

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 009 236**

51 Int. Cl.:

G01N 1/31 (2006.01)

G01N 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.05.2021** **PCT/EP2021/063957**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.12.2021** **WO21239761**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.05.2021** **E 21728887 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.01.2025** **EP 4158305**

54 Título: **Equipo y método para procesar muestras biológicas**

30 Prioridad:

27.05.2020 US 202063030427 P

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

26.03.2025

73 Titular/es:

AGILENT TECHNOLOGIES, INC. (100.00%)
5301 Stevens Creek Blvd. MS: 1A-PB
Santa Clara, CA 95051-7201, US

72 Inventor/es:

JOHANNSEN, MICHAL;
MATTHIESEN, STEEN HAUGE;
VALBJØRN, PETER y
LINDBERG, MARTIN

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 3 009 236 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

Equipo y método para procesar muestras biológicas

5 Referencia a solicitudes relacionadas

Ninguna.

Campo de la invención

10 La presente invención se refiere a un equipo y a métodos para procesar una muestra biológica en un portaobjetos utilizando un módulo de procesamiento capilar.

Antecedentes de la invención

15 El procesamiento de muestras para análisis en histología, citología, patología molecular, bioquímica, inmunología, microbiología y otros análisis químicos y biológicos, puede conllevar una o diversas etapas de procesamiento de la muestra. Las muestras pueden colocarse en portaobjetos antes de realizar algunas o todas las etapas de procesamiento deseadas. Por ejemplo, una muestra en un portaobjetos puede ponerse en contacto con uno o más reactivos para marcar un componente de la muestra y/o someterse a una reacción con un componente de la muestra. En estos campos se conoce una gran variedad de etapas de procesamiento y/o pueden desarrollarse para un análisis concreto a realizar.

20 Muchos reactivos utilizados en el procesamiento de muestras biológicas son costosos, difíciles de obtener y/o potencialmente peligrosos, por lo que es deseable reducir o minimizar la cantidad de reactivo utilizado para procesar una muestra. Para los reactivos líquidos, a menudo es deseable mantener la concentración de reactivo disuelto en el líquido pero reducir el volumen de reactivo utilizado para procesar la muestra. Para una muestra biológica en un portaobjetos, el uso de un volumen de reactivo líquido más pequeño presenta dificultades, ya que el menor volumen podría no cubrir completamente la muestra y, por lo tanto, dar lugar a un procesamiento incoherente o inadecuado de la misma.

Una forma de aumentar la cobertura de reactivo líquido de una muestra es extender el reactivo sobre el portaobjetos creando un espacio capilar entre una superficie plana del portaobjetos y una superficie opuesta. Un líquido en dicho espacio capilar tenderá a extenderse y a llenar el espacio capilar debido a las fuerzas capilares, cubriendo de este modo la superficie plana del portaobjetos y una muestra en el portaobjetos. Sin embargo, una vez que un líquido se ha extendido hasta llenar un espacio capilar, el movimiento posterior del líquido dentro del espacio capilar está restringido por las fuerzas capilares. La mezcla pasiva y la redistribución de un líquido dentro de un espacio capilar pueden ser lentas o inadecuadas. Si un reactivo disuelto en el líquido se consume por reacción o se une a una muestra montada en el portaobjetos, puede formarse una zona de baja concentración de reactivo alrededor de la muestra. A menos que el reactivo se reponga dentro de esta zona de baja concentración mediante mezclado, redistribución o intercambio del reactivo líquido en el espacio por reactivo nuevo, el consumo del reactivo por la muestra ralentizará y prolongará el tiempo necesario para llevar a cabo el procesamiento. Por otro lado, las diferencias de concentración entre la zona de baja concentración y otras zonas pueden dar lugar a un tratamiento incoherente en toda la muestra y provocar efectos no deseables, tales como gradientes de tinción.

45 Algunos inconvenientes de los equipos anteriores para procesar portaobjetos son que requieren volúmenes relativamente grandes de líquidos de procesado, que su rendimiento es inferior al del procesamiento manual, y/o que son relativamente complejos o requieren un gran número de piezas móviles. Otros inconvenientes son que no pueden calentar o enfriar rápidamente un portaobjetos y/o que permiten gradientes de temperatura alrededor del portaobjetos.

50 Larsen *et al.*, en la patente estadounidense n.º 10,018,542, describen un método y un equipo automatizado para procesar al menos una muestra biológica dispuesta en un portaobjetos. Al menos un módulo de tinción capilar tiene un soporte de rejilla de portaobjetos configurado para sostener de manera desmontable una rejilla de portaobjetos configurada para sostener portaobjetos, y un soporte de rejilla de tapa capilar configurado para sostener de manera desmontable una rejilla de tapa capilar configurada para sostener tapas capilares, en donde la rejilla de portaobjetos puede retirarse independientemente de retirar la rejilla de la tapa capilar. Una primera cámara de fluido tiene un primer fluido. El equipo está configurado para girar automáticamente el uno o más portaobjetos, y para mover las tapas hacia los portaobjetos para formar automáticamente un espacio capilar entre cada portaobjetos y cada tapa capilar, funcionando dicho espacio capilar como una cámara capilar; y suministrar al portaobjetos una cantidad del primer fluido. En el documento US 2010/028978 A1 se divulga un módulo de procesamiento capilar de acuerdo con el preámbulo de la reivindicación 1.

Sumario de la invención

65 Como un aspecto, la presente divulgación proporciona un método de acuerdo con la reivindicación 11 para procesar una muestra biológica en un portaobjetos. El método comprende la colocación de un portaobjetos en un módulo de

procesamiento capilar. El módulo de procesamiento capilar comprende una cámara que tiene un fondo de la cámara y una manivela colocada para subir y bajar una parte del portaobjetos con respecto al fondo de la cámara. El método también comprende el giro de la manivela para subir o bajar una parte del portaobjetos. Cuando el portaobjetos está en una posición hacia abajo se forma un espacio capilar entre el fondo de la cámara y el portaobjetos. Como ejemplo, la manivela puede subir o bajar un primer extremo del portaobjetos, mientras que un segundo extremo del portaobjetos permanece en el fondo de la cámara o en un soporte del portaobjetos que se extiende desde el fondo de la cámara.

Como otro aspecto, la presente divulgación proporciona un módulo de procesamiento capilar (MPC) de acuerdo con la reivindicación 1. El MPC comprende una cámara que comprende un fondo de la cámara y una o más paredes laterales de la cámara (por ejemplo, una pared lateral continua de la cámara o cuatro paredes laterales de la cámara unidas por esquinas). El MPC también comprende una manivela, que transforma el movimiento giratorio en lineal, colocada para subir y bajar una parte del portaobjetos cuando gira. La manivela puede tener una parte doblada y/o asimétrica colocada para acoplar y desacoplar el portaobjetos cuando la manivela gira. Cuando el portaobjetos está en una posición hacia abajo se forma un espacio capilar entre el fondo de la cámara y el portaobjetos.

El módulo de procesamiento capilar también puede comprender una tapa de cámara para la cámara. La tapa de cámara es móvil entre las posiciones de abertura y cierre (tal como mediante una bisagra de cámara que conecta la tapa y la cámara). El MPC también puede comprender un puerto en la tapa de cámara, un conector de puerto configurado para sellar el puerto, y un brazo de conector que tiene el conector de puerto en un extremo, donde el brazo de conector está configurado para mover el conector de puerto o fuera, o dentro y fuera del puerto. El MPC también puede incluir uno o más calefactores en la cámara y/o en la tapa de la cámara y/o uno o más dispositivos de enfriamiento (por ejemplo, un ventilador) colocados fuera de la cámara y por debajo del fondo de la cámara. El MPC puede tener también uno o más sensores de temperatura en la cámara y/o en la tapa de cámara. El módulo de procesamiento capilar puede tener un drenaje en la cámara, y una bomba en conexión fluida con el drenaje. El drenaje puede estar situado en un extremo de la cámara opuesto a la manivela. La cámara del MPC puede tener un primer y un segundo recovecos separados por su zona de procesamiento, donde el primer recoveco tiene el vástago de la manivela dispuesto en él, y el segundo recoveco tiene el drenaje dispuesto en él.

En algunas realizaciones de los presentes métodos y equipo, un primer extremo del portaobjetos se sube de modo que una superficie del portaobjetos y el fondo de la cámara forman un ángulo entre 0 grados y 15 grados o entre 0 y 11 grados o entre 0 y 2 grados. Al girar la manivela para bajar la portaobjetos se forma un espacio capilar entre el fondo de la cámara y el portaobjetos. Cuando el portaobjetos está en una posición hacia abajo o hacia arriba, puede suministrarse una cantidad de un primer fluido al fondo de la cámara, preferentemente suministrando el fluido en una entrada del módulo de tinción capilar. El primer fluido se extiende sobre una zona de procesamiento del portaobjetos por fuerzas capilares cuando el portaobjetos está en una posición hacia abajo o se mueve hacia ella. El portaobjetos puede subirse girando la manivela, y el primer fluido se extrae de la zona de procesamiento debido a la subida del portaobjetos. El método puede comprender subir y bajar reiteradamente el portaobjetos girando la manivela en una y/o en ambas direcciones, para que el primer fluido se extraiga y se extienda, tal como para mezclar el fluido o impedir el agotamiento local de un reactivo. En algunas realizaciones de los presentes métodos y equipo, el primer fluido se retira del MPC a través de un drenaje subiendo el portaobjetos girando la manivela, y accionando un mecanismo para proporcionar una succión (tal como una bomba) en el drenaje. En alguna realización, el primer fluido se retira accionando el mecanismo mientras que el portaobjetos está en la posición hacia abajo, retirando sustancialmente todo el fluido de la cámara (excepto el volumen formado por los soportes del portaobjetos y el fondo de la cámara), y después subiendo el portaobjetos girando la manivela y continuando con la succión a través del drenaje para retirar el líquido residual.

Estas y otras características y ventajas de los presentes métodos y equipo se desprenderán de la siguiente descripción detallada, junto con las reivindicaciones adjuntas.

Breve descripción de los dibujos

Las presentes enseñanzas se comprenden mejor a partir de la siguiente descripción detallada cuando se leen con las figuras de los dibujos adjuntos. Las características no están necesariamente dibujadas a escala.

Las figuras 1A a 1D proporcionan una ilustración conceptual de una realización de una manivela para su uso en los presentes métodos y equipo.

Las figuras 2A a 2D ilustran otra realización de los presentes métodos y equipo.

La figura 3 muestra una vista en perspectiva de una realización de MPC de acuerdo con la presente divulgación.

La figura 4 muestra diferentes diseños de manivela para su uso en los presentes métodos y equipo.

Las figuras 5A, 5B y 5C muestran otra realización de los presentes métodos y equipo en los que la manivela comprende una parte asimétrica.

Las figuras 6A a 6F ilustran otra realización de los presentes métodos y equipo, en particular diversos elementos de una cámara de un MPC.

Las figuras 7A, 7B y 7C ilustran otra realización de los presentes métodos y equipo en los que la manivela comprende una parte asimétrica.

Las figuras 8A, 8B y 8C ilustran una realización de un MPC que comprende un conector móvil y un puerto.

Las figuras 9A a 9C ilustran una realización de un MPC que comprende una tapa de cámara fijada a un bastidor para facilitar la abertura y el cierre automatizados de una cámara.

La figura 10 ilustra una realización de un módulo de tinción capilar que comprende un mecanismo de enfriamiento.

La figura 11 ilustra una realización de un sensor de temperatura para un módulo de procesamiento capilar.

Las figuras 12 y 13 ilustran diseños ventajosos de calefactores para las superficies superior e inferior de un módulo de procesamiento capilar.

La figura 14 es una ilustración esquemática oblicua de una realización de un equipo de tinción automatizado que comprende una pluralidad de módulos de procesamiento capilar.

Descripción detallada

Antes de describir las distintas realizaciones, debe entenderse que las enseñanzas de esta divulgación no se limitan a las realizaciones particulares descritas. A menos que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el significado comúnmente entendido por quienes trabajan en los campos a los que pertenece esta divulgación.

Como se utiliza en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas y además de su significado ordinario, los términos "aproximadamente" y "alrededor de" significan dentro de un límite o de una cantidad aceptable para un experto familiarizado con la materia. El término "alrededor de" se refiere generalmente a más o menos el 15 % del número indicado. Por ejemplo, "alrededor de 10" puede indicar un intervalo de 8,5 a 11,5. Por ejemplo, "aproximadamente iguales" significa que un experto familiarizado con la materia considera que los elementos comparados son iguales. En la presente divulgación, los intervalos numéricos incluyen los números que definen el intervalo. También se divulga cada intervalo más pequeño entre cualquier valor o valor intermedio establecido en un intervalo establecido y cualquier otro valor o valor intermedio establecido en ese intervalo establecido. Cuando un intervalo establecido incluye límites, los intervalos que excluyen alguno o ambos de los límites incluidos también se incluyen en la presente divulgación. Cualquier intervalo divulgado en el presente documento incluye todos los subintervalos entre sus extremos. Como se utiliza en el presente documento, los términos "un", "uno/a", "el" y "la", incluyen referentes tanto en singular como en plural, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por tanto, por ejemplo, "un fluido" incluye un fluido y una pluralidad de fluidos. Salvo que se indique lo contrario, los términos "primero", "segundo", "tercero", y otros números ordinales, se utilizan en el presente documento para distinguir diferentes elementos de los presentes dispositivos y métodos, y no pretenden proporcionar un límite numérico. La referencia a una primera y segunda capas, no debe interpretarse en el sentido de que el dispositivo sólo tenga dos capas. Un dispositivo que tiene un primer y segundo elementos también puede incluir un tercer, un cuarto, un quinto, y así sucesivamente, salvo que se indique lo contrario.

En general, se entiende que los dibujos y los diversos elementos representados en ellos no están dibujados a escala. Además, términos relativos, tales como "encima de", "debajo de", "parte superior", "parte inferior", "más arriba", "más abajo", "izquierda", "derecha", "vertical" y "horizontal", se utilizan para describir las relaciones entre los distintos elementos, como se ilustra en los dibujos adjuntos. Se entiende que estos términos relativos pretenden abarcar diferentes orientaciones del equipo y/o elementos, además de la orientación representada en los dibujos. Por ejemplo, si se invierte un módulo de procesamiento capilar con respecto a la vista de los dibujos, un elemento descrito como "encima de" otro elemento, por ejemplo, estaría ahora "debajo de" ese elemento. Del mismo modo, si el dispositivo girase 90 grados con respecto a la vista de los dibujos, un elemento descrito como "vertical", por ejemplo, sería ahora "horizontal".

El término "manivela" se refiere a cualquier mecanismo o dispositivo que transforma el movimiento giratorio en lineal. Una manivela comprende generalmente un vástago configurado para girar, y una parte que se desplaza en un arco más amplio que otra parte del vástago. En algunas realizaciones, la parte doblada se dobla en ángulo recto, como se ilustra en la figura 4. La parte doblada puede estar abierta o formar un bucle cerrado. La manivela puede comprender un brazo que gira o se acopla a un activador para girar. El brazo puede estar integrado en el vástago o puede ser una pieza separada fijada al vástago. La manivela puede girar directa o indirectamente, tal como cuando el brazo entra en contacto físico y se aplica una fuerza giratoria, o cuando una fuerza magnética hace girar el vástago. El giro de la manivela puede comprender un giro completo o un giro parcial, tal como sobre un arco limitado, e incluye mover el vástago hacia atrás y forzar menos que un giro completo, tal como girando aproximadamente 90° o un arco mayor o

menor. En algunas realizaciones, el vástago tiene una parte que tiene una forma transversal que es circular, elíptica, ovalada o no circular. Pueden seleccionarse apropiadamente diversas formas para su uso, tal como oblonga, poligonal, cuadrada, rectangular.

- 5 En algunas realizaciones, la manivela comprende un brazo conectado al vástago en un ángulo, tal como en ángulo recto para facilitar el giro. El vástago puede comprender una parte doblada o una parte asimétrica, tal como una curva integral intermedia en forma de U desplazada axialmente. El vástago también puede comprender extremos alineados axialmente.
- 10 La manivela normalmente comprende un rodamiento y la cámara normalmente comprende un orificio de rodamiento en una o dos paredes laterales de la cámara en lados opuestos del MPC. Los orificios de rodamiento pueden ser orificios pasantes u orificios sin salida (cerrados) y un MPC puede tener uno de cada. La manivela puede comprender uno o más muñones o partes de un vástago especialmente configurados para entrar en contacto con un rodamiento. La manivela puede comprender también uno o más rodamientos introducidos en el orificio de la cámara para proporcionar una superficie de rodamiento al muñón. En algunas realizaciones, la manivela se extiende desde una o más paredes laterales de la cámara y no se extiende a través del fondo de la cámara.

La manivela está configurada en el MPC de modo que el giro del vástago sube y baja el portaobjetos. Dado que una parte del vástago (tal como una parte doblada o asimétrica) se acopla al portaobjetos para subirlo, la parte puede tener un recubrimiento o tratamiento superficial para reducir la fricción con el portaobjetos. Como alternativa, el recubrimiento o tratamiento superficial puede aumentar la fricción o mejorar el acoplamiento, permitiendo que la manivela aplique una fuerza polarizadora al portaobjetos. En algunas realizaciones, el vástago forma un bucle cerrado, que puede ser rectangular o de otra forma.

20 Como se utiliza en el presente documento, un "portaobjetos" se refiere a cualquier portamuestras, soporte o sustrato que tiene al menos una superficie sustancialmente plana para una muestra biológica o química. Por tanto, el portaobjetos puede ser un portador, un tubo de ensayo, una microplaca, una matriz o un disco que pueda soportar al menos una muestra. Normalmente, un portaobjetos tiene una primera y una segunda superficie principal del portaobjetos.

30 Una muestra puede disponerse sobre un portaobjetos de varias maneras. En algunas realizaciones, la muestra es una muestra biológica tal como una capa o un corte de piel, tumor u otro tejido. El tejido u otra muestra puede conservarse en formaldehído o en un medio embebedor tal como la parafina. Las muestras embebidas en parafina o en otro medio embebedor, pueden someterse a etapas de tipo desparafinación, mediante la cual se elimina la parafina que recubre la muestra y/o se infiltra en ella.

El término "conducto" generalmente engloba cualquier estructura configurada para definir una trayectoria de flujo para que el fluido se desplace de un punto (por ejemplo, una entrada del conducto) a otro (por ejemplo, una salida del conducto), aunque un conducto también puede suministrar fluido a puntos intermedios. Un conducto puede ser flexible, rígido, o ambos en alguna medida o partes. Por ejemplo, un conducto puede ser un tubo largo, un accesorio corto, o un colector con múltiples entradas y/o salidas, y puede estar formado por plásticos, metales, sílice y otros materiales.

La presente divulgación se refiere a un módulo de procesamiento capilar (MPC), que también incluye un módulo de tinción capilar u otro módulo para realizar una o más etapas de procesamiento como se describe en el presente documento. Los presentes métodos y equipo generalmente hacen uso de un MPC como se describe en el presente documento. El MPC comprende una cámara para recibir un portaobjetos y realizar una o más etapas de procesamiento en el portaobjetos. La cámara puede tener cualquier forma o tamaño deseados y puede estar formada por cualquier material deseado. En algunas realizaciones, la cámara es sustancialmente rectangular con un lado más largo y otro más corto. El MPC también puede incluir una entrada de la cámara a través de la cual se introducen fluidos (tal como un líquido que comprende un reactivo) en la cámara para procesar la muestra. En algunas realizaciones, la entrada de la cámara está en el lado más largo; En algunas realizaciones, el lado más largo es aproximadamente tres veces más largo que el lado más corto. La cámara puede tener una parte superior abierta, y el MPC puede comprender una tapa de cámara que cierra la cámara. La cámara puede tener una o más regiones. En algunas realizaciones, en una primera región se sitúa una zona de procesamiento y en una segunda región se sitúa una manivela.

55 En algunas realizaciones, el módulo de procesamiento capilar está formado por metal, polímero o material compuesto. Por ejemplo, la cámara puede mecanizarse en acero inoxidable, y la zona de procesamiento puede pulirse para eliminar las huellas del mecanizado y obtener una superficie muy lisa. En algunas realizaciones, la superficie de la cámara o de la zona de procesamiento se somete después a un tratamiento de endurecimiento superficial (por ejemplo, mediante *Kolesterising*) seguido de un electropulido para eliminar los residuos del tratamiento. A continuación, la superficie puede tratarse para ofrecer resistencia a la corrosión, al desgaste, inercia química y propiedades antiadherentes. Preferentemente, el MPC tiene una dureza suficiente para resistir los arañazos, ya que muchos portaobjetos de vidrio tienen una dureza muy elevada y bordes afilados, y también pueden resistir la acumulación de residuos de tinción en la superficie inferior.

65 En algunas realizaciones, el MPC está fabricado con una aleación de acero inoxidable (tal como SMO254) tratada

mediante endurecimiento superficial, tal como Kolsterising, para resistir a los arañazos. En algunas realizaciones, una superficie del MPC comprende un recubrimiento inerte, resistente a la corrosión, tal como una barrera de silicio amorfo, oxígeno y carbono. El recubrimiento puede seleccionarse para proporcionar uno o más de resistencia a la corrosión y al desgaste, inercia química y propiedades antiadherentes. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el recubrimiento puede ser un recubrimiento inerte, resistente a la corrosión tal como Dursan. Dichos recubrimientos pueden impedir o reducir los residuos que quedan en la superficie inferior del MPC, tales como residuos de tejido y de tinción. El recubrimiento puede aplicarse a la superficie del MPC mediante cualquier técnica adecuada, tal como por deposición química de vapor (DQV).

Como se utiliza en el presente documento, automatizado se define como una pluralidad de etapas que se ejecutan por medios sustancialmente mecánicos, informáticos y/o electrónicos, aunque no excluye algunas etapas de intervención humana tales como sustituir manualmente una de las características o etapas descritas. Como se utiliza en el presente documento, un equipo de procesamiento de muestras automatizado también se refiere a un equipo de tinción automatizado u otro equipo automatizado que realice una o más etapas de procesamiento de muestras.

En algunas realizaciones, un portaobjetos se introduce de forma automática en el MPC para su procesamiento y después, una vez que se han realizado una o más etapas de procesamiento en el MPC, se retira del mismo. La introducción y/o retirada del portaobjetos puede realizarse, por ejemplo, con un asa de portaobjetos en un brazo robótico, por lo que los presentes métodos y equipo pueden comprender además un sistema automatizado para el movimiento de un portaobjetos individual. La subida del portaobjetos hasta un ángulo (por ejemplo, un ángulo fijo de 11°) con la manivela del MPC, permite la retirada automatizada del portaobjetos por el asa del portaobjetos sin que las tolerancias mecánicas del asa o del brazo robótico del portaobjetos hagan inviable o impracticable la retirada del portaobjetos.

En algunas realizaciones, los presentes métodos y equipo son ventajosos por su capacidad de manipulación de portaobjetos. La cámara puede abrirse para recibir un portaobjetos y cerrarse una vez introducido éste. La cámara proporciona hueco (es decir, el recoveco) para alojar un asa que sujeta un portaobjetos en su etiqueta de extremo a medida que el portaobjetos se introduce en la cámara. El MPC también produce agitación para presentar el portaobjetos, y tiene características para forzar el portaobjetos a una posición deseada dentro de la cámara, tal como uno o más agarradores en las direcciones X, Y y/o Z. Girando la manivela, el portaobjetos puede inclinarse en dirección Y hacia un extremo de la cámara. El MPC puede tener uno o más pasadores de guía para inclinar el portaobjetos en la dirección X. En algunas realizaciones, se incluyen puntos de aprendizaje de cámara para facilitar la automatización y el aprendizaje automático.

Los presentes métodos y equipo pueden emplear una manivela colocada en un MPC para subir y bajar un portaobjetos o una parte de este. La manivela puede tener cualquier diseño adecuado para transformar el movimiento desde una dimensión o dirección a otra, transformando así el movimiento giratorio en movimiento lineal. La manivela puede estar configurada para transformar el movimiento giratorio en movimiento lineal en una dirección sustancialmente perpendicular a una superficie principal de un portaobjetos. Las figuras 1A a 1D proporcionan una ilustración conceptual de cómo puede configurarse una manivela para subir y bajar un portaobjetos 102. La manivela comprende un vástago 106 que está configurado para girar sobre el eje 107 de modo que la parte doblada 108 acople o desacople el portaobjetos 102. Las figuras 1A y 1C proporcionan vistas desde un borde largo del portaobjetos 102, y las figuras 1B y 1D son desde un borde corto del portaobjetos 102. Las figuras 1A y 1B muestran un portaobjetos 102 en una posición hacia abajo con respecto al fondo 104 de la cámara de un MPC. En las figuras 1C y 1D, el portaobjetos 102 se sube con respecto al fondo 104 de la cámara de un MPC mediante el giro del vástago 106. El vástago 106 comprende una parte doblada 108 que acopla el portaobjetos 102 para subirlo. El vástago 106 está configurado para girar alrededor de un eje que se extiende horizontalmente en el plano de la figura. En la figura 1D, el vástago 106 se ha girado aproximadamente 180° o media vuelta, de modo que la parte doblada 108 quede por encima del fondo 104 de la cámara y acople o suba el portaobjetos 102. El giro también puede controlar la inclinación en la dirección x (el lado largo) mediante las paredes laterales verticales de la manivela. Como se muestra en la figura 1B, la parte doblada puede disponerse en el recoveco 109 del MPC en el que la parte doblada 108 puede extenderse por debajo del plano del fondo 104 de la cámara y/o del eje de giro del vástago 106. El fondo 104 de la cámara está separado del fondo 109 con recoveco por un fondo 111 inclinado.

Las figuras 1A y 1C ilustran también cómo puede formarse y romperse un espacio capilar entre el portaobjetos 102 y el fondo 104 de la cámara. En la figura 1A, hay un espacio capilar, que tiene una altura definida por la altura de los soportes 117 y 118 del portaobjetos sobre los que se apoya el portaobjetos 102 cuando está en la posición hacia abajo. Como se utiliza en el presente documento, un espacio capilar es una distancia entre dos superficies que es suficiente para permitir la acción capilar entre las superficies. La acción capilar (también denominada efecto o mecha capilar) es el flujo o movimiento de líquido en espacios estrechos debido a fuerzas intermoleculares entre el líquido y las superficies sólidas. En algunas realizaciones, el MPC está configurado para proporcionar un espacio capilar de aproximadamente 0,01 mm a aproximadamente 0,3 mm, como alternativa de aproximadamente 0,07 mm a aproximadamente 0,1 mm, entre un fondo de la cámara y un portaobjetos en la posición de bajada, y/o para proporcionar un volumen de espacio capilar de aproximadamente 10 µl a aproximadamente 300 µl, como alternativa de aproximadamente 80 µl a aproximadamente 100 µl. La muestra fijada al portaobjetos está orientada hacia abajo y el espacio capilar está definido por el portaobjetos y la geometría del MPC. Más particularmente, la muestra está fijada

a una primera superficie principal del portaobjetos, y el método comprende introducir el portaobjetos en la cámara de tal manera que la primera superficie principal del portaobjetos que tiene la muestra, esté orientada hacia el fondo de la cámara. La forma del portaobjetos, la geometría del MPC, las propiedades de la superficie del material, la velocidad de subida del portaobjetos, el ángulo del portaobjetos y las propiedades del fluido o fluidos aplicados, son factores que controlan el comportamiento de los fluidos aplicados a la muestra en el MPC. En la figura 1C, el portaobjetos 102 está en una posición hacia arriba y no hay espacio capilar, ya que se ha roto al accionar la manivela para subir el portaobjetos 102 y aumentar su distancia del fondo 104 de la cámara. El portaobjetos 102 no entra en contacto con el soporte 118 del portaobjetos, aunque puede permanecer en contacto con el soporte 117 del portaobjetos o puede entrar en contacto con el fondo 104 de la cámara u otra parte de la cámara tal como una pared posterior. La rotura del espacio capilar, al tiempo que se mantiene el control del fluido de procesado y pudiendo regenerar el espacio capilar, son una ventaja sustancial. Además, el uso de la manivela para subir y bajar un portaobjetos después de aplicar un líquido, permite mezclar un reactivo y pueden usarse pequeños volúmenes de reactivo líquido, tales como de 50 a 150 μ l, sin agotamiento local del reactivo. El portaobjetos puede subirse a una altura y/o a un ángulo específicos, y a una velocidad de manera controlada, de tal manera que la mezcla del reactivo en el fluido y el tampón aplicados, puede realizarse con pequeños volúmenes de reactivo, tal como de 90 μ l, así como con volúmenes más grandes de tampón, tal como de 2000 μ l. La eficacia del lavado aumenta cuando la mezcla puede realizarse durante las etapas de lavado del protocolo de tinción.

Las figuras 2A a 2D ilustran otra realización de los presentes métodos y equipo, donde la parte doblada 128 tiene una anchura mayor que la anchura del portaobjetos 122 y donde el eje de giro está por encima del portaobjetos 122. De esta manera, la manivela está configurada para recibir o sujetar el portaobjetos 122 dentro de su parte doblada 128. Con esta disposición, el MPC puede subir o bajar el portaobjetos 122 sobre una gama más amplia de ángulos.

La figura 3 muestra una vista en perspectiva de un MPC 140 de acuerdo con la presente divulgación. El MPC tiene una carcasa 141 y una tapa 143, y cuando la tapa 143 está en una posición de bajada, se forma una cámara cerrada. El vástago 146 se extiende a través de un orificio de rodamiento en la cámara definida por el fondo 144 de la cámara de la carcasa 141 y la tapa 143. La carcasa 141 tiene un recoveco 149 para alojar la parte doblada 148 de la manivela cuando está en una posición de bajada, en la que el vástago 146 puede girarse hasta que la parte doblada 148 se disponga en el recoveco 149 y no se extienda por encima del fondo 144 de la cámara. El vástago 146 se apoya en orificios de rodamiento en los rodamientos 151, 152 que permiten el giro. La carcasa 141 tiene un fondo 153 inclinado que va desde el fondo 144 de la cámara al recoveco 149.

El uso de una manivela proporciona una ventaja que no resulta evidente a primera vista, ya que facilita la creación de una cámara sellada o cerrada al entorno ambiental. El presente equipo evita el uso de un mecanismo de elevación o de una línea eléctrica que atraviese o se desplace en la cámara del MPC desde el entorno exterior. Tampoco requiere que la fuente de energía que proporciona la fuerza de elevación esté situada dentro de la cámara del MPC ni que se utilicen fuerzas magnéticas para impulsar el movimiento. Si un mecanismo atraviesa la parte inferior del MPC, entonces tiene que estar bien sellado para evitar fugas y posibles daños de la cámara. Además, pueden caer residuos de vidrio, suciedad y líquidos en un mecanismo de elevación situado en el fondo y provocar daños. El presente equipo, con su manivela situada en una pared lateral de la cámara, evita estas cuestiones. El presente equipo emplea un giro mecánico relativamente sencillo para controlar la subida de un portaobjetos hasta una altura deseada en el MPC. Al utilizar fuerzas tangenciales, el portaobjetos puede moverse activamente de tal manera que se incline o no, en función del diseño y de la dirección de giro. El presente equipo también reduce o evita las exigencias de alta precisión a la hora de introducir los portaobjetos en una posición de procesamiento por un robot, ya que la manivela y la(s) pared(es) del MPC hacen que el portaobjetos se incline hacia la posición deseada para el procesamiento.

La figura 4 muestra un diseño diferente para su uso en los presentes métodos y equipo. La manivela comprende dos protuberancias 154, 155 entre el vástago 156 y la parte doblada 158. Las protuberancias 154, 155 están separadas a una distancia que permite que un portaobjetos (más específicamente, el lado corto de un portaobjetos) quepa entre ellas. Este diseño proporciona control adicional de un movimiento del portaobjetos en una dirección X cuando la manivela sube el portaobjetos.

Las figuras 5A, 5B y 5C muestran otra realización de los presentes métodos y equipo. El portaobjetos 202 se sube y baja con una manivela situada en el MPC. La manivela comprende una parte asimétrica 208 que se acopla al portaobjetos 202. Una parte asimétrica 208 puede hacerse cortando u omitiendo una parte del vástago 206. En algunas realizaciones, un vástago tiene una parte asimétrica que se acopla al portaobjetos, tal como un vástago elíptico, ovalado o excéntrico. El vástago 206 se apoya en el rodamiento 211 en una pared lateral 205 de una cámara 201. La cámara 201 está cerrada por una tapa 212 de la cámara, formando un espacio aislado para procesar el portaobjetos 202. El vástago 206 está configurado para que, incluso cuando el portaobjetos 202 está en su posición más elevada, el portaobjetos 202 no entre físicamente en contacto con la tapa 212 de la cámara. Un calefactor 213 está en contacto térmico con la tapa 212 de la cámara. Como se muestra en la figura 5A, el calefactor 213 es una placa que cubre sustancialmente toda la zona de un primer lado de la tapa 212 de la cámara. También pueden proporcionarse calefactores en el fondo 201 de la cámara. El calefactor 213 puede proporcionar calor sustancialmente uniforme a la tapa 212 de la cámara y a la cámara 201. La cámara 201 tiene un fondo 204 de la cámara, y cuando el vástago 206 y la parte asimétrica 208 giran de modo que el portaobjetos 202 está en una posición de bajada (como se ilustra en general en la figura 5A), el portaobjetos 202 y el fondo de la cámara están separados por un espacio pequeño. El

espacio puede proporcionarse mediante uno o más postes de soporte que se extienden desde el fondo 204 de la cámara que sostienen el portaobjetos a una pequeña distancia por encima del fondo 204 de la cámara. La cámara 201 también puede comprender un fondo inclinado 214 que se extiende desde el fondo 204 de la cámara hasta un fondo con recoveco 215 en la dirección del vástago 206, de modo que la cámara 201 tiene un recoveco 216 que puede alojar el vástago 206 o una parte del mismo. La pared lateral 205 se une al fondo 204 de la cámara en una esquina 218 curva que tiene una curvatura. Otras superficies de la cámara 201 también pueden unirse a la pared lateral 205 en una esquina 219 curva que puede tener una curvatura u otras características diferentes a la de la esquina 218. Las esquinas curvadas facilitan la retirada completa de los fluidos de procesamiento de la cámara 201. En algunas realizaciones, el MPC puede tener una o más paredes laterales de la cámara unidas al fondo de la cámara por una esquina curvada que tiene un radio de curvatura de aproximadamente 0,5 mm a aproximadamente 5 mm.

La figura 5C muestra una sección transversal de la manivela donde una parte 208 asimétrica está entre los rodamientos 211, 221. La manivela incluye un extremo de accionamiento 222 que tiene uno o más elementos para acoplar un accionamiento que hace girar la manivela. El extremo de accionamiento 222 se acopla al engranaje 223, que puede girar mediante una cadena de transmisión 224 u otro mecanismo de accionamiento. El extremo de accionamiento 222 y el engranaje 223 pueden tener características recíprocas o estar sujetos de otra manera. Para garantizar que no se pierda calor o fluido de la cámara y que se mantengan los niveles de humedad deseados, entre el engranaje 223 y el extremo de accionamiento 222 se colocan resortes 225 de compresión de manera que se aplique una fuerza adecuada (por ejemplo, de aproximadamente 2,6 N), sellando de este modo la cámara 201 de un entorno circundante.

Los presentes métodos y equipo son ventajosos ya que proporcionan una zona de tinción definida en función de la posición del portaobjetos y de la posición del líquido dentro de la cámara. La zona de tinción también puede definirse en parte por una rampa, un borde del portaobjetos y/o una etiqueta en el portaobjetos.

Las figuras 6A a 6F ilustran otra realización de los presentes métodos y equipo, en particular diversos elementos de una cámara 301 de un MPC. El portaobjetos 302 se coloca en una cámara 301 que comprende un fondo 304 de la cámara y un fondo inclinado 314. Los postes de soporte 317, 318 sostienen el portaobjetos 302 a una pequeña distancia por encima del fondo 304 de la cámara. La cámara 301 define un hueco de portaobjetos capaz de recibir un portaobjetos 302. El hueco del portaobjetos tiene una zona definida por la longitud (*length*) de la cámara L_c y la anchura (*width*) de la cámara W_c . En algunas realizaciones, la L_c es de aproximadamente 74 mm a aproximadamente 106 mm (por ejemplo, de aproximadamente 90 mm), y la W_c es de aproximadamente 24 mm a aproximadamente 36 mm (por ejemplo, de aproximadamente 30 mm). La cámara 302 también puede definir una zona (*area*) de procesamiento A_p definida por la longitud de procesamiento L_p y la anchura de procesamiento W_p , que es la zona cubierta por un fluido de procesamiento extendido por fuerza capilar entre el portaobjetos 302 y el fondo 304 de la cámara. En algunas realizaciones, la L_p es de aproximadamente 42 mm a aproximadamente 54 mm (por ejemplo, de aproximadamente 48 mm), y la W_p es de aproximadamente 26 mm a aproximadamente 32 mm (por ejemplo, de 29 mm); y/o la A_p es de aproximadamente 1000 mm² a aproximadamente 1800 mm² (por ejemplo, de aproximadamente 1400 mm²). La anchura de procesamiento W_p es sustancialmente igual que la anchura del portaobjetos (*slide width*) W_s , ya que el espacio capilar está definido por la superficie del portaobjetos. La longitud de procesamiento L_p se define por la longitud del fondo 304 de la cámara, ya que el fondo inclinado 314 rompe el espacio capilar.

Los presentes métodos y equipo también tienen excelentes capacidades y características de dispensación de líquidos, de tal manera que tiene un puerto que permite añadir líquido a la cámara sin tener que abrir la tapa de la cámara. El MPC puede tener una o más entradas, que están configuradas para alojar la posición de la punta de un dispensador tal como una pipeta, incluidas las tolerancias del dispensador. Las entradas pueden configurarse para impedir que el líquido quede atrapado, y para ponerse en contacto con el espacio capilar formado por el portaobjetos y el fondo de la cámara. En algunas realizaciones, la entrada tiene una zona redondeada y/o tiene un volumen por debajo de un portaobjetos presente en la cámara. En algunas realizaciones, las características para dispensar líquido incluyen una o más aberturas en el fondo de la cámara o en un lateral de la cámara que pueden ponerse en contacto con un conducto que suministre líquido desde el exterior, tal como un tampón de lavado. Por ejemplo, dichas aberturas pueden estar situadas en la zona del depósito de humedad o en otra zona del fondo de la cámara. El MPC permite dispensar más rápidamente un líquido en una zona de procesamiento. El MPC está configurado para proporcionar un espacio capilar entre el portaobjetos y el fondo de la cámara, más específicamente en una zona de procesamiento plana. Por ejemplo, el MPC puede tener 3 elevaciones (o una cantidad diferente de elevaciones) que se extienden desde el fondo de la cámara, en donde el portaobjetos se apoya sobre las elevaciones. La altura de las elevaciones establece la altura del espacio capilar. En el MPC pueden incluirse otras características que faciliten el uso de las fuerzas capilares para distribuir el fluido en la zona de procesamiento de la cámara. En algunas realizaciones, se incluyen puntos de aprendizaje de pipeta para facilitar la automatización y el aprendizaje automático.

La figura 6B es una vista transversal a lo largo de la línea indicada en la figura 6A, e ilustra como puede dispensarse un fluido de procesamiento en el portaobjetos 302, que está en una posición hacia arriba. El portaobjetos 302 puede subirse con una manivela como se describe en el presente documento o con otro mecanismo. En la entrada de la cámara 322 se introduce un dispensador 320 de fluido. En algunas realizaciones, el fluido se dispensa cuando el portaobjetos está en una posición hacia arriba, o mientras el portaobjetos se está bajando desde una posición hacia arriba. En la figura 6A, la entrada 322 de la cámara está situada a lo largo del lado largo de la cámara 301, aunque

puede situarse en un lado corto, adicionalmente o en lugar del lado largo. El fluido puede dispensarse cuando el portaobjetos está en posición de bajada, y el fluido se drenará de la entrada por fuerzas capilares durante la dispensación. Si se dispensa fluido cuando el portaobjetos está subido, entonces el portaobjetos se baja después de la dispensación para extender el fluido sobre la zona de procesamiento. Antes o después de dispensar un fluido, el portaobjetos 302 puede subirse a una altura o a un ángulo suficiente para evitar o romper las fuerzas capilares entre el portaobjetos 302 y el fondo 304 de la cámara. Parte del fluido del dispensador 320 puede permanecer en la entrada 322 pero una parte es parcialmente forzada a salir por debajo del portaobjetos 302 por la presión del dispensador. Cuando el portaobjetos 302 está bajado, el fluido está sometido a fuerzas capilares que distribuyen el fluido sobre la zona de procesamiento, y el fluido se desplaza hacia un extremo del portaobjetos que no ha subido la manivela, que puede ser un extremo de la cámara que comprende un drenaje 326. Cuando la manivela baja gradualmente el portaobjetos 302, el fluido se extiende hacia el extremo del portaobjetos 302 que se subió y que se está bajando. El fluido se extiende sobre el fondo 304 de la cámara por fuerzas capilares y detiene o evita sustancialmente que se extienda donde comienza el fondo inclinado 314, ya que el espacio entre el portaobjetos 302 y el fondo inclinado 314 es suficientemente grande para evitar las fuerzas capilares.

En algunas realizaciones, el fluido se dispensa como una serie de gotitas, y el fluido puede empezar a extenderse sobre la zona de procesamiento antes de que se dispense todo el fluido, aunque una parte del fluido debe permanecer en la entrada a medida que se añade cada gotita posterior.

El ritmo de dispensación y el ritmo de extensión en la zona de procesado deben estar equilibrados, y la dispensación debe realizarse a una velocidad o ritmo adecuados. El fluido no debe dispensarse tan rápidamente que una parte salpique o fluya sobre la superficie superior del portaobjetos. En algunas realizaciones, el ritmo al que se dispensa un fluido en una entrada se basa en una clase de líquido para el fluido. Como ejemplos de ritmos de dispensación para varias clases de líquidos de incluyen de 0,1 ml/s a 1 ml/s para líquidos que tienen viscosidades similares a las del agua (de aproximadamente 1 centipoise a 20 °C), y tan bajas como de 0,01 ml/s para líquidos que tienen viscosidades más altas, tales como tampones de hibridación *in situ*.

En el MPC mostrado en las figuras 6A y 6B, la primera entrada 322 de la cámara tiene una pared de entrada 323 sustancialmente plana y un fondo de entrada 325 sustancialmente plano. El MPC también comprende una segunda entrada 324 de la cámara que tiene una pared de entrada inclinada y/o un fondo de entrada inclinado. La entrada 324 también se muestra en un lado largo de la cámara 301, pero también puede situarse en un lado corto, tal como el lado más cercano al drenaje 326. Las realizaciones de un MPC pueden tener cada uno de estos diseños de entrada o pueden tener dos (o más) entradas del mismo diseño. El diseño de una entrada de la cámara puede seleccionarse en función del momento y de la cantidad de fluido que se desea introducir en la abertura capilar al bajar un portaobjetos.

Las figuras 6C y 6D muestran más detalles de la entrada 322 de la cámara. El diseño plano de la entrada 322 de la cámara está configurado para formar una gota principal de fluido dispensado en el fondo de la entrada. Se evita que la gota se extienda. La dimensión 0 (por ejemplo, 4,5) y la anchura de la entrada (*inlet width*) W_i (por ejemplo, 4,5 mm) se seleccionan para forzar la salida del fluido hacia la superficie capilar. La pared 323 de la entrada está unida al fondo 325 de la entrada por una esquina 328 curvada hacia fuera, en donde la curva tiene un radio R_1 (por ejemplo, R_1 puede ser de 1,45 mm). En algunas realizaciones, R_1 se selecciona para garantizar que no quede prácticamente ningún fluido en la entrada de la cámara cuando el fluido es atrapado por el aumento de las fuerzas capilares del portaobjetos que baja. D_1 (por ejemplo, 6,3 mm) es la distancia desde la pared más alejada a un portaobjetos pequeño (tal como un portaobjetos con una anchura de 24,43 mm), que corresponde a la distancia que deben alcanzar los fluidos. La cámara 301 tiene una pared lateral unida al fondo de la cámara por un borde 329 curvado hacia fuera que tiene un radio R_2 (por ejemplo, R_2 puede ser de 0,8 mm). D_2 (por ejemplo, 4,47 mm) es la distancia desde la pared de la cámara hasta el borde del portaobjetos cuando está más cerca de la entrada. D_2 puede seleccionarse para garantizar que el dispensador no toque el borde del portaobjetos cuando ésta esté más cerca de la entrada. Se apreciará que $\emptyset, W_i, R_1, D_1, R_2$ y D_2 pueden tener dimensiones distintas de las dimensiones ilustrativas expuestas anteriormente.

Un diseño plano para una entrada de cámara en un lado largo de la cámara 301 puede tener diversas ventajas, incluyendo una baja dependencia de si el portaobjetos está o no inclinado; fluido no terminará en la parte superior del portaobjetos; dado que la entrada de la cámara es plana en el fondo, es independiente de la tolerancia X, Y y Z del dispensador.

Las figuras 6E y 6F muestran más detalles de la entrada 324 de la cámara. El diseño inclinado de la entrada 324 de la cámara está configurado para reducir o impedir la formación de gotitas en la entrada. La entrada 324 de la cámara tiene una pared 330 que forma un ángulo A con el fondo 304 de la cámara (por ejemplo, un ángulo A entre 100° y 150°, o aproximadamente 120°) que reduce o impide que una cantidad significativa de fluido se adhiera a la pared 330.

Las figuras 7A, 7B y 7C ilustran otra realización de los presentes métodos y equipo. Se ha colocado un portaobjetos 402 en una cámara 401. El fondo 404 de la cámara forma un espacio capilar con el portaobjetos 402 cuando el portaobjetos está en posición bajada, y el fluido se extiende por fuerzas capilares por todo el espacio capilar. La cámara 401 tiene un fondo inclinado 414 entre su fondo 404 de la cámara y un fondo con recoveco 415. El fluido no

se extiende en gran medida sobre el fondo inclinado 414 porque no hay fuerzas capilares en el espacio más grande entre el fondo inclinado 414 y el portaobjetos 402. El MPC comprende una manivela que tiene un vástago 406 y una parte asimétrica 408 que se colocan por encima del fondo con recoveco 415, por debajo del plano del fondo 404 de la cámara. En la figura 7B, D_r es la diferencia de altura entre el fondo 404 de la cámara y el fondo con recoveco 415. En algunas realizaciones, D_r es de aproximadamente 1,5 mm a aproximadamente 4,5 mm, o de aproximadamente 3 mm. La cámara 401 tiene orificios de rodamiento 432, 434 en cada uno de los lados largos; el orificio de rodamiento 432 es un orificio sin salida, mientras que el orificio de rodamiento 434 es un orificio pasante que permite que el vástago 406 entre en contacto con un mecanismo de accionamiento situado fuera de la cámara 401. El vástago 406 está sujeto de manera giratoria por rodamientos 433, 435.

En algunas realizaciones, el fondo de la cámara del MPC comprende una lengüeta 444 que permite al MPC alojar un mayor volumen de fluido con menor riesgo de contaminación desde la manivela o de daños a la misma, manteniendo el fluido por debajo del portaobjetos. La lengüeta también facilita el drenaje del fluido a través del espacio capilar, impidiendo al mismo tiempo que el líquido llegue a la manivela. La lengüeta impide la filtración de fluido, como resultado de la acción capilar, alejando el fluido de los lados, circulando en los lados, circulando en los pasadores de guía X, y el ángulo del módulo. Las dimensiones ilustrativas de la lengüeta incluyen una zona de lengüeta de aproximadamente 20 mm x 20 mm. La cámara también puede incluir un depósito de humedad 460, que reduce la evaporación de los reactivos y actúa como un mecanismo de pérdida de vapor. El depósito de humedad 460 puede llenarse con agua desionizada (DI) u otro líquido con una pipeta o un dispensador, y puede vaciarse con un pipeteador, o por calentamiento cuando la cámara está abierta y entre el procesamiento de los portaobjetos, para evaporar el líquido residual, o por tuberías tal como por un tubo en el fondo. Es conveniente vaciarlo periódicamente para evitar el llenado excesivo del depósito o el desbordamiento del líquido residual.

El MPC de las figuras 7A, 7B y 7C controla la posición del portaobjetos 402 de varias maneras. En la dirección Y, la posición deseada de la portaobjetos 402 se controla o promueve mediante el accionamiento de la manivela. Cuando el vástago 406 gira en sentido levógiro (CCW, *counter-clockwise*) (desde el punto de vista de la figura 7B), el portaobjetos 402 se mueve o inclina hacia el extremo lejano de la cámara (el extremo que tiene el drenaje 426). Es deseable que el portaobjetos esté inclinado en el MPC, de tal manera que el portaobjetos pueda llevarse a una posición inclinada después de introducirse y permanezca en la misma posición durante la tinción. La inclinación permite realizar la incubación del reactivo de tinción, etapas de lavado y retirada de fluidos sin que tenga una zona no teñida, contaminación cruzada o tinción inespecífica de la muestra. En la dirección X, el posicionamiento deseado del portaobjetos 402 es controlado o promovido por las guías 440, 441 cerca del drenaje 426, y/o por las guías 442, 443 cerca de la lengüeta 444. Como se ilustra en la figura 7C, la cámara 401 comprende un cierre 450 para la dirección X, un deslizador 452 que permite que el portaobjetos se deslice suavemente hacia abajo, y un control 454 que acopla el portaobjetos en la dirección X. Dimensiones ilustrativas del cierre 450, del deslizador 452 y del control 454 incluyen un cierre en X de 29 mm, y se estrecha para controlar la posición del portaobjetos en 26,5 mm. Las características de cierre, deslizamiento y control permiten colocar con exactitud un portaobjetos en una cámara 401 aunque se suministre de forma imprecisa.

A diferencia de algunos dispositivos de procesamiento de portaobjetos anteriores, el presente equipo no requiere un portador de portaobjetos para mantener a un portaobjetos en una posición deseada, por lo que en algunas realizaciones no hay portador de portaobjetos. Por otro lado, algunos dispositivos anteriores de procesamiento de portaobjetos requerían la inserción manual de portaobjetos en una ubicación fija o un portador de portaobjetos que sujetase los portaobjetos al igual que una rejilla de portaobjetos. Puede ser necesario fijar físicamente los portaobjetos a las rejillas o a una característica de fijación. El presente equipo es único debido a que el portaobjetos no está físicamente fijado a la cámara o a un portador de portaobjetos, aunque el movimiento controlado del portaobjetos puede realizarse dentro de la cámara y el portaobjetos puede retirarse fácilmente de la cámara y llevarse a otro lugar con el equipo. Dado que el portaobjetos no está físicamente fijado al MPC, el equipo puede alojar una gran variedad de tamaños de portaobjetos. En consecuencia, en algunas realizaciones de los presentes métodos y equipo, un portaobjetos no está físicamente fijado a un MPC y no está sujeto por un portador o rejilla de portaobjetos. También pueden adaptarse portaobjetos de diferentes tamaños ya que la manivela inclina el portaobjetos al introducirlo en el MPC, empujándolo hacia una pared final de la cámara, obteniendo así una longitud y una zona de procesamiento predecibles y reproducibles para el procesamiento del portaobjetos.

Los presentes métodos y equipo también permiten el procesamiento individual de un portaobjetos de un conjunto de portaobjetos. Cada portaobjetos de un conjunto de portaobjetos puede introducirse en su propio MPC, de modo que es posible subir o bajar cada portaobjetos del conjunto accionando su propia manivela, y administrar su propio conjunto de reactivos fluidos, calentados o enfriados a una temperatura y/o velocidad deseadas, o sometidos a otras etapas o parámetros controlados individualmente.

Las figuras 8A y 8B ilustran un MPC que comprende un puerto de entrada y un conector móvil para cerrar el puerto. En la figura 8A, el MPC comprende una cámara 501 en la que puede introducirse un portaobjetos, y una manivela configurada para subir y bajar el portaobjetos con respecto a un fondo 504 de la cámara. Como se ha descrito anteriormente, cuando un portaobjetos está en una posición hacia abajo se forma un espacio capilar. La manivela comprende un vástago 506 y una parte asimétrica 508, y un fondo inclinado 511 conduce a un recoveco en el que se encuentran. El MPC también comprende una tapa 512 de la cámara que puede abrirse para permitir la introducción

de un portaobjetos 502 en la cámara 501 y cerrarse para formar un espacio térmicamente aislado dentro de la cámara 501. La tapa 512 de la cámara puede estar conectada a la cámara 501 mediante una bisagra u otro mecanismo. El MPC también comprende un calefactor 514 en forma de placa, como se muestra en la figura 8A, aunque el calefactor puede tener otras formas, tal como un alambre, u otro elemento calefactor resistivo en contacto con la tapa 512 de la cámara. El calefactor 514 puede ser un elemento de calentamiento conductivo (por ejemplo, un dispositivo peltier o similar), o una lámina calefactora. El MPC también puede comprender uno o más sensores de temperatura (tales como detectores de temperatura de resistencia (RTD, *resistance temperature detectors*) de platino o termopares) que miden la temperatura de la tapa 512 de la cámara, de la cámara 501 o de otra parte del MPC. La temperatura medida puede comunicarse al controlador de temperatura, que puede ajustar los dispositivos de calentamiento y enfriamiento en función de la temperatura medida. La disposición de la tapa 512 de la cámara y del calefactor 514 puede proporcionar un mayor control sobre la temperatura dentro de la cámara 501.

En algunas realizaciones, los presentes métodos y equipo reducen o evitan los gradientes de temperatura vertical dentro de la cámara 501. Al tefñir una muestra, es deseable que el fondo y la tapa de una cámara de MPC estén a una temperatura sustancialmente igual, ya que así se evitará o reducirá un gradiente de temperatura vertical en el portaobjetos o alrededor del mismo. Dado que el portaobjetos adquiere la temperatura del MPC, por lo general, basta con controlar la temperatura del MPC en un método de procesamiento. En la zona de procesamiento de la cámara, el gradiente de temperatura horizontal puede controlarse mediante la distribución de la energía del calefactor en la parte inferior y las pérdidas al ambiente. En consecuencia, los presentes métodos y equipo pueden tener uno o más calefactores configurados para calentar una tapa de la cámara y una parte inferior de la cámara. El control de la temperatura se mantiene mediante transferencia térmica de calor proporcionada por dispositivos eléctricos de calentamiento/enfriamiento controlados a través de un controlador de temperatura que controla uno o más dispositivos calefactores y/o uno o más dispositivos de enfriamiento. El controlador de temperatura puede estar incluido dentro de, o en comunicación con, un controlador de MPC.

En algunas realizaciones, el MPC comprende un drenaje de líquido colocado de forma que facilite la retirada de fluidos de la cámara. El MPC comprende una perilla de drenaje configurada para permitir que las fuerzas capilares centren el fluido a su alrededor. Una rampa de drenaje dirige el fluido hacia la rampa. En algunas realizaciones, se ajusta el ángulo del portaobjetos con respecto al fondo de la cámara (tal como girando la manivela), para agitar el fluido, lo que puede facilitar la retirada del fluido. La zona de tinción también puede formar un ángulo en sus dimensiones X y/o Y. Por ejemplo, la zona de tinción puede formar un ángulo alrededor de su eje X, tal como en un ángulo de entre 0,1° y 10°, o de aproximadamente 5°. La cámara comprende una barrera alrededor de una parte frontal o de una parte trasera del drenaje, que puede tener forma de herradura, para impedir el paso del fluido y/o la entrada de aire. El portaobjetos se apoya sobre la herradura, y la abertura de la herradura permite la entrada de aire cuando el portaobjetos no está formando un ángulo o subido y la bomba está en funcionamiento. Esta disposición asegura un drenaje controlado del fluido a través del drenaje. Si el portaobjetos está formando un ángulo/elevado, la mayor parte de la abertura está cerrada, aumentando de este modo la eficacia y la rapidez del drenaje.

En algunas realizaciones, el portaobjetos está en una posición hacia abajo (no inclinada), para impedir que el fluido quede atrapado entre el borde del portaobjetos y el fondo de la cámara. El MPC impide la acumulación de líquidos dentro de la cámara, ya que tiene lados redondeados; recortes en los lados de la rampa; esquinas redondeadas; parte posterior redondeada; y/o dos soportes en la parte posterior.

El MPC mostrado en las figuras 8A comprende también un drenaje 526 que permite extraer el fluido de la cámara 501. El fluido puede extraerse después de un periodo de contacto deseado con la muestra, que puede ser un periodo predeterminado de acuerdo con un ensayo o protocolo deseado. El fluido puede extraerse cuando el portaobjetos está en una posición hacia arriba o hacia abajo, aunque la extracción puede facilitarse subiendo el portaobjetos y rompiendo el espacio capilar durante una parte del tiempo de extracción. En algunas realizaciones, el fondo 504 de la cámara está ligeramente inclinado hacia el drenaje 526 para facilitar el movimiento en esa dirección. En algunas realizaciones, el drenaje 526 conduce a una boquilla 527 que puede estar provista de tubos, y puede estar en conexión fluida con una bomba u otro mecanismo de drenaje para proporcionar succión para retirar el fluido. La retirada de fluido a través de un drenaje con succión activa puede acelerarse subiendo el portaobjetos de forma controlada para dirigir el fluido hacia el drenaje. La retirada de fluido con succión activa sin inclinar ni levantar el portaobjetos proporciona una velocidad reducida pero un mayor control del drenaje, ya que el líquido de la parte frontal se retrae lentamente hasta que sólo se llena de líquido la zona de tinción. Cuando se vaya a aplicar otro fluido, es ventajoso subir el portaobjetos, en función del volumen y de las propiedades del fluido, de tal manera que el fluido pueda distribuirse en el MPC cuando se baje el portaobjetos después de la aplicación. Aplicar el fluido cuando el portaobjetos está subido tiende a proporcionar una forma más rápida de extender el fluido desde la entrada de la cámara. A continuación, el fluido se extiende al bajar el portaobjetos y el fluido no tiene que entrar y extenderse a través de un estrecho espacio capilar.

Como se ilustra en las figuras 8A y 8B, el MPC comprende también un conector 546 que se acopla a un puerto 547 de la tapa 512 de la cámara, de modo que la cámara 501 pueda aislarse térmicamente del entorno exterior. Cuando se va a añadir fluido a la cámara 501, el brazo 548 del conector de la tapa de la cámara se acciona para alejar el conector 546 del puerto 547 de modo que pueda introducirse un dispensador de fluido a través del puerto 547. El puerto 547 se muestra cerca de un extremo de la cámara 501, pero puede estar situado en cualquier otro lugar, tal como en una posición lateral sobre las entradas laterales de la cámara mostradas en la figura 6A. El conector 546

móvil de la tapa 512 de la cámara permite un control aún mayor de la temperatura y la humedad dentro de la cámara 501. El conector 546 puede estar formado por cualquier material adecuado, incluyendo un material rígido o un material flexible.

- 5 La figura 8B muestra una vista detallada del conector 546 acoplado al puerto 547, incluida la fijación del conector 546 al brazo 548 del conector. El conector 546 tiene un vástago 550 del conector que se extiende desde la cara 552 del conector, y el brazo 548 del conector tiene una cavidad 549 para recibir el vástago 550. El vástago 550 y el brazo 548 del conector tienen orificios para que se pueda introducir un pasador 551 para sujetar el conector 546 al brazo 550 del conector. La cavidad 549 tiene una sección transversal que es más larga que la del vástago 550, y el orificio del vástago 550 es mayor que el del pasador 551, lo que permite que el conector 546 gire ligeramente dentro de la cavidad 549. Se ha descubierto que dicho ligero giro alrededor del pasador 551 pero restringido por los lados de la cavidad 549 proporciona flexibilidad en cómo la cara 551 del conector se acopla al puerto 547, lo que facilita la formación de un sello sobre el puerto 547 para que no se pierdan el calor y la humedad.
- 10
- 15 La figura 8C ilustra el brazo 548 del conector acoplado a la tapa de la cámara. El brazo 548 del conector presiona el conector contra el puerto con una fuerza adecuada, por ejemplo, de aproximadamente 1,5 N. Dicha fuerza puede proporcionarse incluyendo un resorte 553 en el MPC y colocando el resorte 553 de tal manera que incline el brazo 548 del conector a una posición cerrada (más particularmente, a una posición en la que el conector esté sellando el puerto). El MPC también puede incluir un mecanismo de accionamiento tal como un engranaje 554 que mueva el brazo 548 del conector a una posición de abertura girando y venciendo la fuerza aplicada por el resorte 553.
- 20

- Las figuras 9A a 9C ilustran un enfoque para fijar una tapa 512 de la cámara a un bastidor 560 para facilitar la abertura y el cierre automatizados de la cámara. En algunas realizaciones, la tapa 512 de la cámara está fijada de forma flexible al bastidor 560 para permitir un ligero movimiento en dirección X y/o Y. El bastidor 560 puede estar fijado a un activador, tal como un engranaje, que puede mover el bastidor 560 y una tapa 512 de cámara fijada entre las posiciones de
- 25
- abertura y cierre. Las figuras 9B y 9C son vistas detalladas de la fijación del bastidor 560 a la tapa 512 de la cámara, que tiene dos receptáculos 561, 562 para recibir elementos de fijación. Los receptáculos 561, 562 pueden roscarse para recibir tornillos. El bastidor 512 tiene aberturas para que los elementos de fijación pasen a través de los receptáculos 561, 562 y se acoplen a ellos. Las aberturas pueden tener una o más arandelas colocadas por encima, por debajo, o en el interior para proporcionar un ajuste deseado entre los elementos de fijación y los receptáculos. Por ejemplo, las arandelas 563, 564 de la tapa se colocan por encima de las aberturas, y los rebordes 565, 566 de la tapa se colocan dentro y por debajo de las aberturas. Los rebordes 565, 566 de la tapa tienen partes interiores que pueden tener sustancialmente la misma sección transversal (p. ej., diámetro) que las aberturas, o pueden tener secciones transversales más pequeñas para que pueda haber un ligero movimiento. En la figura 9B, la parte interior 567 del reborde 565 de la tapa frontal tiene sustancialmente la misma sección transversal que la abertura de la tapa 512 de la cámara, y en la figura 9C, la parte interior 568 del reborde 566 de la tapa posterior tiene una sección transversal que es más pequeña que la abertura. Este enfoque permite que la tapa 512 de la cámara se mueva ligeramente a medida que baja hacia la cámara 501, que se ha comprobado que da como resultado un mejor sellado del interior de la cámara 501. En una parte frontal de la tapa de la cámara, el bastidor de la tapa puede aplicar una presión de aproximadamente 3 N al reborde 565 de la tapa. El espacio entre la arandela 563 de la tapa y la abertura del bastidor de la tapa en la dirección Z y el pequeño diámetro del reborde de la tapa garantizan una conexión flexible en las direcciones X e Y. De este modo, la tapa de la cámara se ajusta a la pestaña inferior del proceso y absorbe eficazmente las tolerancias y garantiza un buen sellado. En una parte posterior de la tapa de la cámara, un espacio grande en las direcciones Y y Z garantiza que no haya carga/esfuerzos en las direcciones Y y Z. Un espacio pequeño en dirección X entre el reborde 566 de la tapa y la abertura del bastidor 560, coloca la tapa de la cámara alrededor del eje Z.
- 30
- 35
- 40
- 45

- Los presentes métodos y equipo tienen diversas características que mejoran la tinción de las muestras en el MPC. El tiempo, la temperatura y/o la concentración de los reactivos utilizados para teñir una muestra en un portaobjetos pueden acortarse, reducirse o controlarse mejor. El MPC puede proporcionar una manera fácil de agitar el reactivo después de que se haya distribuido, y evita el agotamiento del reactivo y la formación de burbujas que carecen de reacción en partes de la muestra. El MPC también puede mejorar el control de la humedad en la cámara, y/o crear un compartimento cerrado que tenga una humedad relativa alta (incluida una HR de hasta un 100 %), impidiendo al mismo tiempo la condensación del fluido en el compartimento. En algunas realizaciones, el MPC incluye un depósito en el fondo de la cámara, que permite un mejor control de la humedad. La humedad también puede ajustarse y seleccionarse mediante el control del proceso.
- 50
- 55

- La figura 10 ilustra un módulo de procesamiento capilar que comprende un dispositivo de enfriamiento. Para controlar la tinción y otros procesos, los presentes MPC tienen deseablemente un perfil de temperatura reproducible y constante durante todo el proceso. Esto incluye el control del ascenso o descenso de la temperatura (el ritmo de aumento y disminución de la temperatura). En general, el tiempo de ascenso y descenso de la temperatura se reduce cuando se reduce la capacidad calorífica del MPC, tal como disminuyendo su masa. En algunas realizaciones, una zona de procesamiento del MPC (p. ej., una zona de tinción) asciende de 37,0 °C a 95,0 °C en ≤ 200 s o ≤ 150 s o ≤ 120 s, y/o desciende de 97,0 °C a 35,0 °C en ≤ 900 s o ≤ 800 s o ≤ 700 s. El tiempo de ascenso generalmente depende de la capacidad calorífica, de la potencia del calefactor y de pérdidas ambientales. El enfriamiento depende generalmente de la capacidad calorífica y del enfriamiento activo tal como del flujo de aire o de la convección forzada. La parte inferior del MPC se enfría principalmente con aire ambiente frío procedente de un ventilador u otro dispositivo de
- 60
- 65

refrigeración, y la tapa de la cámara se enfría principalmente por conducción hacia la parte inferior del MPC.

En la figura 10, el MPC comprende una cámara 601 que tiene un fondo 604 de la cámara, un fondo inclinado 611, una tapa 612 de la cámara y un calefactor 614 similares a los descritos para el MPC de la figura 8A. El drenaje 626 permite extraer el fluido de la cámara 601 y conduce a una boquilla 627 que puede encajarse con un tubo. En la figura 10, el puerto 647 de la tapa de la cámara se abre, pero puede cerrarse con un conector de la tapa de la cámara. En una carcasa 651 del MPC, se dispone un ventilador 650, colocado para proporcionar aire refrigerante u otro gas sobre la cámara 601, preferentemente opuesto al fondo 604 de la cámara. Se pueden colocar bastidores alrededor de la cámara para definir una trayectoria de flujo para un gas refrigerante alrededor de la cámara 601. Por ejemplo, el bastidor 652 de la cámara inferior y el bastidor 653 de la cámara superior están colocados para definir una trayectoria de flujo para que un gas refrigerante se desplace desde debajo de la cámara 601 hasta el calefactor 614. Esto también facilita un perfil de temperatura reproducible y constante alrededor de la cámara 601.

Pueden colocarse sensores de temperatura en uno o más de la tapa 612 de la cámara, el calefactor, el fondo 604 de la cámara o en otra parte del MPC. Como se ha mencionado anteriormente, los presentes métodos y equipo también pueden comprender un controlador de temperatura y/o un controlador del MPC que reciba las mediciones de temperatura de los sensores de temperatura y haga funcionar los dispositivos de calentamiento y/o enfriamiento (p. ej., el ventilador). Los dispositivos de calentamiento y/o enfriamiento pueden funcionar en modo encendido/apagado, o en modo más rápido/lento, para ajustar la temperatura del MPC o de una parte del mismo.

La figura 11 ilustra una realización de un sensor de una tapa de la cámara. El sensor 702 está en contacto con un calefactor 708 en la superficie de la tapa 710 de la cámara a través de contactos 704. El sensor 702 puede estar rodeado por la cubierta 706 que está separada del sensor 702 a una altura HC.

Los presentes métodos y aparato tienen un diseño de compartimento cerrado ventajoso. Varias características del MPC contribuyen al diseño de compartimento cerrado. Por ejemplo, algunas realizaciones del MPC son herméticas en los bujes de la manivela, como se ilustra en la figura 3B. Algunas realizaciones del MPC están configuradas para tener un cierre hermético del puerto, como se ilustra en la figura 8B. El MPC puede diseñarse de modo que el conector del puerto tenga una superposición plana (en el plano X-Y) con la tapa de la cámara. El conector del puerto (ya sea directamente o a través del brazo del conector unido al conector del puerto) puede estar cargado por resorte en la dimensión Z para garantizar un contacto hermético con el puerto, y el conector del puerto también puede configurarse de modo que tenga una suspensión flotante en la dimensión Z, como se ilustra en la figura 8B. Algunas realizaciones del MPC están configuradas para tener un contacto hermético de la tapa de la cámara con la cámara. El MPC puede diseñarse de modo que la tapa de la cámara tenga una superposición plana (en el plano X-Y) con la cámara. La tapa de la cámara (ya sea directamente o a través del bastidor unido a la tapa de la cámara) puede estar cargada por resorte en la dimensión Z para garantizar un contacto hermético con la cámara, y la tapa de la cámara también puede configurarse de modo que tenga una suspensión flotante en la dimensión Z, como se ilustra en las figuras 9A a 9C.

Los presentes métodos y equipo tienen un diseño térmico ventajoso. Los presentes métodos y equipo reducen o minimizan los gradientes de temperatura horizontal mediante la distribución de la energía del calefactor y cuando la parte inferior y la tapa tienen la misma temperatura no hay gradiente vertical. En algunas realizaciones, la zona de procesamiento tiene un gradiente de temperatura (en la parte inferior) que está dentro de $\pm 0,5^\circ\text{C}$. En algunas realizaciones, la condensación dentro del MPC se impide manteniendo todas las superficies internas del MPC dentro de $\pm 2,0$ grados C de una temperatura seleccionada (p. ej., $97,0$ grados C). Son diversas las características del MPC que contribuyen al ventajoso diseño térmico, tales como el dispositivo de enfriamiento y el sensor de temperatura. El diseño térmico también se implementa mediante el diseño de calefactores en la tapa de la cámara y en la parte inferior de la cámara. En algunas realizaciones, un calefactor del MPC comprende una serie de capas, al menos una de las cuales es un elemento calefactor resistivo. Por ejemplo, el calefactor del MPC puede comprender una serie de capas diferentes que dan como resultado un calefactor con certificación UL (*Underwriters Laboratories*) para 150 grados C. Una capa inferior está adaptada para adherir el calefactor a una superficie de la cámara o de la tapa de la cámara. Como ejemplos de materiales para la capa inferior de incluyen PSA acrílicos. Sobre la capa inferior puede disponerse una capa de distribución de calor tal como una película de aluminio, para recibir el calor desde un elemento calefactor resistivo y distribuirlo de forma uniforme sobre la superficie de la cámara. Una capa aislante puede estar dispuesta entre la distribución de calor posterior y una capa de elemento calefactor. La capa aislante debe ser aislante desde el punto de vista eléctrico y permitir al mismo tiempo transferir el calor con pérdidas mínimas. La capa de elemento calefactor puede comprender una o más vías calefactoras de un elemento calefactor resistivo, tal como una aleación de cobre y níquel que genera calor al pasar una corriente eléctrica. El tamaño y el material de las vías calefactoras pueden adaptarse para que tengan la conductividad necesaria, y las vías calefactoras están diseñadas para controlar la distribución de la energía y minimizar el gradiente horizontal. Una capa superior puede comprender un adhesivo junto con una capa aislante para proteger las vías calefactoras. También se contempla que el calefactor del MPC pueda comprender una o más capas adicionales según se desee.

Las figuras 12 y 13 ilustran diseños ilustrativos ventajosos de calefactores. La figura 12 muestra un diseño de los elementos calefactores resistivos en un calefactor del MPC de una tapa de la cámara. El diseño comprende una única zona calentada 720 que comprende vías calefactoras, y cuatro zonas no calentadas 732, 733, 734, 735 que no tienen vías calefactoras. La figura 13 muestra un diseño de los elementos calefactores resistivos en un calefactor del MPC

de la parte inferior de la cámara. El diseño comprende tres zonas calentadas 740, 742, 744 que comprenden vías calefactoras. En algunas realizaciones, el calefactor de la tapa de la cámara tiene una zona de calentamiento que está diseñada para 24 V 20 W. Se descubrió que las zonas no calentadas eran ventajosas para impedir los puntos calientes cuando se utiliza un ancho de vía y un espaciado fijos, reduciendo o evitando de este modo los gradientes térmicos en las direcciones X o Y de la cámara. En algunas realizaciones, las vías calefactoras del calentador del MPC tienen anchuras sustancialmente idénticas. Se puede colocar un sensor en una zona de punto caliente para limitar el rebasamiento durante el ascenso. Este diseño también garantiza una rápida respuesta del sensor a la aplicación de energía, es decir, se reduce la constante de tiempo de carga observada por el regulador proporcional, integral y derivativo (PID).

En algunas realizaciones, el calefactor de la parte inferior de la cámara tiene tres zonas de calentamiento, y cada una puede controlarse por separado. Por ejemplo, se puede colocar una zona de calentamiento en una zona de tinción y dos zonas de calentamiento para compensar las pérdidas de montaje, permitiendo de este modo un gradiente bajo sobre la zona de tinción. En algunas realizaciones, una zona de calentamiento 740 cerca del drenaje 726 del MPC está diseñada para 24 V 8,0 W, que compensa las pérdidas de conducción en la base de montaje 727, 728 y ejecuta una alta densidad de energía debido a la limitada zona disponible. Un sensor de temperatura puede colocarse debajo de una entrada de fluido, y también puede usarse para detectar cuándo se dispensa un fluido. Por ejemplo, un cambio de temperatura de aproximadamente 2°C o inferior puede indicar que se ha dispensado un fluido. El uso de uno o más sensores de temperatura para determinar si un reactivo líquido se ha dispensado o drenado correctamente puede ser muy ventajoso, ya que puede evitar la necesidad de caudalímetros o sensores. Los sensores de temperatura para detectar el drenaje de líquido pueden situarse en un drenaje o en un conducto por el que se drena líquido, en el interior del conducto o en su superficie exterior.

En la realización mostrada en la figura 13, se diseña, por ejemplo, una zona de calentamiento 742 central, para 24 V 14,7 W, y cubre una zona de procesamiento en la que una muestra puede teñirse o someterse a otros tratamientos. Las zonas no calentadas 743, 745 no comprenden vías calefactoras y están incluidas para impedir puntos calientes no deseados, especialmente hacia la zona de drenaje. Un sensor (tal como el sensor de la figura 11) puede colocarse en o cerca del centro de la zona de procesamiento. La zona de calentamiento 744 cerca de la manivela y/o la etiqueta de un portaobjetos está diseñada por ejemplo, para 24 V 17,3 W, lo que compensa las pérdidas de conducción en los puntos de montaje. La zona no calentada 747 es asimétrica debido a las pérdidas cerca del accionamiento de la manivela. Se puede colocar un sensor hacia el depósito de humedad para controlar la evaporación del agua. Pueden colocarse cables en los cortes y alejados de los sensores para impedir que el sensor se enfríe. Sin embargo, la resistencia de la vía calefactora establece un límite a la distancia a la que se pueden mover los cables del sensor.

Los métodos y equipos presentes pueden producir un MPC con un perfil de temperatura estrechamente controlado. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el espacio de la cámara (más específicamente, una zona de procesamiento) puede calentarse hasta alcanzar una temperatura interior en el intervalo de 95,5-98 °C, como alternativa de 95,8-97,8 °C, como alternativa de 96,6-97,3 °C.

Los métodos y equipos también proporcionan un perfil de temperatura estrechamente controlado para la tapa de la cámara, con una temperatura interior en el intervalo de, por ejemplo, 95,5-98 °C, como alternativa de 95,8-97,8 °C, como alternativa 96,6-97,3 °C. La capacidad de controlar estrechamente el perfil de temperatura de la tapa de la cámara puede cumplir varias funciones. Por ejemplo, la tapa de la cámara puede funcionar para recoger líquido, reduciendo de este modo la humedad, ajustando su temperatura para permitir la condensación en la superficie interior, permitiendo así que la tapa de la cámara actúe como un depósito de humedad. Como alternativa, la tapa de la cámara puede funcionar para impedir la condensación en su superficie interior elevando la temperatura, para que el líquido no gotee en la zona de procesamiento, diluyendo de este modo los reactivos.

Los métodos y equipos presentes tienen diseños de calefactores que reducen o minimizan las pérdidas térmicas. En algunas realizaciones, la parte inferior de la cámara tiene soportes de plástico para reducir las pérdidas de conducción en las zonas de montaje. En algunas realizaciones, el MPC comprende una guía de aire que cubre los lados verticales y la superficie inferior para reducir las pérdidas naturales por convección y radiación.

Los presentes métodos y equipo tienen diversas características de control de procesos. Los presentes métodos pueden comprender una o más etapas de procesamiento de una muestra, además de la etapa de subir o bajar el portaobjetos mediante el accionamiento de una manivela. Las etapas de procesamiento pueden realizarse antes, durante y/o después de bajar el portaobjetos y extender un fluido sobre la muestra. Las etapas de procesamiento también pueden realizarse antes, durante y/o después de subir el portaobjetos y extraer un fluido de la muestra.

En particular, los presentes métodos y equipo se refieren al procesamiento, p. ej. tratamiento y/o tinción, de al menos una muestra biológica, p. ej. una sección tisular, en un portaobjetos, así como al control del reactivo fluido y de la temperatura durante el tratamiento. Por ejemplo, algunas realizaciones de la presente invención se refieren al procesamiento de una muestra biológica fina, p. ej. una sección tisular, usando una pequeña cantidad de un fluido de procesado.

Se contempla que los presentes métodos y equipo puedan realizar una o más de las siguientes etapas de

procesamiento en una muestra: cocción, desparafinado, recuperación de dianas (TR, *target retrieval*), lavado, limpieza, deshidratación, tinción, hibridación, digestión, desnaturalización, fijación (tal como por alcoholes o por reticulación), reacciones enzimáticas (tales como por peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina o similares), reacciones de precipitación o reticulación de radiomarcadores, cromógenos, o fluorocromos, y otros. Por ejemplo, en algunas realizaciones, los presentes métodos pueden comprender una o más de las siguientes etapas de procesamiento:

5 cocción a $75^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$; desparafinado a $60^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ para disolver la parafina u otro medio embebedor en un disolvente, seguido de un lavado con EtOH; TR a $97^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, tal como por TR mediante HIER en un tampón de TR, seguido de lavado con WB/DI; IHQ a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, tal como mediante el contacto de la muestra con Envision Flex+: pAB, Bloque, Enlazador, HRP, DAB, seguido de lavado con WB; tinción con contraste, tal como por contacto de la muestra con DI,

10 HTX, DI, WB; IF a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, tal como por IF: pAB, y lavado con WB. En algunas realizaciones, los presentes métodos pueden comprender una o más etapas de un ensayo de HISF, tal como etapas de digestión con pepsina a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$; Aplicación y distribución de la sonda a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$; Desnaturalización por temperatura, tal como a $80^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$; hibridación por temperatura, tal como a $45^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$; y lavado riguroso en SWB tal como a $61^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Las etapas anteriores pueden formar parte de etapas de procesamiento precedidas o seguidas de lavado con un tampón

15 de lavado o agua. En algunas realizaciones, los presentes métodos pueden comprender una o más etapas de ensayos de CISH (hibridación *in situ* cromogénica) a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, tal como el bloqueo de la actividad enzimática endógena de la muestra, incubación con anticuerpos conjugados con enzimas, depósito de radiomarcadores o cromógenos, visualización de radiomarcadores mediante cromógenos y otras etapas de procesamiento pertinentes. Lavar con WB; montaje en tampón de lavado a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, y deshidratación en EtOH; y limpieza a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, con incubación en

20 NaClO (hipoclorito sódico), y lavado con WB, tampón de lavado o agua

Los presentes métodos y equipo pueden usarse en el campo de la citología, histología, patología molecular, bioquímica, inmunología, microbiología, biología celular, citogenética molecular e inmunohistoquímica, y en consecuencia, los métodos pueden comprender uno o más procedimientos de procesamiento empleados en esos

25 campos. Los presentes métodos y equipo pueden comprender uno o más procesos o fluidos para procesar muestras biológicas en inmunohistoquímica (IHQ), hibridación *in situ* (HIS), hibridación *in situ* con fluorescencia (HISF), hibridación cromogénica *in situ* (HCIS), tinciones especiales (TS), hibridación *in situ* con plata (HISP), micromatrices (tejido, proteína, ARN, ADN, APN, ALN, etc.), así como otras aplicaciones químicas y/o biológicas. Los presentes métodos pueden comprender procesos tales como desparafinación, recuperación de dianas y tinción, especialmente

30 para las técnicas de hibridación *in situ* (HIS). Los presentes métodos pueden comprender procesos para explorar una muestra a nivel molecular, incluida la exploración del ADN, ARNm, miARN, ARN regulador, ARN no codificante y/o proteínas que causan enfermedades o están asociadas a ellas. Dicha exploración puede utilizarse para realizar una exploración histológica o citológica.

35 Cuando se utiliza para la tinción u otro procesamiento de una muestra en un portaobjetos, los presentes métodos pueden comprender poner en contacto la muestra con una pluralidad de diferentes reactivos fluidos o fluidos de lavado. En algunas realizaciones, la muestra se somete a procesos de procesamiento en el MPC tales como desparafinización, lavado, recuperación de antígenos, bloqueo de biotina endógena o enzimático, incubación con reactivos inmunológicos, sondas moleculares, reactivos secundarios de visualización y diversos reactivos cromógenos, etapas

40 de lavado y tinción con contraste. Los presentes métodos pueden comprender subir un portaobjetos (más específicamente, una parte de un portaobjetos tal como un primer extremo) girando una manivela; aplicando un primer reactivo fluido; bajar el portaobjetos girando la manivela, extendiendo de este modo el primer reactivo fluido sobre una zona de procesamiento del portaobjetos; subir el portaobjetos girando la manivela, extrayendo de este modo el primer fluido reactivo; y retirar el primer reactivo fluido de la zona de procesamiento. En algunas realizaciones, el portaobjetos se baja y se sube una o varias veces más para mezclar o agitar el primer reactivo fluido. En algunas realizaciones, se aplica un segundo reactivo fluido después de retirar el primer reactivo fluido. Los presentes métodos pueden comprender subir un portaobjetos girando una manivela antes de aplicar el segundo reactivo fluido; bajar el portaobjetos girando la manivela, extendiendo de este modo el segundo reactivo fluido sobre una zona de procesamiento del portaobjetos; subir el portaobjetos girando la manivela, extrayendo de este modo el segundo

50 reactivo fluido; y retirar el segundo reactivo fluido de la zona de procesamiento. Del mismo modo, los procesos anteriores pueden realizarse con un tercer reactivo fluido, un cuarto reactivo fluido, y así sucesivamente, hasta diez, doce, o cualquier otro número deseado de reactivos fluidos. Así mismo, los procesos anteriores pueden realizarse con uno o más fluidos de lavado en lugar del reactivo fluido.

55 En algunos protocolos para procesar una muestra, tales como HIS, la muestra debe deshidratarse antes de continuar el procesamiento, tal como mediante la tinción de la muestra. Para obtener un secado o deshidratación eficaces de la muestra, la separación capilar puede eliminarse o romperse de tal manera que pueda producirse una evaporación eficaz, la tapa puede subirse para aumentar el volumen de aire para la evaporación además y los métodos pueden comprender subir el portaobjetos durante un tiempo suficiente para deshidratar o secar.

60 Los presentes métodos y equipo son adecuados en general para cualquier portaobjetos, aunque se contempla que el tamaño y la forma de una cámara pueden seleccionarse para portaobjetos de un tamaño estándar. Como ejemplos de portaobjetos se incluyen portaobjetos de vidrio, DakoFlex y SuperFrostPlus con una dimensión habitual de 25 mm x 75 mm. En algunas realizaciones, un portaobjetos puede incluir una parte de etiqueta que puede colocarse sobre el eje del vástago. La parte de etiqueta y/o la parte doblada pueden tener características superficiales o formas que faciliten su acoplamiento. Por ejemplo, la parte de etiqueta puede tener un recubrimiento superficial diferente de la

65

superficie de la parte de la muestra del portaobjetos. El recubrimiento superficial puede adaptarse para aumentar o disminuir la fricción entre la parte de etiqueta y la parte doblada.

Los presentes métodos y equipo pueden comprender o estar incluidos dentro de un equipo de tinción tisular que comprenda otros componentes y características. Como ejemplo, un equipo de tinción tisular puede comprender un MPC, tal como se describe en el presente documento, que está conectado (directa o indirectamente) a uno o más de un controlador, un pipeteador para dispensar fluidos, un brazo robótico para sujetar y mover un portaobjetos, viales de reactivos, y equipo para almacenar y/o mover los viales de reactivos. El equipo de tinción tisular puede incluir uno o más controladores configurados o programados para el funcionamiento de la manivela, la tapa de la cámara, la bomba, el calentador o calentadores, el dispositivo o dispositivos de enfriamiento y/u otras características del MPC. Los controladores pueden comprender un soporte físico (*hardware*), un programa informático (*software*) o una combinación de ambos para el funcionamiento de los componentes del sistema. Los controladores pueden comprender, o pueden configurarse, para recibir e implementar, uno o más programas software para procesar un portaobjetos que comprende una muestra, tal como un programa con un procedimiento de tinción en portaobjetos. El presente equipo de tinción tisular también puede comprender viales de reactivos, equipo para almacenar viales de reactivos, y/o equipo para proporcionar uno o más viales de reactivos para su uso con un pipeteador. Las conexiones entre el MPC y otros componentes pueden ser conexiones físicas, conexiones fluidicas (tal como a través de un conducto), conexiones eléctricas, conexiones informativas (tal como mediante la transmisión inalámbrica de señales), y combinaciones de las mismas.

La figura 14 ilustra esquemáticamente una realización de un equipo 1 de tinción tisular automatizado, que comprende diversos componentes y características. El equipo 1 de tinción tisular automatizado, comprende un primer módulo 140 de tinción capilar, un segundo módulo 140' de tinción capilar y un tercer módulo 140" de tinción capilar, pero debe entenderse que el número de módulos de tinción capilar puede variar. En algunas realizaciones, el primer, segundo y tercer módulos de tinción capilar, 140, 140', y 140", pueden estar configurados para, por ejemplo, aplicaciones inmunohistoquímicas (IHQ) y aplicaciones de hibridación *in situ* (HIS).

El equipo 1 de tinción puede comprender tres niveles; un primer nivel I inferior, que comprende, por ejemplo, contenedores de fluidos a granel, residuos, válvulas y bombas; un segundo nivel II central, que comprende, p. ej., diversas unidades de procesamiento, almacenamientos de portaobjetos, robótica y viales de reactivos; y un tercer nivel III superior, que comprende, p. ej., un cubreobjetos y unidades de control e interfaces de comunicación. Algunos elementos, tales como una unidad de control 151, pueden colocarse en el nivel III para permitir una visión aproximada de la pantalla a la altura de los ojos, o en el nivel I para que no estorben al acceder manualmente a los módulos del nivel II.

Como se ilustra, el equipo 1 de tinción automatizado puede comprender una o más unidades de procesamiento, tales como unidades 6 de almacenamiento de portaobjetos y uno o más módulos 140, 140', 140" de tinción capilar.

El equipo 1 de tinción automatizado puede incluir estaciones 17 de carga de muestras para introducir cestas de portaobjetos con muestras en el equipo para su procesamiento.

Una o más unidades 6 de almacenamiento de portaobjetos están configuradas para almacenar uno o más portaobjetos 10 dispuestos en una o más cestas 20 de portaobjetos configuradas para contener diversos portaobjetos 10 montados lado a lado. Las unidades 6 de almacenamiento de portaobjetos están configuradas para almacenar portaobjetos horizontalmente, verticalmente, o en otra posición adecuada.

El equipo 1 de tinción automatizado puede comprender además diversos contenedores 8 de fluidos a granel 8a, tales como soluciones de lavado, soluciones tampón, soluciones de desparafinización, soluciones de recuperación de dianas o soluciones acuosas, tales como agua purificada, anticuerpos en solución, soluciones de tinción a granel tales como hematoxilina, eosina, soluciones de limpieza tales como solución eliminadora DAB, etc. conocidas por el experto en la materia.

El equipo 1 de tinción automatizado puede comprender además tuberías 9 que conecten el (los) contenedor(es) 8 de fluido a granel con una o más unidades 2 de procesamiento, 140, 140', 140", válvulas 7 para controlar el flujo del fluido a granel 8a a la una o más unidades 2 de procesamiento, 140, 140', 140", desde el contenedor o contenedores 8 de fluido a granel, y una o más bombas 5 configuradas para proporcionar un flujo de fluido a granel desde el contenedor 8 de fluido a granel a la una o más unidades 2 de procesamiento, 140, 140', 140".

Además, el equipo 1 de tinción automatizado puede comprender un contenedor 11 de residuos configurado para almacenar el fluido residual que se ha extraído mediante tuberías (no mostradas) de la una o más unidades 2 de procesamiento, 140, 140', 140".

Como se ilustra esquemáticamente en la figura 14, el equipo 1 de tinción automatizado comprende además un robot 12 de portaobjetos configurado para transportar uno o más portaobjetos 10 o una o más cestas 20 de portaobjetos en dirección X e Y (así como Z), como indican las flechas X e Y. Con un robot 12 de portaobjetos, los portaobjetos/rejilla de portaobjetos pueden transportarse entre diferentes unidades 2 de procesamiento, 140, 140', 140" y

almacenamientos 6 del equipo 100 de tinción para que las muestras biológicas dispuestas en los portaobjetos puedan procesarse como se desee.

En la figura 14, se ilustra esquemáticamente cómo el robot 12 del portaobjetos eleva, a lo largo de la dirección Y, un portaobjetos 10 desde un almacenamiento 6 de portaobjetos. Además, como indica la flecha, el robot 12 del portaobjetos puede desplazarse hacia la izquierda, a lo largo de la dirección X, a, por ejemplo, un primer módulo 140, 140', 140" de tinción capilar.

El robot 12 del portaobjetos puede coger un portaobjetos 10 de la gaveta 17 de muestras y transportar la rejilla 20 de portaobjetos y los portaobjetos 10 a cualquiera de las estaciones, tales como los módulos 140, 140', 140" de tinción o los módulos 6 de descarga en húmedo/seco, con el fin de procesar las muestras sobre los portaobjetos 10.

Cuando el robot 12 del portaobjetos está dispuesto en una posición por encima de la posición del portaobjetos del módulo de tinción capilar, el robot 12 del portaobjetos puede configurarse para bajar, a lo largo de la dirección Y, el portaobjetos en el módulo de tinción capilar para introducir el portaobjetos en una posición correcta dentro del módulo de tinción capilar, como indica la flecha dirigida hacia abajo a lo largo de la dirección Y en la figura 14.

Además, el robot 12 del portaobjetos puede estar configurado para colocar el portaobjetos 10 horizontalmente, verticalmente o en un ángulo entre la horizontal y la vertical. Por ejemplo, el robot 20 del portaobjetos puede sujetar o soltar el portaobjetos 10 en una orientación horizontal desde las estaciones 17 de carga. Como ejemplo adicional, el robot 12 del portaobjetos puede sujetar o soltar el portaobjetos 10 en orientación vertical en los módulos 2 de pretratamiento o en las estaciones 6 de descarga. En otro ejemplo más, el robot 12 del portaobjetos puede sujetar o soltar el portaobjetos 10 en una orientación angular entre la horizontal y la vertical tal como los módulos 140, 140' y 140" de tinción.

Por otro lado, el equipo 1 de tinción automatizado comprende un robot 14 de fluidos para desplazar una sonda 16 en dirección X e Y (así como Z), como indican las flechas X e Y. El robot 14 de fluidos puede colocar la sonda 16 encima de uno o más contenedores 18 de fluido, estaciones de mezcla, módulos 140, 140', 140" de tinción capilar.

El robot 14 de fluidos también puede manejar la sonda 16 para aspirar partes de reactivo 18a contenidas en cualquiera de los contenedores 18 de reactivo, transferir la parte de reactivo 18a y aplicarla a uno o más portaobjetos 10 dispuestos en uno o más de los módulos 140, 140', 140" de tinción capilar para proporcionar una tinción o tratamiento seleccionado de la muestra en el portaobjetos. Como se ilustra esquemáticamente en la figura 14, uno o más contenedores 18 de fluido pueden disponerse en una rejilla 19 de contenedor de fluido.

Por tanto, el robot 14 de fluidos está configurado para desplazar la sonda 16 entre diferentes posiciones dentro del equipo 1 de tinción automatizado. El robot 14 de fluidos puede, por ejemplo, estar configurado para desplazar la sonda 16 hasta, p. ej., una posición de aspiración en un contenedor 18 de reactivos y dejar que la sonda 16 aspire una cantidad de un reactivo 18a desde el contenedor 18 de reactivo. Además, como ilustra esquemáticamente la flecha dirigida hacia la izquierda, a lo largo de la dirección X, y la flecha dirigida hacia abajo, a lo largo de la dirección Y, con el robot 14 de fluidos, la sonda 16 puede desplazarse hasta, p. ej., una posición de dispensación en un portaobjetos 10 dispuesto en un módulo 140, 140', 140" de tinción capilar, en cuya posición de dispensación, un volumen del reactivo 18a aspirado puede dispensarse en el portaobjetos 10 para proporcionar una tinción o tratamiento seleccionado de la muestra en el portaobjetos.

Además, la cámara capilar, como se describe en el presente documento, puede utilizarse junto con mecanismos de dispensación de fluidos, incluidas pipetas robóticas, sondas, tubos, frascos de dispensación directa, colectores, etc.

Antes de aspirar una cantidad de un posible segundo fluido diferente, la sonda 16 puede desplazarse a un contenedor 18' de fluido de lavado y puede aspirarse una cantidad del fluido de lavado para limpiar la sonda 16 antes de que la sonda 16 aspire una cantidad de un posible nuevo fluido.

Como se ilustra esquemáticamente en la figura 14, el uno o más contenedores 18, 18' de reactivo pueden disponerse en una rejilla 19 de contenedor de reactivo. Una pluralidad de rejillas de contenedor de reactivo puede configurarse para poder introducirse y/o extraerse independientemente con el fin de alojar un flujo de trabajo continuo, es decir, añadir o extraer reactivos durante el procesamiento en curso de los portaobjetos.

Además, el equipo 1 de tinción automatizado, puede comprender además un cubreobjetos 13 configurado para disponer un cubreobjetos (no mostrado) en una muestra biológica procesada dispuesta en un portaobjetos 10.

Como se ilustra esquemáticamente en la figura 14, el equipo 1 de tinción automatizado puede comprender también una unidad de control 151 que comprende un control de procesamiento y una interfaz de entrada/salida. Una entrada adecuada puede ser un teclado y una salida adecuada puede ser un monitor o la unidad de control 151 puede comprender una pantalla táctil.

A la vista de la presente divulgación, cabe señalar que los métodos y equipo pueden implementarse conforme a las

presentes enseñanzas. Además, los distintos componentes, materiales, estructuras y parámetros se incluyen se incluyen a título meramente ilustrativo y no limitativo. En vista de la presente divulgación, las presentes enseñanzas pueden implementarse en otras aplicaciones y componentes, materiales, estructuras y equipo, sin salirse del ámbito de las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Un módulo de procesamiento capilar que comprende:

5 una cámara (201, 301, 401, 501, 601) que comprende un fondo (104, 204, 304, 404, 504, 604) de la cámara y una o más paredes laterales (205) de la cámara, caracterizada por una manivela, que transforma el movimiento giratorio en lineal, colocada para subir y bajar una parte de un portaobjetos (10, 102, 202, 302, 402, 502) cuando gira.

10 2. El módulo de procesamiento capilar de la reivindicación 1, en donde la manivela se extiende desde la una o más paredes laterales (205) de la cámara y no se extiende a través del fondo (104, 204, 304, 404, 504, 604) de la cámara.

3. El módulo de procesamiento capilar de la reivindicación 1 o reivindicación 2, en donde la manivela comprende:

15 (i) una parte doblada (108, 128, 148, 158) y/o una parte asimétrica (208, 408, 508) colocada para acoplar y desacoplar el portaobjetos (10, 102, 202, 302, 402, 502) cuando gira la manivela, y/o
(ii) un extremo de accionamiento (222) que acopla un engranaje (223), y uno o más resortes (225) colocados entre el engranaje y el extremo de accionamiento para aplicar una fuerza desde el engranaje (223) al extremo de accionamiento (222).

20 4. El módulo de procesamiento capilar de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende además al menos uno de lo siguiente:

25 a) un dispositivo de enfriamiento colocado debajo del fondo (104, 204, 304, 404, 504, 604) de la cámara fuera de la cámara (201, 301, 401, 501, 601);
b) un drenaje (326, 426, 526, 626, 726) en la cámara (201, 301, 401, 501, 601), y un mecanismo de drenaje en conexión fluida con el drenaje (326, 426, 526, 626, 726);
c) una barrera que rodea una parte del drenaje (326, 426, 526, 626, 726), en donde la barrera rodea preferentemente una parte frontal del drenaje (326, 426, 526, 626, 726) de manera que una abertura de la
30 barrera permite la entrada al drenaje (326, 426, 526, 626, 726) cuando el portaobjetos (10, 102, 202, 302, 402, 502) está en una posición hacia abajo;
d) una tapa (212, 512, 612, 710) de la cámara conectada de forma móvil a la cámara (201, 301, 401, 501, 601), en donde la tapa (212, 512, 612, 710) de la cámara es móvil entre las posiciones abierta y cerrada, y que comprende además preferentemente un puerto (547, 647) de fluido en la tapa (212, 512, 612, 710) de la cámara, y un conector (546) de puerto configurado para sellar el puerto (547, 647), siendo dicho conector (546) de puerto preferentemente un material resiliente, y opcionalmente comprendiendo además un brazo (548) del conector que tiene el conector (546) del puerto en un extremo, donde el brazo (548) del conector está configurado para mover el conector (546) del puerto dentro y fuera del puerto (547, 647);
35 e) un calefactor (213, 514, 614, 708) en la cámara (201, 301, 401, 501, 601) y/o la tapa (212, 512, 612, 710) de la cámara, en donde el calefactor (213, 514, 614, 708) comprende preferentemente vías calefactoras fabricadas con un material calefactor resistivo, cuya vías calefactoras están colocadas lo más preferentemente para definir una o más zonas calentadas (720, 740, 742, 744) y una o más zonas no calentadas (732, 733, 734, 735, 747).

45 5. El módulo de procesamiento capilar de la reivindicación 4, que comprende la tapa (512, 612), en donde la tapa (512, 612) de la cámara está fijada a un bastidor (560, 652, 653) configurado para mover la tapa (512, 612) de la cámara entre las posiciones abierta y cerrada, en donde preferentemente la tapa (512, 612) de la cámara está fijada al bastidor (560, 652, 653) por una pluralidad de elementos de fijación colocados a lo largo de un eje largo de la tapa (512, 612) de la cámara, y el bastidor (560, 652, 653) mueve la tapa (512, 612) de la cámara en un movimiento angular alrededor de un eje corto de la tapa (512, 612) de la cámara, y el elemento de fijación más cercano al eje del movimiento angular
50 fija el bastidor (560, 652, 653) a la tapa (512, 612) de la cámara al tiempo que permite una cantidad limitada de movimiento, y en donde lo más preferentemente el módulo de procesamiento capilar tiene una o más arandelas (563, 564) en las aberturas del bastidor (560, 652, 653), en donde la arandela posterior comprende una parte interior que tiene una sección transversal más pequeña que la abertura.

55 6. El módulo de procesamiento capilar de la reivindicación 4, que comprende el calefactor (213, 514, 614, 708), y que comprende además un sensor (702) de temperatura en el calefactor (213, 514, 614, 708) y que opcionalmente comprende además un controlador configurado para recibir una medición de temperatura desde el sensor (702) de temperatura y para ajustar el calefactor (213, 514, 614, 708) o un dispositivo de enfriamiento basado en la medición de temperatura.
60

7. El módulo de procesamiento capilar de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde

65 - el módulo de procesamiento capilar comprende una entrada (322) en la una o más paredes laterales (205) de la cámara; y/o
- la una o más paredes laterales (205) de la cámara están unidas al fondo (104, 204, 304, 404, 504, 604) de la

cámara por una esquina (328, 329) curvada; y/o

- la cámara (201, 301, 401, 501, 601) tiene un primer y un segundo recovecos separados por una zona de procesamiento, donde el primer recoveco tiene un vástago (106, 206, 406, 506) de la manivela dispuesto en él, y el segundo recoveco tiene un drenaje (326, 426, 526, 626, 726) dispuesto en él.

5 8. El módulo de procesamiento capilar de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde la cámara (201, 301, 401, 501, 601):

- está formada por acero inoxidable endurecido en superficie;
- 10 - comprende una o más superficies formadas a partir de la aleación de acero inoxidable SMO254; comprende una o más superficies endurecidas por *Kolesterising*;
- comprende una o más superficies que tienen un recubrimiento inerte, resistente a la corrosión; y/o
- comprende una o más superficies recubiertas con una barrera de silicio amorfo, oxígeno y carbono.

15 9. Un equipo (100) de tinción tisular, que comprende un módulo de procesamiento capilar de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.

10. El equipo (100) de tinción tisular de la reivindicación 9, que comprende además:

- 20 a) uno o más controladores conectados al módulo de procesamiento capilar, en donde el uno o más controladores están preferentemente (i) configurados o programados para el funcionamiento de la manivela, una tapa (212, 512, 612, 710) de la cámara, una bomba (5), uno o más calefactores (213, 514, 614, 708), y/o un dispositivo de enfriamiento y/o (ii) comprenden, o están configurados, para recibir e implementar, uno o más programas informáticos para procesar un portaobjetos (10, 102, 202, 302, 402, 502) con un protocolo de tinción de portaobjetos;
- 25 b) un pipeteador para dispensar fluidos, en donde el módulo de procesamiento capilar comprende preferentemente una entrada en una o más paredes laterales (205) de la cámara, en donde la entrada está adaptada para recibir fluido del pipeteador;
- c) un brazo robótico para sujetar y mover un portaobjetos (10, 102, 202, 302, 402, 502);
- 30 d) uno o más viales de reactivo;
- e) un equipo para almacenar y/o mover viales de reactivo.

11. Un método para procesar una muestra biológica en un portaobjetos (10, 102, 202, 302, 402, 502), que comprende:

- 35 colocar un portaobjetos (10, 102, 202, 302, 402, 502) en un módulo de procesamiento capilar de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8; y
- girar la manivela para subir o bajar una parte del portaobjetos (10, 102, 202, 302, 402, 502), en donde se forma un espacio capilar entre el fondo (104, 204, 304, 404, 504, 604) de la cámara y el portaobjetos (10, 102, 202, 302, 402, 502) cuando el portaobjetos (10, 102, 202, 302, 402, 502) está en una posición hacia abajo.

40 12. El método de la reivindicación 11, en donde la manivela sube o baja un primer extremo del portaobjetos (10, 102, 202, 302, 402, 502), mientras que un segundo extremo del portaobjetos (10, 102, 202, 302, 402, 502) permanece en el fondo (104, 204, 304, 404, 504, 604) de la cámara o en un soporte (117, 118) del portaobjetos dispuesto en el fondo (104, 204, 304, 404, 504, 604) de la cámara.

45 13. El método de la reivindicación 11 o la reivindicación 12, en donde el primer extremo del portaobjetos (10, 102, 202, 302, 402, 502) está subido de manera que una superficie del portaobjetos (10, 102, 202, 302, 402, 502) y el fondo (104, 204, 304, 404, 504, 604) de la cámara forman un ángulo de entre aproximadamente 0,1 grados y aproximadamente 25 grados.

50 14. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13, que comprende además:

- suministrar una cantidad de un primer fluido al fondo (104, 204, 304, 404, 504, 604) de la cámara, preferentemente
- 55 suministrar aproximadamente 2000 µl o menos del primer fluido;
- extender el primer fluido sobre una zona de procesamiento del portaobjetos (10, 102, 202, 302, 402, 502) por fuerza capilar; y
- subir el portaobjetos (10, 102, 202, 302, 402, 502) girando la manivela, en donde el primer fluido se extrae de la zona de procesamiento debido a la subida del portaobjetos (10, 102, 202, 302, 402, 502),
- 60 así como opcionalmente (i) subir y bajar reiteradamente el portaobjetos (10, 102, 202, 302, 402, 502) girando la manivela, para que el primer fluido se extraiga y se extienda, tal como para mezclar el fluido, impedir el agotamiento local de un reactivo, y/o mover o eliminar burbujas, y/o (ii) retirar el primer fluido del módulo de procesamiento capilar a través de un drenaje (326, 426, 526, 626, 726) subiendo y/o bajando el portaobjetos (10, 102, 202, 302, 402, 502) girando la manivela, y accionando un mecanismo para proporcionar una succión en el drenaje (326, 426, 526, 626, 726), en donde el portaobjetos (10, 102, 202, 302, 402, 502) se baja preferentemente antes de finalizar
- 65 la retirada del primer fluido a través del drenaje (326, 426, 526, 626, 726).

15. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 11 a 14, en donde el portaobjetos (10, 102, 202, 302, 402, 502) tiene una primera y una segunda superficie principal del portaobjetos, y una muestra está fijada a la primera superficie principal del portaobjetos, y el método comprende además introducir el portaobjetos (10, 102, 202, 302, 402, 502) en la cámara (201, 301, 401, 501, 601) de tal manera que la primera superficie principal del portaobjetos que
5 tiene la muestra, esté orientada hacia el fondo (104, 204, 304, 404, 504, 604) de la cámara.

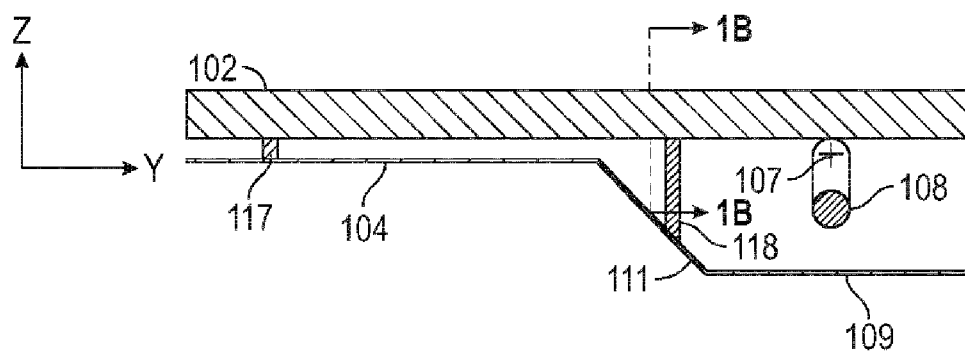


FIG. 1A

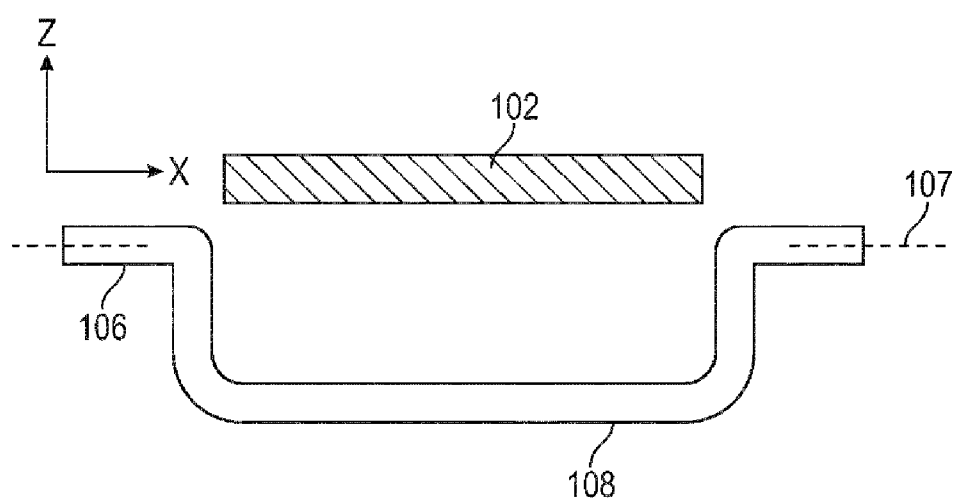


FIG. 1B

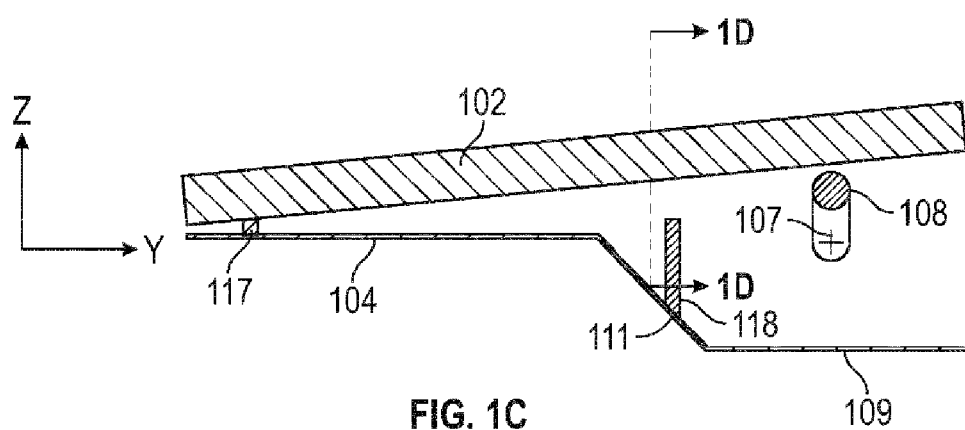


FIG. 1C

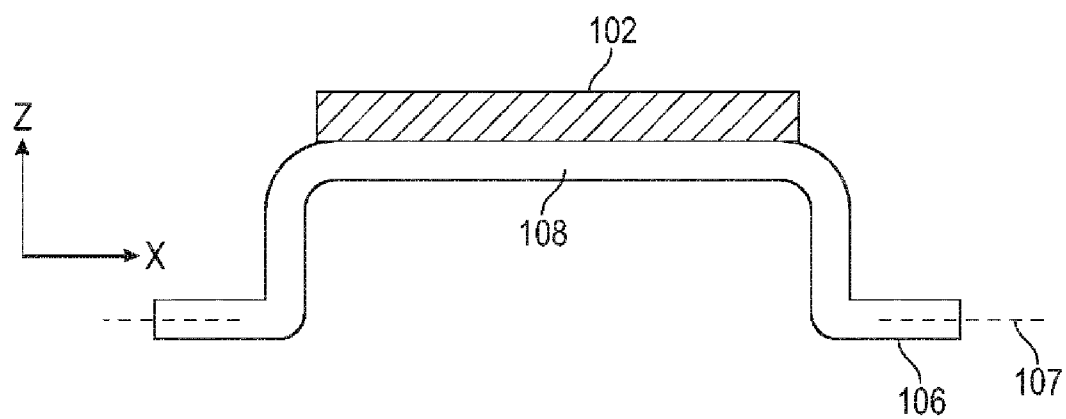


FIG. 1D

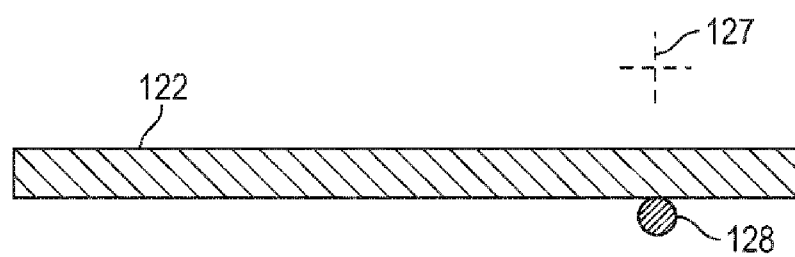


FIG. 2A

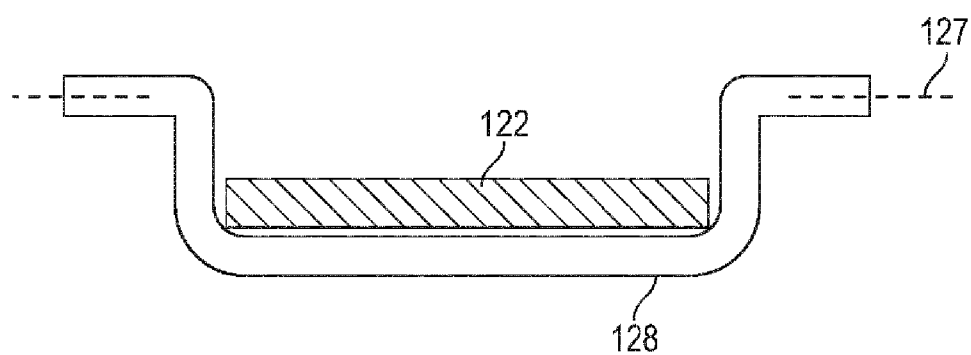


FIG. 2B

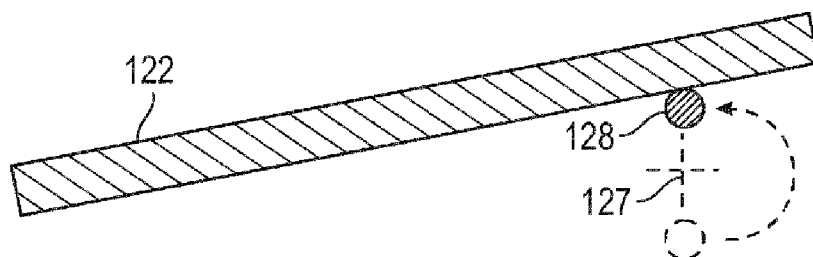


FIG. 2C

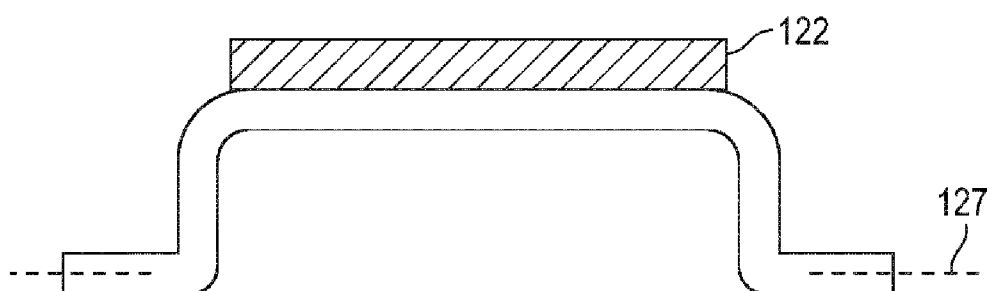


FIG. 2D

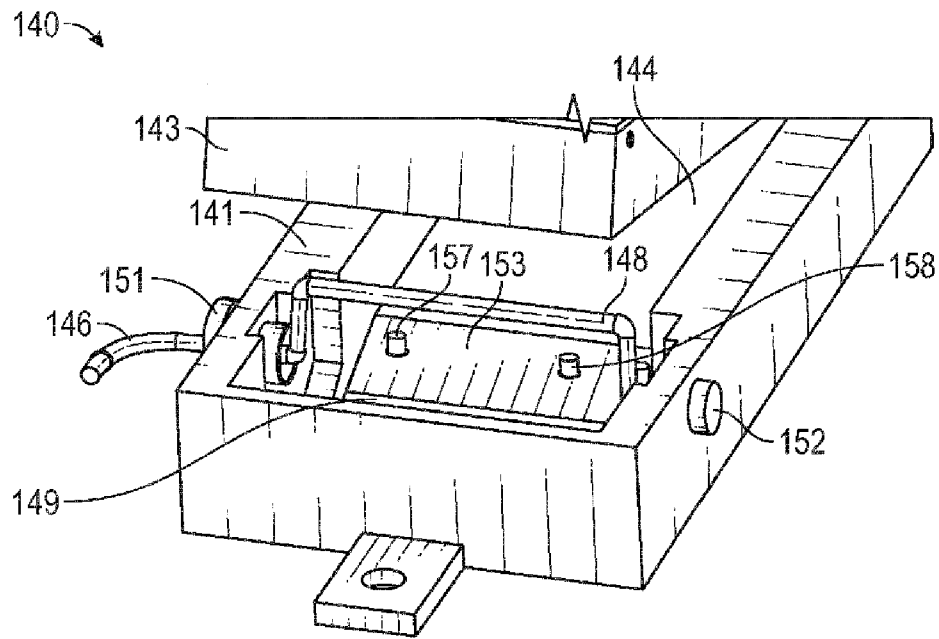


FIG. 3

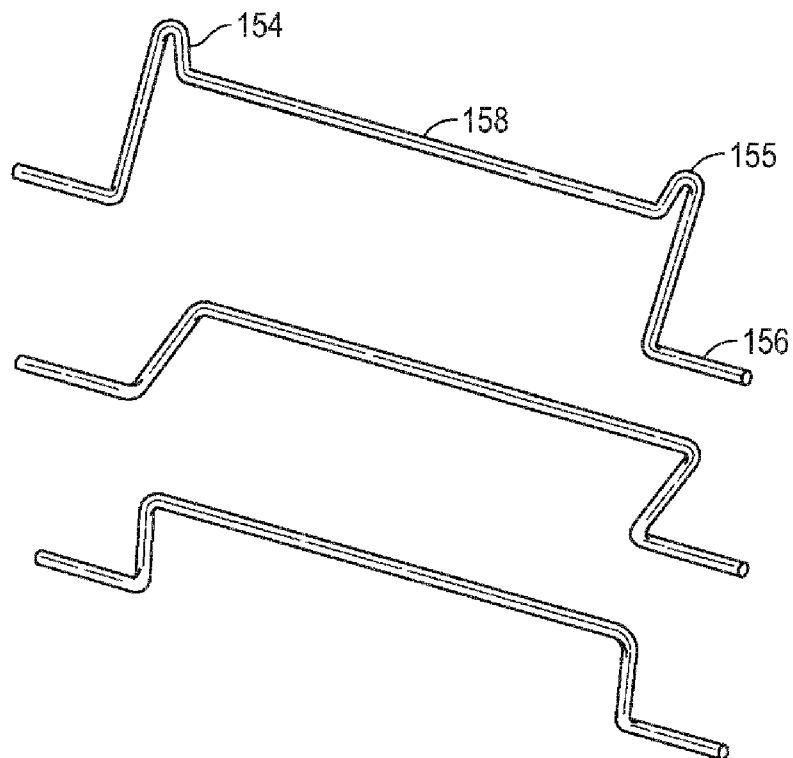


FIG. 4

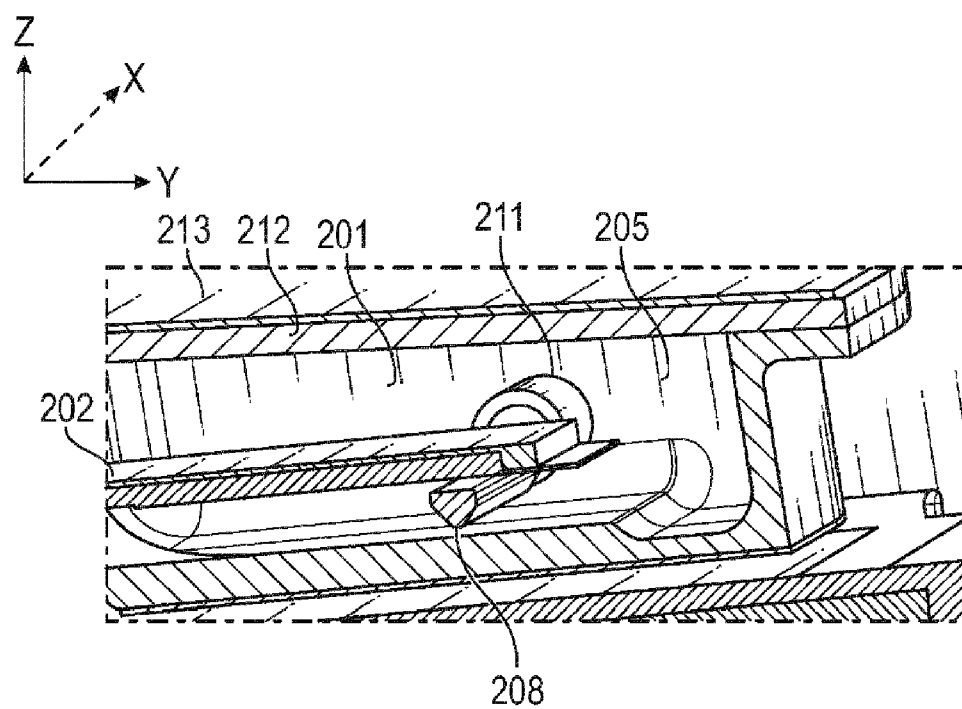


FIG. 5A

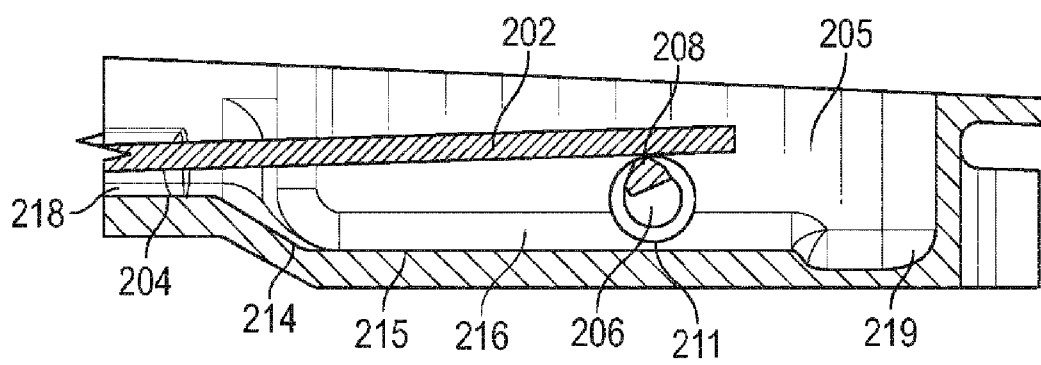


FIG. 5B

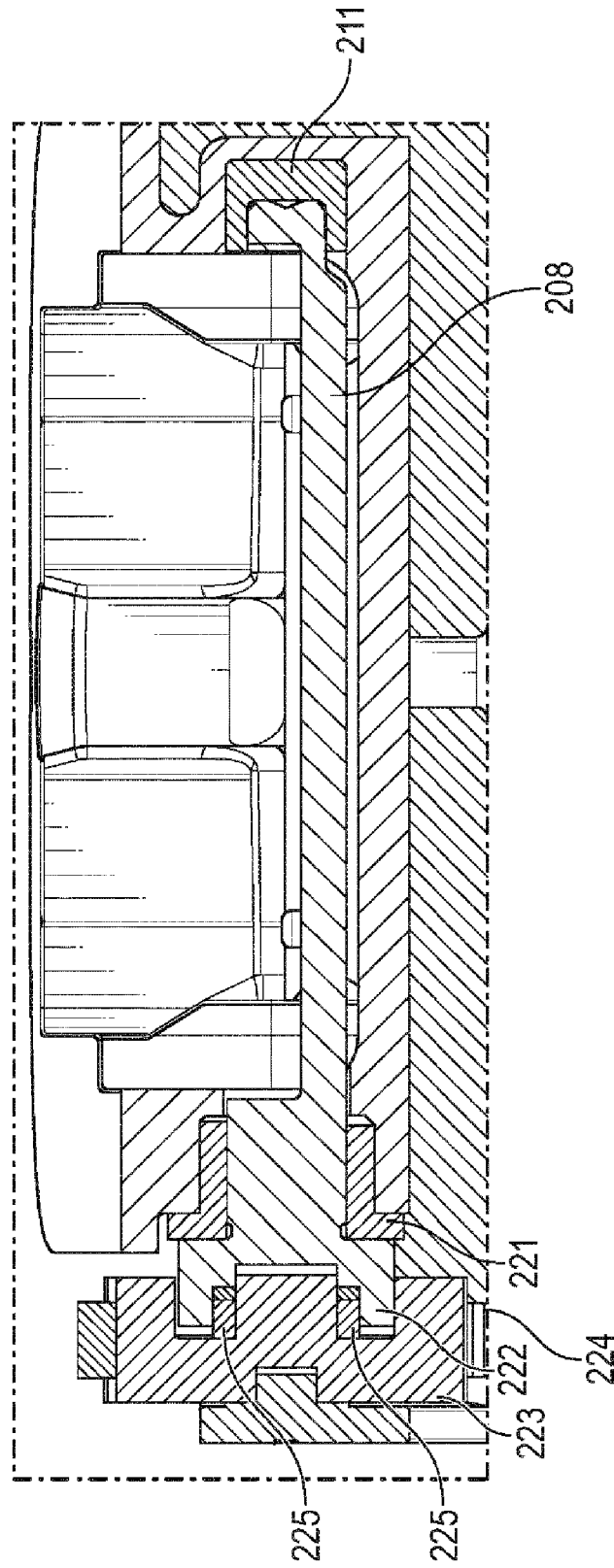


FIG. 5C

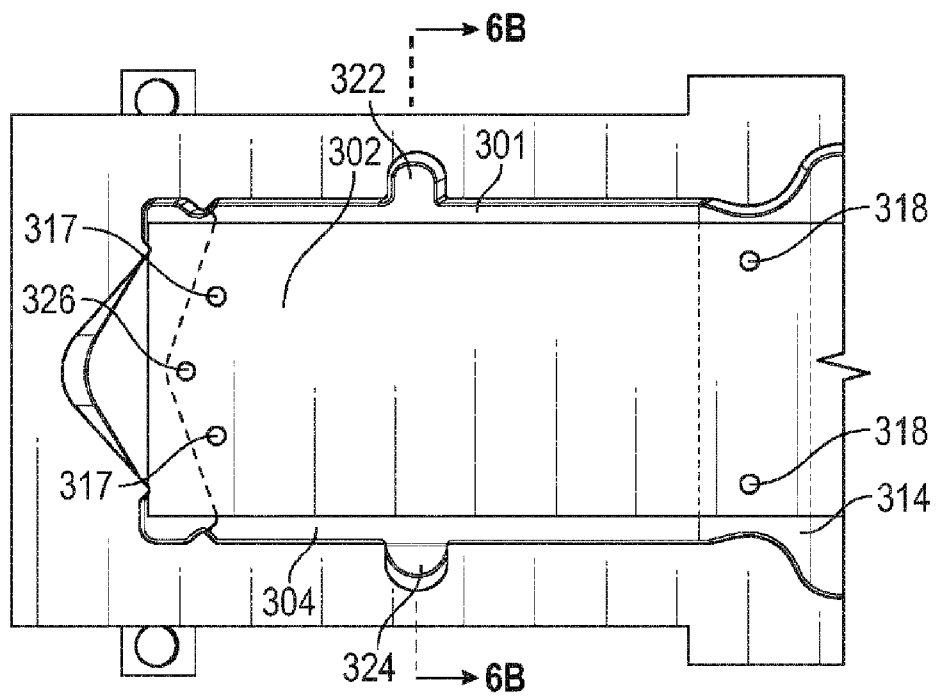


FIG. 6A

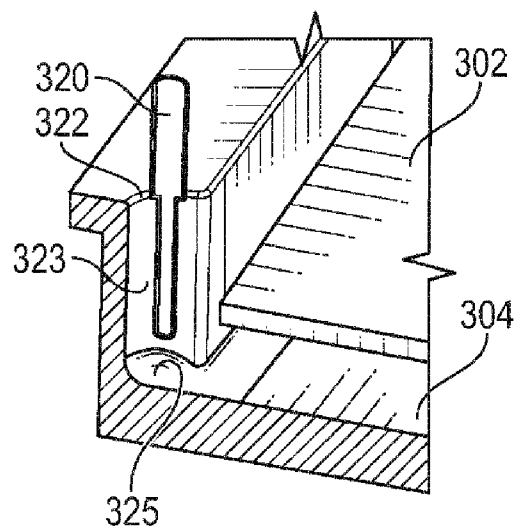


FIG. 6B

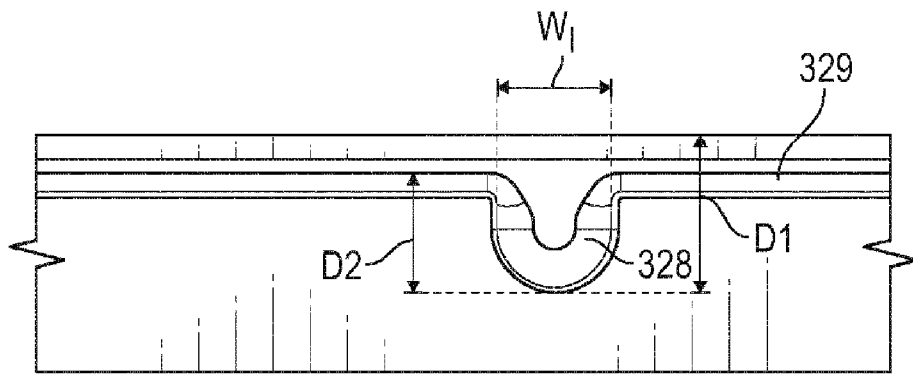


FIG. 6C

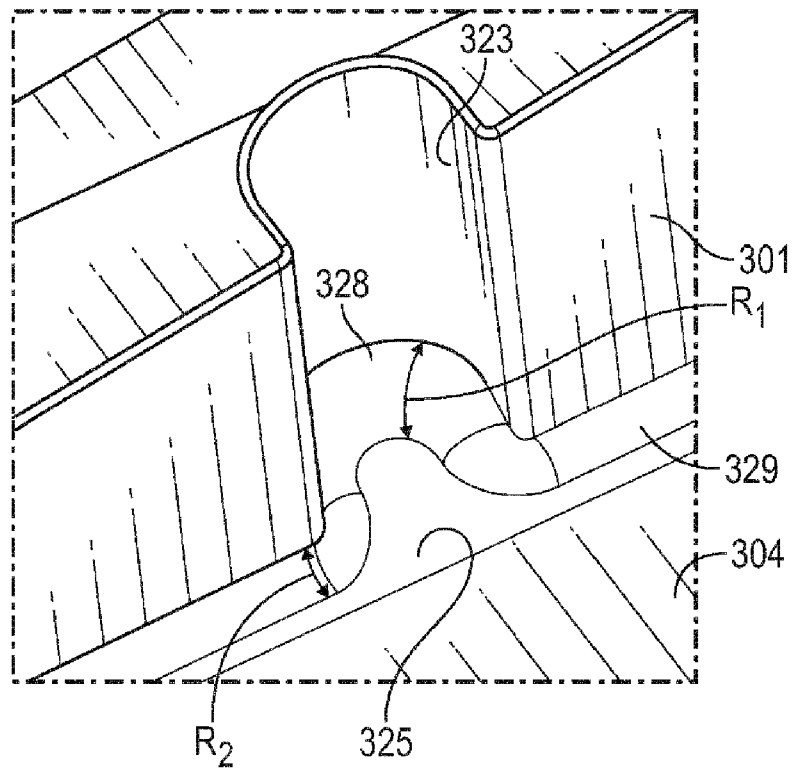


FIG. 6D

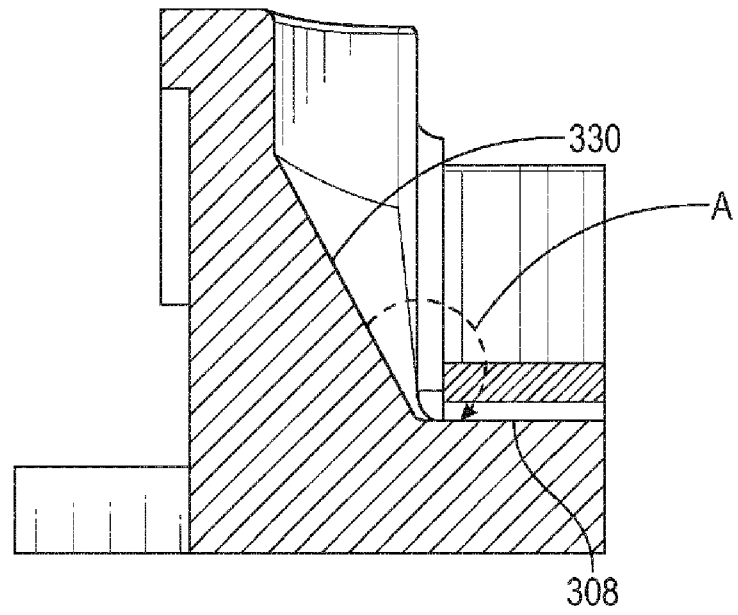


FIG. 6E

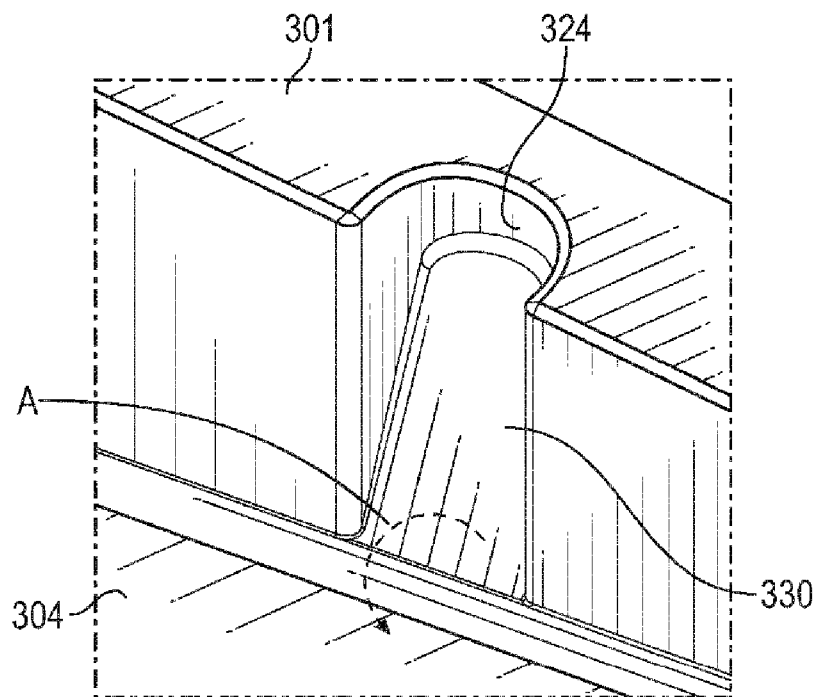
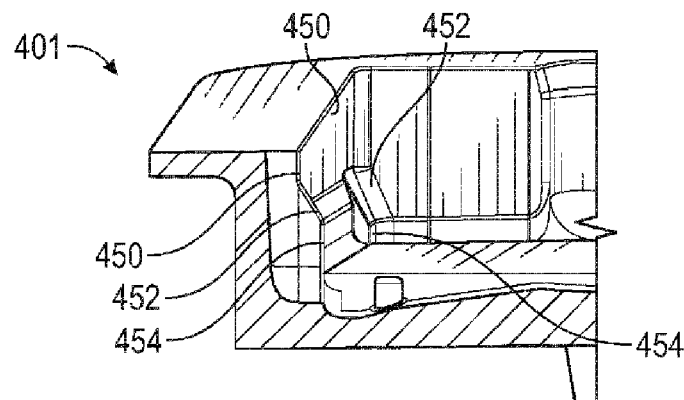
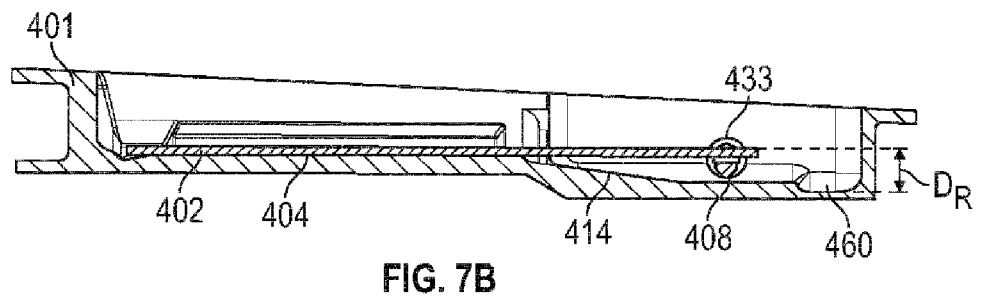
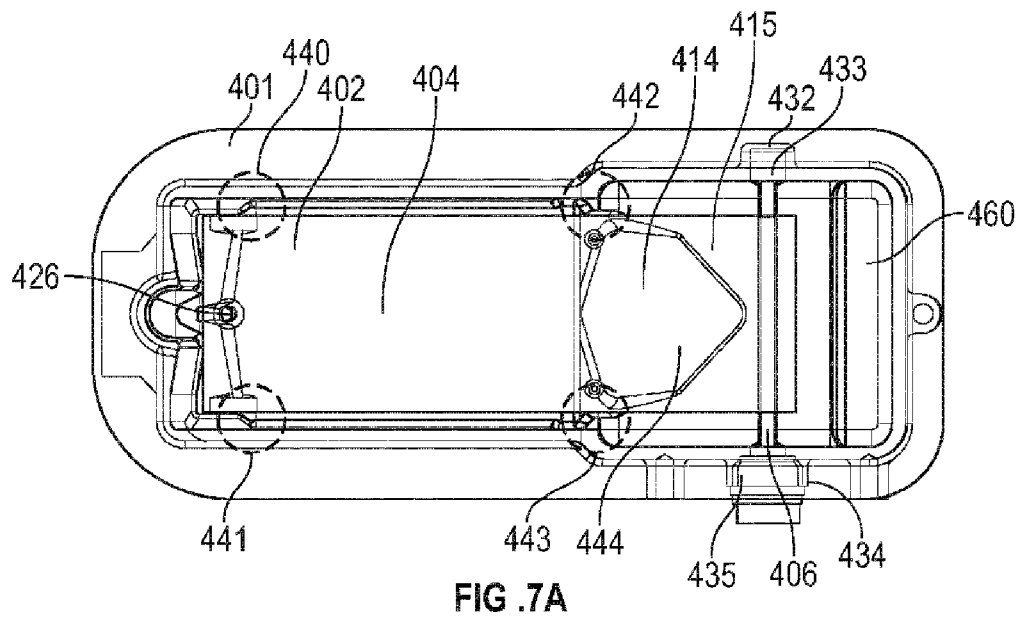


FIG. 6F



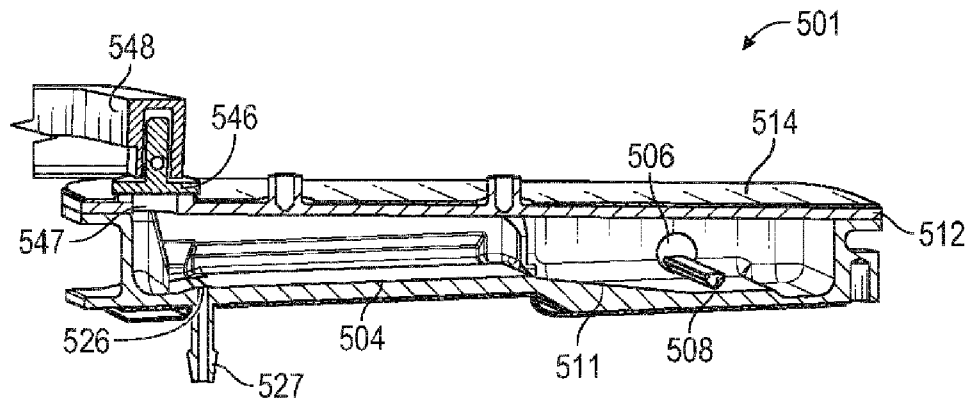


FIG. 8A

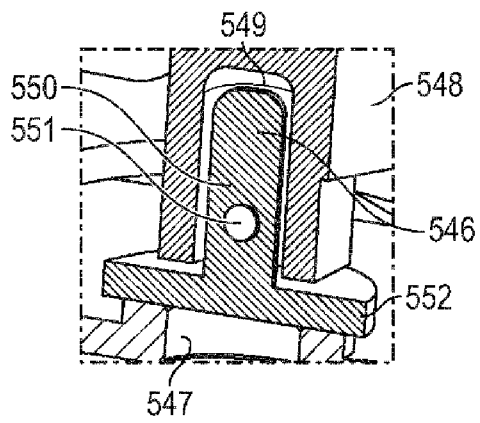


FIG. 8B

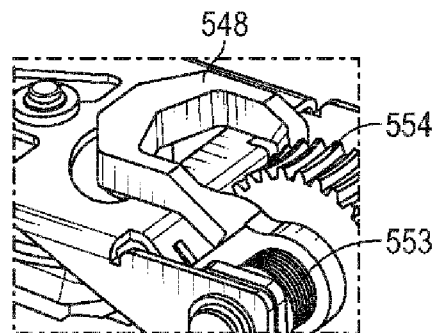


FIG. 8C

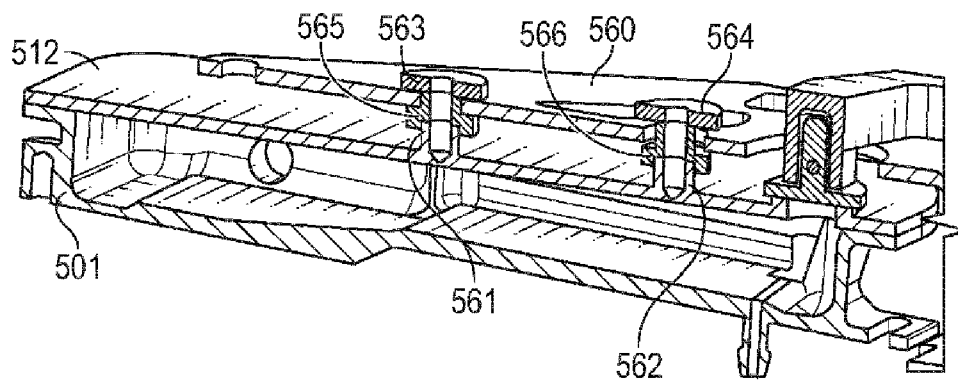


FIG. 9A

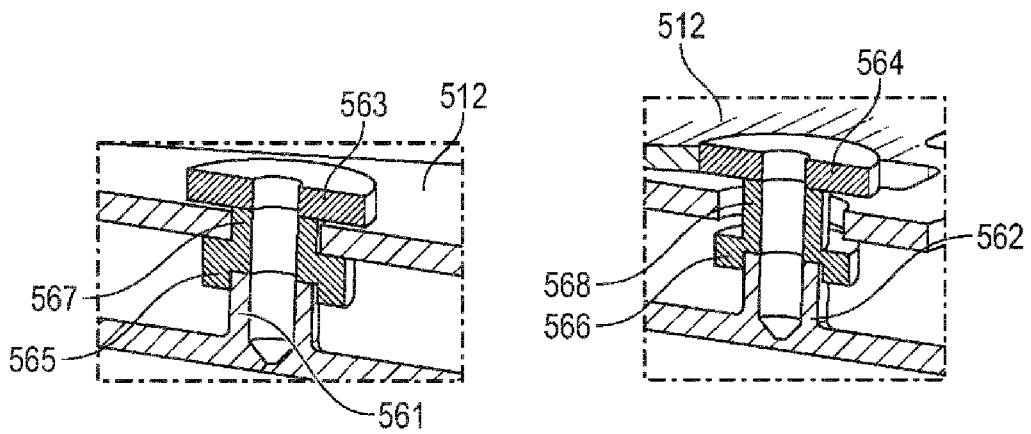


FIG. 9B

FIG. 9C

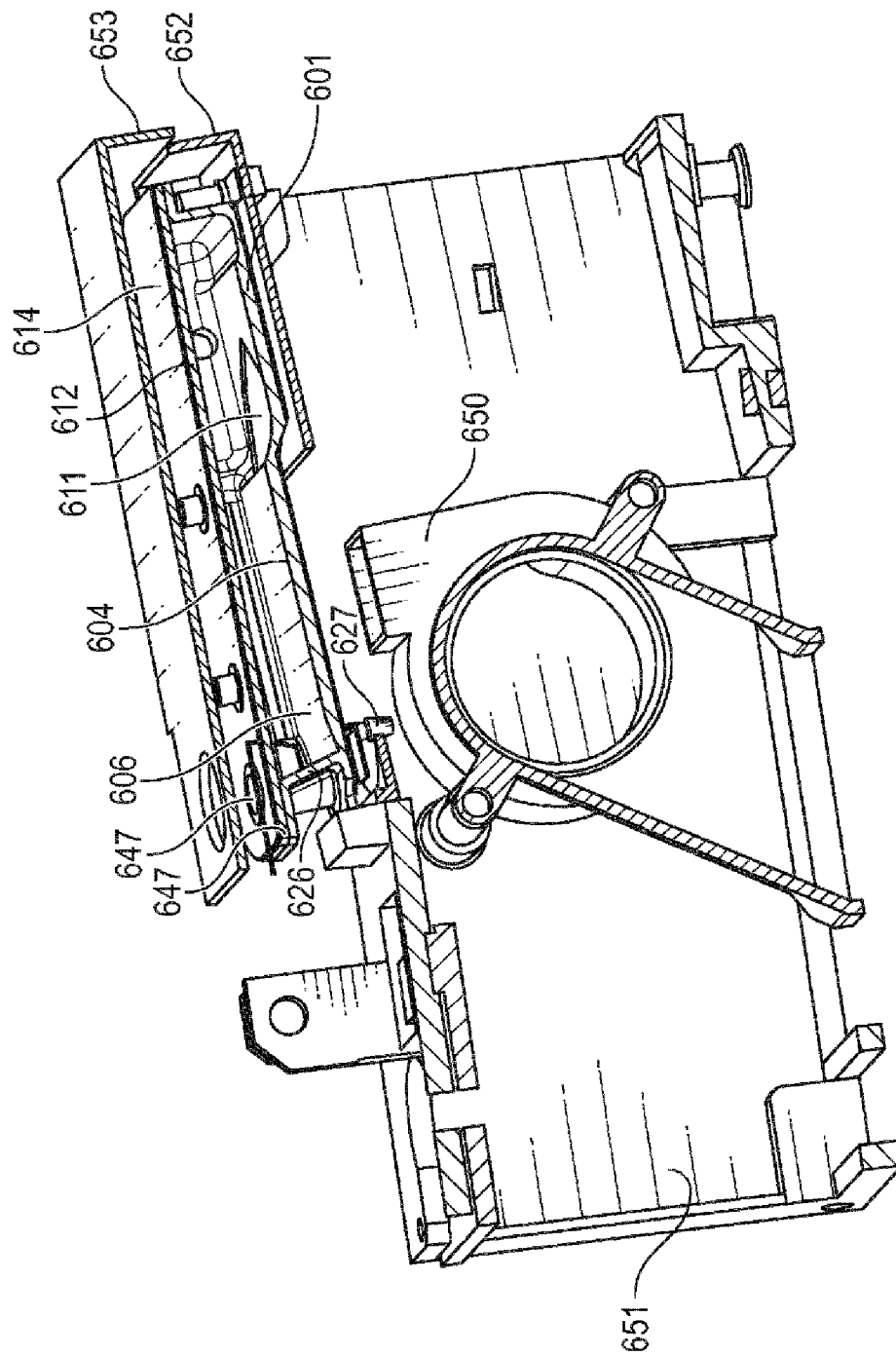


FIG. 10

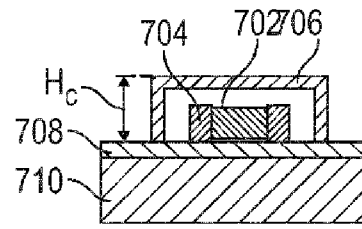


FIG. 11

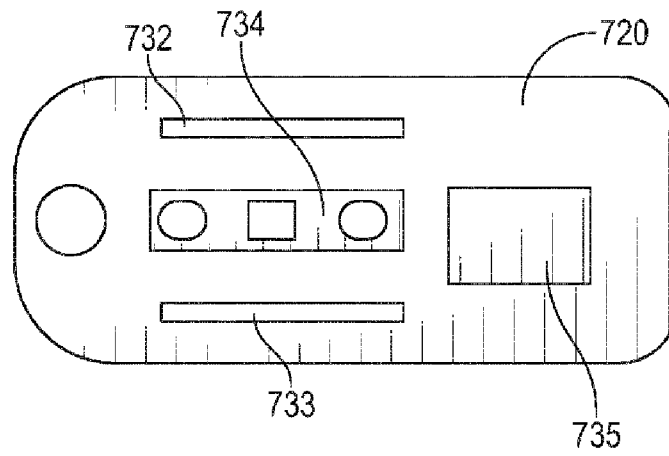


FIG. 12

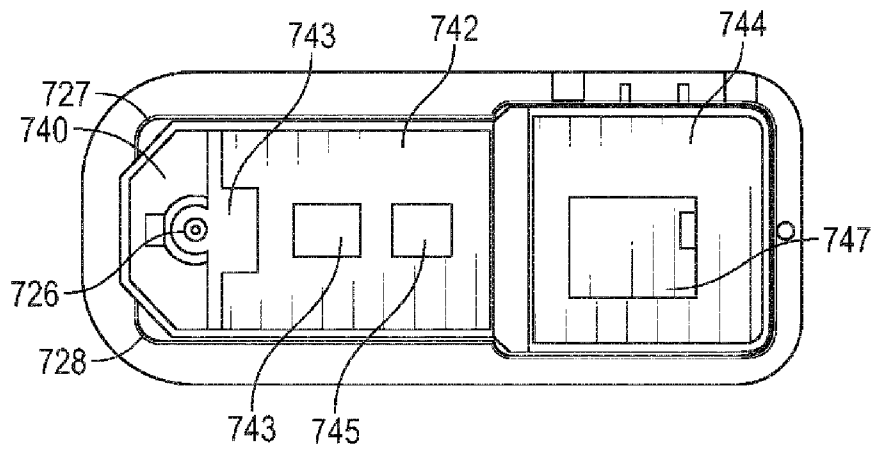


FIG. 13

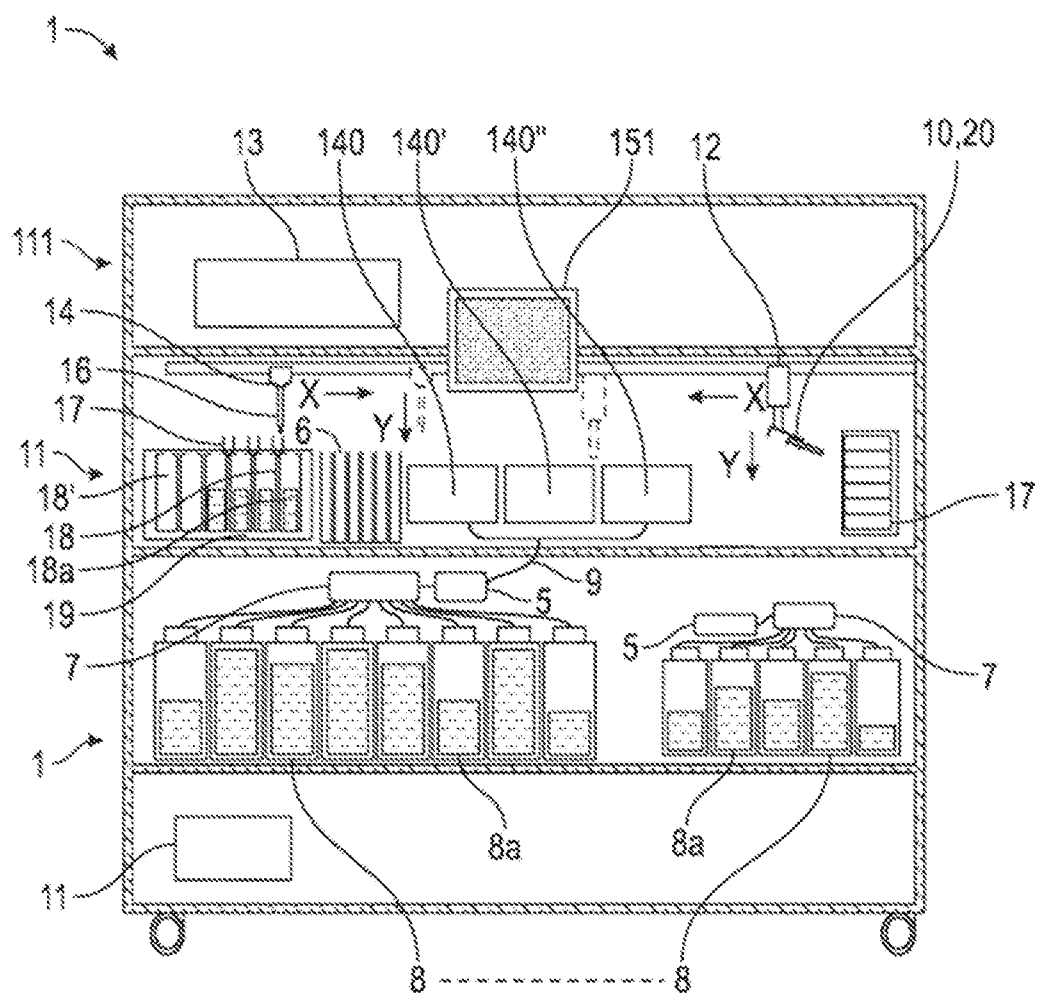


FIG. 14