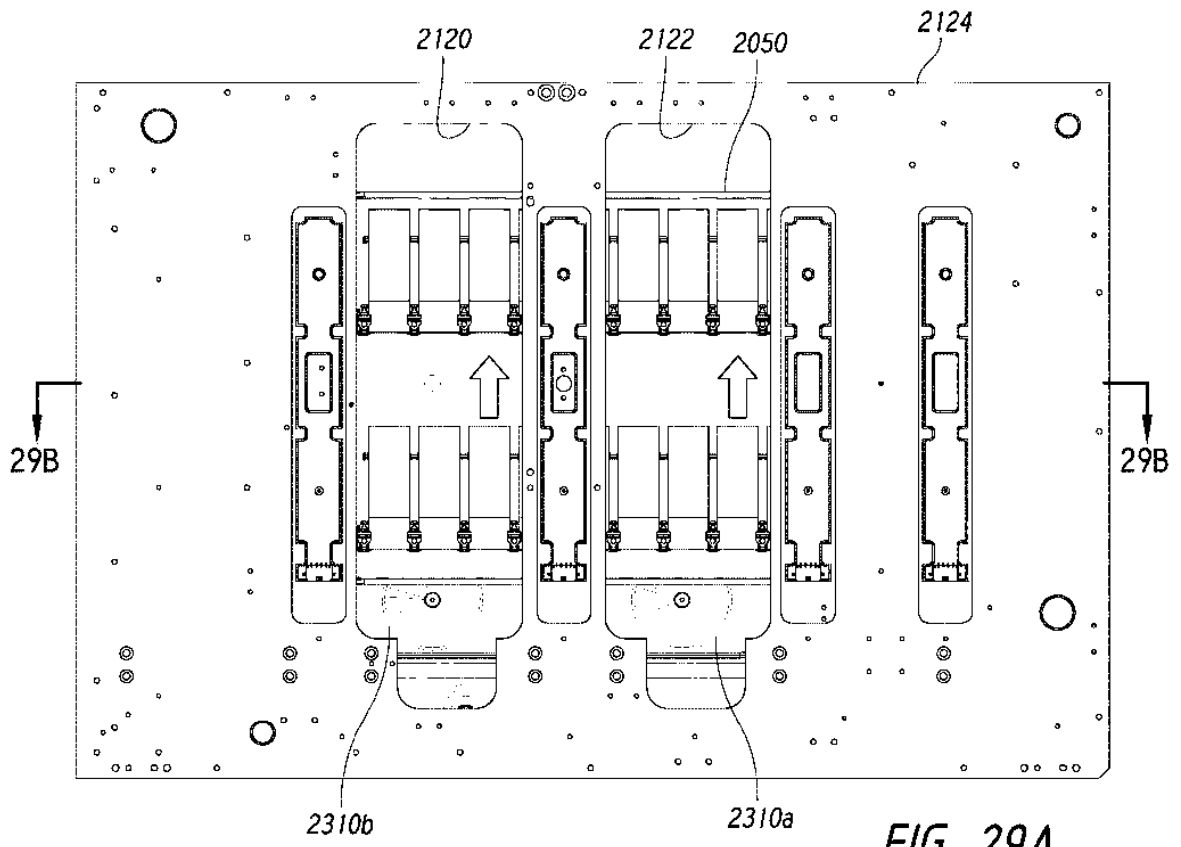


FIG. 29A

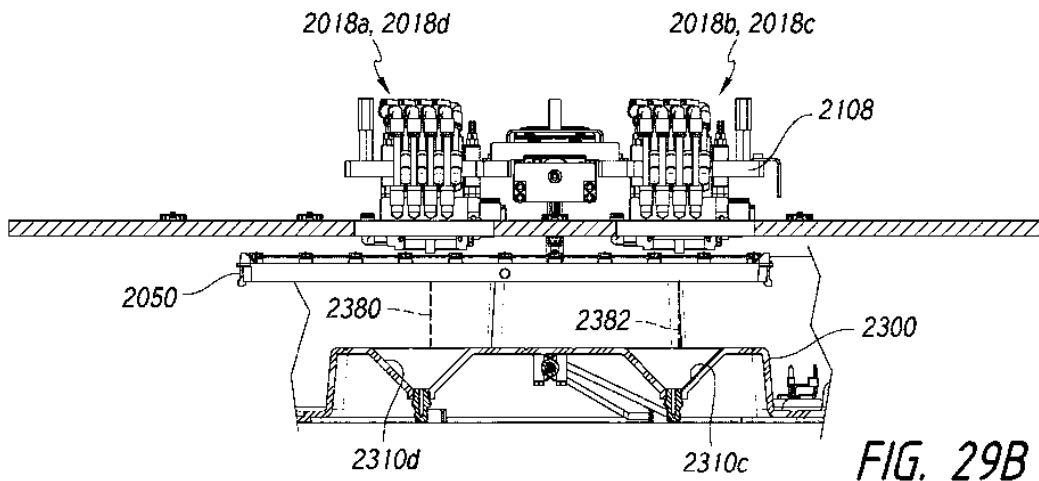


FIG. 29B

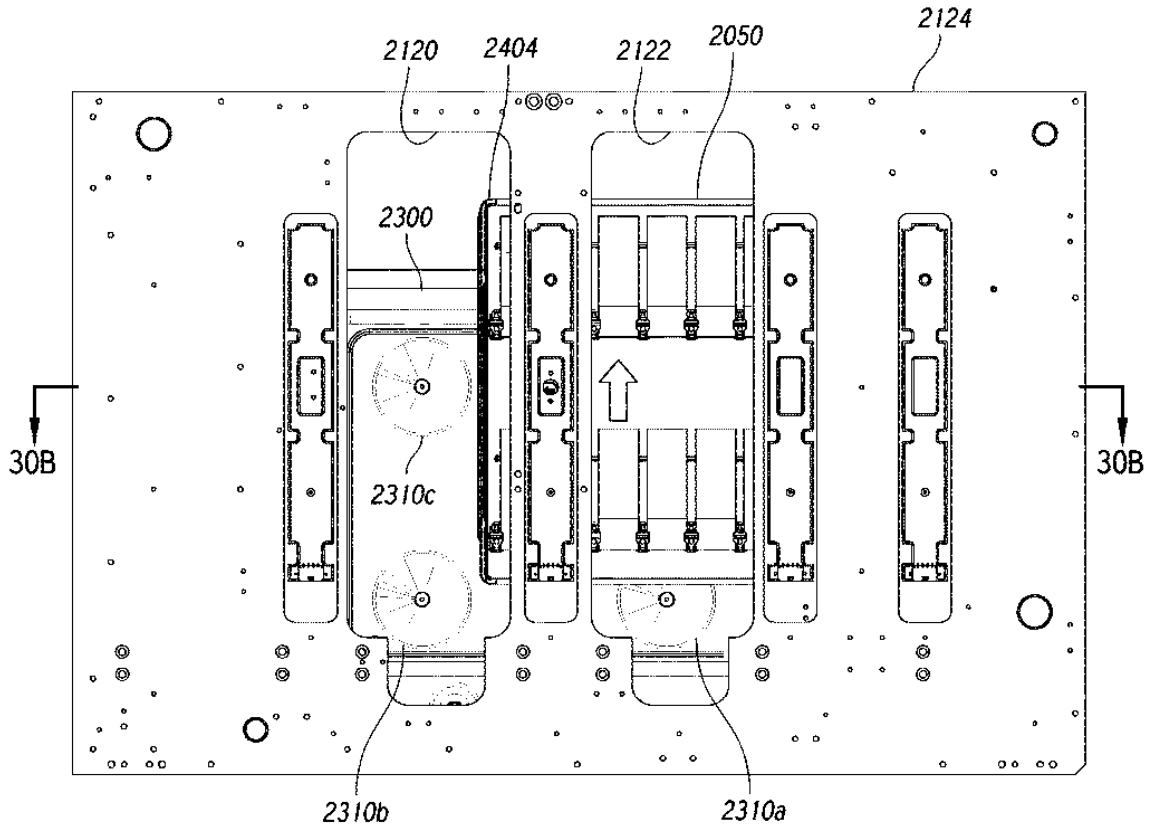


FIG. 30A

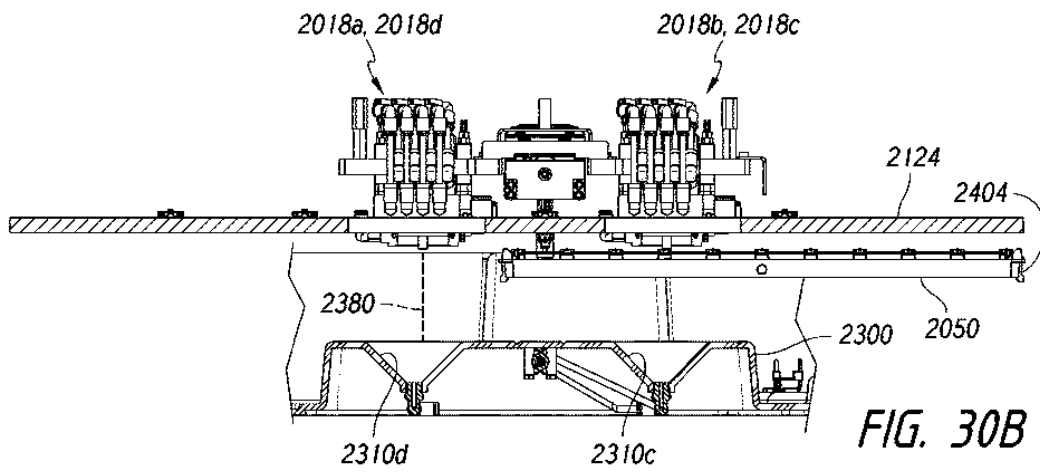


FIG. 30B

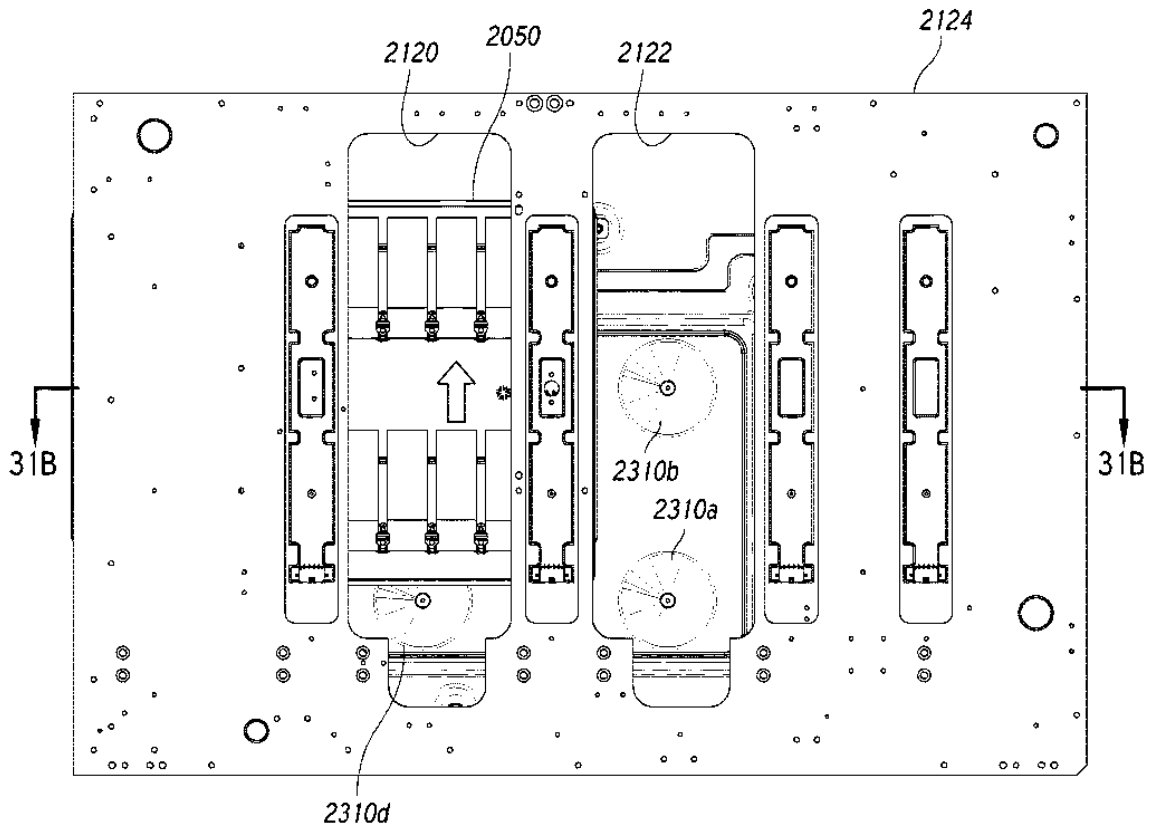


FIG. 31A

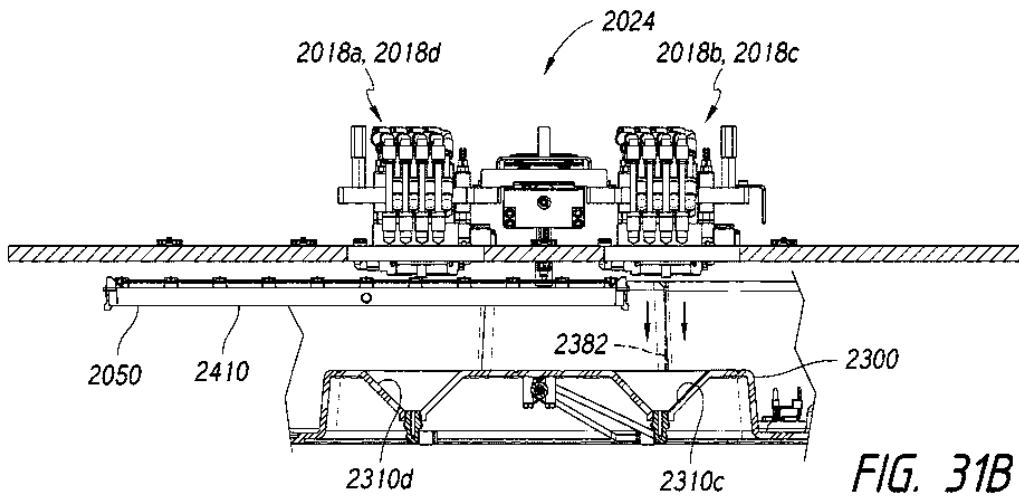


FIG. 31B

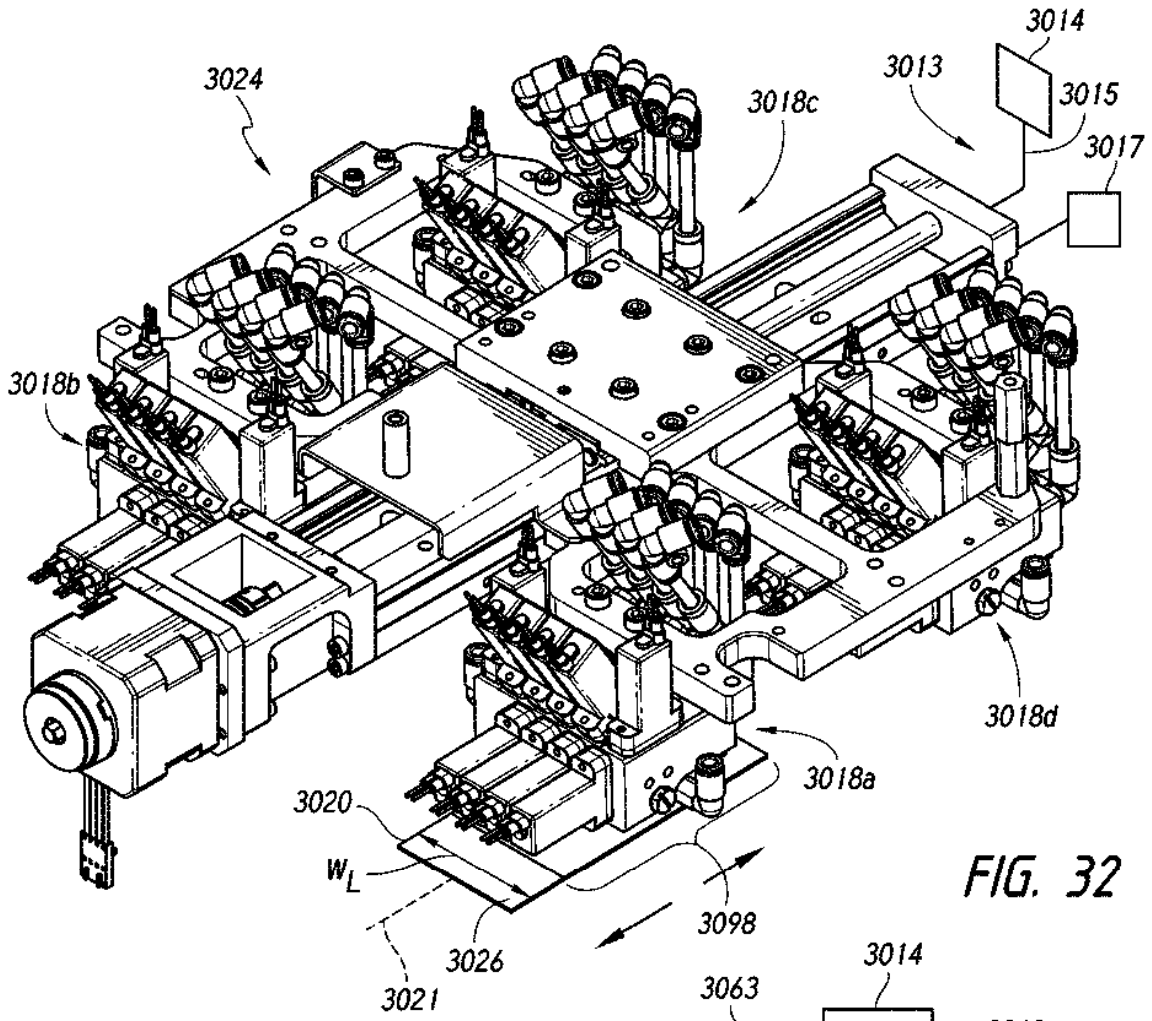


FIG. 32

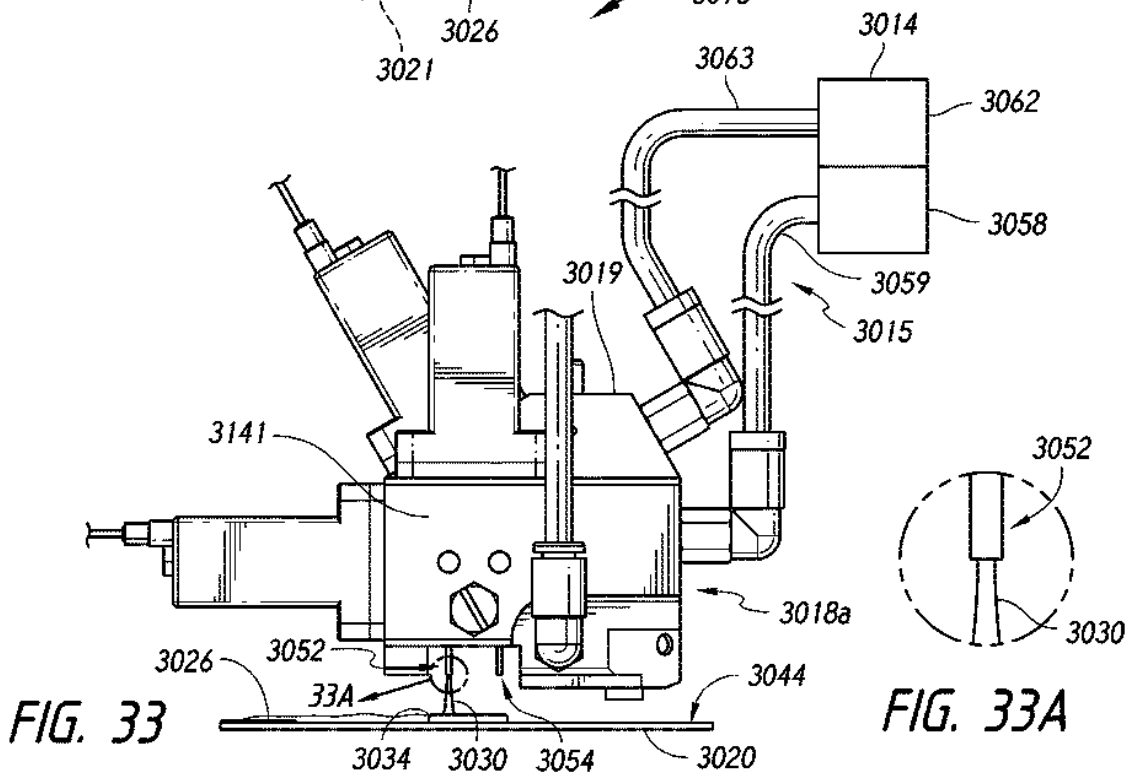


FIG. 33

FIG. 33A

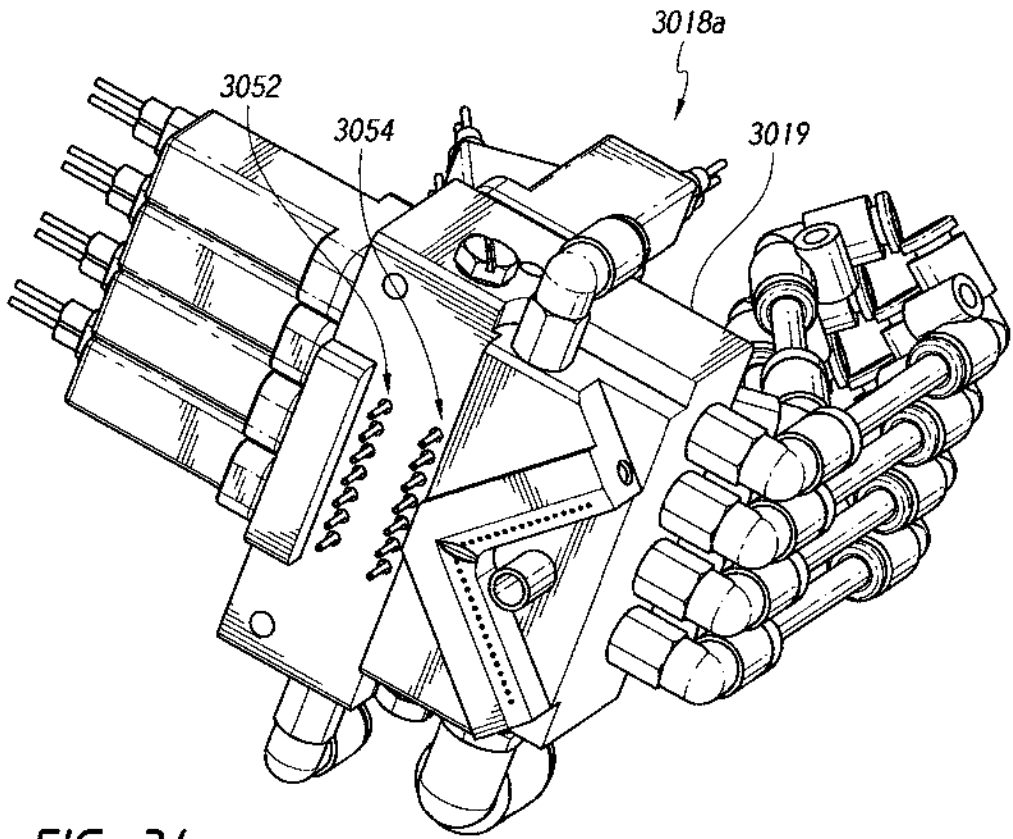


FIG. 34

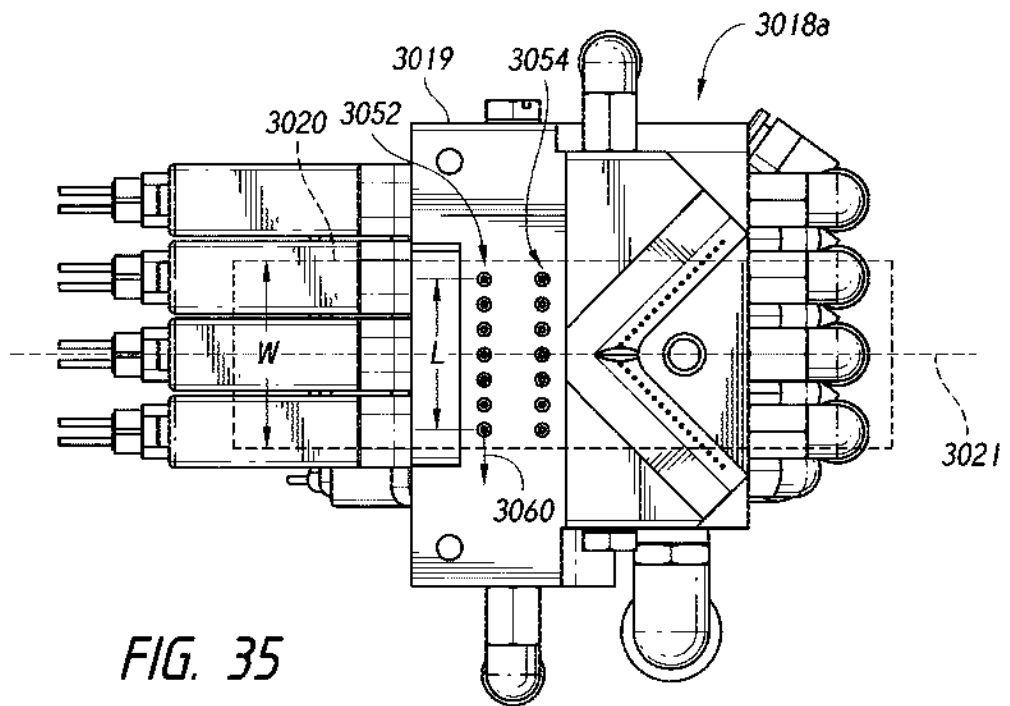


FIG. 35

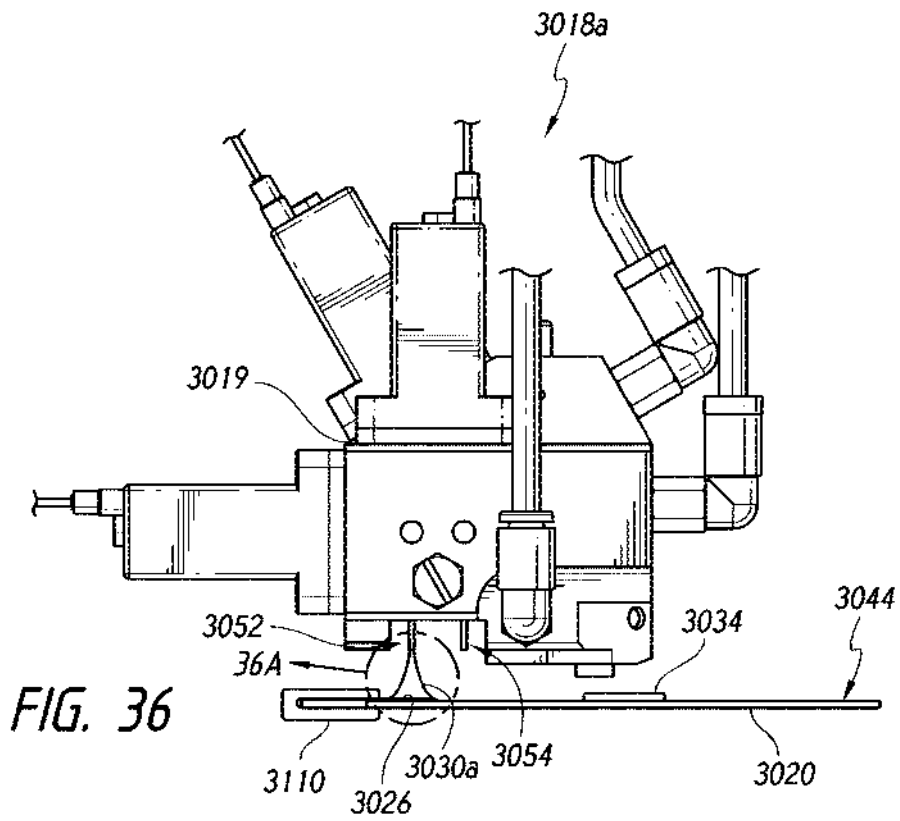


FIG. 36

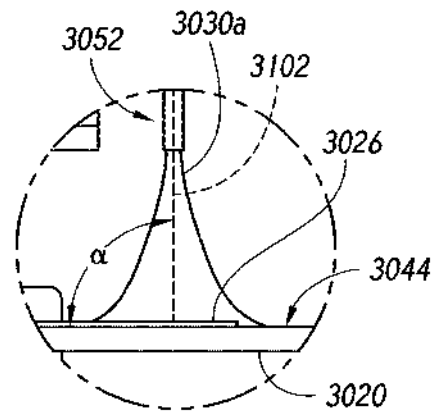


FIG. 36A

FIG. 37

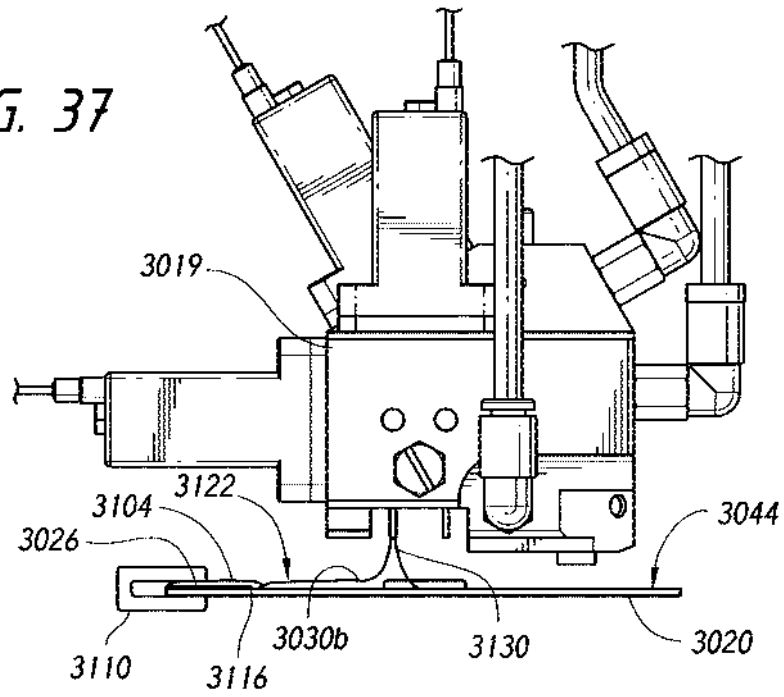
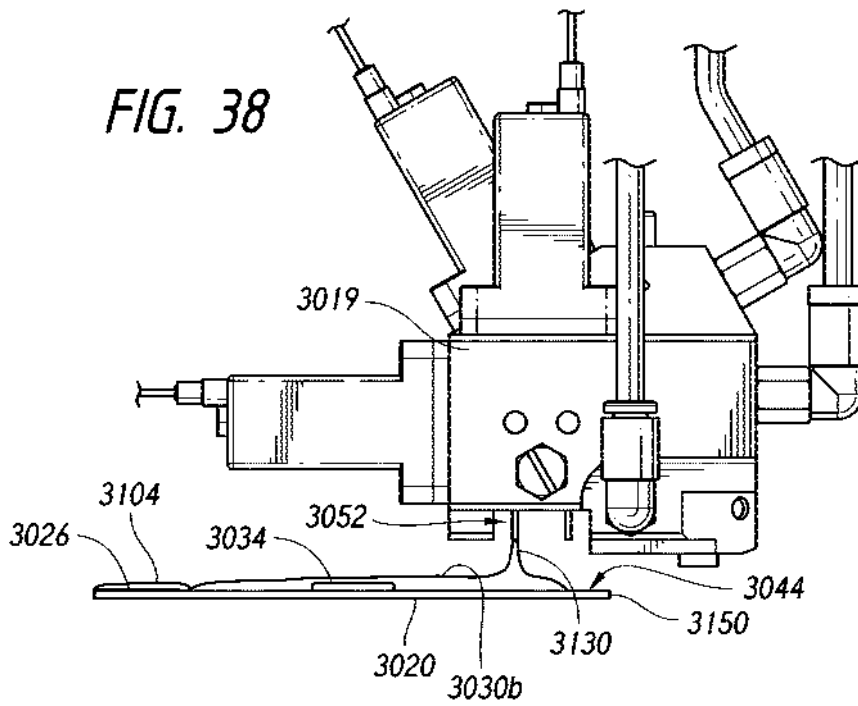


FIG. 38



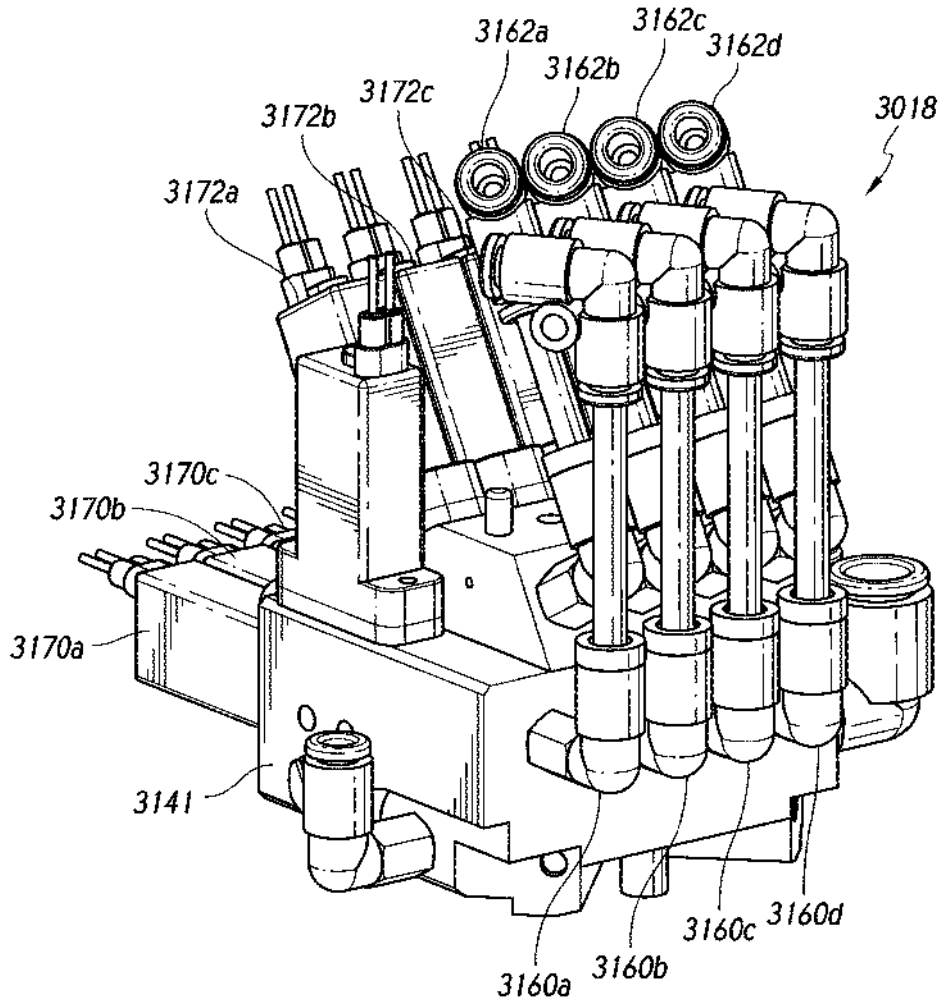
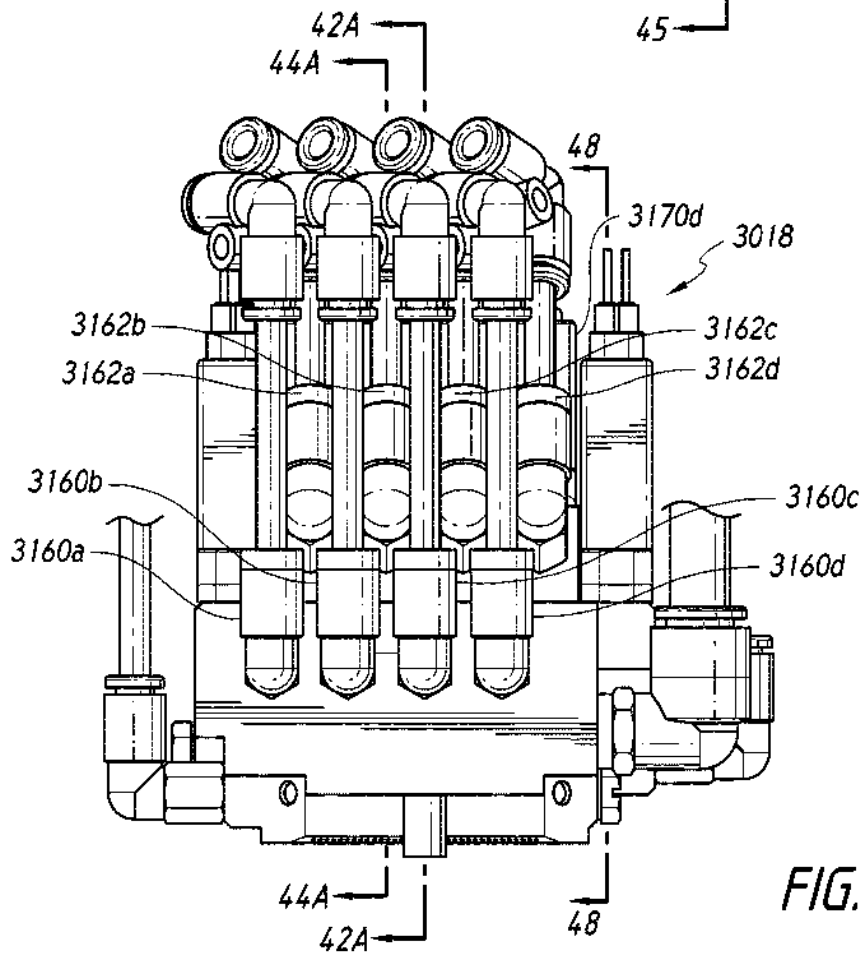
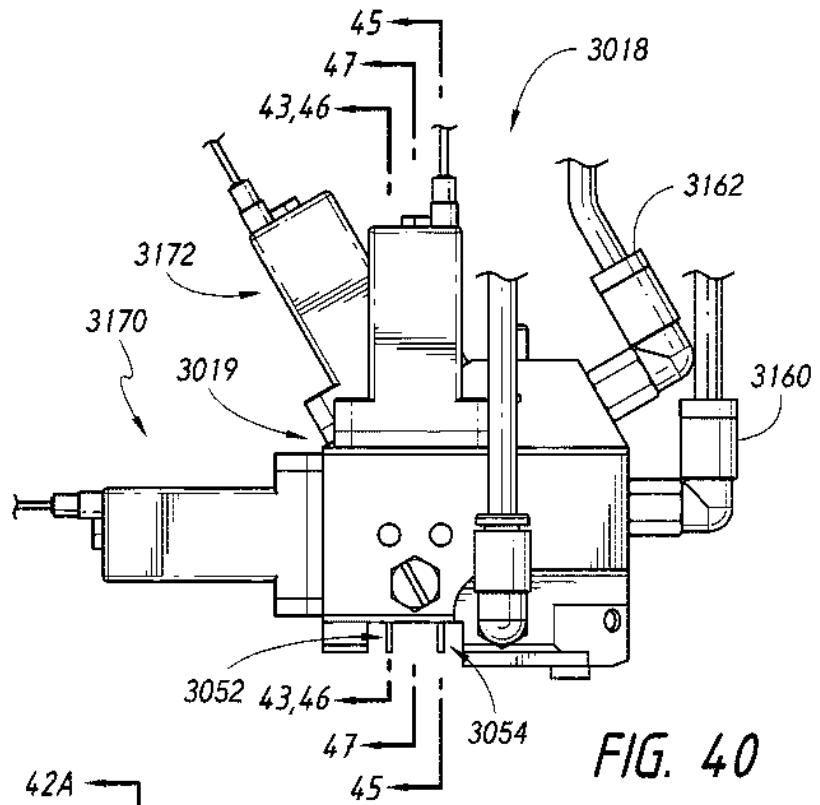
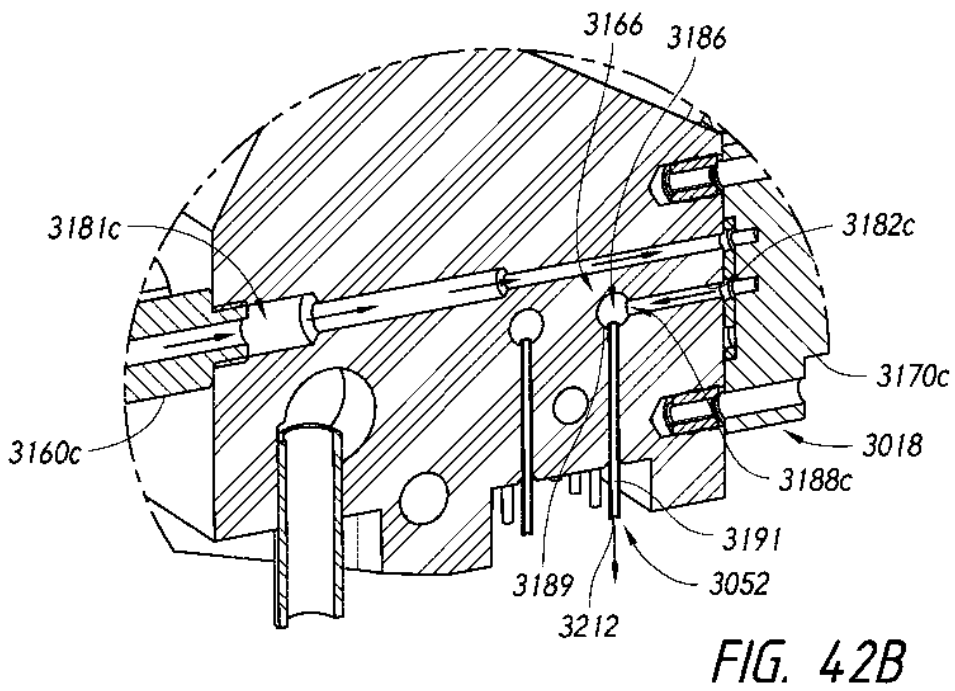
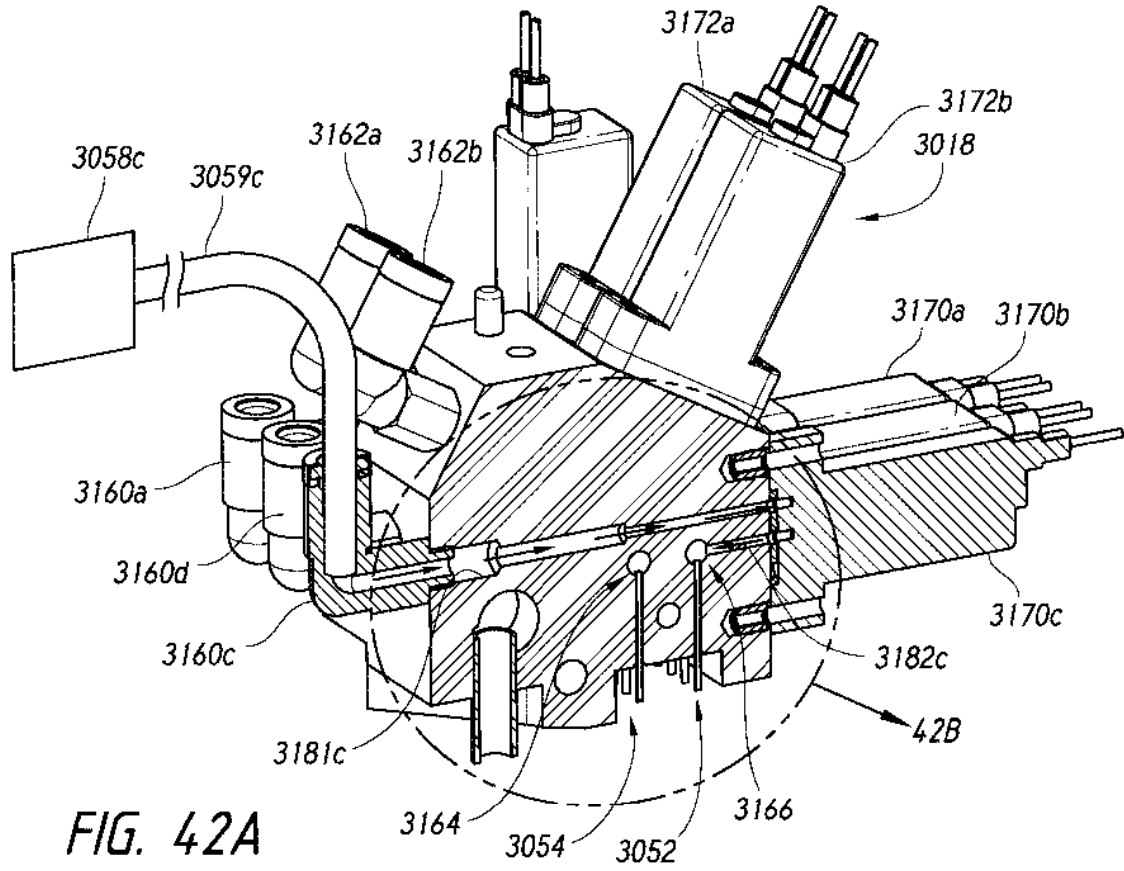


FIG. 39





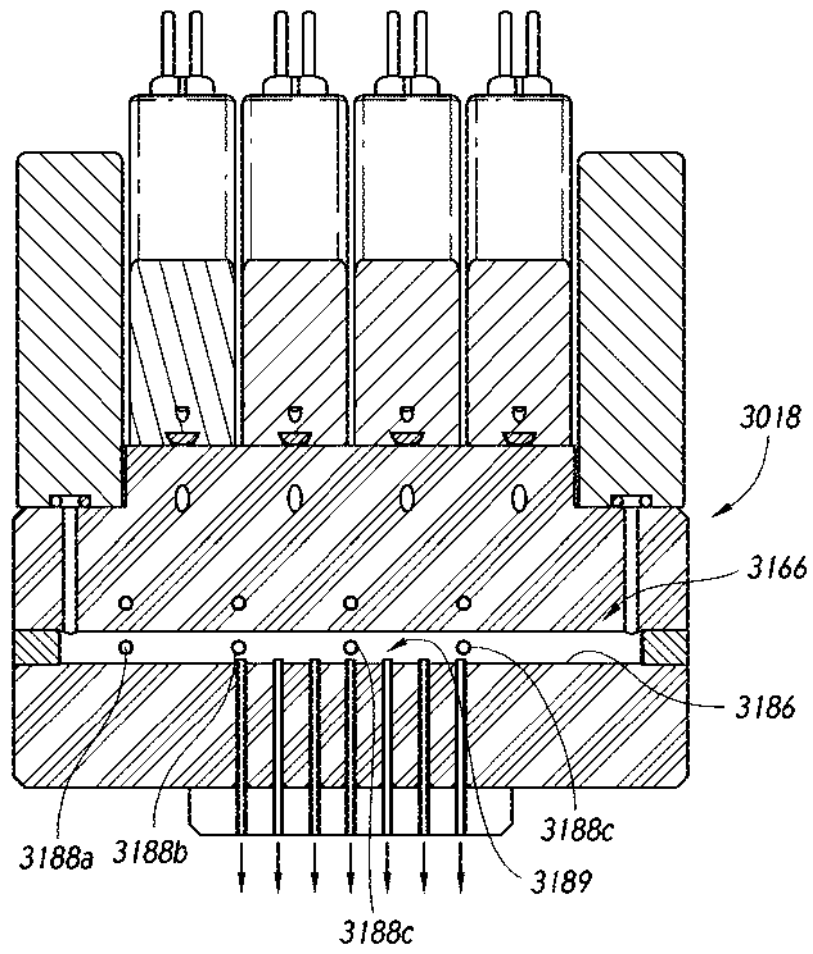
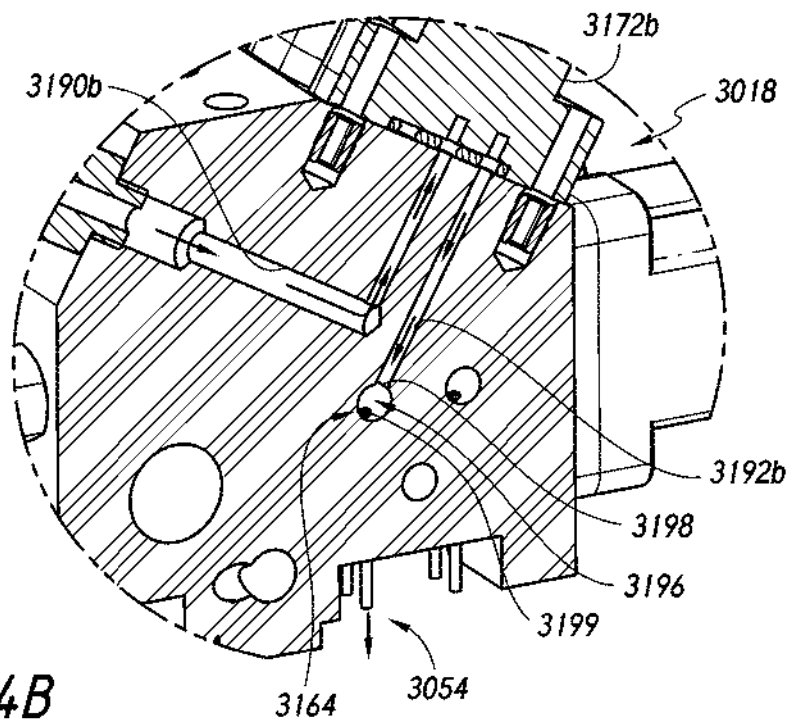
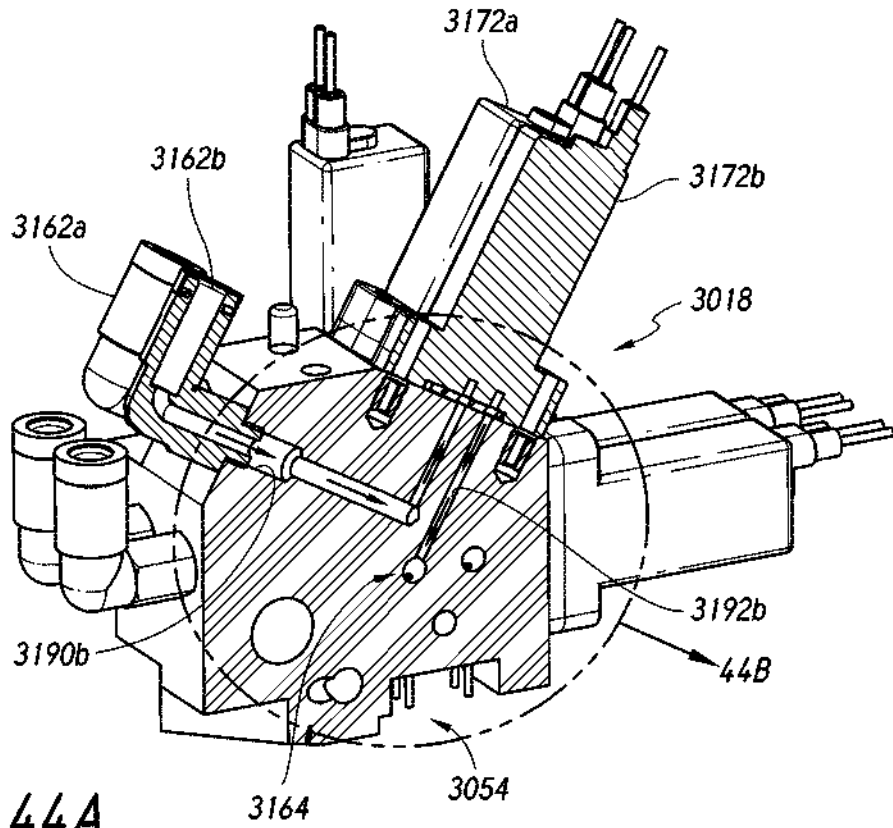


FIG. 43



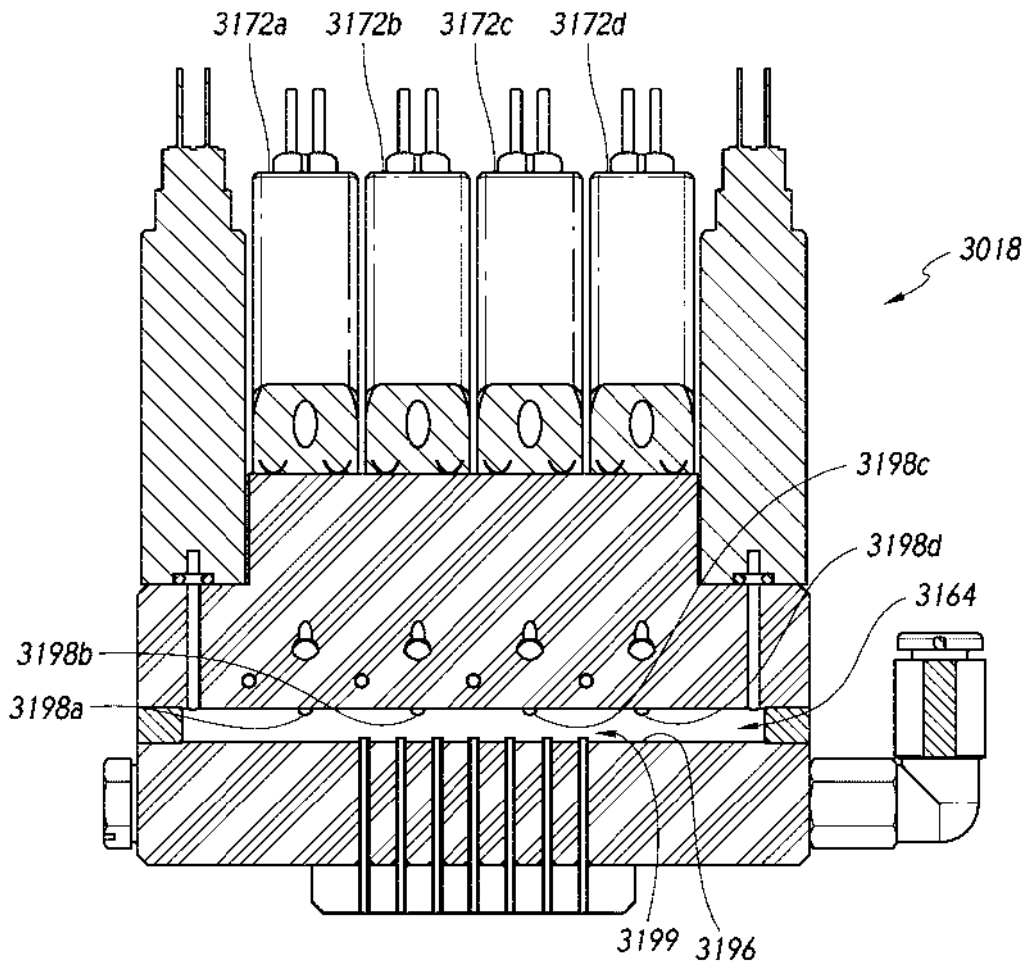


FIG. 45

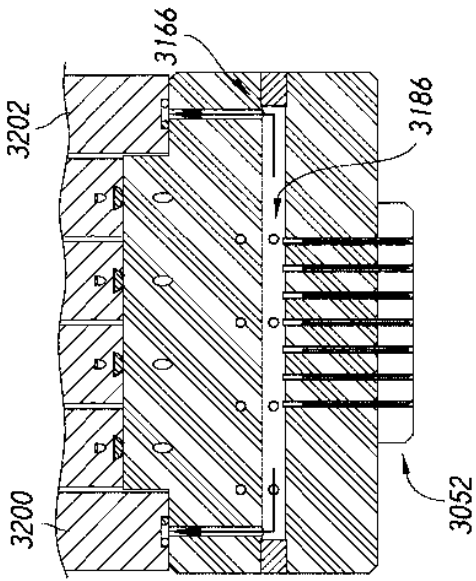


FIG. 46A

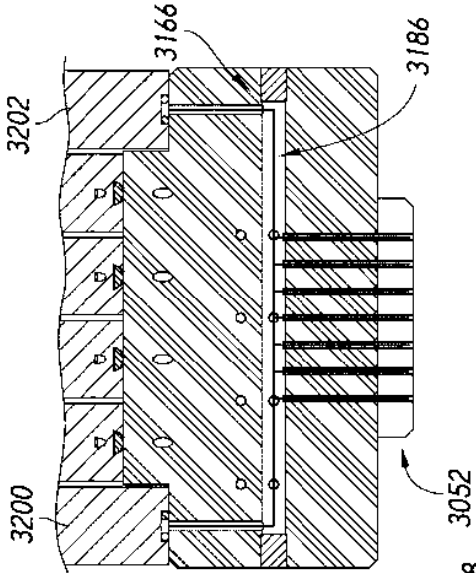


FIG. 46B

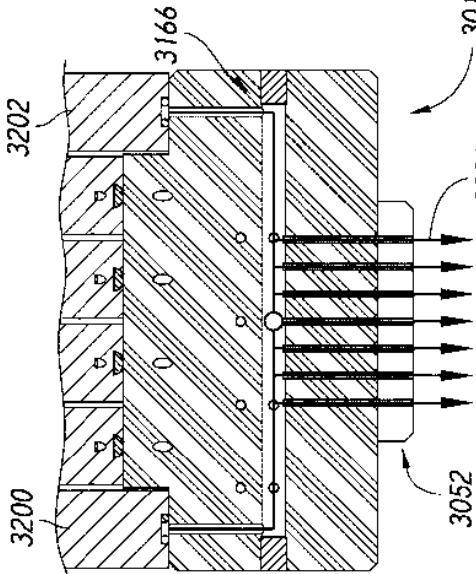


FIG. 46C

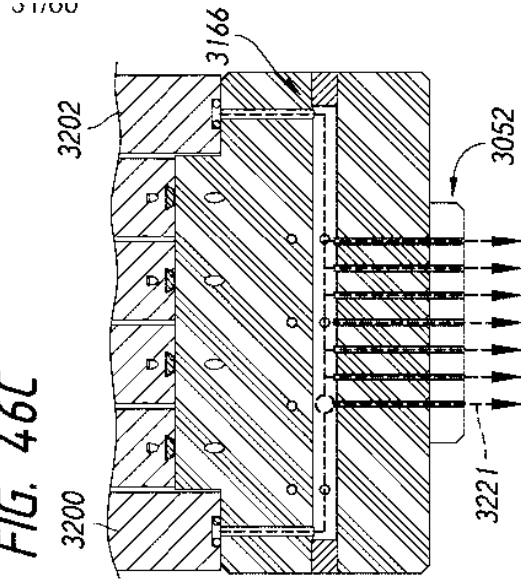


FIG. 46D

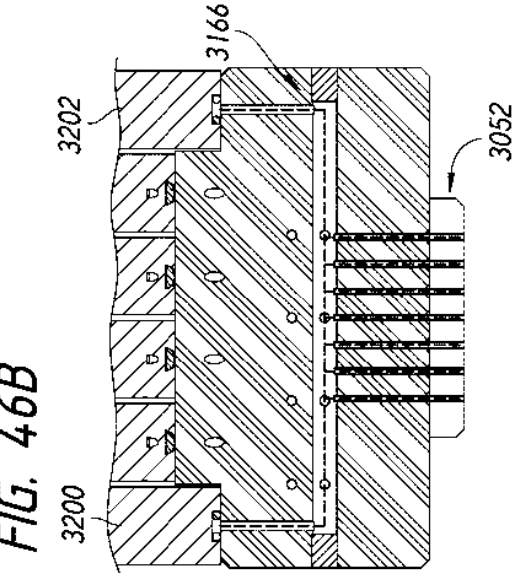


FIG. 46E

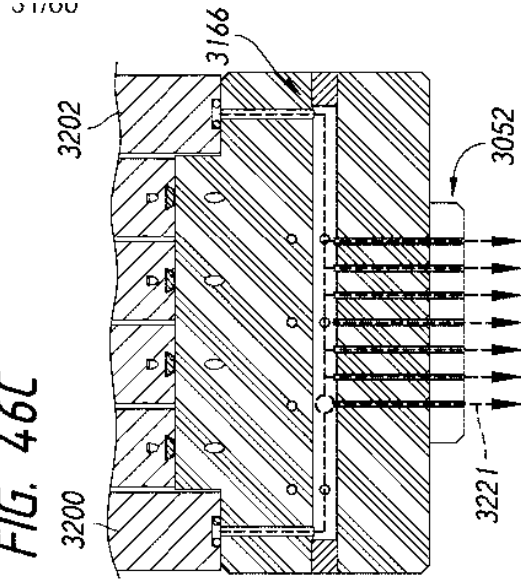


FIG. 46F

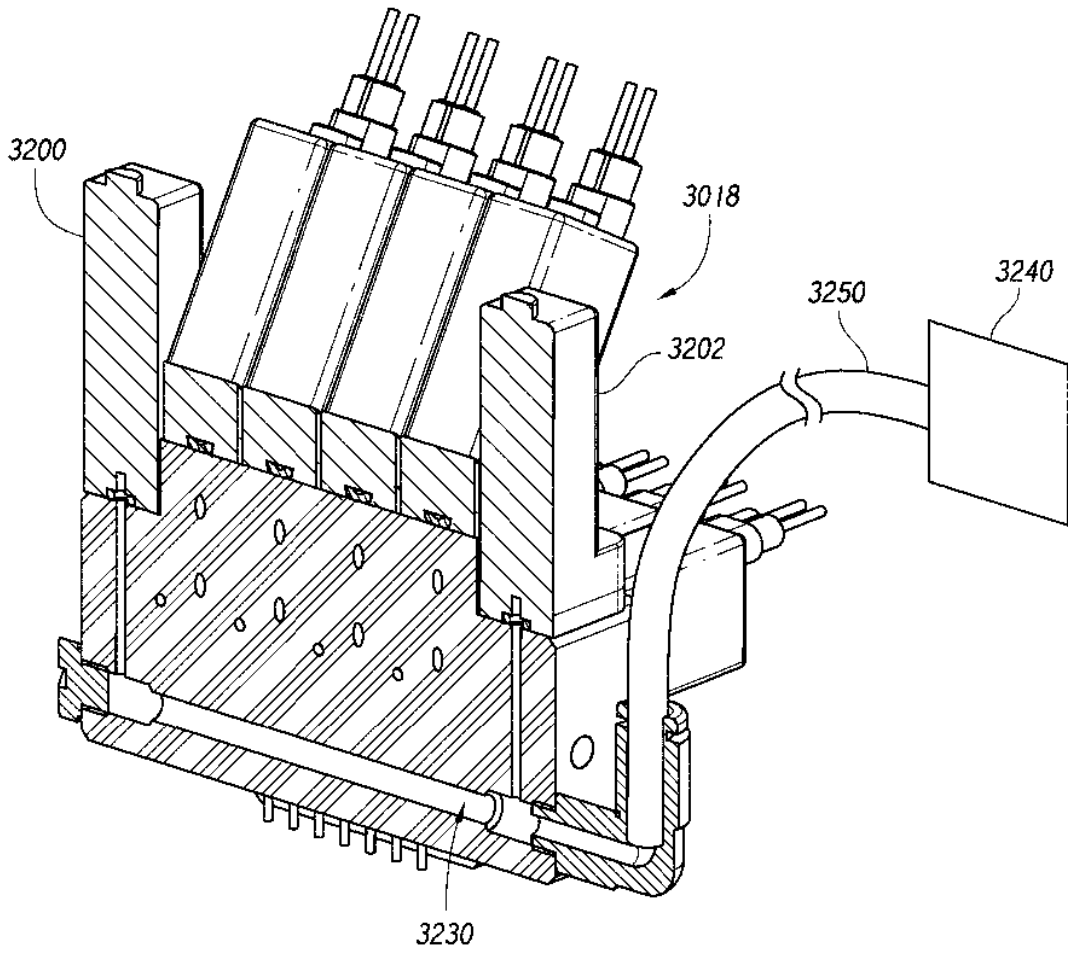


FIG. 47

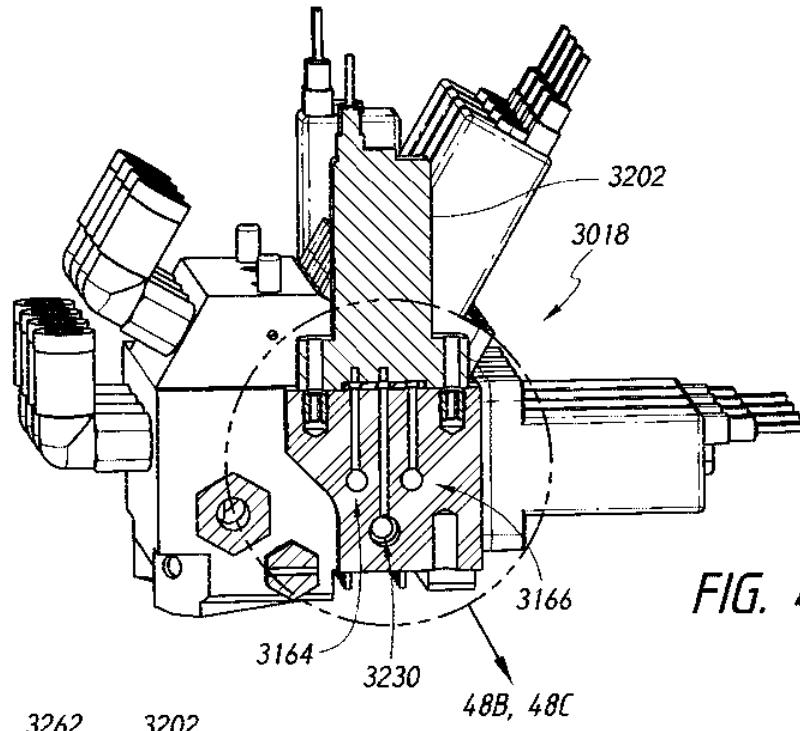


FIG. 48A

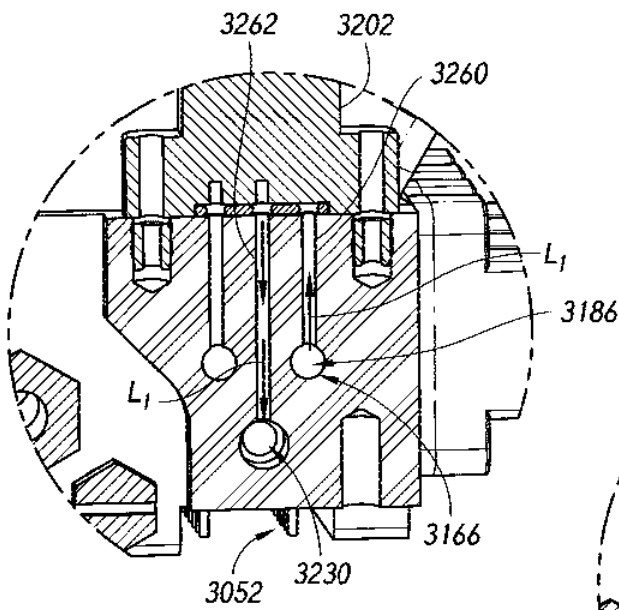


FIG. 48B

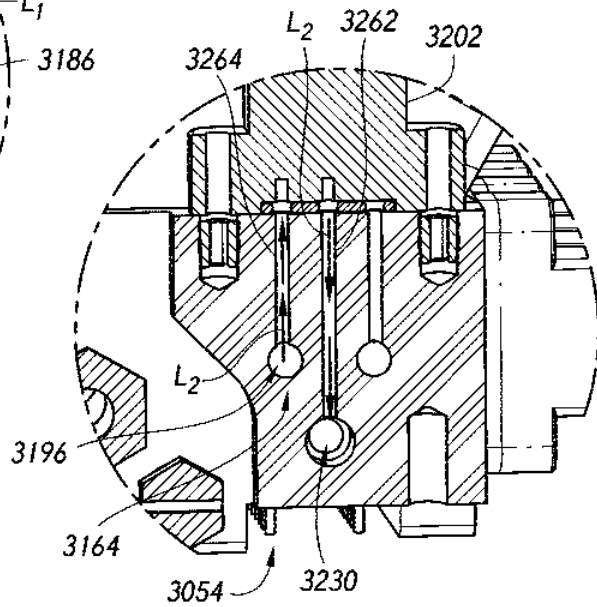


FIG. 48C

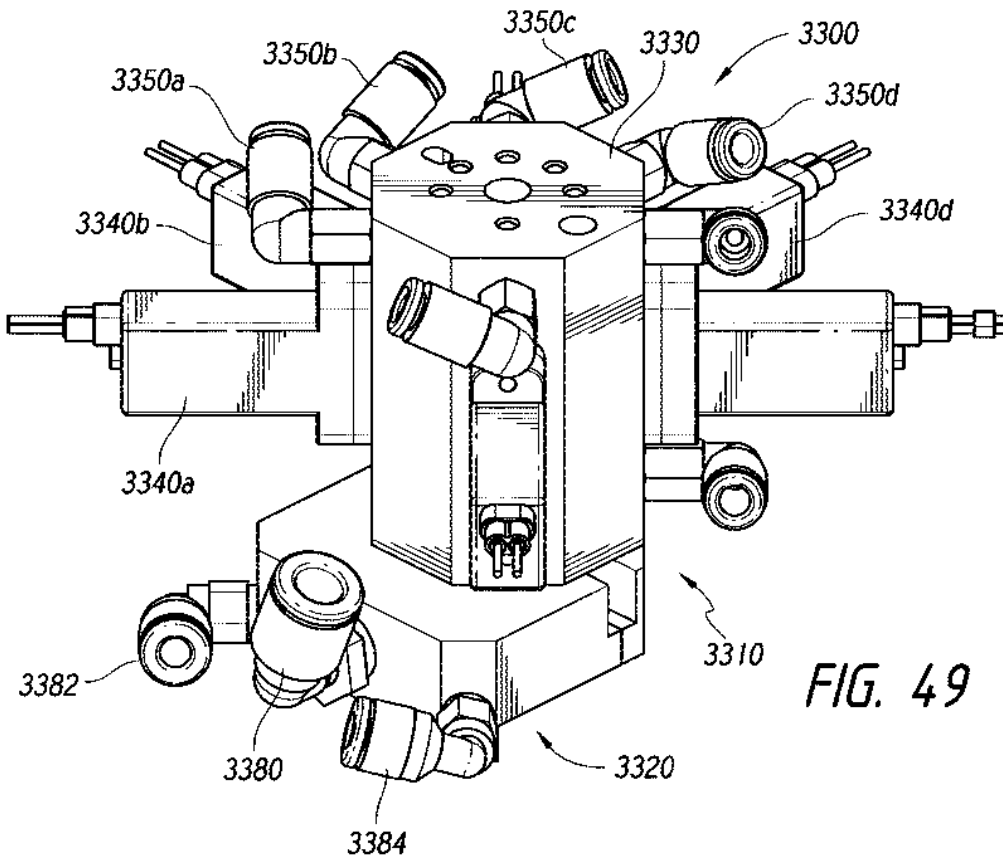


FIG. 49

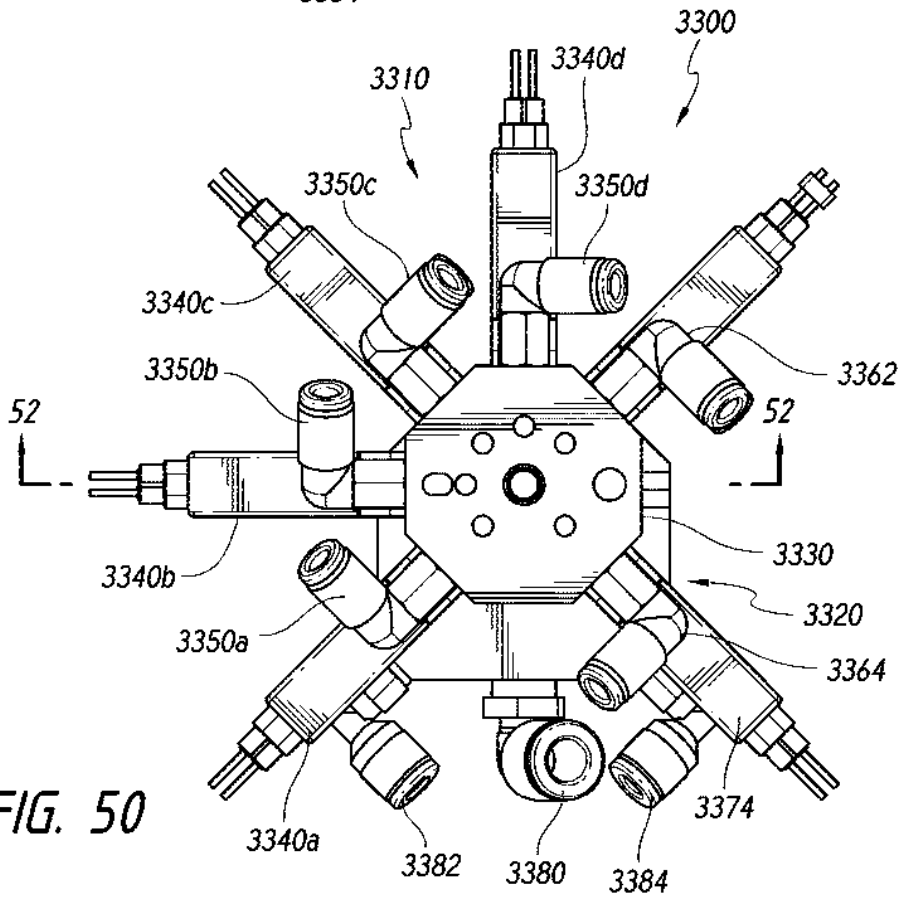


FIG. 50

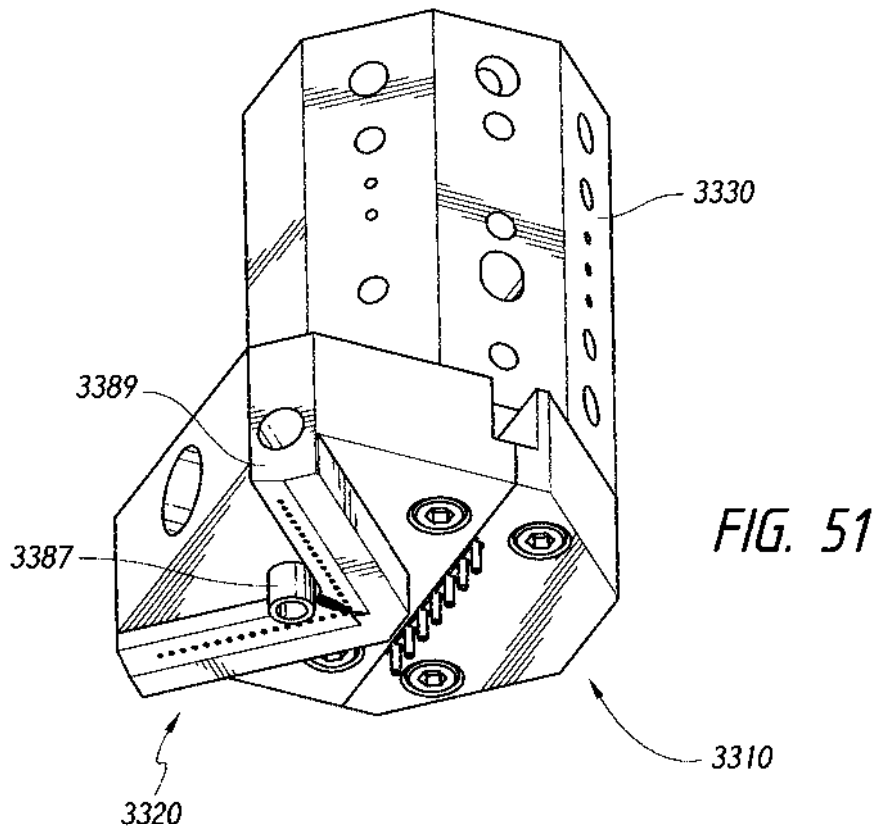


FIG. 51

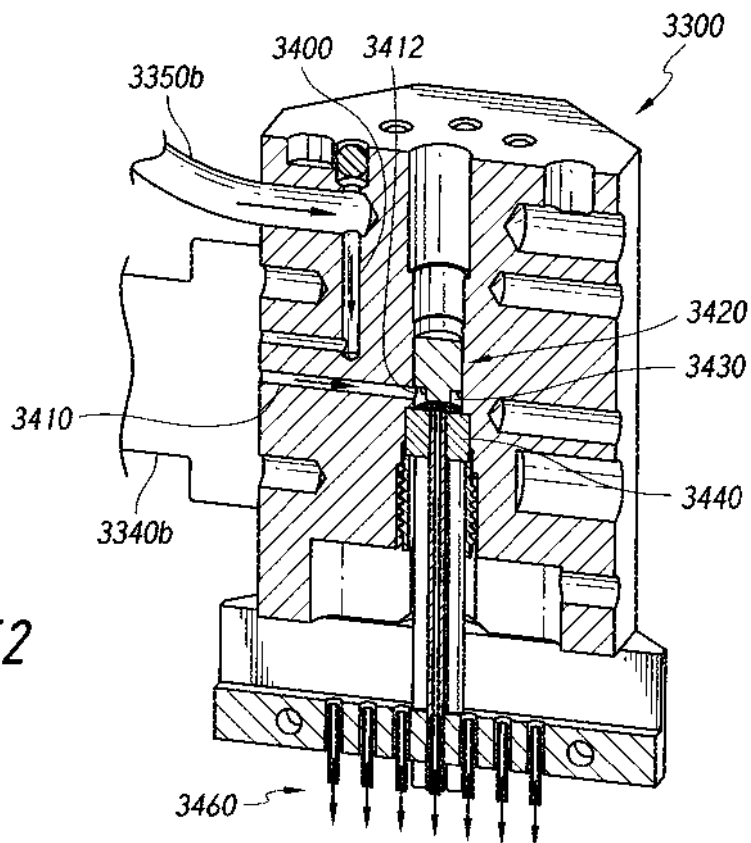


FIG. 52

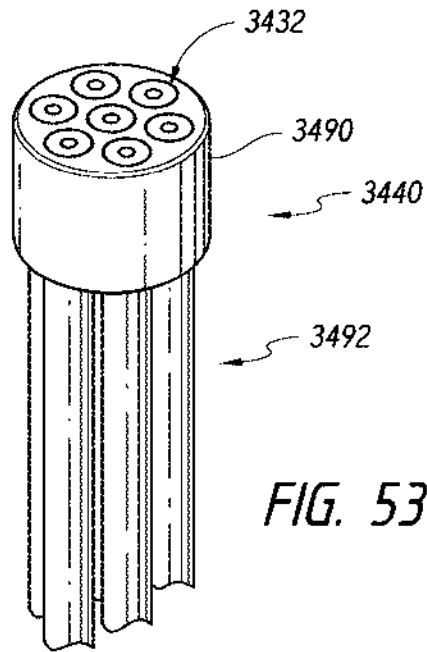


FIG. 53

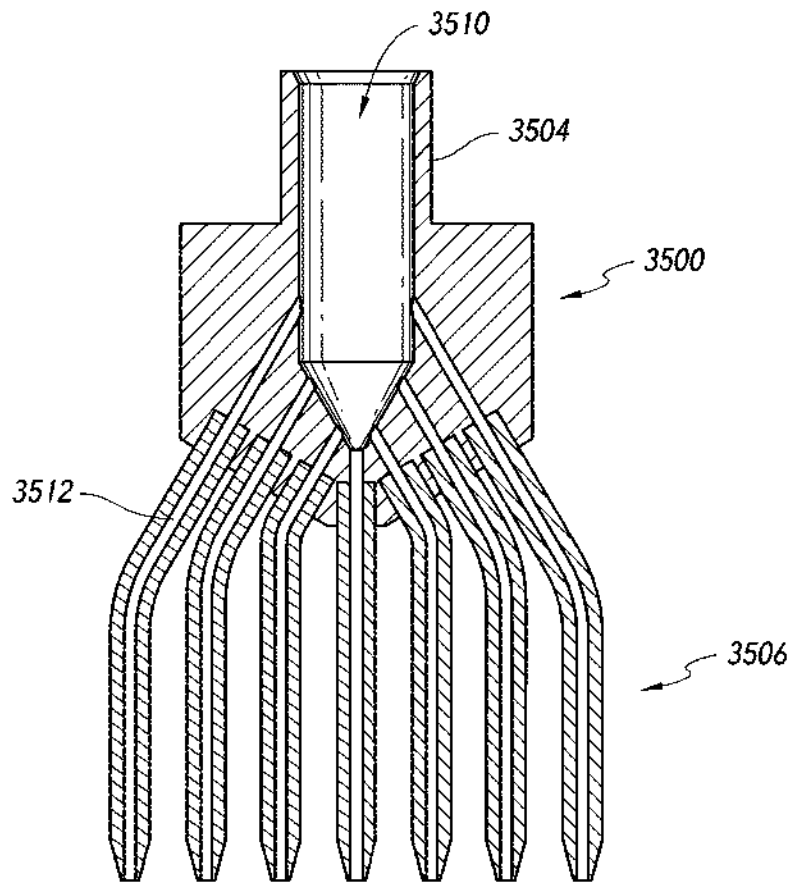
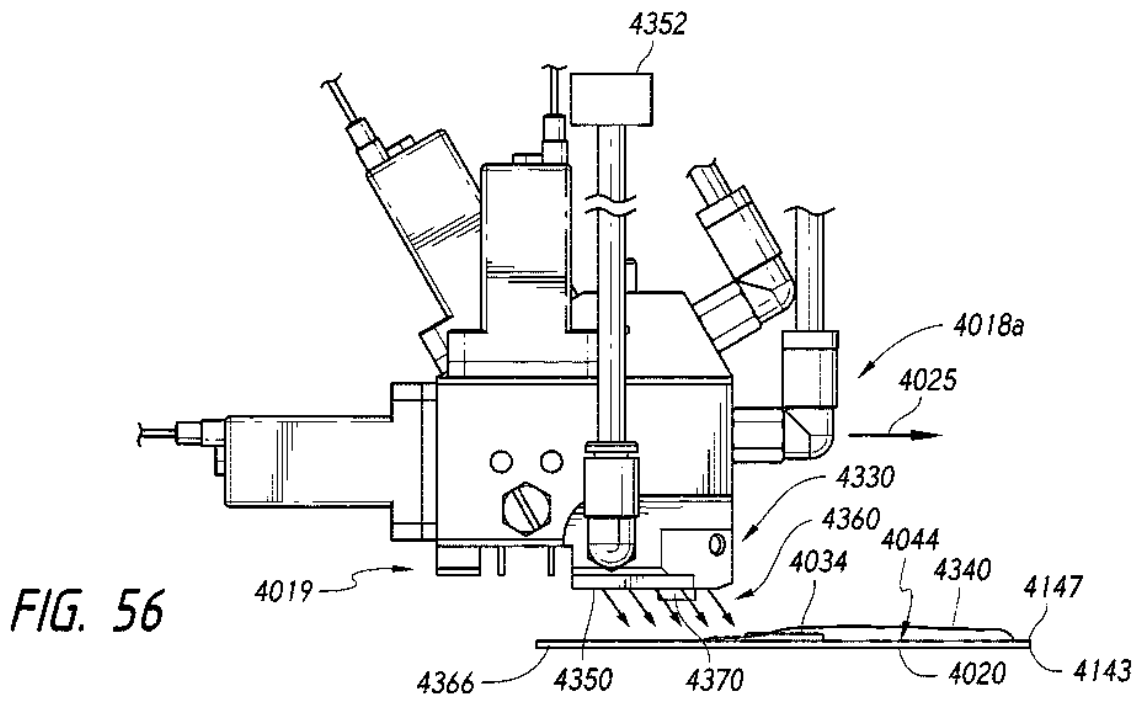
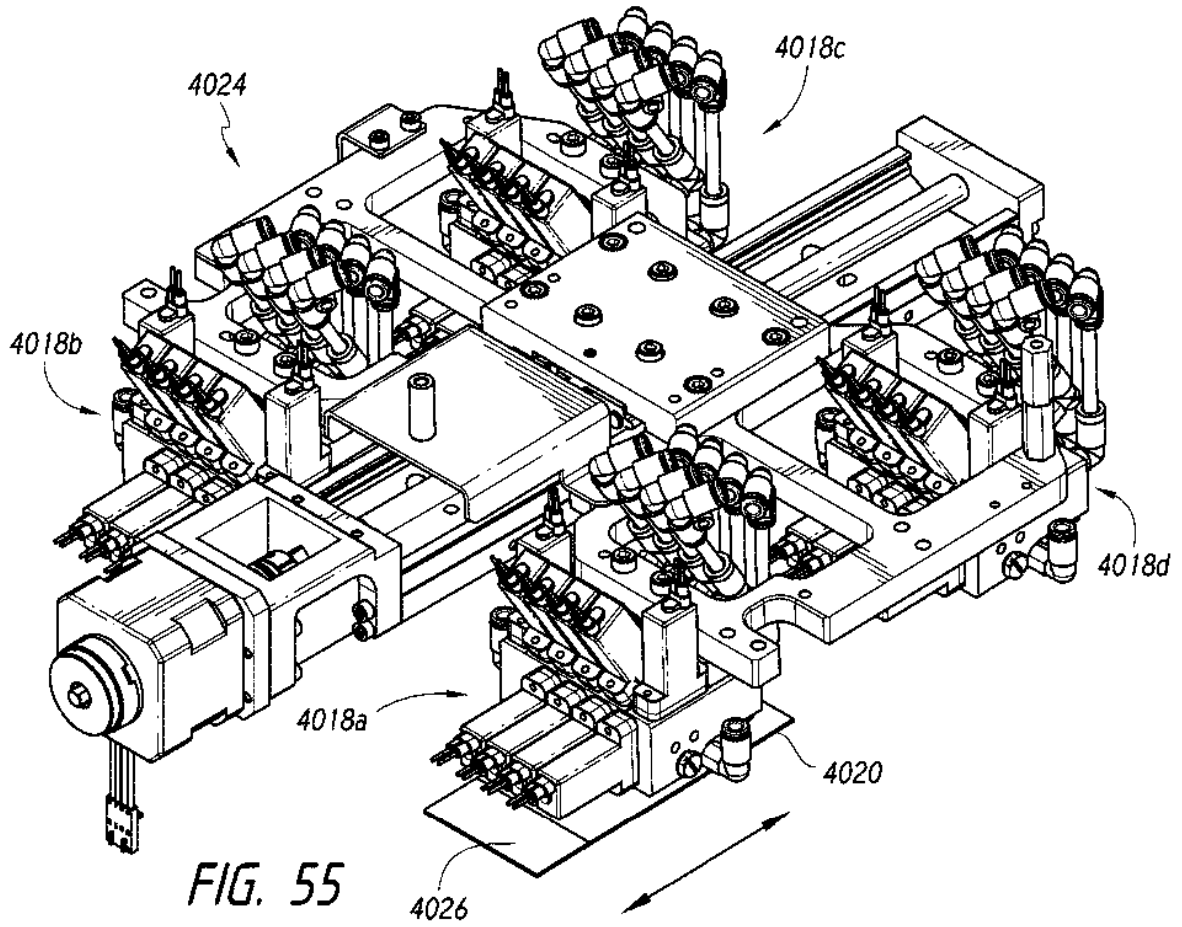
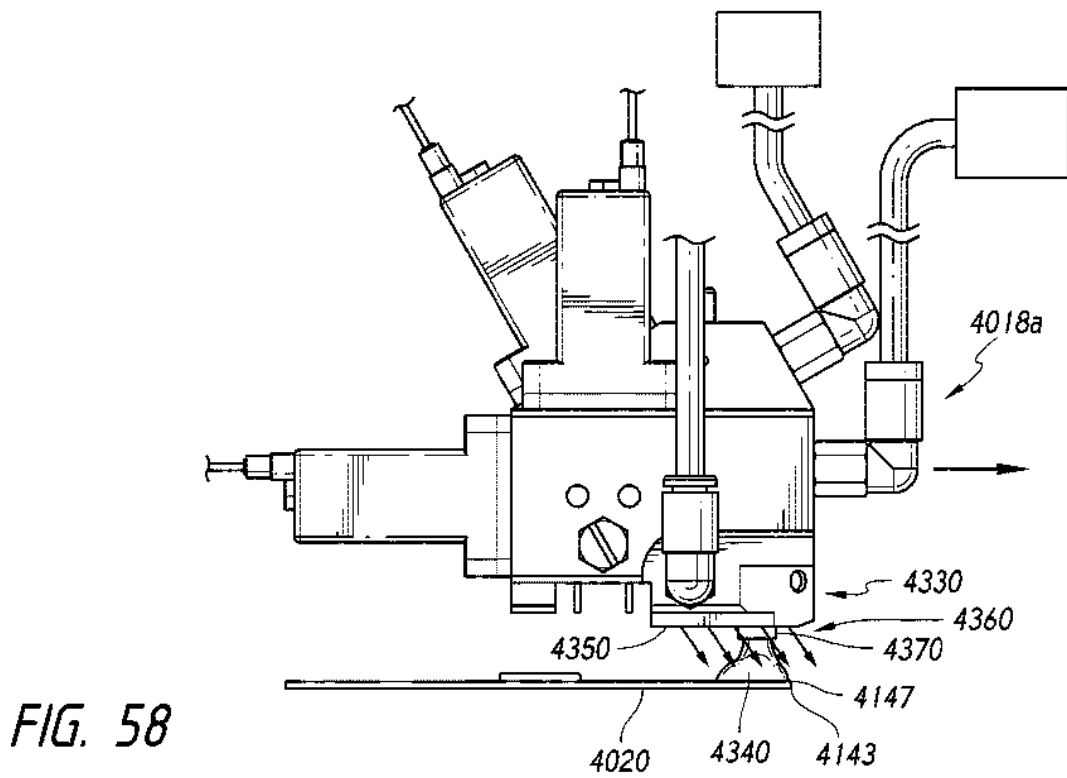
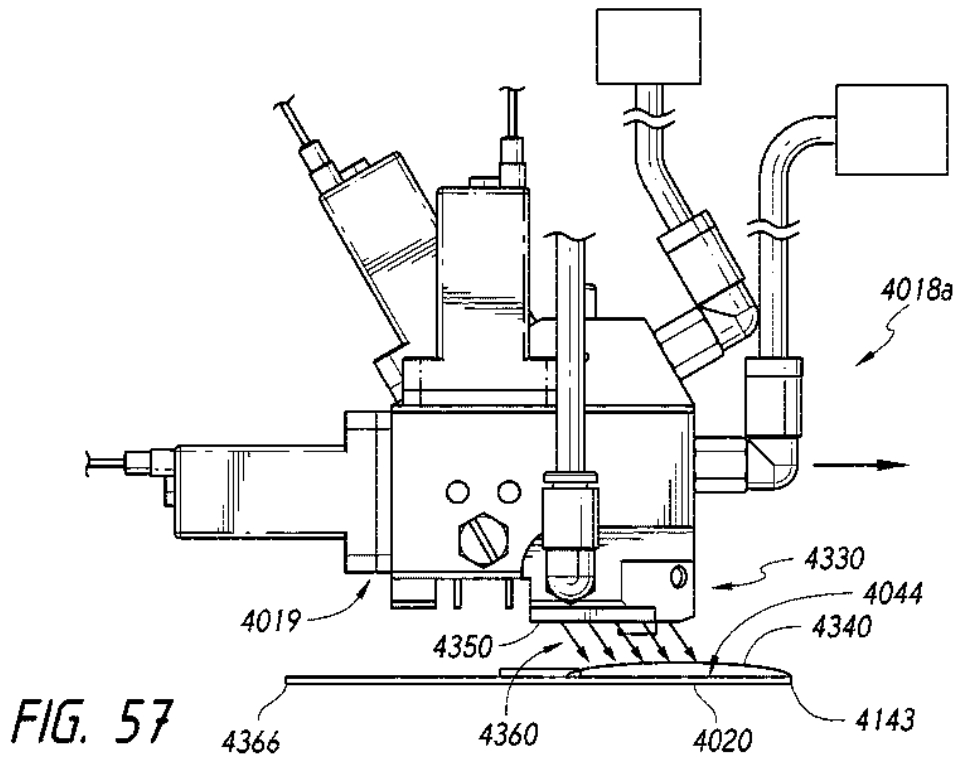


FIG. 54





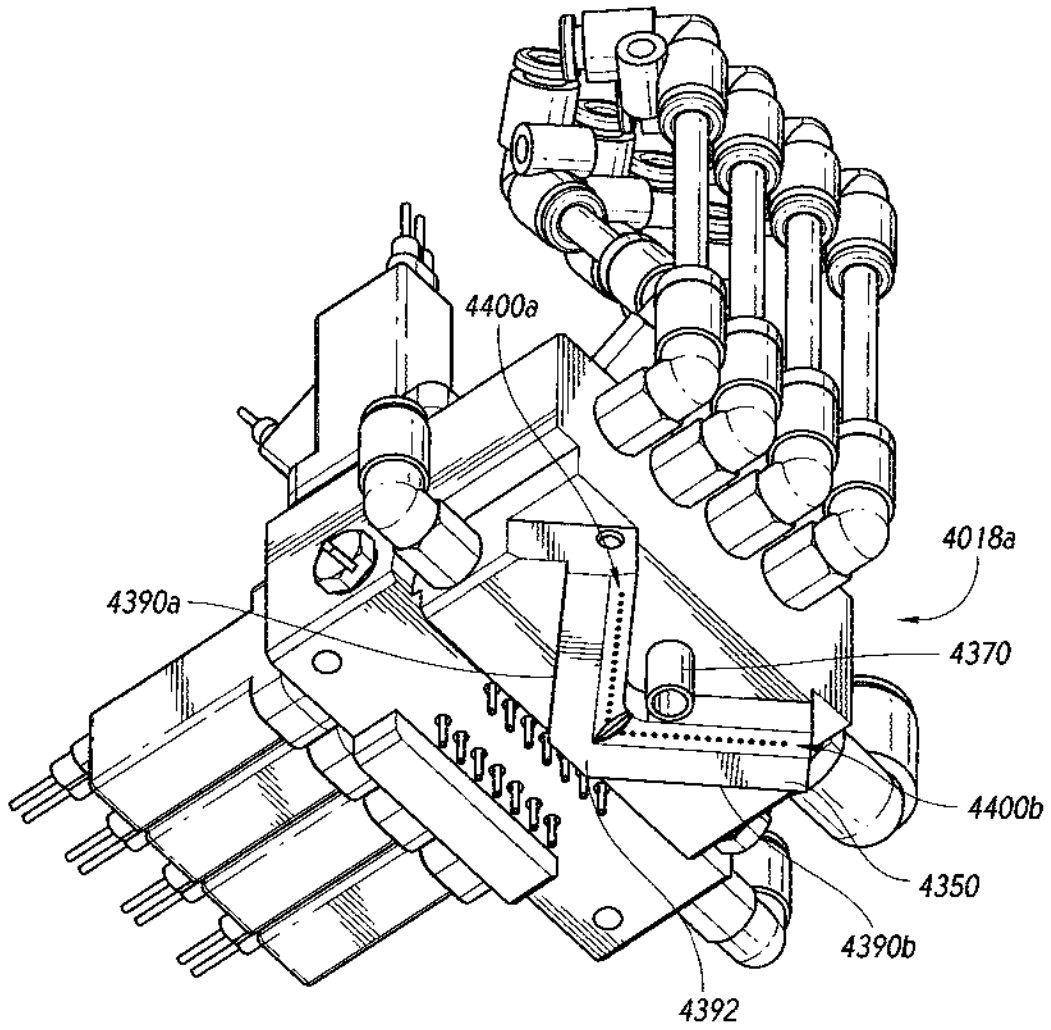


FIG. 59

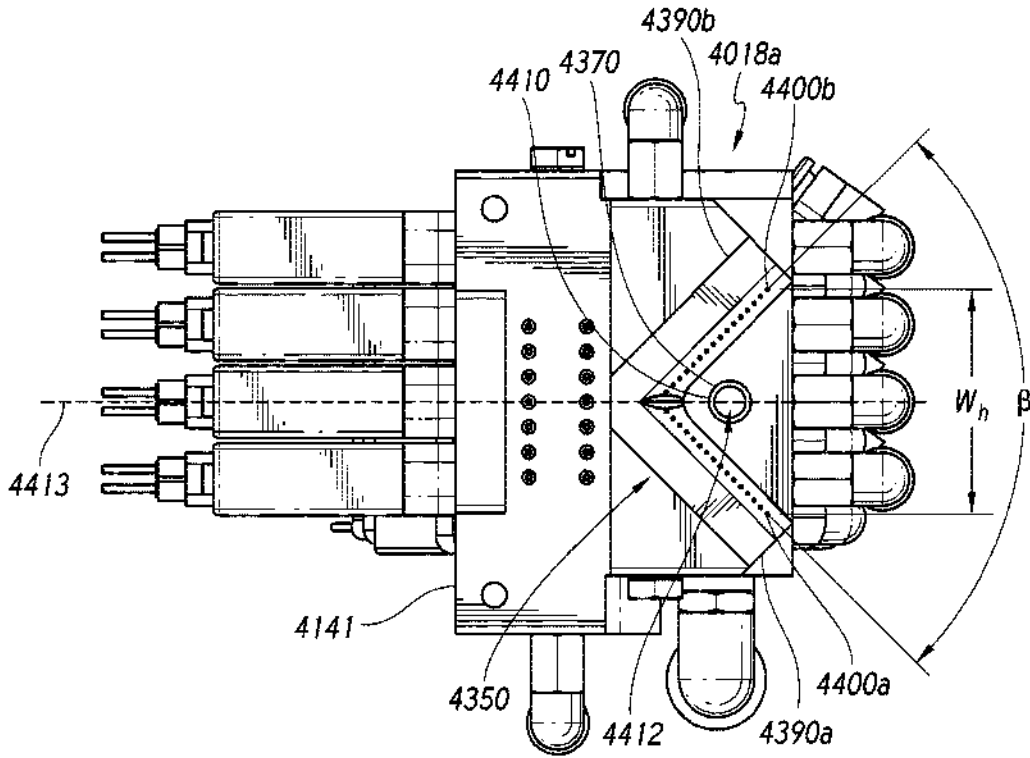


FIG. 60

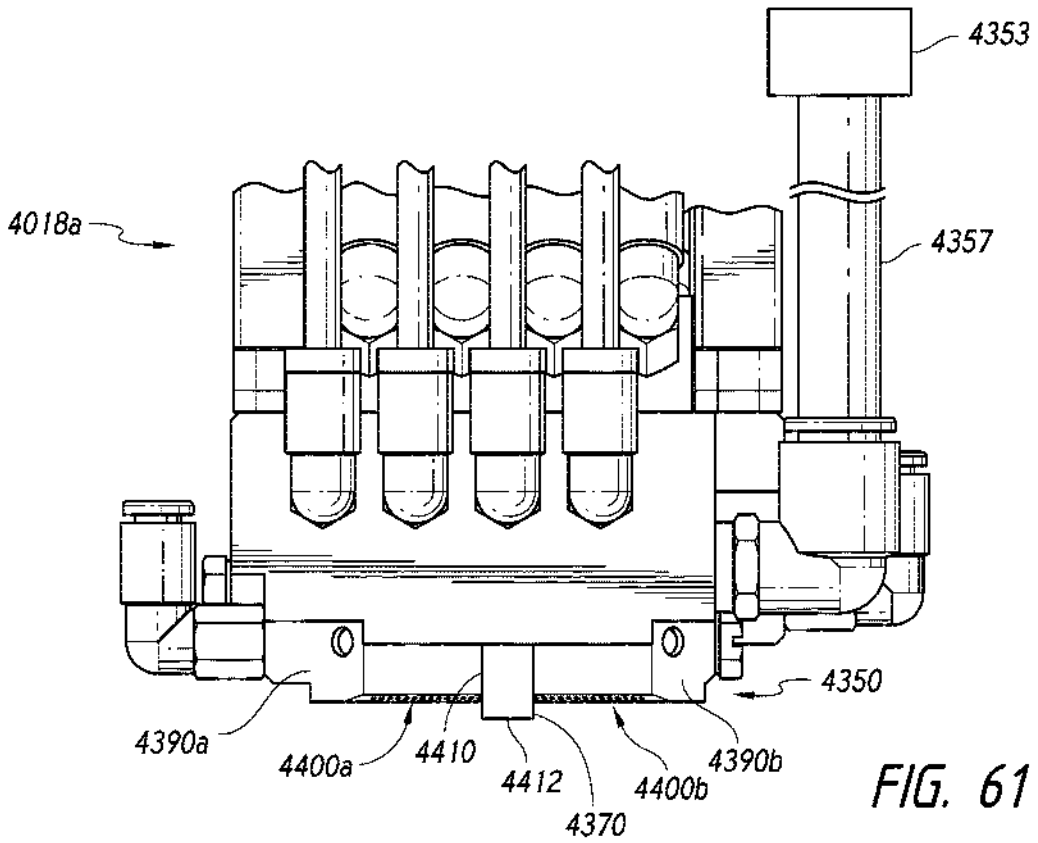


FIG. 61

FIG. 62

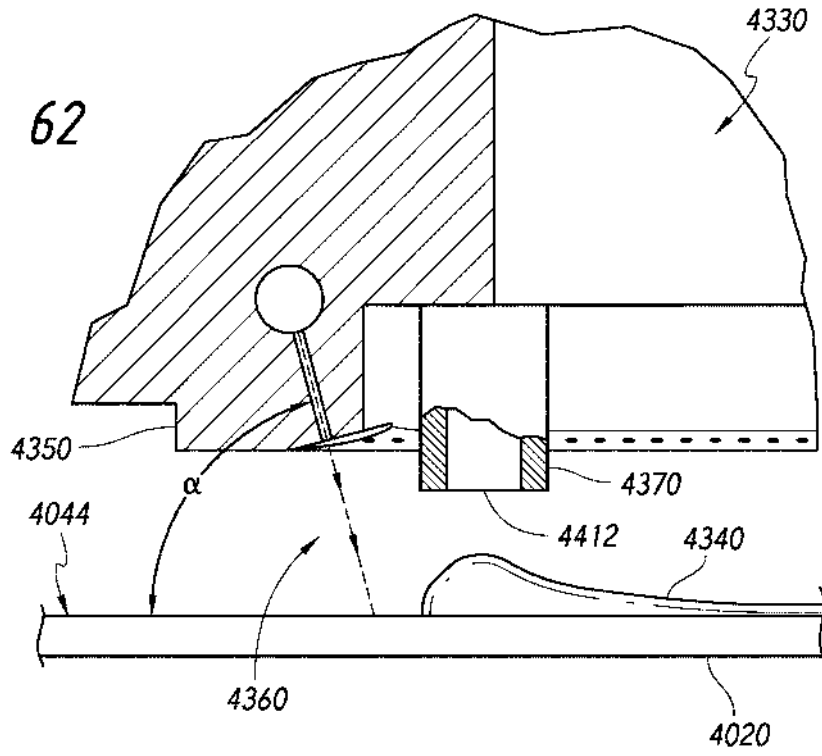
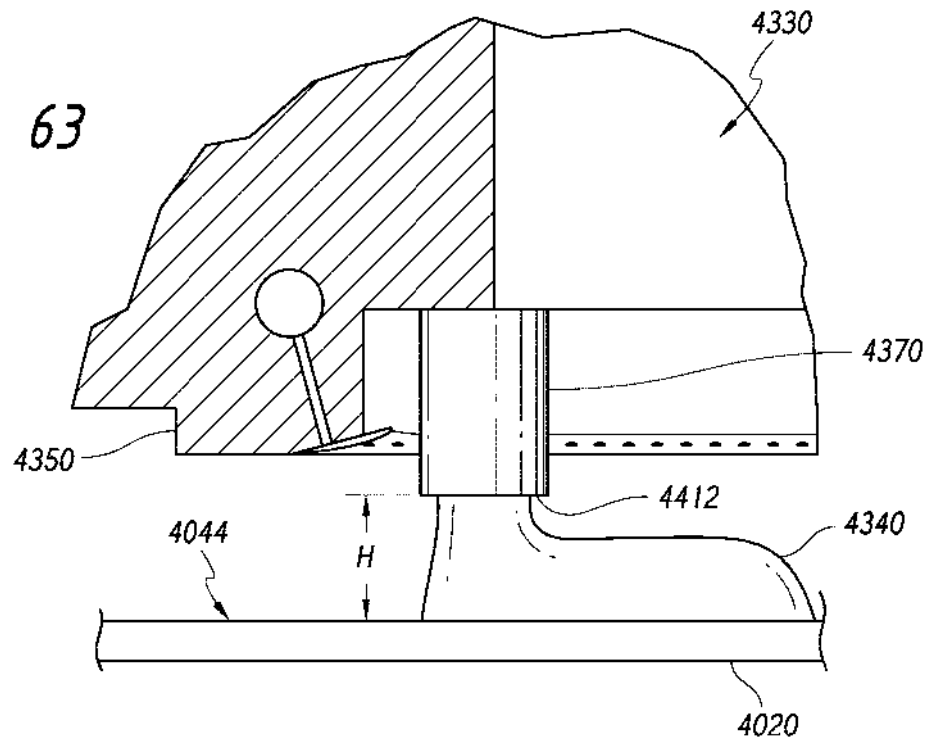
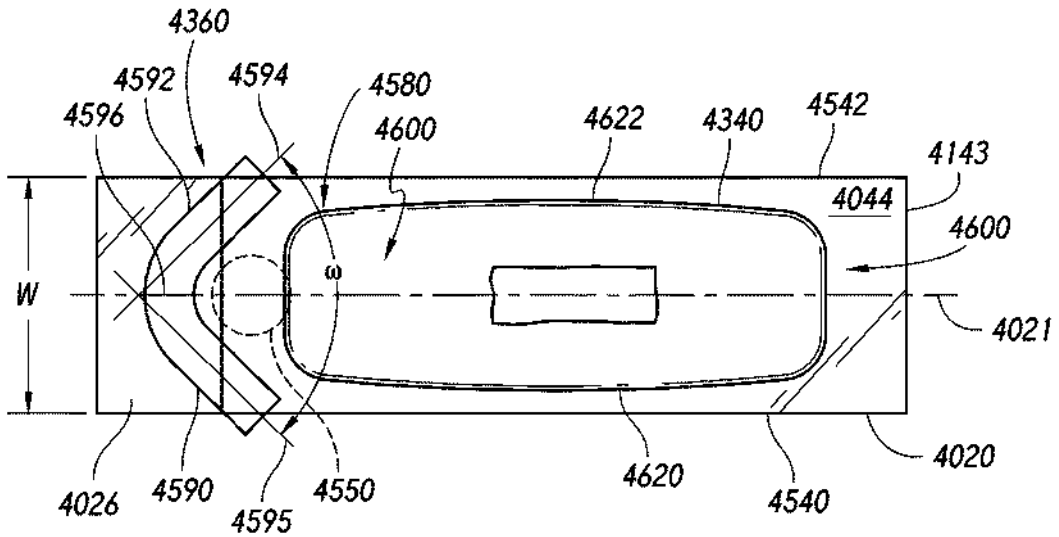
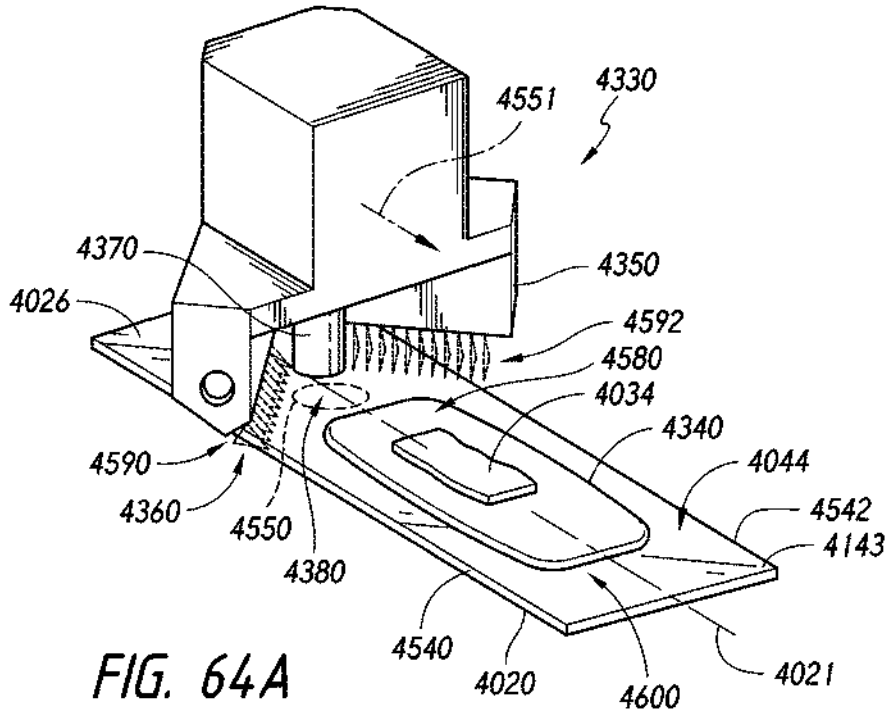
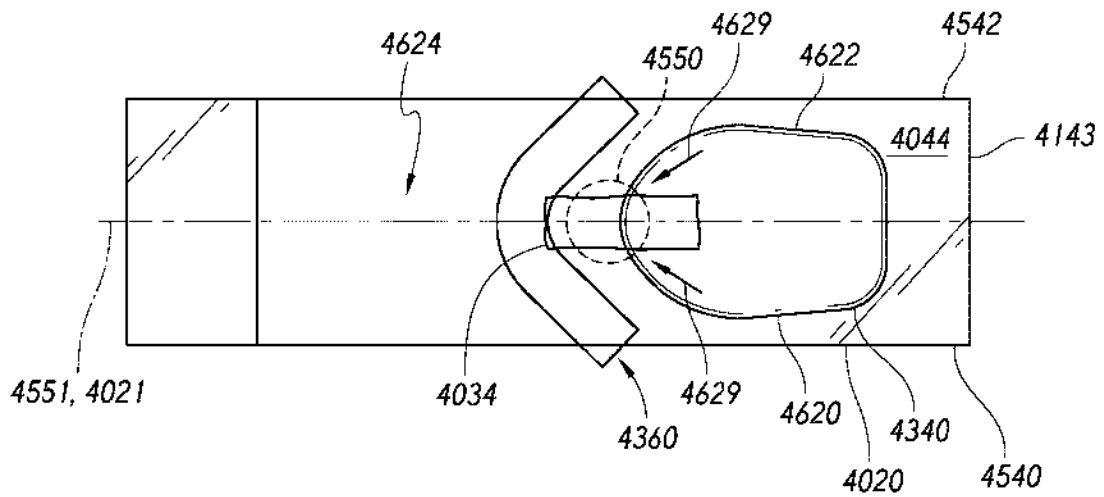
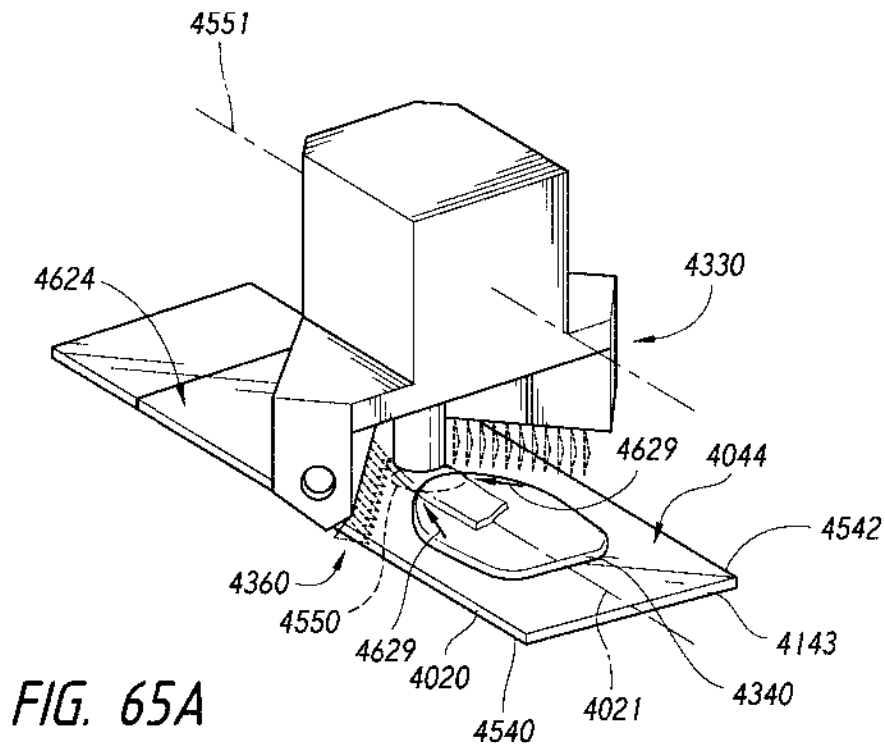
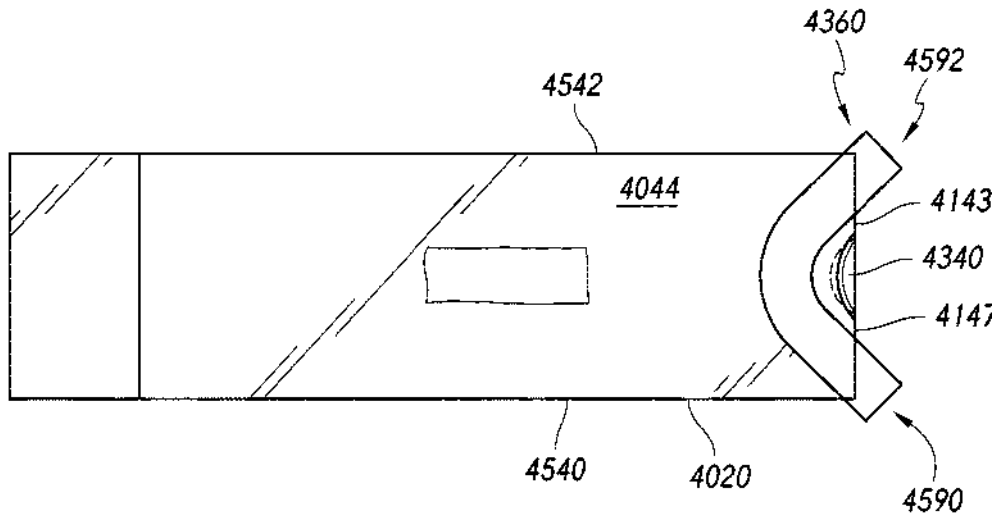
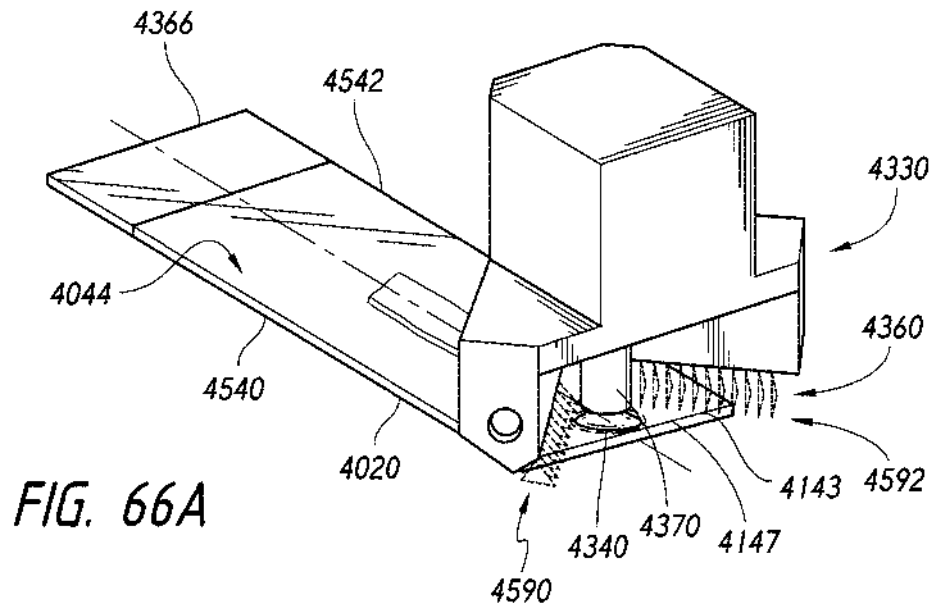


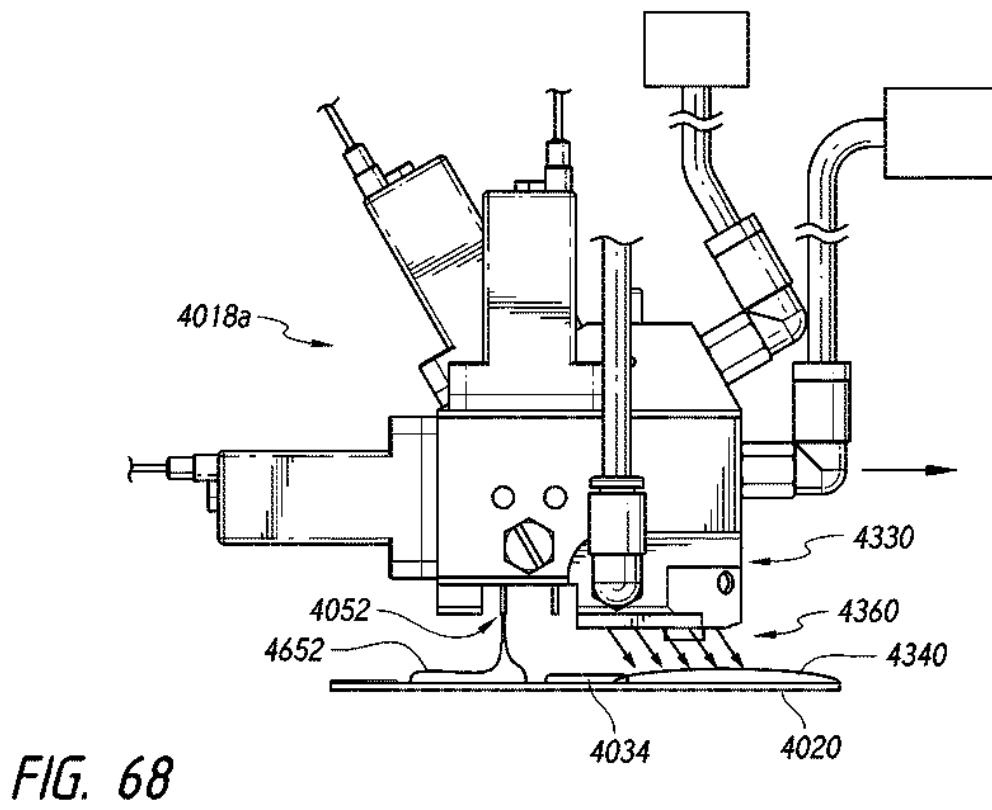
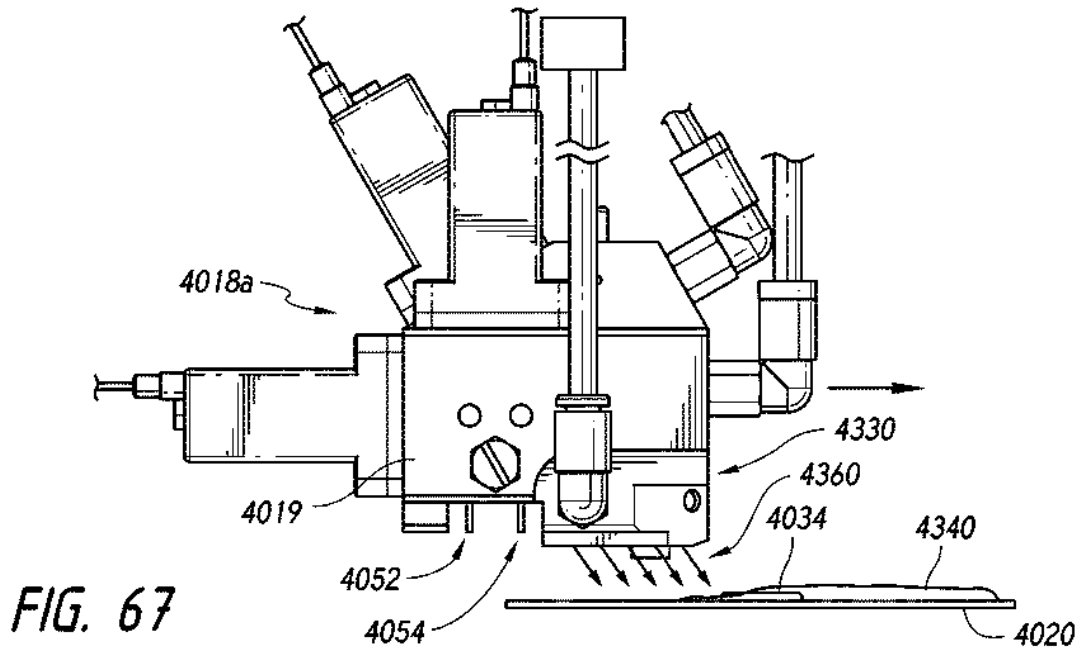
FIG. 63











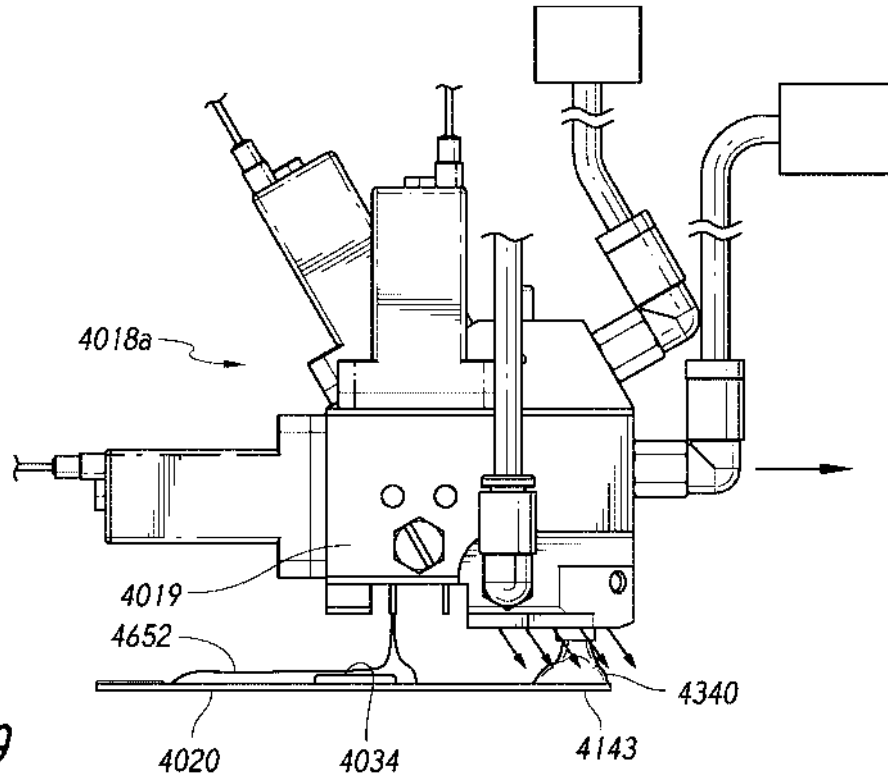


FIG. 69

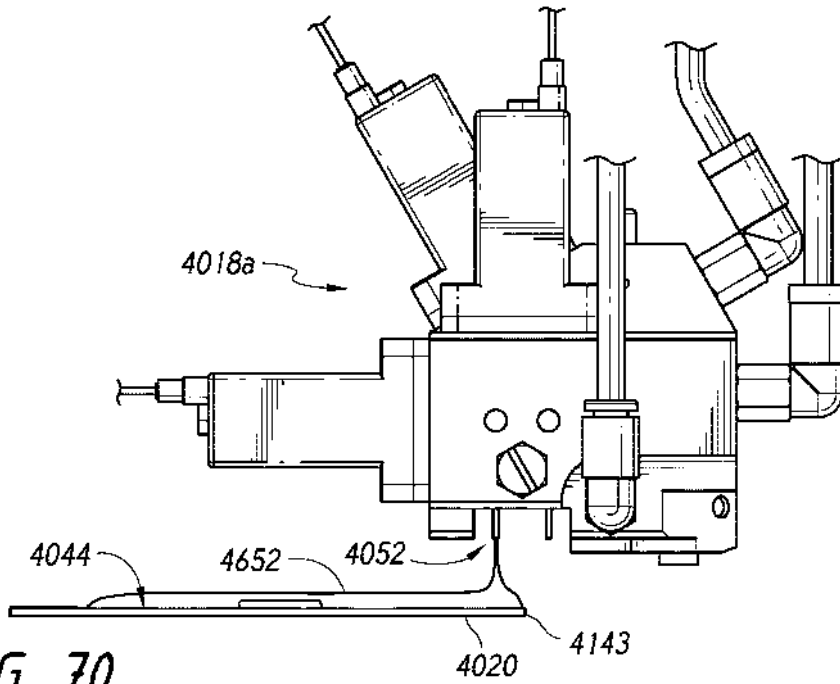


FIG. 70

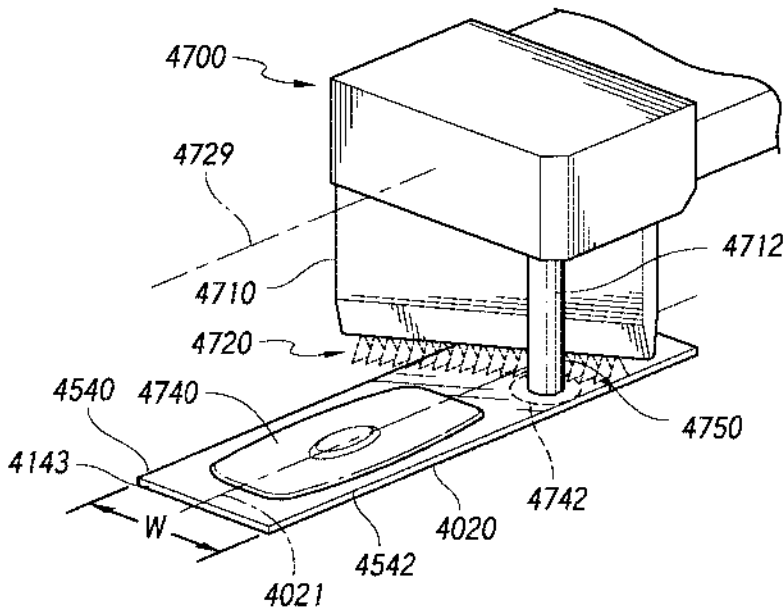


FIG. 71

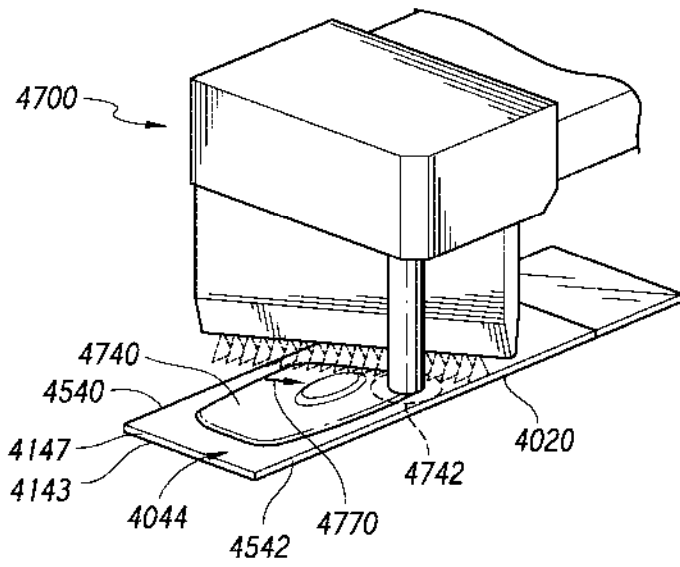


FIG. 72

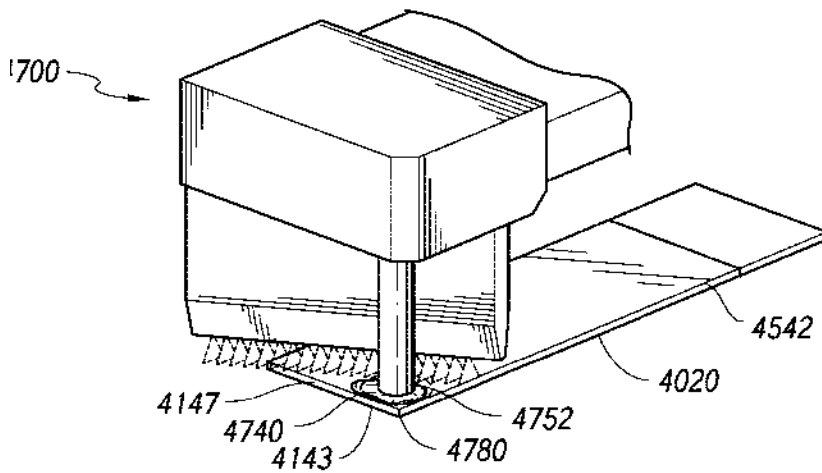


FIG. 73

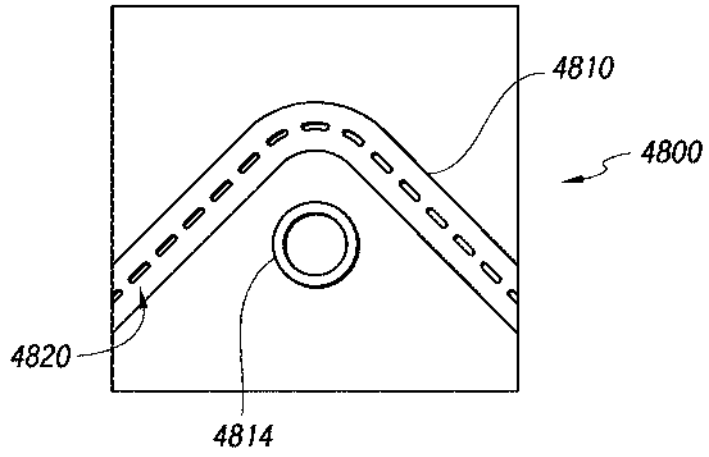


FIG. 74

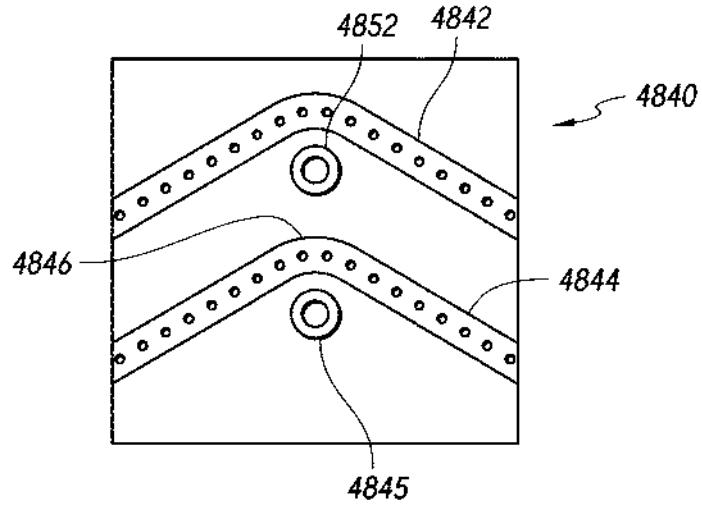
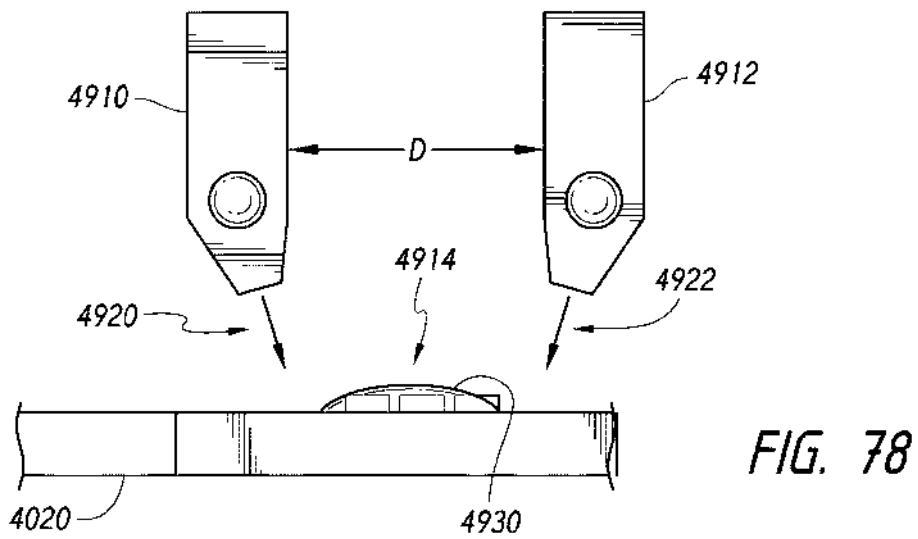
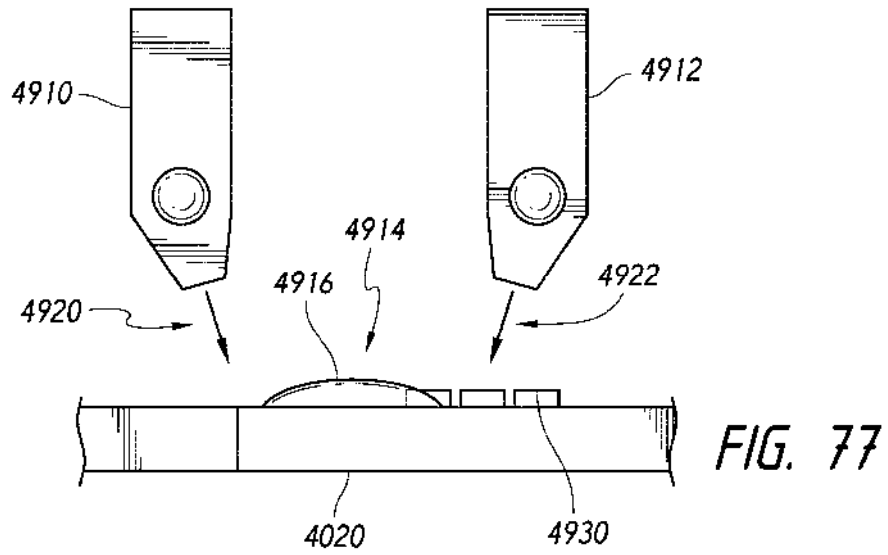
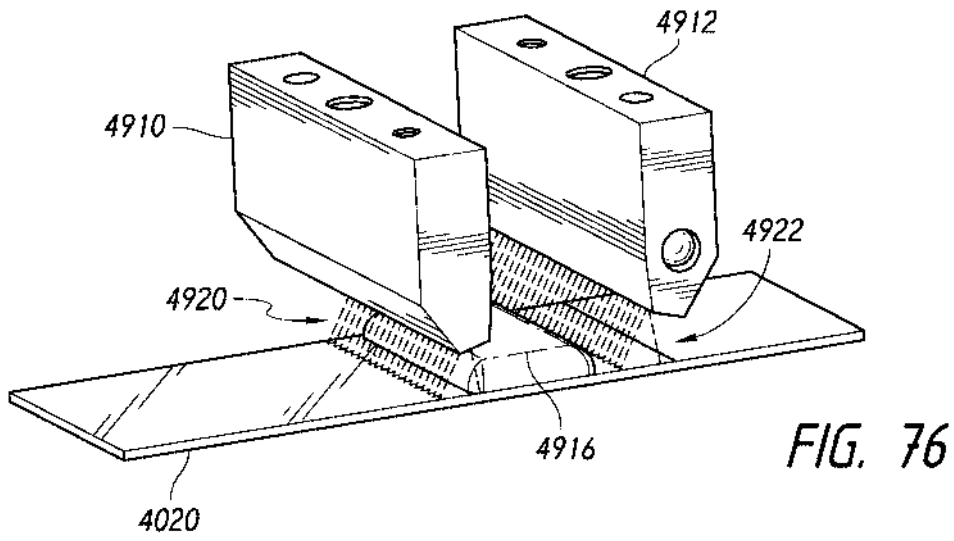


FIG. 75



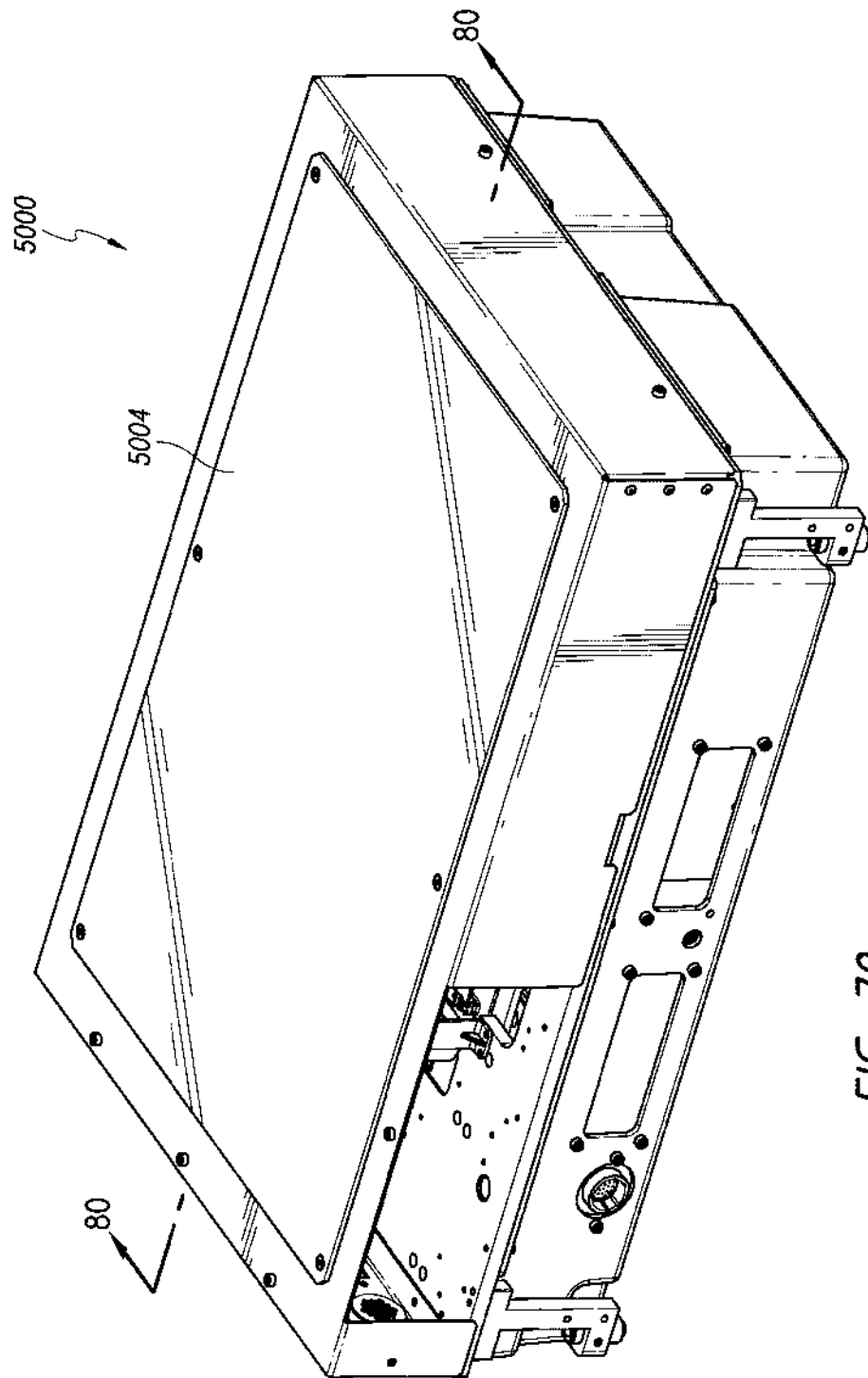


FIG. 79

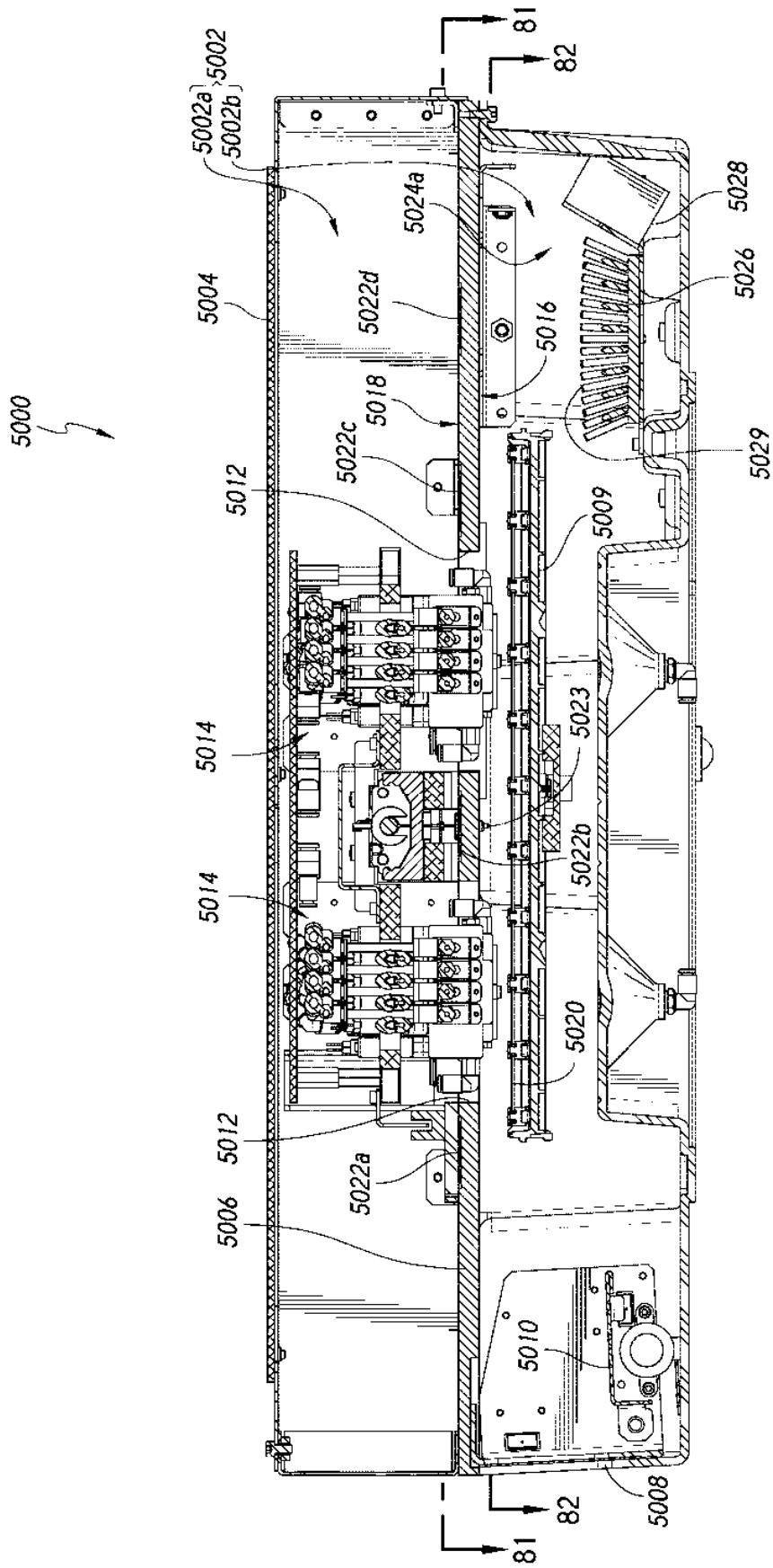


FIG. 80

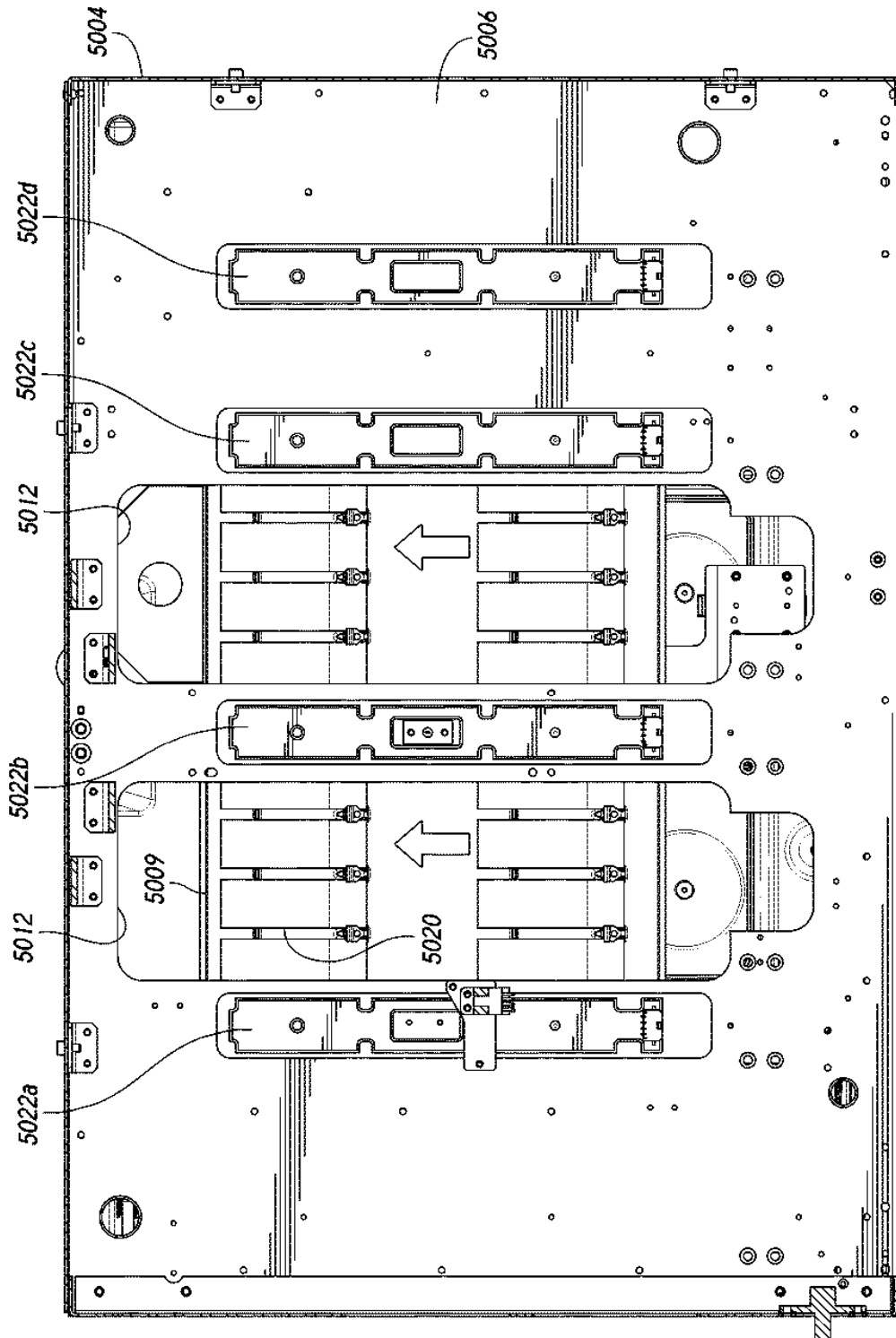


FIG. 81

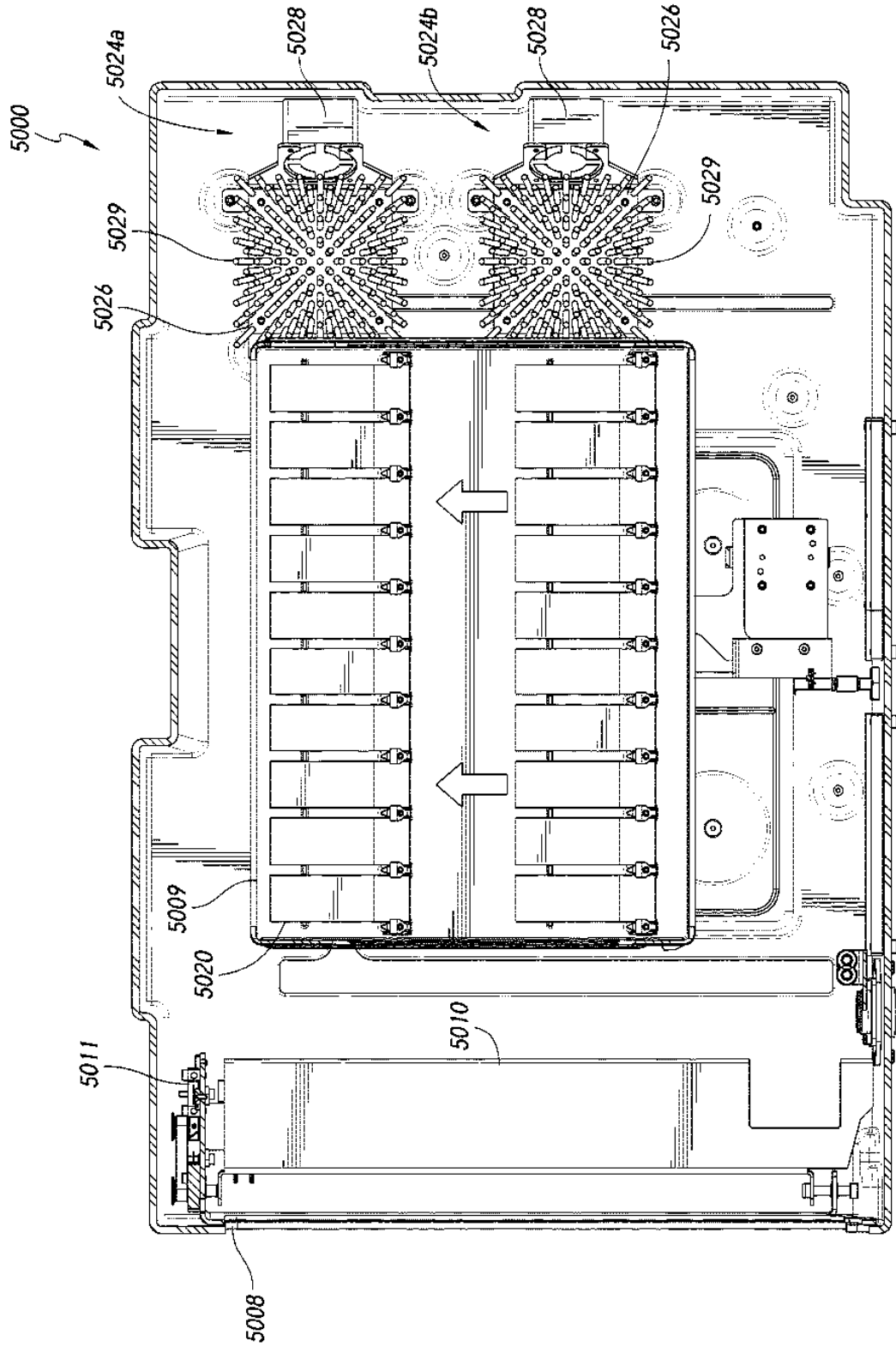


FIG. 82

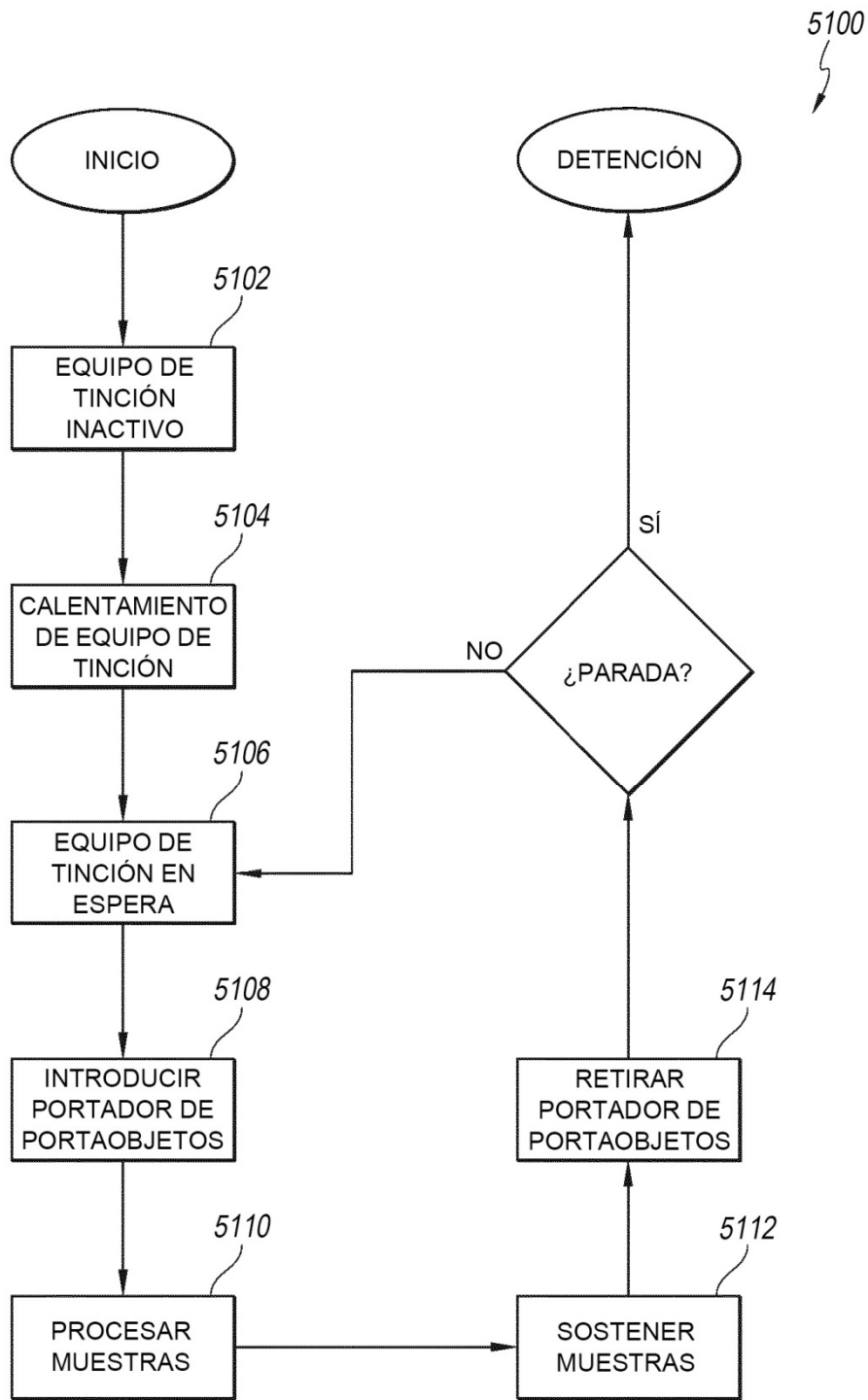


FIG. 83

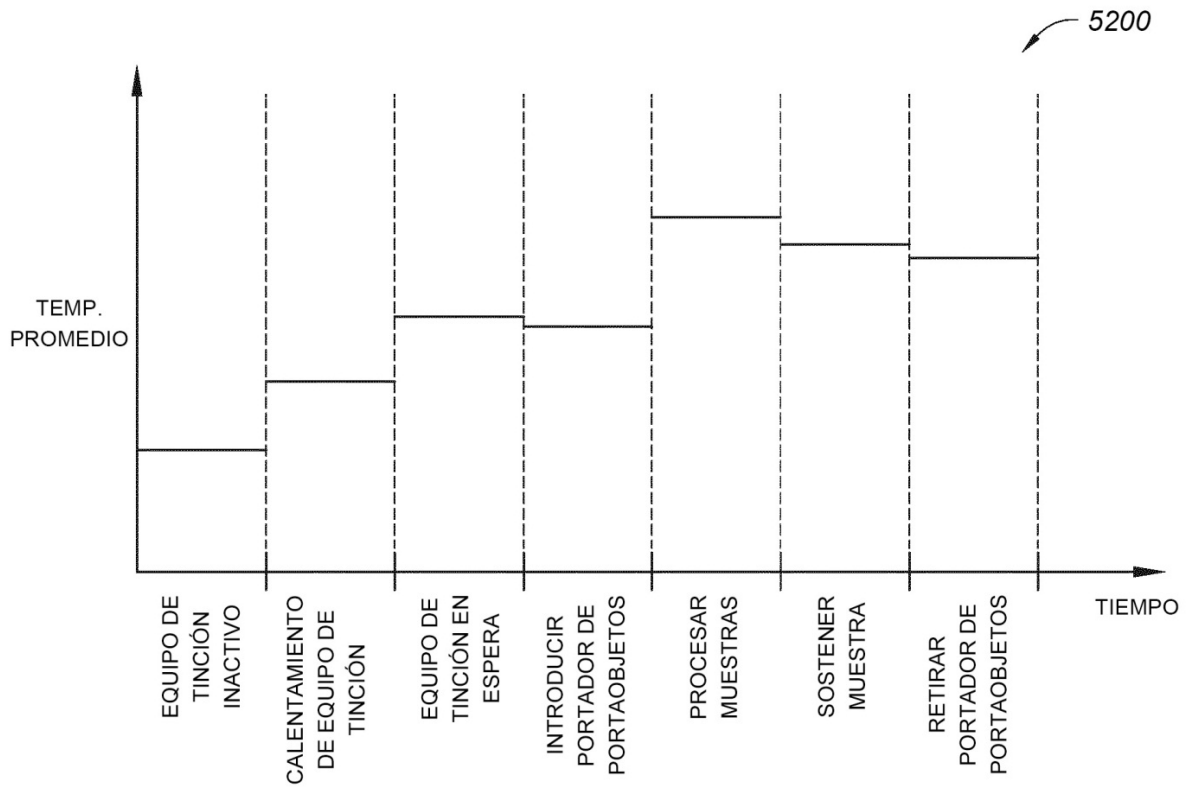


FIG. 84

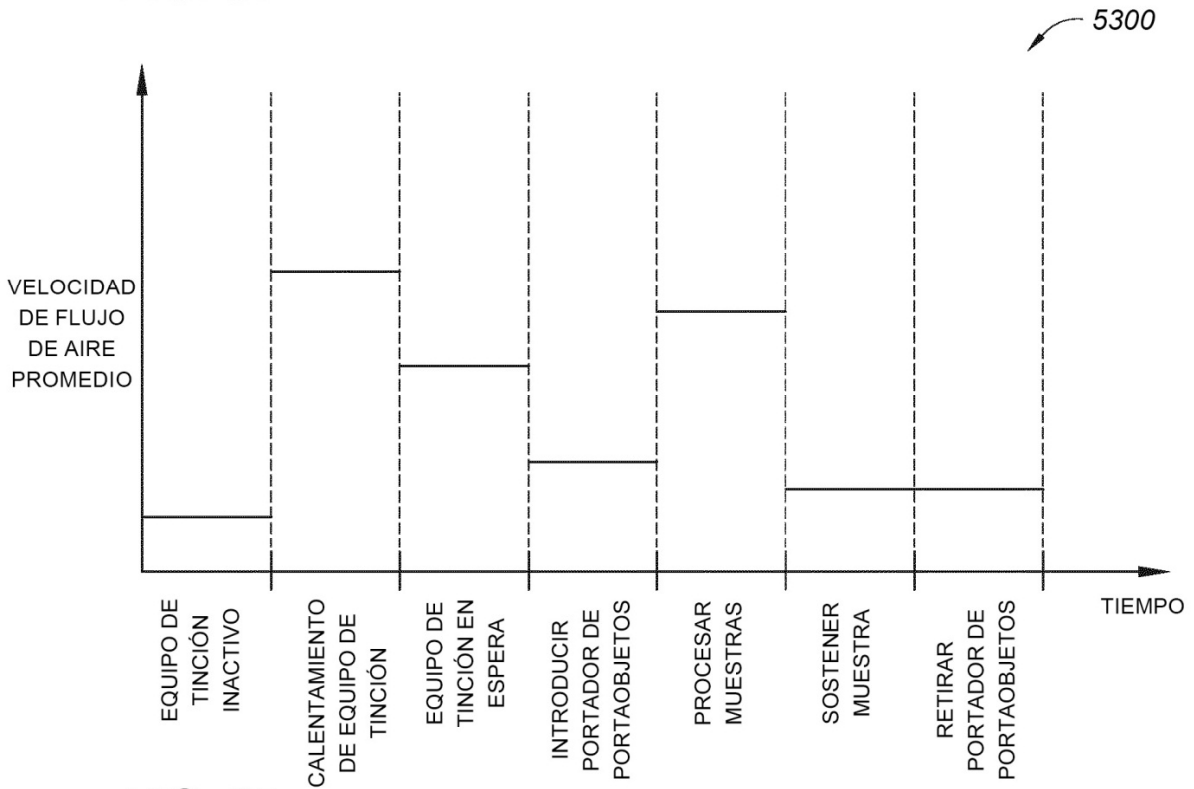


FIG. 85

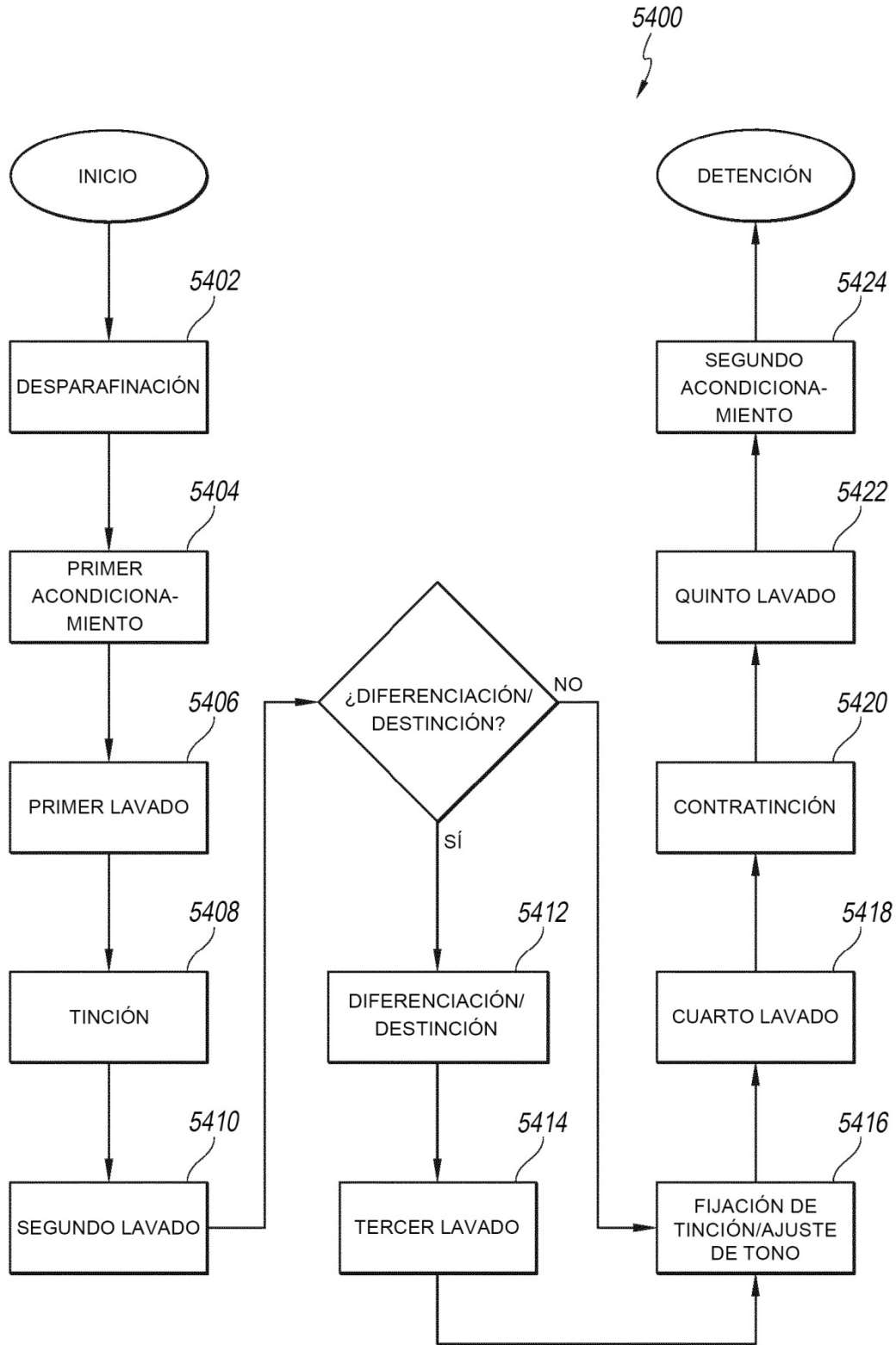


FIG. 86

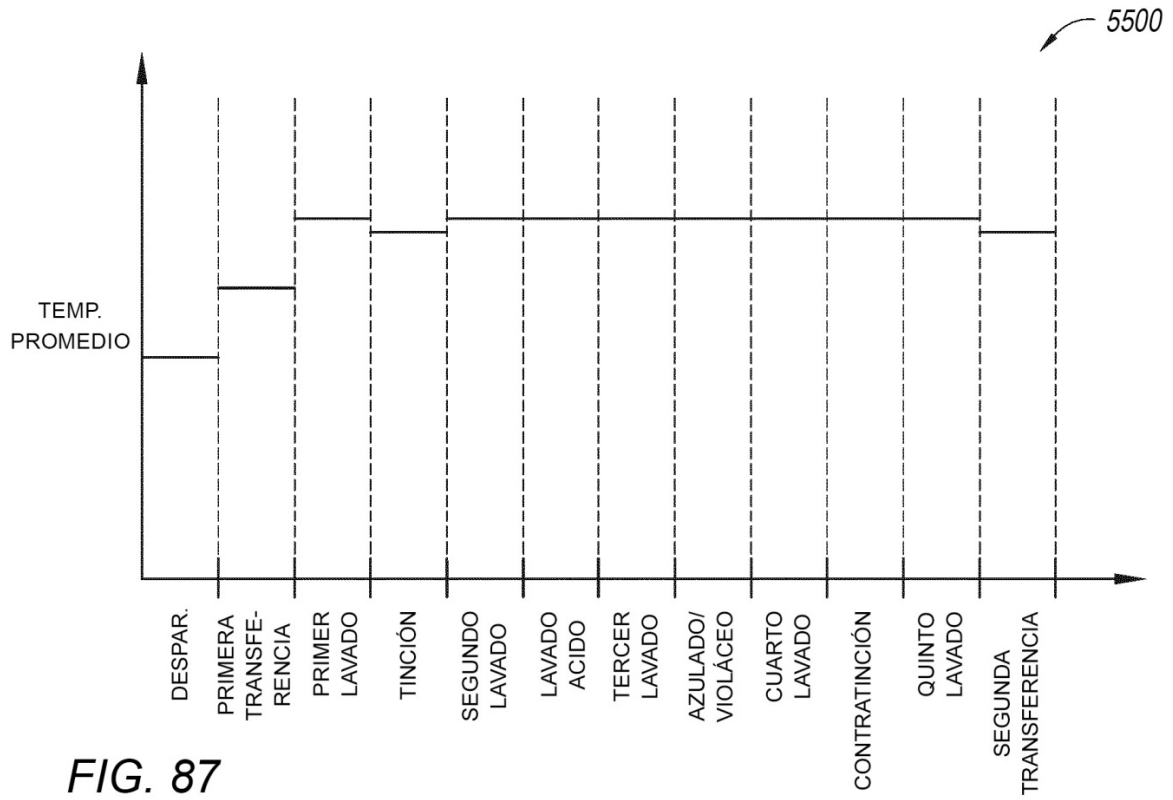


FIG. 87

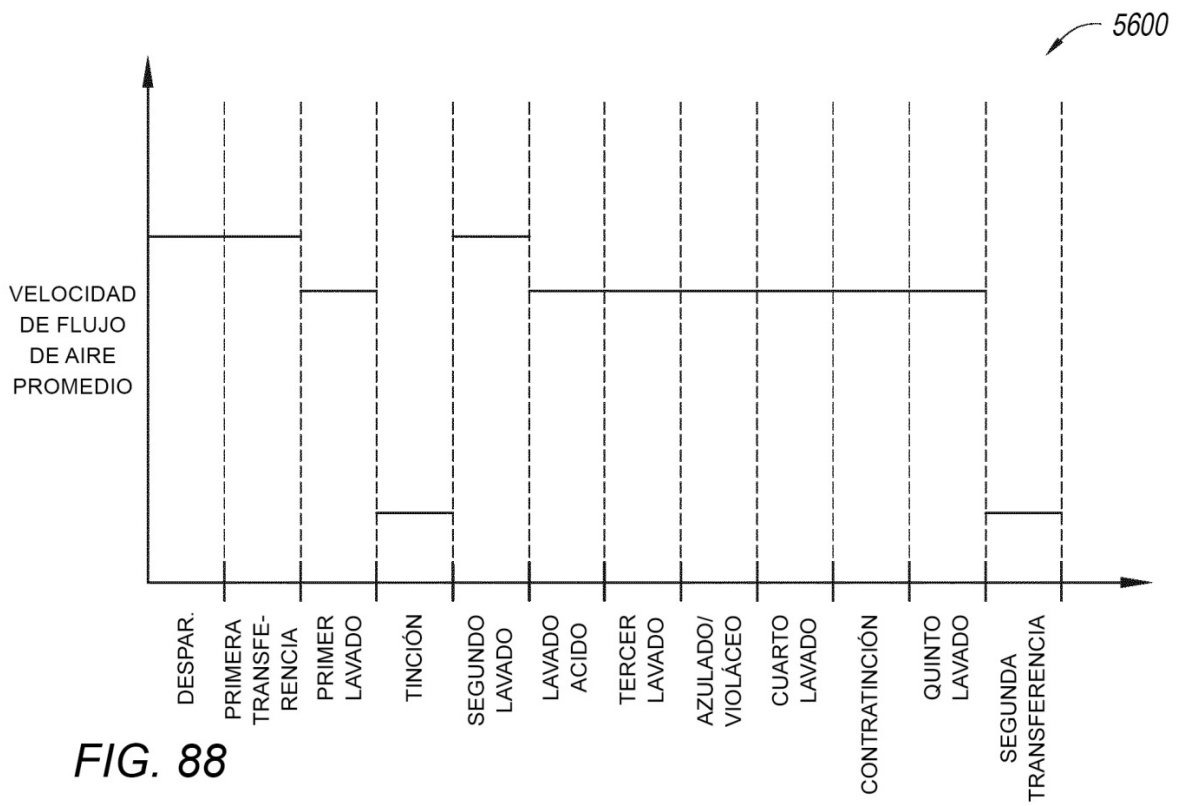


FIG. 88

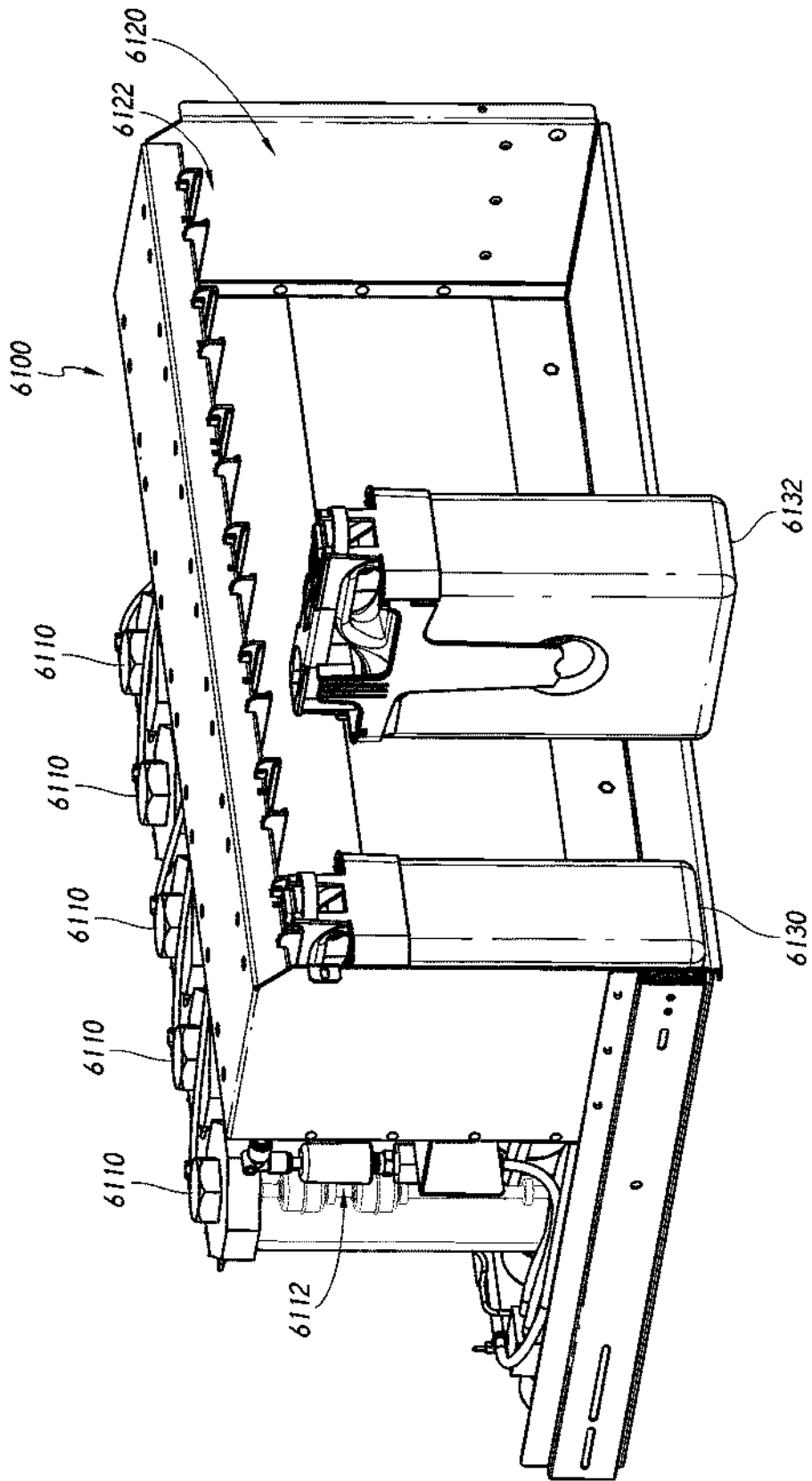


FIG. 89

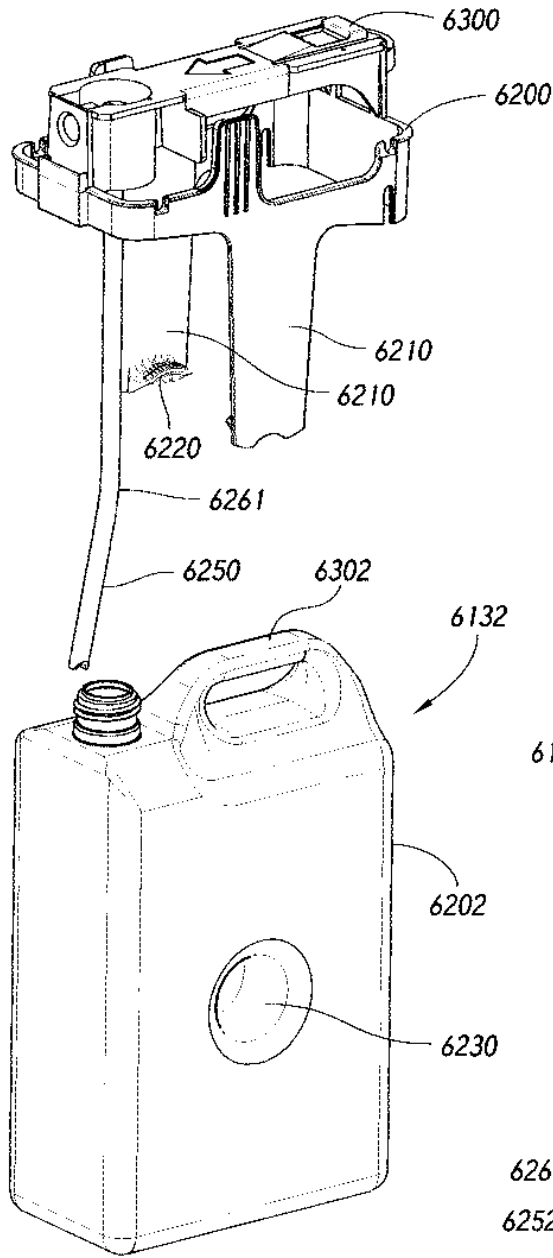


FIG. 90

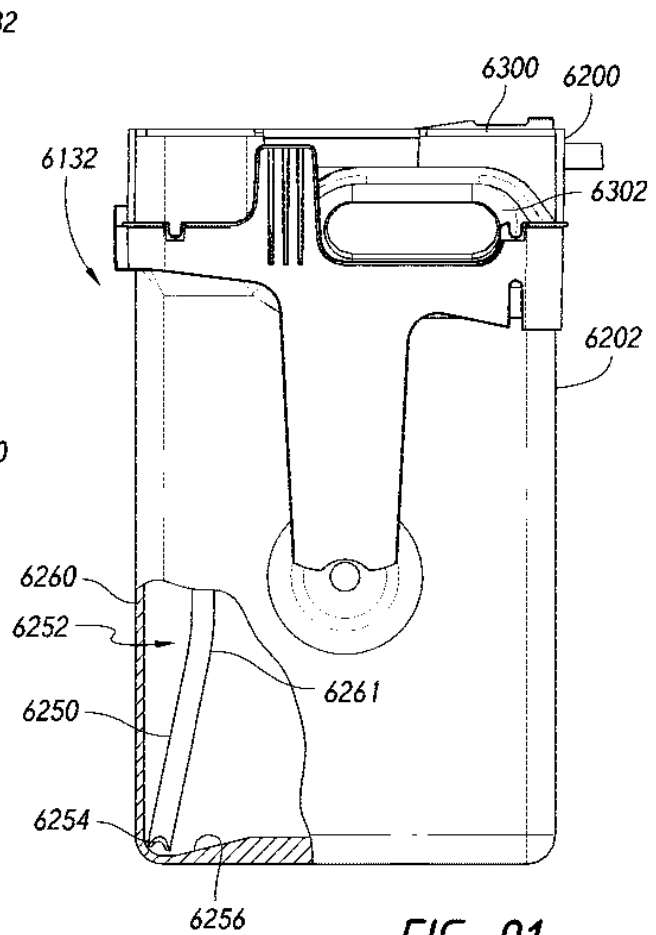


FIG. 91

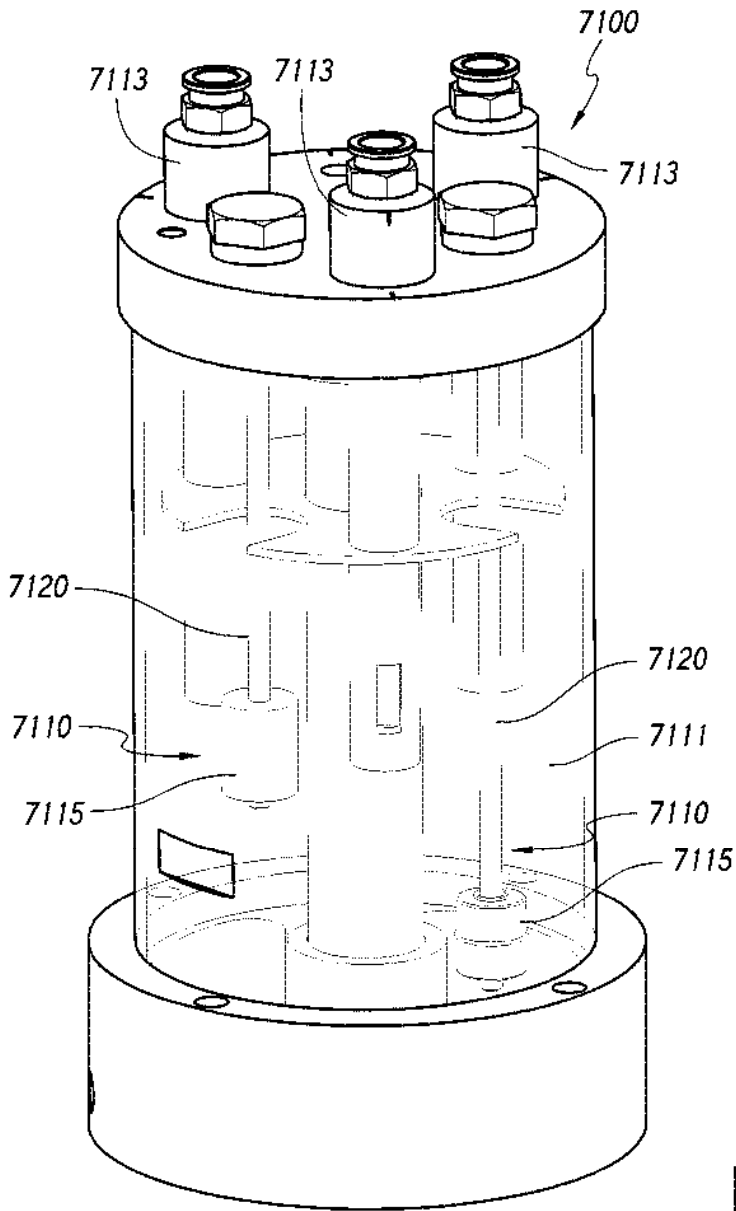


FIG. 92

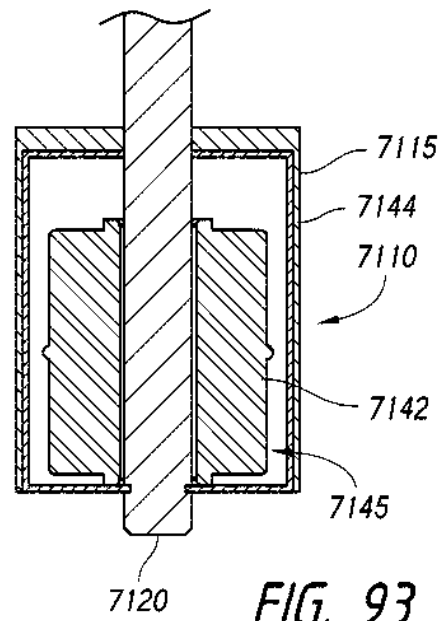


FIG. 93