

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 919 135**

51 Int. Cl.:

C12M 1/33 (2006.01)
G01N 1/38 (2006.01)
G01N 1/28 (2006.01)
B01L 3/00 (2006.01)
A61B 10/00 (2006.01)
C12M 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.05.2015** **PCT/CA2015/050434**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.11.2015** **WO15172250**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.05.2015** **E 15792173 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.03.2022** **EP 3146307**

54 Título: **Dispositivo para recoger, transportar y almacenar biomoléculas de una muestra biológica y método correspondiente**

30 Prioridad:

14.05.2014 US 201461992993 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.07.2022

73 Titular/es:

DNA GENOTEK INC. (100.0%)
3000-500 Palladium Drive
Kanata, Ontario K2V 1C2, CA

72 Inventor/es:

JACKSON, ADELE;
ACERO, MARIA MERCEDES;
DOUKHANINE, EVGUENI VLADIMIROVITCH;
IWASIOW, RAFAL MICHAL;
MERINO HERNANDEZ, CARLOS ALBERTO;
BIRNBOIM, H. CHAIM y
LIBERTY, JONATHAN D.

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 919 135 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

Dispositivo para recoger, transportar y almacenar biomoléculas de una muestra biológica y método correspondiente

Campo

- 5 La presente solicitud se refiere al campo de la recogida y del almacenamiento de material biológico. Más particularmente, la presente solicitud se refiere a un dispositivo para recoger, transportar y almacenar biomoléculas de una muestra biológica, tal como heces.

Antecedentes

- 10 Existen diversos medios y dispositivos que han sido desarrollados para la recogida, el transporte y el análisis de muestras biológicas. Muchas de dichas muestras son muestras de heces obtenidas a partir de seres humanos u otras especies de mamíferos. Las heces son un tipo de muestra útil, no invasivo, que puede usarse para diversos exámenes biológicos, tales como prueba de detección de parásitos y prueba de sangre oculta en heces (FOBT); ambas de las cuales se usan para diagnosticar la patología gastrointestinal (GI) aguda. Sin embargo, hay cada vez más evidencias científicas que sugieren que el examen del ácido nucleico en el interior de la flora microbiana del tracto gastrointestinal humano puede proporcionar detalles tanto de la aparición como del progreso de diversas enfermedades y trastornos en los seres humanos. Estos abarcan desde la obesidad y otros trastornos metabólicos (Korecka & Arulampalam 2012) hasta patologías neurológicas (Culligan et al. 2013) y cáncer colorrectal (CRC, Cole et al. 2003; Osborne et al. 2012).

- 20 Los bebés humanos nacen prácticamente sin microbiota intestinal, a pesar de la presencia de diversos microorganismos en el líquido amniótico (DiGiulio et al. 2008). Las primeras muestras de heces producidas por los bebés después del nacimiento tienen baja densidad microbiana (Palmer et al. 2007). Los microbios presentes en el intestino de bebés son inestables entre el primer año y los tres años de edad, después de lo cual la diversidad de especies empieza a parecerse a la observada en un tracto gastrointestinal adulto (Kostic et al. 2013; Palmer et al. 2007), cuando la cavidad intestinal está poblada por billones de microbiota. A lo largo del siglo pasado y, en particular, en las últimas dos décadas, se ha hecho cada vez más evidente que los microbios en el interior del tracto gastrointestinal humano son necesarios para una amplia diversidad de procesos esenciales para la salud humana (Evans et al. 2013; Korecka & Arulampalam 2012). Por ejemplo, una de las principales contribuciones de la flora intestinal para los seres humanos es la producción de ácidos grasos de cadena corta, los cuales son una importante fuente de energía (Evans et al. 2013). De esta manera, la adquisición de la flora intestinal es una parte esencial de un desarrollo normal (Kostic et al. 2013). Con el fin de aclarar tanto la identidad como las funciones específicas de las especies microbianas presentes en el tracto gastrointestinal, una gran parte de la investigación se ha centrado en el análisis metagenómico (la evaluación del material genético total (ADN y ARN) del conjunto de la microbiota presente. Se hace referencia comúnmente al metagenoma de la microbiota como "microbioma").

- 35 La primera etapa en el análisis metagenómico es la adquisición de una muestra que sea representativa de todo el entorno microbiano y que permita el aislamiento del ADN/ARN metagenómico total. Por lo tanto, los métodos y los dispositivos usados para recoger y, posteriormente, transportar las muestras de heces deberían proporcionar una muestra consistente, medible, deberían conservar el perfil heterogéneo de los organismos representados por el microbioma y deberían minimizar el riesgo de la contaminación para el usuario.

- 40 En la práctica estándar actual, el donante usa un pequeño frasco o un recipiente similar para recoger la muestra de heces completa; este mismo recipiente se usa para el almacenamiento y el transporte. Con el fin de conservar la muestra, y por extensión la microbiota y el microbioma, la muestra completa en el interior de este recipiente se empaqueta en una caja más grande y se mantiene congelada en hielo seco (-78°C) durante su almacenamiento y transporte a las instalaciones centrales antes del aislamiento de los ácidos nucleicos. Aunque la recogida de la muestra es sencilla desde el punto de vista del donante, el mantenimiento de estas muestras congeladas desde el momento de recogida es lógicamente inconveniente y posiblemente supone un coste prohibitivo para el investigador. Además, desde la perspectiva del investigador, la obtención de una muestra secundaria de un tamaño consistente a partir de estas muestras recogidas requiere descongelar las mismas y una etapa de transferencia potencialmente engorrosa o desagradable. De esta manera, un dispositivo y/o un método de recogida que eliminen la necesidad del almacenamiento congelado y que permitan una recogida de muestras cuantitativa y un transporte postal simplificado, mientras mantienen la facilidad de uso para el donante, supondrían una importante mejora en el campo.

- 50 Es importante señalar que los métodos más rentables, tales como la recogida con cepillo/hisopo o la transferencia a un recipiente más pequeño, no solo pueden ser inadecuados para la recogida de muestras de calidad adecuada para su uso en un análisis metagenómico de la microbiota, sino que pueden añadir además una complejidad no deseada tanto para el donante como para el investigador. Debido a la naturaleza necesariamente privada de la producción de la materia fecal, la recogida de dichas muestras es realizada típicamente por el donante, el cual probablemente no está familiarizado con los detalles de una recogida de muestras apropiada.

- 55 Además, los aspectos desagradables de las heces (en particular el olor y la posibilidad de transmisión de organismos infecciosos) resulta frecuentemente en una reticencia o una incapacidad de manipular la muestra. Incluso en el contexto de un diagnóstico temprano de enfermedades potencialmente mortales, tales como cáncer colorrectal, la

participación en la donación de heces puede ser bastante baja, especialmente si se requieren etapas complejas (Cole et al. 2003; Osborne et al. 2012).

Con el fin de superar algunas de estas dificultades se han descrito diversos dispositivos y métodos para la recogida y el transporte de las heces. Muchos de estos están destinados específicamente a facilitar las pruebas de detección de parásitos o la FOBT, cuyas características típicamente excluyen su uso en un análisis metagenómico de la microbiota fecal. Por ejemplo, en la prueba de detección de parásitos, el objetivo es colar la materia fecal (y finalmente descartar la misma) con el fin de retener y examinar cualquier huevo, larvas o parásitos adultos (típicamente lombrices intestinales) que pueda haber presentes. En términos de FOBT, una prueba común usada en la detección del cáncer colorrectal, la prueba de guayacol (por ejemplo, Hemoccult®) consiste en la aplicación de un frotis de heces a una almohadilla de papel y dejar que se seque al aire. El tracto gastrointestinal inferior de los seres humanos está poblado principalmente por Bacteroides y Firmicutes, familias microbianas compuestas principalmente por especies anaerobias obligadas (Korecka & Arulampalam 2012), para los cuales una exposición prolongada al oxígeno es tóxica. De esta manera, las muestras de heces recogidas mediante este método no pueden proporcionar una representación exacta del microbioma.

Varios sistemas de recogida/transporte de heces que no tienen las desventajas indicadas anteriormente implican un tubo principal y un recogedor con forma de palo o una cuchara (que puede estar integrado o no con una tapa) y un líquido contenido en el tubo principal. Uno de dichos dispositivos de recogida descrito en el documento US 8.556.826 consiste en un recogedor de muestras de heces que tiene características delicadas, similares a un cepillo o a un palo. Con el fin de obtener una muestra, el recogedor de muestras de heces se inserta en una muestra de heces, permitiendo que la materia fecal se adhiera a las características finas del recogedor. A continuación, el recogedor se inserta en la parte de tubo principal (cuerpo de botella) que contiene un líquido diluyente. El usuario sella la tapa superior en el cuerpo de la botella y agita el cuerpo de la botella para mezclar la muestra con el líquido diluyente antes de acceder a la mezcla de heces-diluyente. Aunque la presente invención permite la recogida de una muestra de heces más pequeña, el uso contemplado es la observación mediante microscopio de la muestra de heces diluida o un análisis con un papel reactivo. La invención no permite la recogida de una muestra de heces de un tamaño cuantitativamente uniforme, una característica que permitiría realizar una comparación más fiable de los datos.

Además, las muestras de heces pueden ser altamente variables, tanto en un único individuo como entre individuos, abarcando desde heces caprinas (Tipo 1), hasta semisólidas blandas (Tipo 4) o hasta completamente líquidas (Tipo 7) (denominada "Escala de Bristol", Heaton et al. 1992; Lewis & Heaton 1997). Las características con forma de cepillo/palo pueden limitar la capacidad de recoger muestras de heces más duras, caprinas, y el hecho de que el mezclado dependa solo de la turbulencia del fluido puede conducir a una fragmentación ineficaz y, finalmente, a muestras no homogéneas. Además, la función del líquido en este caso es únicamente la de diluir la muestra y no la de conservar las biomoléculas, tales como ADN y ARN. Esto es una limitación significativa debido a que las estrategias de recogida de muestras pueden tener un gran impacto sobre el microbioma, y pueden observarse diferencias metagenómicas medibles después de tan solo 20 minutos (Couch et al. 2013). En los estudios del microbioma, la obtención de una imagen exacta de la microbiota presente en el momento de la recogida es fundamental.

Un segundo tipo de recogedor de muestras de heces descrito en el documento US 8.623.665 divulga un sistema que comprende un recipiente, un recogedor (con un filtro de ajuste a presión opcional) y una tapa. El usuario primero recoge la muestra de heces con el recogedor (que puede tener forma de cuchara, hisopo, tenedor, etc.), fija el filtro, si está siendo usado, y finalmente, la muestra y el recogedor se insertan en el recipiente y el recipiente se cierra con la tapa antes de enviarlo al laboratorio de análisis, donde se añade un fluido de procesamiento. Al transportar la muestra de heces al laboratorio de análisis antes de la introducción del fluido de procesamiento, la integridad de la muestra puede verse comprometida, tal como se ha descrito anteriormente. Además, con respecto a muestras del tipo 1, existe también riesgo de desecación en el recipiente antes del procesamiento, lo que puede dificultar la fragmentación de la muestra con el fluido de procesamiento, una etapa que es necesaria para garantizar que toda la muestra (y el metagenoma asociado) esté disponible para su análisis.

De nuevo, en este ejemplo, no es posible recoger de manera reproducible una muestra de una cantidad definida, ni hay ningún medio de conservación. Una complicación adicional es el transporte de la muestra en el recipiente, que se sella con una tapa a presión. Es posible que dicha tapa no plantee ningún problema con las muestras más duras similares a heces caprinas (Tipo 1); sin embargo, hay un riesgo considerable de fuga con las muestras del Tipo 5-7. Cuya consecuencia es la contaminación de la parte exterior del recipiente de recogida y la posible propagación de la infección.

El documento US2004/018120 divulga un dispositivo de recepción de muestras para recoger y preparar una muestra para el posterior análisis de un analito particular. El dispositivo incluye un conjunto de recogida de muestras para recoger una muestra, un cuerpo homogeneizador para triturar la muestra y un recipiente con un tampón.

A la luz de los ejemplos anteriores, es claramente evidente que existe una necesidad de un dispositivo y un método que permitan la recogida reproducible de una cantidad definida de muestra biológica con el fin de realizar un análisis de biomoléculas. La presente invención aborda estas cuestiones y facilita la fragmentación rápida y completa de la muestra y la subsiguiente homogeneización de la muestra con unos medios de conservación, mientras proporciona un transporte y un almacenamiento sin fugas. Además, según la invención, la recogida de la muestra puede realizarse

de una manera cómoda y fácil para que el donante la realice en privado sin riesgo de contaminación. Finalmente, el método y el dispositivo proporcionan una muestra de alta calidad, estable, que se transporta fácilmente de una manera rentable.

Sumario

- 5 La invención se establece en las reivindicaciones adjuntas.

Breve descripción de las figuras

Para una mejor comprensión de la presente invención, así como de otros aspectos y características adicionales de la misma, se hace referencia a la siguiente descripción que debe ser usada junto con los dibujos adjuntos, en los que:

La Figura 1 muestra un tubo ejemplar según la presente invención.

- 10 La Figura 2 muestra una vista lateral del tubo de la Figura 1.

La Figura 3 muestra el tubo de la Figura 1 que contiene una bola de rodamiento.

La Figura 4 muestra una base del tubo de la Figura 1.

- 15 La Figura 5 muestra una tapa según la presente invención. La Figura 5a muestra una vista lateral de una realización; la Figura 5b muestra una vista superior en ángulo de la realización en la Figura 5a; la Figura 5c muestra una vista superior de una realización diferente; la Figura 5d muestra una vista inferior de la realización de las Figuras 5a y b; la Figura 5e muestra una sección transversal de la realización en la Figura 5a.

La Figura 6 muestra una sección transversal de un elemento de empuje de una tapa de la Figura 5.

Las Figuras 7a a c muestran una sección transversal de un dispositivo de la presente invención montado, con una vista aumentada de la conexión entre la tapa y el fragmentador volumétrico.

- 20 La Figura 8 muestra un fragmentador volumétrico según la presente invención. La Figura 8a muestra una vista superior y la Figura 8b muestra una vista inferior. La Figura 8c muestra una vista superior de una realización diferente del fragmentador volumétrico.

Las Figuras 9a-d muestran diversas vistas de miembros de fragmentación ejemplares de la presente invención.

- 25 La Figura 10 muestra varias vistas de una realización del dispositivo de la presente invención montado. La Figura 10a muestra una vista en despiece; las Figuras 10b y c muestran una vista inferior y una vista superior, respectivamente.

Descripción detallada

- 30 La presente divulgación proporciona un dispositivo de recepción de muestras diseñado para facilitar una recogida, un almacenamiento y un transporte cómodos de muestras biológicas, tales como heces. El dispositivo es particularmente ventajoso en el sentido de que permite que un usuario recoja una cantidad deseada de muestras y conserve y almacene las biomoléculas contenidas en la misma. Opcionalmente, el dispositivo puede usarse con una composición para conservar y estabilizar las biomoléculas contenidas en el mismo, tales como ácidos nucleicos.

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen los mismos significados que entendería comúnmente una persona experta en la materia a la que pertenece la presente invención.

- 35 Tal como se usa en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones, las formas singulares "un", "una" y "el", "la" incluyen referencias plurales, a menos que el contexto dicte claramente lo contrario.

La expresión "que comprende", tal como se usa en el presente documento, se entenderá en el sentido de que la lista que sigue a dicha expresión no es exhaustiva y puede incluir o no cualquier otro elemento adecuado adicional, por ejemplo, una o más características, componentes y/o ingredientes adicionales, según sea apropiado.

- 40 Tal como se usa en el presente documento, una "biomolécula" incluye moléculas biológicas y puede incluir moléculas tales como ácidos nucleicos o proteínas, por ejemplo.

- 45 Tal como se usa en el presente documento, una "muestra biológica" es cualquier espécimen que potencialmente contiene una sustancia de interés, en particular un ácido nucleico y opcionalmente una proteína u otras biomoléculas de interés. El término "muestra" puede abarcar una solución, tal como una solución acuosa, célula, tejido, biopsia, polvo o población de uno o más de los mismos. La muestra puede ser una muestra biológica, tal como saliva, esputo, muestra de hisopado bucal, suero, plasma, sangre, capa leucocitaria, hisopado o secreciones nasales/faríngeo nasales o sinusales, hisopados o raspados faríngeos, orina, mucosidad, heces/sustancias fecales/excrementos, hisopados rectales, hisopados de lesión, quimo, vómito, jugos gástricos, jugos pancreáticos, fluidos o sólidos del tracto gastrointestinal (GI), semen/esperma, hisopados y secreciones uretrales, líquido cefalorraquídeo, productos de

- lactancia o de menstruación, yema de huevo, líquido amniótico, humor acuoso, humor vítreo, secreciones o hisopados cervicales, fluidos/secreciones/hisopados o raspados vaginales, muestras y aspirados de médula ósea, líquido y efusiones pleurales, sudor, pus, lágrimas, linfa, lavado o aspirados bronquiales o pulmonares, efusiones peritoneales, cultivos celulares y suspensiones celulares, bacterias, virus, hongos, tejido conectivo, epitelio, hisopados y frotis epiteliales, membrana mucosa, tejido muscular, tejido placentario, biopsias, exudados, tejidos de órganos, tejido nervioso, cabello, piel o uñas, en el que las muestras de los elementos anteriores pueden obtenerse, por ejemplo, de un vertebrado, incluyendo un mamífero. Un mamífero puede ser, por ejemplo, un ser humano, un primate no humano, ganado (tal como una vaca, cabra u oveja), así como un perro, gato, caballo, etc. La muestra puede incluir además tierra, efluente o aguas residuales, para recoger microorganismos a partir de los mismos.
- 10 En una realización, la muestra biológica es una muestra de heces y el sujeto es un mamífero. En otra realización, la muestra biológica es una muestra de heces y el sujeto es un ser humano.
- Tal como se usa en el presente documento, una "muestra de heces" se refiere a un excremento procedente del tracto digestivo de un animal, expulsado a través del ano o cloaca durante la defecación. En el caso de heces humanas, la materia fecal puede ser representada por uno de los siete tipos de heces en la escala de heces de Bristol.
- 15 Tal como se usa en el presente documento, un ácido nucleico puede ser ADN, ARN, incluyendo ARNm o ARN viral. En una realización, el ácido nucleico es ADN, que puede ser de origen humano, viral o microbiano. En otra realización, el ácido nucleico es ARN, que puede ser de origen humano, viral, fúngico o bacteriano.
- Tal como se usa en el presente documento, "composición conservadora de ácido nucleico" se refiere a cualquier composición adecuada para conservar y estabilizar una biomolécula, tal como un ácido nucleico, en una muestra, tal como una muestra de heces. Las composiciones ejemplares que pueden usarse se describen en la solicitud de patente US N° 61/949.692 del presente solicitante, presentada el 7 de marzo de 2014.
- 20 Cuando se hace referencia a un ácido nucleico, "estable" significa que al menos aproximadamente el 50% de la cantidad inicial de ácido nucleico de alto peso molecular contenido en una muestra todavía está presente después de almacenar la muestra a temperatura ambiente (es decir, de 15°C a 25°C) durante un periodo de tiempo particular.
- 25 El dispositivo presentado en el presente documento comprende un frasco o tubo de recogida, un receptáculo y una tapa. De manera alternativa, el dispositivo puede comprender además un mecanismo de mezclado, tal como una o más bolas (por ejemplo, bolas metálicas de rodamiento). En el presente documento, se hace referencia al receptáculo como fragmentador volumétrico, ya que es capaz de contener una cantidad de muestra particular para su fragmentación. La presente invención proporciona además un sistema de recogida de muestras que comprende el dispositivo más componentes adicionales. Por ejemplo, el sistema puede comprender una herramienta para transferir una muestra biológica al fragmentador volumétrico del dispositivo. Las partes componentes del dispositivo y del sistema de recogida de muestras se describen más adelante con referencia a las figuras.
- 30
- ### Frasco
- La muestra se recoge en un frasco o tubo, un ejemplo del cual se muestra en la Figura 1 como el tubo 10. Aunque puede usarse cualquier frasco adecuado, tal como tubos de recogida de muestras comunes conocidos en la técnica, sería deseable tener un tubo para la recogida de muestras, particularmente muestras de heces, que tenga ciertos atributos que no se encuentran en otros tubos y que se describen a continuación.
- 35
- Con referencia a la Figura 2, un tubo 10 ejemplar según la presente invención tiene generalmente forma cilíndrica. El tubo tiene un extremo 12 abierto para la recepción de la muestra, y un extremo 14 cerrado, donde se recoge la muestra. Idealmente, el extremo 12 abierto está roscado para acoplarse con una tapa y/o un fragmentador volumétrico, tal como se describe en el presente documento. El tubo 10 puede ser de cualquier anchura, longitud o espesor, según las necesidades, y está realizado en un material inerte, duradero, tal como polietileno, polipropileno o un plástico similar. Idealmente, el tubo 10 es independiente e incluye una pared 20 que define un depósito 16 para la recepción de la muestra. El depósito 16 es adecuado para contener una sustancia, tal como un líquido, sólido, semisólido, pasta, suspensión, polvo, coloide, gel, gas, mezclas de los mismos o similares. El depósito debería tener un volumen vacío suficiente para contener la muestra, más cualquier composición deseada a ser mezclada con la muestra y, tal como se indica en adelante, un mecanismo de mezclado, tal como una o más bolas de rodamiento que pueden usarse para facilitar el mezclado de la muestra con la composición y para fragmentar u homogeneizar la mezcla en componentes discretos.
- 40
- 45
- 50 En ciertas realizaciones, la superficie exterior del reborde del extremo abierto puede estar ranurada o puede ser dentada, tal como se muestra mejor en la Figura 2. Los dientes 13 de la ranura son particularmente útiles para penetrar en el plástico del fragmentador volumétrico tras cerrar el fragmentador volumétrico sobre el tubo. Este agarre adicional ayuda a hacer que la conexión entre el fragmentador volumétrico y el tubo sea más segura que la conexión entre la tapa y el fragmentador volumétrico. A su vez, esto hace que el desenroscado o la retirada de la tapa desde el fragmentador volumétrico sea más fácil que retirar el fragmentador desde el tubo. Esto es muy deseable, debido a que, en la práctica, el donante quita y pone la tapa, y típicamente no tiene que retirar el fragmentador volumétrico. Tanto la tapa como el fragmentador volumétrico se retiran en el laboratorio para acceder a la muestra.
- 55

Tal como se muestra en la Figura 3, el interior 15 del extremo 14 cerrado tiene preferiblemente forma redondeada. Esto tiene varios propósitos. En primer lugar, la forma redondeada elimina rincones en los que la muestra puede quedar atrapada/compactada e inaccesible para cualquier composición en el tubo y, finalmente, para el usuario final para realizar un análisis. En segundo lugar, el fondo redondeado es complementario a unos medios de mezclado, tales como una o más bolas de rodamiento, si se usan, para permitir libremente que las bolas de rodamiento se acoplen y fragmenten tanta cantidad de muestra como sea posible. En tercer lugar, la forma redondeada es más adecuada para la centrifugación ya que resiste las fuerzas centrífugas mejor que un tubo con fondo plano.

Idealmente, la superficie 20 exterior del tubo debería ser transparente o translúcida para permitir ver la muestra una vez recogida. La superficie 20 exterior puede estar libre de cualquier indicio u otras marcas, y debería ser adecuada para ser manipulada por el usuario. Sin embargo, puede estar adornada, si se desea, y/o puede tener un agarre o una textura en relieve para facilitar la manipulación, o puede tener marcas graduadas para indicar el volumen.

Tal como se ha indicado anteriormente, y si se desea, pueden usarse unos medios de mezclado, tales como una o más bolas de rodamiento. Tal como se muestra mejor en la Figura 3, la bola 24 de rodamiento puede ser cualquier bola metálica, tal como una bola de rodamiento típica conocida en la técnica. Sin embargo, la bola de rodamiento puede ser cualquier objeto sólido con o sin protuberancias desde el mismo para facilitar la disolución de la muestra. Típicamente, la bola es una composición metálica inerte, adecuada para homogeneizar la muestra en cualquier composición presente en el tubo, tal como una solución de conservación de ácidos nucleicos. Las composiciones ejemplares que pueden usarse se describen en la solicitud de patente US del presente solicitante N° 61/949.692, presentada el 7 de marzo de 2014.

La bola de rodamiento está dimensionada para caber en el tubo, asentarse en el fondo 15 del extremo cerrado del tubo, y para tener un espacio adecuado entre la bola de rodamiento y las paredes del lado interior del tubo. Esto permite que la bola de rodamiento se mueva libremente en el interior del tubo y permite homogeneizar la muestra de manera eficaz durante la agitación impartida por el usuario. Idealmente, el tubo puede incluir al menos una bola metálica grande (5,6-11,1 mm, típicamente 7,9 mm) densa (7,6-15,63 g/cm³) de tamaño menor que el diámetro interior del tubo (por ejemplo, 12,9 mm). Idealmente, se selecciona el material más denso posible para los medios de homogeneización (por ejemplo, carburo de tungsteno (15,63 g/cm³) o acero inoxidable (7,6-8,0 g/cm³)). Típicamente, unos medios de homogeneización se seleccionan con un diámetro exterior ligeramente menor que el diámetro interior del tubo o recipiente (por ejemplo, cuando los medios de homogeneización son una bola de mezclado, la bola de mezclado tendría un diámetro aproximadamente 4-6 mm, típicamente aproximadamente 4-5 mm, o aproximadamente 5 mm menor que el diámetro interior del tubo de mezclado). Esto deja aproximadamente 2-3 mm a cada lado de la bola entre la bola y la pared lateral interior del tubo. Un tubo debería seleccionarse con un espacio libre por encima de la muestra y la solución estabilizadora para permitir que los medios de homogeneización ganen momento durante la agitación manual.

Si los medios/la bola de homogeneización son demasiado pequeños con respecto al tubo, la muestra pasará alrededor de los medios/la bola de homogeneización sin ser dispersada en la solución estabilizadora. Por el contrario, si los medios/la bola de homogeneización son demasiado grandes (por ejemplo, >11,1 mm) con respecto al tubo (diámetro interior de 12,9 mm), la muestra no se dispersa o "aplasta" entre los medios/la bola de homogeneización y las paredes del tubo, los medios/la bola de homogeneización no ganan suficiente momento, y la muestra se compacta en uno o en ambos extremos del tubo. Idealmente, cuando el diámetro exterior de los medios de homogeneización (por ejemplo, bola de acero inoxidable o de carburo de tungsteno de 7,9 mm) cabe justo entre las paredes verticales interiores del tubo (por ejemplo, un tubo de 10 ml que tiene un diámetro interior de 12,9 mm, indicado anteriormente) con aproximadamente 5 mm de espacio libre (2,5 mm a ambos lados de la bola), los medios de homogeneización funcionan de manera eficaz como un homogeneizador, descomponiendo o fragmentando rápidamente la muestra, tal como una muestra de heces sólida o semisólida (por ejemplo, 400 mg; tipo 1-6 según la escala de Bristol), recogida en una composición (por ejemplo, 2 ml), para formar una muestra líquida homogénea que puede ser colocada fácilmente en pipeta o manipulada y procesada en el laboratorio. Estos medios de homogeneización garantizan que la muestra biológica recogida, incluso heces sólidas, se fragmente rápida y completamente, y, al hacerlo, se expone rápidamente a la composición estabilizadora. De manera importante, se ha encontrado que la densidad de los medios de homogeneización, no sólo su diámetro, en comparación con el recipiente/tubo, es fundamental para conseguir una fragmentación completa de la muestra de manera oportuna (20-30 segundos) simplemente agitando vigorosamente el tubo manualmente. Debido a la naturaleza frecuentemente pegajosa y maleable de las heces (por ejemplo, tipo 4), frecuentemente la homogeneización completa de esta muestra es difícil de conseguir en tubos de fondo plano o de fondo cónico cuando se utilizan unos medios de homogeneización esféricos. Por lo tanto, un tubo de fondo redondo para unos medios de homogeneización esféricos es lo ideal.

Sorprendentemente, para conseguir una homogeneización completa de los tipos más duros de heces humanas (por ejemplo, 400 mg; Tipo 1-2 en la escala de Bristol) en la composición estabilizadora (por ejemplo, 2 ml), en un periodo de tiempo razonable (≤ 3 minutos), se necesitan tanto los medios de fragmentación como los medios de homogeneización. En ausencia del fragmentador volumétrico, los medios de homogeneización por sí solos no son capaces de fragmentar rápidamente dichas heces duras en la composición para formar una mezcla homogénea.

En ciertas realizaciones, la base 22 exterior del tubo tiene una característica antirrotación reforzada. Esta está compuesta principalmente por un "faldón" reforzado de un material duradero adicional, tal como el plástico usado en

el resto del tubo, o cualquier otro material adecuado. La Figura 4 muestra un faldón ejemplar cuando se observa desde la parte inferior del tubo. El faldón puede comprender plástico adicional, tal como nervios 23a-c para reforzar el faldón y reducir la probabilidad de colapso del tubo bajo la fuerza g durante la centrifugación y para reforzar la base del tubo para prevenir una ruptura durante la agitación vigorosa, particularmente cuando se usan unos medios de mezclado, tales como una bola de rodamiento metálica. El faldón puede tener además forma poligonal, tal como triangular, cuadrada, hexagonal o similar, para mantener la base en una posición estable durante el procesamiento después de la recogida y para prevenir la rotación del tubo al colocar y quitar la tapa. La forma hexagonal, por ejemplo, puede funcionar como una llave-cerradura con los típicos dispositivos de sujeción de tubos usados en los sistemas manuales y/o robóticos, que se usarían para procesar la muestra en el tubo

Tapa

Tal como se ejemplifica en las Figuras 5a-c, la tapa 26 puede ser cualquier cubierta adecuada que complemente el fragmentador volumétrico o el receptáculo y el extremo abierto del tubo. Sin embargo, idealmente, una tapa ejemplar como la mostrada es particularmente ventajosa. La tapa 26 puede ser cilíndrica y puede estar realizada en un material duradero, tal como polietileno, polipropileno, o un plástico similar. La tapa 26 comprende un extremo 28 superior y un extremo 32 abierto que se conecta al fragmentador volumétrico. En algunas realizaciones, la tapa puede conectarse directamente con el tubo, si no se usa un fragmentador volumétrico. La pared cilíndrica de la tapa entre el extremo abierto y el extremo superior puede ser de cualquier espesor deseado, pero debería ser firme para garantizar un agarre apropiado por parte del usuario durante la fijación de la tapa al fragmentador volumétrico o al tubo. La tapa puede ser un cilindro generalmente hueco, o puede tener una parte sólida en la misma. El extremo 28 superior de la tapa puede abrirse o cerrarse según se desee y puede estar etiquetado con cualquier marca deseada.

La propia tapa puede estar dimensionada para ajustarse al tamaño de un dedo índice y pulgar de un usuario típico. Por ejemplo, la tapa puede ser relativamente alta para ajustarse a la anchura del pulgar de un adulto. Esto es particularmente útil para reducir la probabilidad de cualquier incidencia de desenroscar el fragmentador volumétrico junto con la tapa, cuando se desea quitar solo la tapa. La superficie 30 exterior de la tapa puede estar estriada para facilitar el agarre de la tapa. De manera alternativa, tal como se muestra en la realización en la Figura 5c, la tapa puede tener forma poligonal (por ejemplo, hexagonal) para facilitar el agarre.

El extremo 32 abierto de la tapa se muestra mejor en la Figura 5d. El extremo 32 abierto comprende un reborde 34 y un elemento 36 de empuje que se extiende desde una ubicación en el interior de la tapa hacia el extremo 32 abierto. En ciertas realizaciones, el extremo inferior del elemento 36 de empuje se extiende una distancia desde el interior de la tapa, pero no se extiende más allá del reborde 34 del extremo 32 abierto. En ciertas realizaciones, el extremo inferior del elemento de empuje tiene forma generalmente cóncava. En esta realización, el extremo inferior tiene un reborde 48 de elemento de empuje y una superficie 50 de extremo inferior para cooperar y acoplarse con el fragmentador volumétrico. Cuando la tapa se acopla con el fragmentador volumétrico, tal como se describe más detalladamente a continuación, la naturaleza cóncava del extremo inferior permite una relación complementaria entre la superficie 50 de extremo inferior/el reborde 48 de elemento de empuje con el miembro fragmentador.

La Figura 5e muestra una sección transversal de la tapa. La parte 40 interior de la tapa forma una plataforma desde la cual se extiende el elemento 36 de empuje. El elemento 36 de empuje tiene un extremo 38 superior que se extiende desde la parte 40 interior de la tapa, y el extremo inferior, tal como se ha descrito anteriormente, que incluye el reborde 48 de elemento de empuje y la superficie 50 de extremo inferior. La Figura 6 proporciona una vista aumentada del extremo inferior del elemento de empuje. Una superficie 46 interior puede comprender una rosca para acoplarse con una rosca complementaria en el fragmentador volumétrico y/o el tubo cuando la tapa se coloca sobre alguno de estos. Típicamente, esta región roscada se extiende desde el reborde del extremo abierto hacia arriba, hacia la parte 40 interior de la tapa y se apoya en la misma. La superficie 46 interior proporciona una superficie de sellado cuando la tapa se acopla con el fragmentador volumétrico y/o el tubo. El espacio entre un lado del elemento de empuje y una superficie 46 interior del extremo 32 abierto de la tapa proporciona un conducto para que el reborde del fragmentador volumétrico (o tubo) se acople con la superficie 46 interior.

Las Figuras 7a y b muestran una tapa acoplada a un fragmentador volumétrico y a un tubo según la presente invención. Cuando está acoplada, un sello 151 de fricción alto forma un sello hermético con la pared interior del tubo para reducir la probabilidad de fugas cuando la muestra y la composición estabilizadora se transportan en el dispositivo de recogida. En la realización mostrada en la Figura 7c, y tal como se ha descrito anteriormente, puede haber dientes 13 en el extremo superior (abierto) del tubo que sirven para "penetrar" en el fragmentador volumétrico cuando se acoplan al mismo. Los dientes 13 presionan sobre el sello 151 de fricción alto. Esto ayuda además a reducir las fugas, ya que crea un ajuste estrecho entre el fragmentador volumétrico y el tubo.

Fragmentador volumétrico

El fragmentador volumétrico es un receptáculo desmontable para la recepción de una cantidad de muestra. El fragmentador volumétrico puede desmontarse desde el extremo abierto del tubo y se usa típicamente para recoger una parte de la muestra antes de introducir la muestra en el tubo. Por ejemplo, el fragmentador volumétrico puede recibir aproximadamente de 200 mg a 2 g de muestra, tal como 400 mg de heces, por ejemplo, lo cual es adecuado para un análisis; sin embargo, pueden desearse tamaños más grandes o más pequeños del fragmentador para

ajustarse a diferentes cantidades de la muestra. Típicamente, el fragmentador es generalmente hueco y tiene una forma cilíndrica o poligonal (tal como hexagonal), de manera que complementa la forma del tubo y de la tapa.

En una realización mostrada en las Figuras 8a y b, el fragmentador 51 volumétrico comprende dos secciones principales: un extremo 50 de recepción de muestras y un extremo 52 de base. El extremo 50 de recepción de muestras comprende una pared 54 cilíndrica que tiene un reborde 59. La pared 54 cilíndrica se extiende desde el extremo 52 de base al reborde 59 y define un depósito en el extremo de recepción de muestras. Idealmente, una superficie 53 exterior de la pared 54 cilíndrica está roscada para acoplarse con la rosca en la superficie interior de la tapa cuando la tapa se acopla con el fragmentador volumétrico.

La Figura 8c muestra una realización alternativa del fragmentador volumétrico, que tiene un extremo 155 de base hexagonal.

El extremo 52 de base del fragmentador volumétrico tiene una pared 55 cilíndrica que define un extremo de abertura cuyo diámetro es ligeramente más ancho que la pared 54 del extremo de recepción de muestras. La parte superior del extremo 52 de base forma un saliente 61, desde el cual se extiende la pared cilíndrica del extremo de recepción de muestras. Cuando se acopla con la tapa, la pared de la tapa, cuando se coloca sobre el fragmentador, se alinea de manera enrasada con la pared del extremo de base. Además, el extremo abierto de la base se ajusta en el tubo, cerrando de esta manera el extremo abierto del tubo. Para facilitar esto, la superficie 57 interior de la base está también roscada para acoplarse con la rosca del tubo. La parte interior de la base del fragmentador volumétrico puede comprender un sello 151 de fricción alto para garantizar el sellado de la pared interior del tubo al mismo. Esto es particularmente ventajoso para el envío de la muestra y la composición estabilizadora para garantizar un sellado hermético entre el tubo y la tapa.

La pared de la base 55 puede tener un indicador, tal como una superficie plana entre ranuras en la pared, para alinearse con un indicador similar en la tapa; una vez alineados, las marcas complementarias indican un cierre apropiado de la tapa. La pared puede estar realizada además en un material transparente o translúcido, si se desea, para facilitar la observación de la muestra y para comprobar si la muestra se ha cargado o no de manera apropiada en el fragmentador volumétrico.

Tal como se muestra en las Figuras 8a, 8c y más particularmente en las Figuras 9a-d, el fragmentador volumétrico comprende un miembro 56 de fragmentación. El miembro fragmentador está posicionado generalmente en el extremo de recepción de muestras; por ejemplo, puede servir como la base del depósito del extremo de recepción de muestras. Sin embargo, se contempla que el miembro fragmentador pueda estar posicionado en cualquier ubicación adecuada en el interior del fragmentador volumétrico, dependiendo del volumen deseado y del tipo de muestra a recoger. El miembro fragmentador puede estar realizado en cualquier material adecuado para facilitar la fragmentación de la muestra cuando se aplica a la misma. En una realización mostrada en la Figura 9a, el miembro fragmentador tiene forma de hoja de trébol, pero puede tener también forma de cruz, forma de "Y", forma triangular, cuadrada, rectangular, por ejemplo. En esta realización, los cuatro "brazos" 58a-d del miembro fragmentador son aberturas definidas por las proyecciones 60a-d entre los mismos. Idealmente, las proyecciones 60a-d están realizadas en un material duradero y pueden incluir bordes cortantes en las mismas, para facilitar la fragmentación de la muestra a medida que pasa a través del miembro fragmentador. Cuando se coloca en el extremo de recepción de muestras del fragmentador volumétrico, la muestra está en comunicación con el tubo debajo de la misma a través de las aberturas en el miembro fragmentador. En las Figuras 9b-d se muestran otras realizaciones del miembro fragmentador, que incluyen un "símbolo de radiación" (Figura 9b), una "hélice" (Figura 9c) y "cruz" (Figura 9d). Las aberturas sirven para dirigir o canalizar la muestra fragmentada al interior del tubo y para mantener los segmentos de la muestra separados.

Idealmente, el miembro fragmentador es redondo y convexo. Esto permite que el miembro fragmentador coopere encajando en la dimensión cóncava del elemento 36 de empuje. Con una muestra en el depósito del fragmentador volumétrico, lo ideal es que la tapa contacte primero con la muestra más cercana a la pared. Esto empuja la materia fecal hacia el centro del miembro fragmentador y a través del mismo. Esto previene una situación en la que, si el elemento de empuje fuera convexo y comprendiera un "domo", el domo del elemento de empuje contactaría primero con la muestra y empujaría la misma hacia fuera, hacia la pared del fragmentador volumétrico y fuera del depósito. Al contactar primero el elemento de empuje con la pared del fragmentador volumétrico, esto permite el raspado de la pared de la muestra y empujar la muestra al interior del miembro fragmentador (y finalmente al interior del tubo debajo de la misma). Además, la estructura del elemento 36 de empuje y del depósito del fragmentador volumétrico crea un sello a medida que la muestra es empujada a través del miembro fragmentador y al interior del tubo. El elemento de empuje empuja desde el exterior hacia el interior, y el raspado de las paredes crea un sello relativamente más limpio. Además, se crea un sello en la base y en las paredes laterales del elemento de empuje en el fragmentador volumétrico. Finalmente, cuando el elemento de empuje se acopla con la parte inferior del miembro fragmentador, la forma del elemento de empuje deforma el miembro fragmentador para proporcionar la máxima cantidad posible de la muestra en el tubo. Cuando el usuario acopla la tapa y el elemento de empuje ejerce una fuerza hacia abajo sobre el miembro fragmentador, las proyecciones del miembro 60a-d fragmentador se doblan hacia el interior y hacia abajo. Esto permite que las proyecciones se acerquen más unas a otras entrando en los espacios (por ejemplo, los "brazos" 58a-d que separan las proyecciones). A medida que se mueven las proyecciones, los brazos 58a-d se hacen más pequeños, empujando la muestra a través de aberturas cada vez más estrechas. Por ejemplo, si la muestra son heces, la muestra se hace más pequeña por la acción del elemento de empuje, la intrusión de las proyecciones y el estrechamiento de

los brazos. Esto facilita una fragmentación más completa de la muestra y promueve la homogeneización de la muestra en la composición estabilizadora y de conservación en el interior del tubo.

De manera similar al fondo del tubo, la superficie 153 curva (mostrada mejor en la Figura 7a) en la parte inferior del miembro fragmentador del fragmentador volumétrico previene la compactación de la muestra por la bola de rodamiento (si se usa) en posibles esquinas y permite que la muestra se mezcle de manera eficaz con cualquier composición en el tubo.

Las Figuras 10a-c muestran varias vistas del dispositivo completamente montado, que comprende la tapa, el fragmentador volumétrico y el tubo.

EJEMPLOS

10 EJEMPLO 1: Uso del presente dispositivo para la recogida y el almacenamiento de una muestra

En un uso ejemplar, el tubo comprende una bola de rodamiento y una composición para conservar los ácidos nucleicos en una muestra. El fragmentador volumétrico está fijado (por ejemplo, atornillado) al extremo abierto del tubo para recibir la muestra y es apretado a mano para garantizar la formación de un sello. Una muestra, tal como una muestra de heces, se coloca en el interior del extremo de recepción de muestras del fragmentador volumétrico. El usuario puede aplicar la muestra con una sonda, palito, cuchara, hisopo, depresor lingual, espátula o cualquier otro accesorio.

La muestra se coloca en la parte superior del miembro fragmentador, nivelada con el reborde superior de la pared del extremo de recepción de muestras del fragmentador volumétrico. Se añade una cantidad suficiente de muestra para maximizar el cubrimiento del miembro fragmentador y para "llenar" el depósito en el interior del extremo de recepción de muestras.

A continuación, se coloca la tapa sobre el fragmentador volumétrico y, cuando hay roscas provistas, la tapa se gira sobre el fragmentador volumétrico para garantizar un ajuste apretado. Mediante esta acción, la tapa presiona hacia abajo la muestra en el extremo de recepción de muestras del fragmentador volumétrico. La fuerza de la tapa fragmenta la muestra a medida que es empujada a través del miembro fragmentador para formar piezas de muestra más fácilmente solubles en cualquier composición presente en el tubo. La orientación cóncava de la superficie interior de la tapa previene la compactación de la muestra en las esquinas de la unión entre el elemento de empuje y el fragmentador volumétrico. Puede usarse un sello de fricción alto para sellar la pared interior del tubo con el fragmentador volumétrico, tal como se describe en el presente documento.

A continuación, el usuario agita vigorosamente el tubo a mano con la tapa asegurada firmemente sobre el fragmentador volumétrico y el tubo. Esto permite que la bola de rodamiento (si está presente) contacte con la muestra para fragmentar adicionalmente la misma y promover la suspensión completa de la muestra en la sustancia química líquida en el interior del tubo. El usuario puede aplicar la agitación durante cualquier periodo de tiempo, típicamente durante aproximadamente 30 segundos, hasta que la muestra parezca estar mezclada de manera adecuada con la solución química. Aunque no todas las partículas de la muestra se disolverán en la solución química, la agitación promueve que al menos una parte considerable de la muestra quede disuelta en la solución.

Todas las publicaciones, patentes y solicitudes de patente indicadas en la presente memoria descriptiva son indicativas del nivel de conocimiento de las personas expertas en la materia a la que pertenece la presente invención.

Referencias:

Cole SR, Young GP, Esterman A, Cadd B, Morcom J (2003) A randomised trial of the impact of new faecal haemoglobin test technologies on population participation in screening for colorectal cancer. *Journal of Medical Screening* 10:117-122.

Couch RD, Navarro K, Sikaroodi M, Gillevet P, Forsyth CB, Mutlu E, Engen PA, Keshavarzian A (2013) The approach to sample acquisition and its impact on the derived human fecal microbiome and VOC metabolome. *PloS One* 8(11):e81163.

Culligan EP, Sleator RD, Marchesi JR, Hill C (2013)., Metagenomics and novel gene discovery: Promise and potential for novel therapeutics. *Virulence* 5(3):399-412.

DiGiulio DB, Romero R, Amogan HP, KusanovicJP, Bik EM, Gotsch F, Kim CJ, Erez O, Edwin S, Relman DA (2008) Microbial prevalence, diversity and abundance in amniotic fluid during preterm labor: a molecular and culture-based investigation. *PloS One* 3(8):e3056.

Evans JM, Morris LS, Marchesi JR (2013) The gut microbiome: the role of a virtual organ in the endocrinology of the host. *The Journal of Endocrinology* 218(3):R37-47.

Heaton KW, Radvan J, Cripps H, Mountford RA, Braddon FEM, Huges AO (1992) Defecation frequency and timing, and stool form in the general population: a prospective study. *Gut* 33(6):818-24.

Korecka A, Arulampalam V (2012) The gut microbiome: scourge, sentinel or spectator? *Journal of Oral Microbiology* 4: 1-14.

Kostic AD, Howitt MR, Garrett WS (2013) Exploring host - microbiota interactions in animal models and humans. *Genes and Development* 27: 701-718.

- 5 Lewis SJ, Heaton KW (1997) Stool form scale as a useful guide to intestinal transit time. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 32: 920-924.

Osborne JM, Wilson C, Moore V, Gregory T, Flight I, Young GP (2012) Sample preference for colorectal cancer screening tests: Blood or stool? *Open Journal of Preventive Medicine* 2(3): 326-331.

- 10 Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO (2007) Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biology* 5(7): e177.

REIVINDICACIONES

1. Dispositivo de recepción de muestras que comprende:
un frasco (10);
un receptáculo (51) en comunicación con el frasco (10) para recibir una muestra; y
5 una tapa (26)
en el que el receptáculo (51) comprende un primer extremo abierto para recibir la muestra y un segundo extremo para acoplarse con el frasco (10),
la tapa (26) comprende un elemento (36) de empuje para acoplarse con la muestra cuando la muestra está en el
10 receptáculo (51), en el que el receptáculo (51) comprende un miembro (56) de fragmentación para fragmentar la muestra cuando la tapa (26) se acopla con el receptáculo (51) para expulsar la muestra fragmentada al interior del frasco (10), y en el que el elemento (36) de empuje comprende un primer extremo que se extiende desde una parte interior de la tapa (26) y un segundo extremo para acoplarse a la muestra; y
el receptáculo (51) comprende una rosca para acoplarse con una rosca complementaria de la tapa (26) para permitir que el receptáculo (51) se fije y se asegure a la tapa (26).
- 15 2. Dispositivo según la reivindicación 1, en el que el receptáculo (51) es un fragmentador volumétrico.
3. Dispositivo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, en el que el receptáculo (51) tiene una capacidad de aproximadamente 200 mg a aproximadamente 2 g de muestra, preferiblemente de aproximadamente 400 mg de muestra.
4. Dispositivo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el elemento (36) de empuje expulsa la
20 muestra a través del miembro (56) de fragmentación del receptáculo (51).
5. Dispositivo según la reivindicación 1, en el que el elemento (36) de empuje es cóncavo, preferiblemente en el que el segundo extremo comprende un reborde (48) y una superficie (50) de extremo inferior.
6. Dispositivo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el frasco (10) comprende además unos medios (24) de mezclado, preferiblemente una o más bolas, más preferiblemente bolas de rodamiento.
- 25 7. Dispositivo según la reivindicación 1, en el que el miembro (56) de fragmentación es convexo.
8. Dispositivo según la reivindicación 7, en el que el elemento (36) de empuje es cóncavo.
9. Método para conservar una biomolécula en una muestra biológica, comprendiendo el método:
a) obtener una muestra;
b) obtener el dispositivo según la reivindicación 1;
30 c) retirar la tapa (26) desde el receptáculo (51) fijado al frasco (10);
d) colocar la muestra en el receptáculo (51);
e) colocar la tapa (26) sobre el receptáculo (51);
f) asegurar la tapa (26) con el receptáculo (51), acoplando de esta manera el elemento (36) de empuje con el
35 receptáculo (51) y acoplando la muestra con el miembro (56) de fragmentación para expulsar la muestra al interior del frasco (10); y
g) mezclar la muestra expulsada con una composición en el frasco (10) para conservar la biomolécula en el interior de la muestra.
10. Método según la reivindicación 9, en el que la etapa de mezclado comprende además homogeneizar la muestra expulsada con unos medios (24) de mezclado, preferiblemente una o más bolas (24) de rodamiento.
- 40 11. Sistema para conservar una biomolécula obtenida a partir de una muestra, comprendiendo el sistema:
el dispositivo de recepción de muestras según la reivindicación 6, en el que el miembro (56) de fragmentación está dispuesto para fragmentar la muestra cuando el elemento (36) de empuje se acopla con la muestra en el receptáculo (51) para expulsar la misma al interior del frasco (10); y
una composición en el frasco (10) para conservar la biomolécula en la muestra expulsada;

en el que los medios (24) de mezclado están dispuestos para homogeneizar la muestra fragmentada una vez expulsada desde el receptáculo (51) al interior del frasco (10).

12. Kit que comprende:

- 5 el dispositivo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, e instrucciones para su uso para conservar una biomolécula obtenida a partir de una muestra biológica.

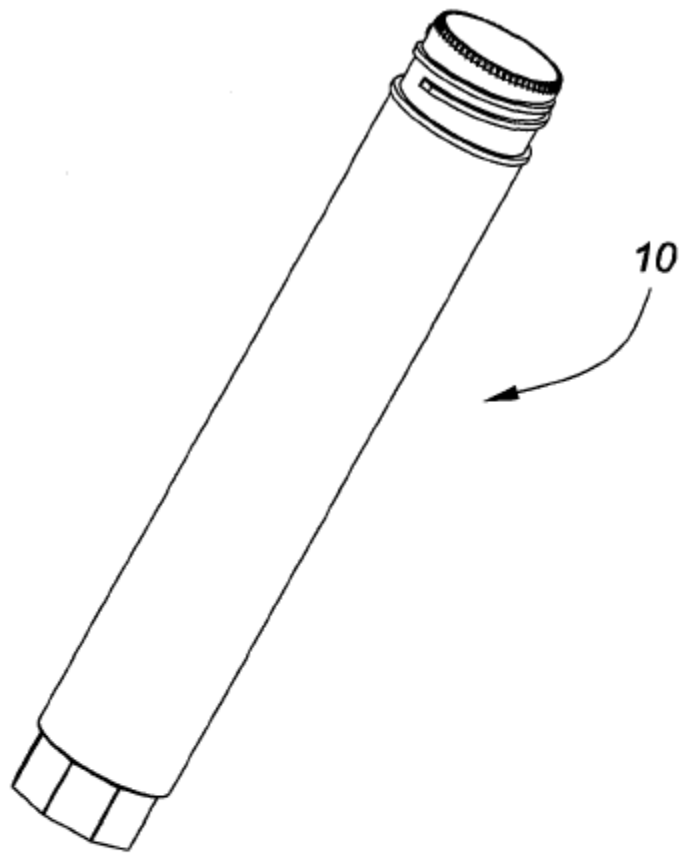


FIGURA 1

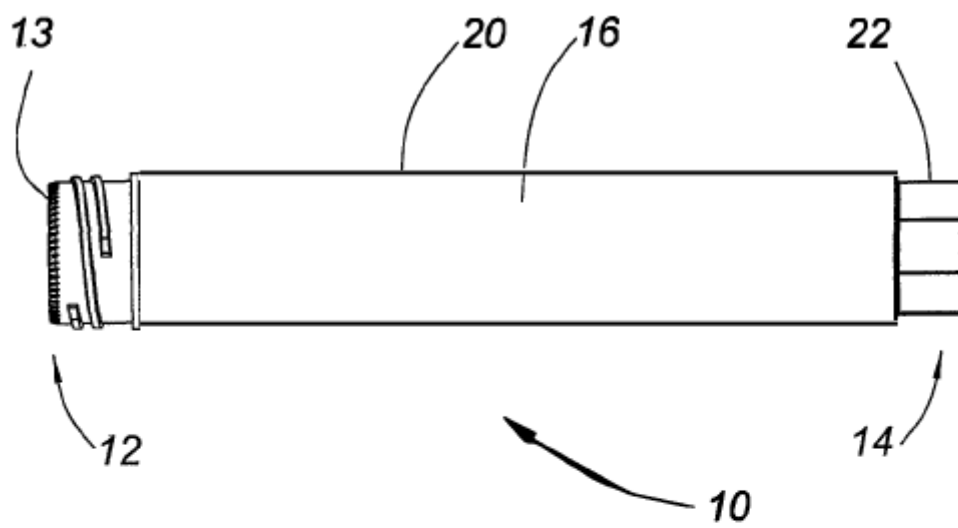


FIGURA 2

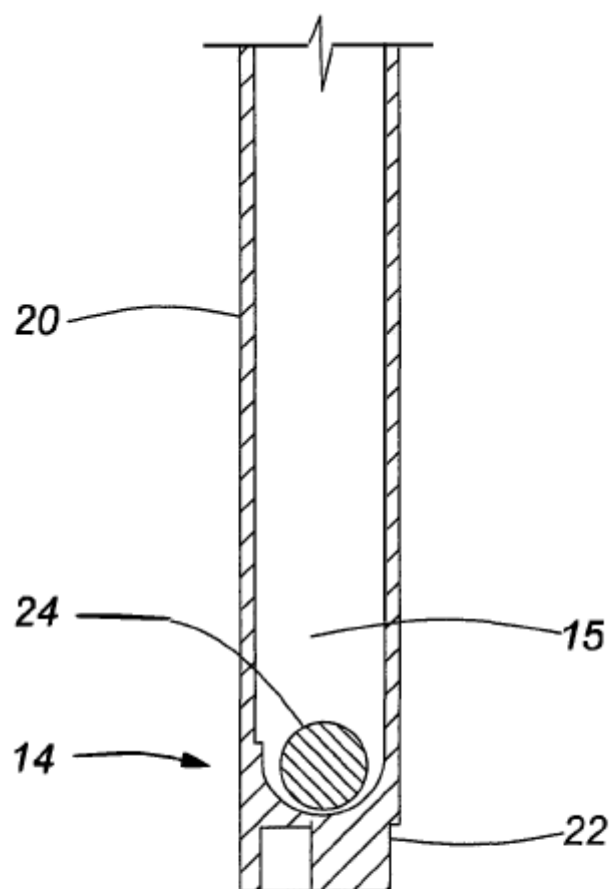


FIGURA 3

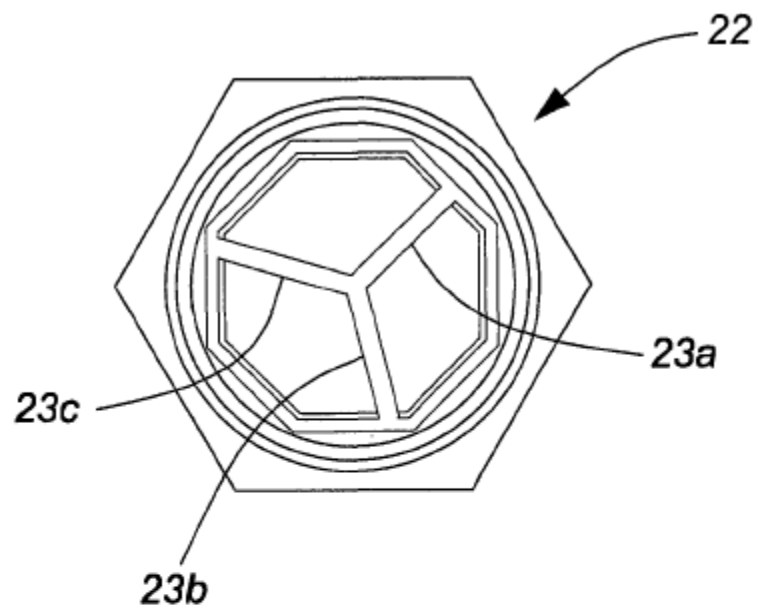


FIGURA 4

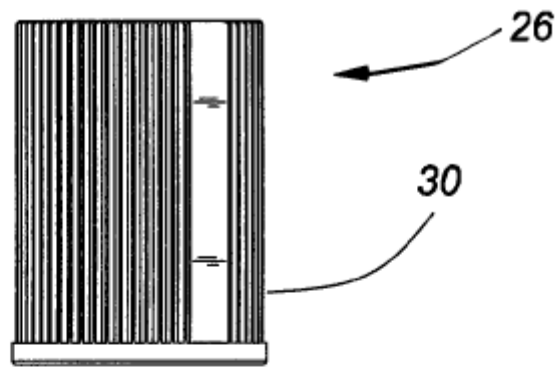


FIGURA 5A

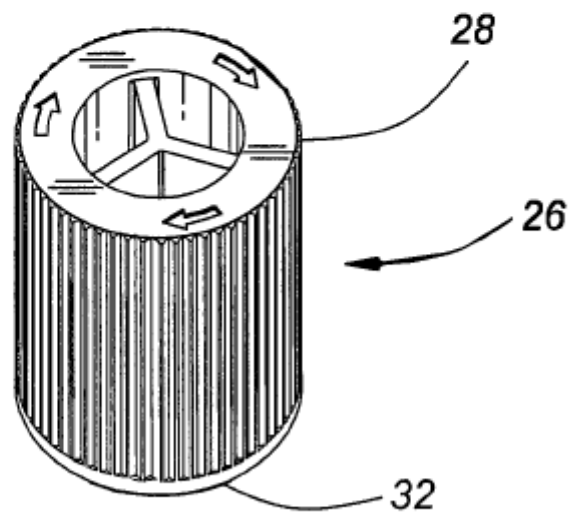


FIGURA 5B

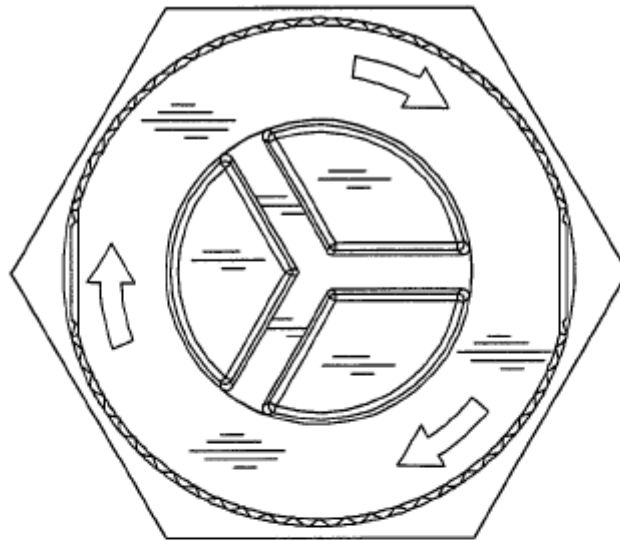


FIGURA 5C

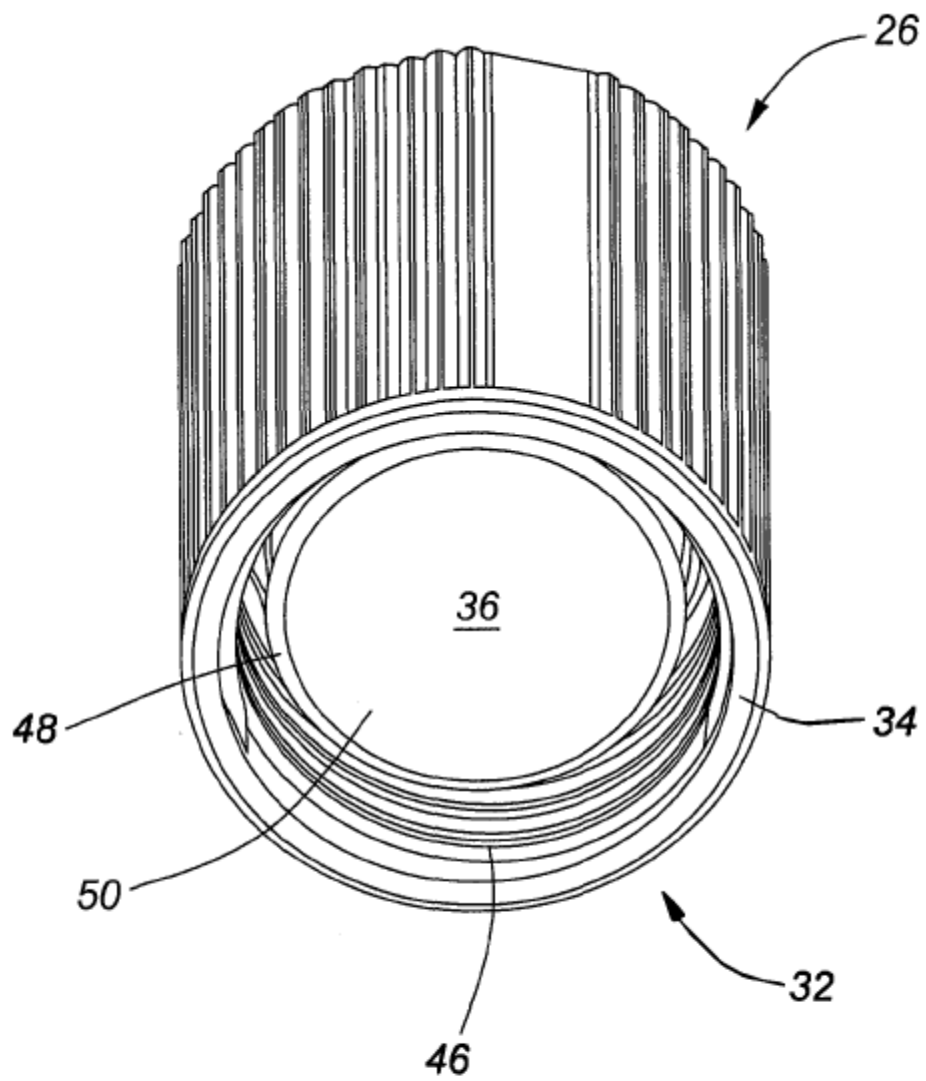


FIGURA 5D

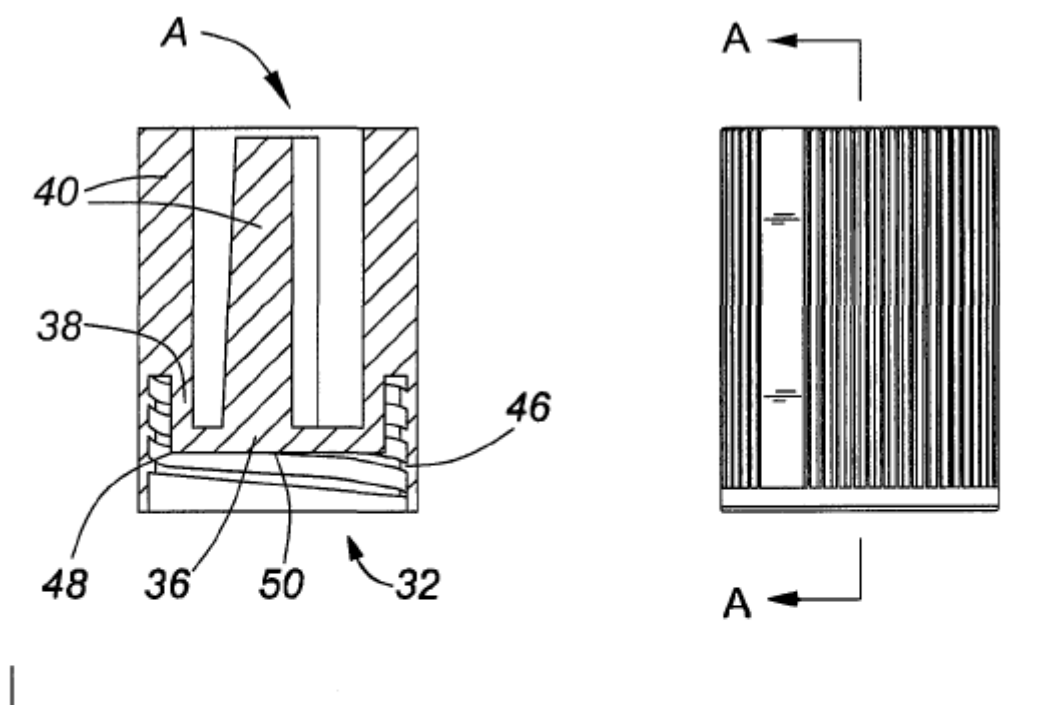


FIGURA 5E

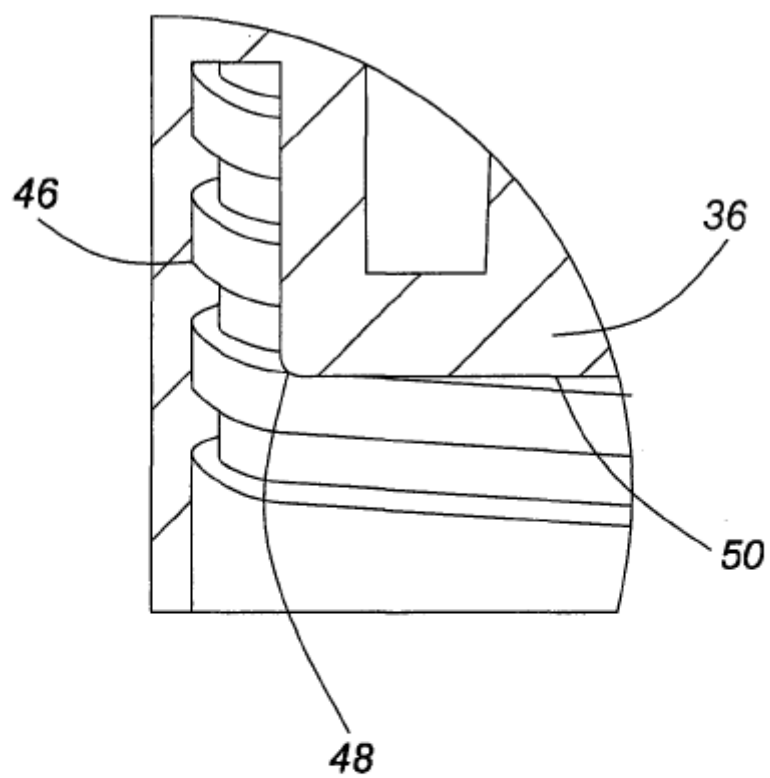
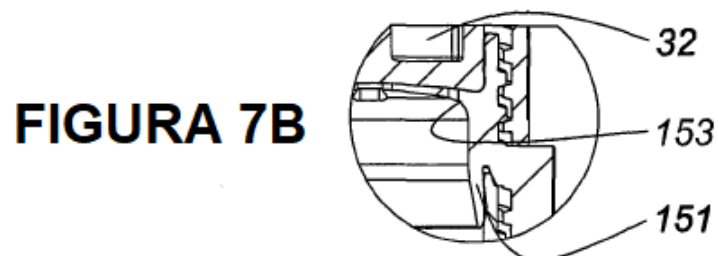
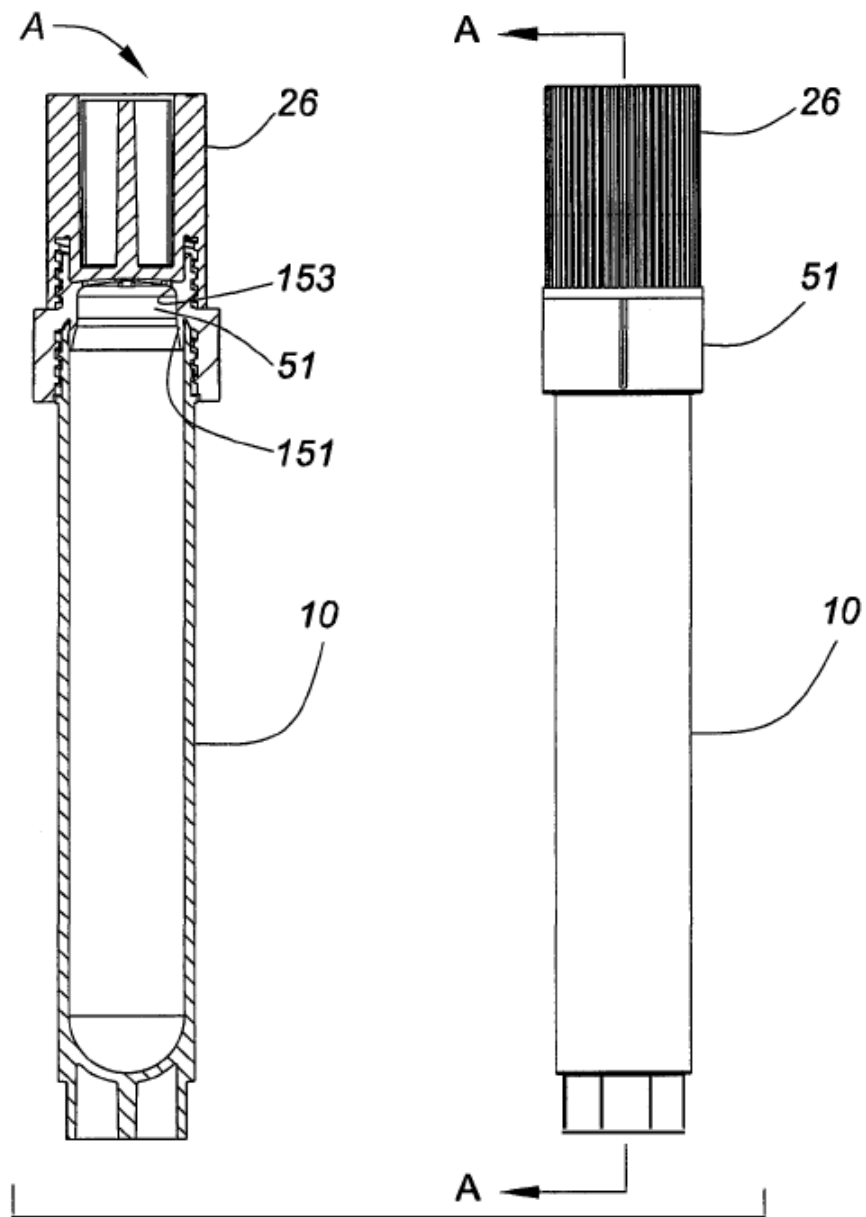


FIGURA 6



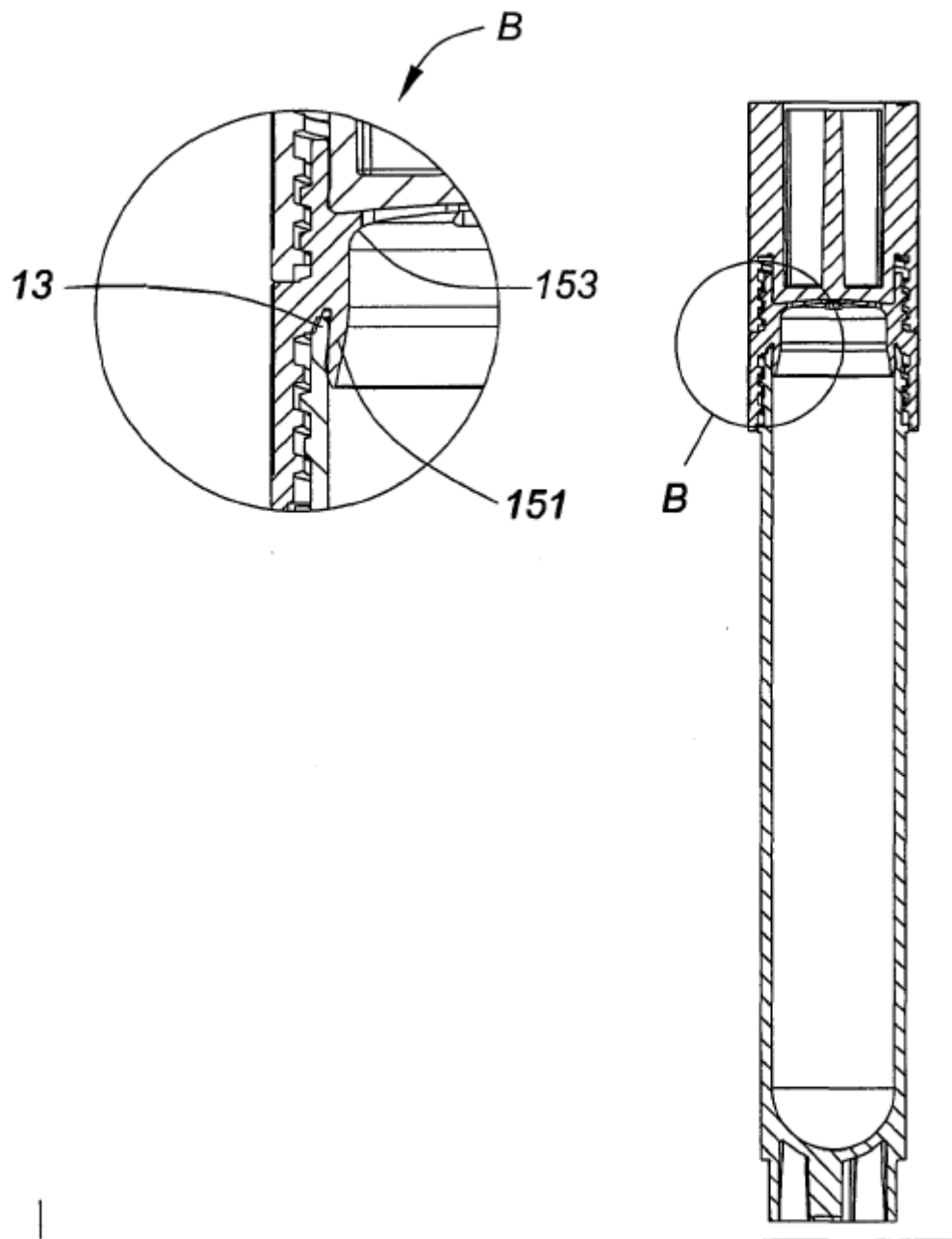


FIGURA 7C

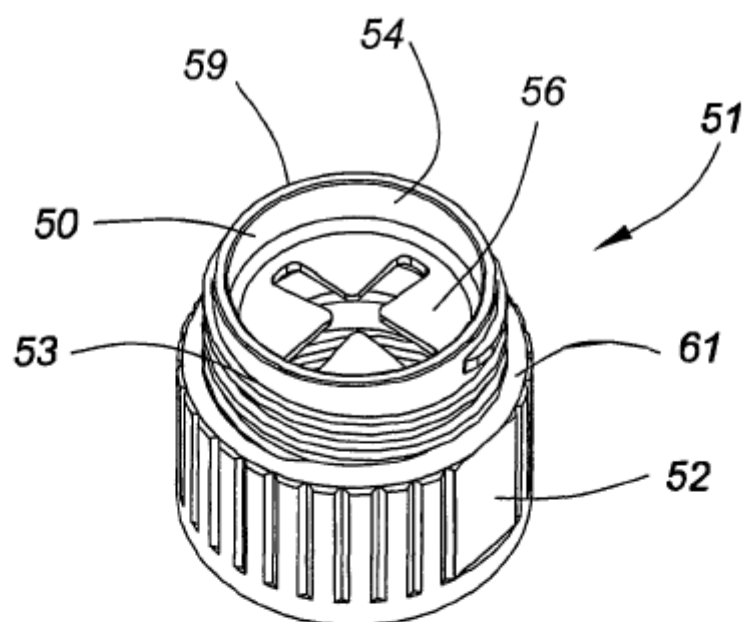


FIGURA 8A

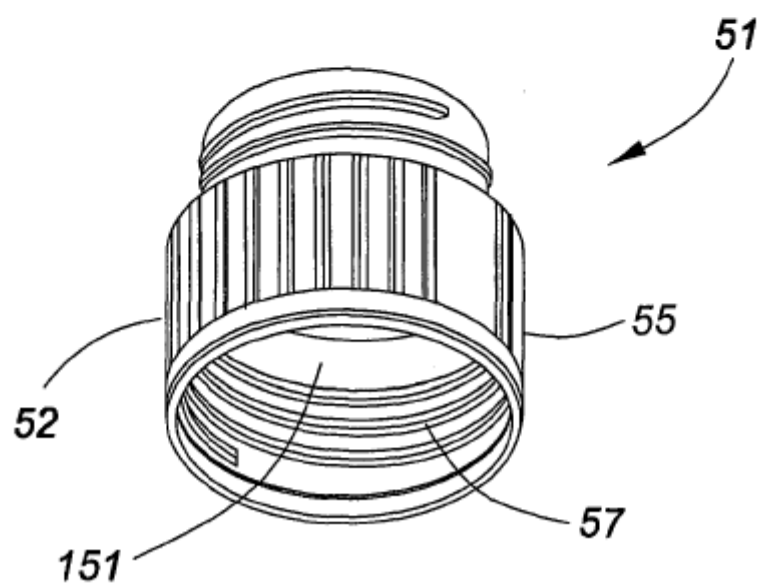


FIGURA 8B

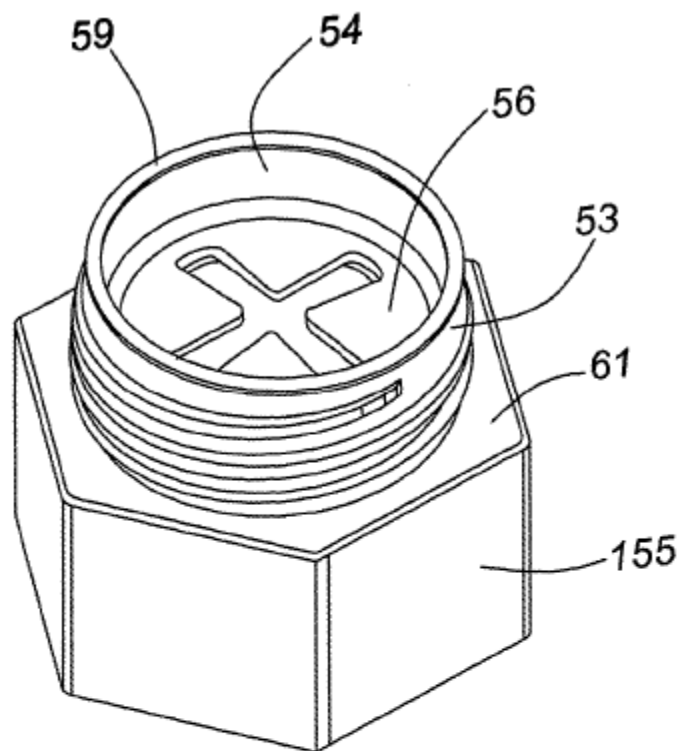


FIGURA 8C

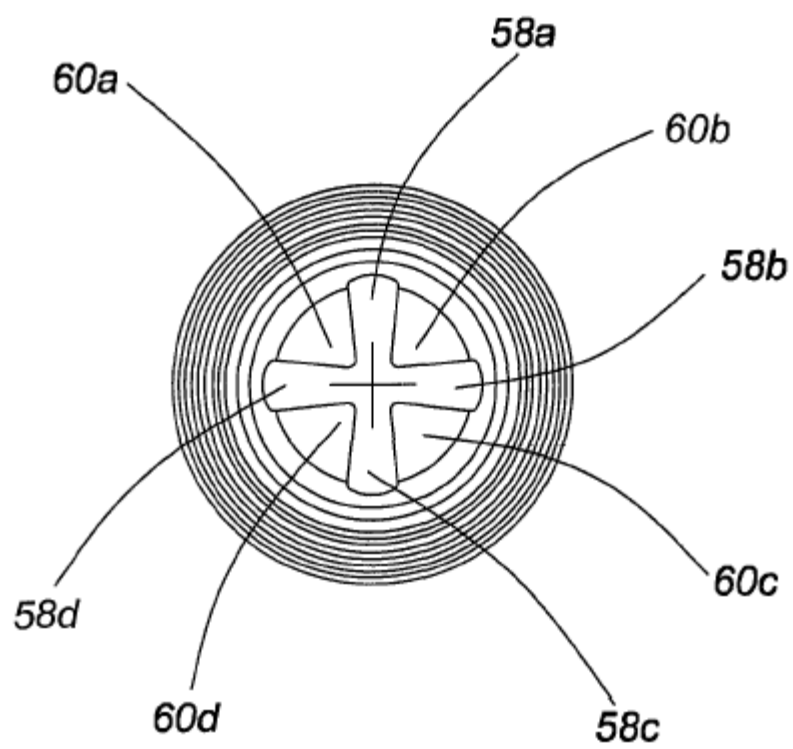


FIGURA 9A

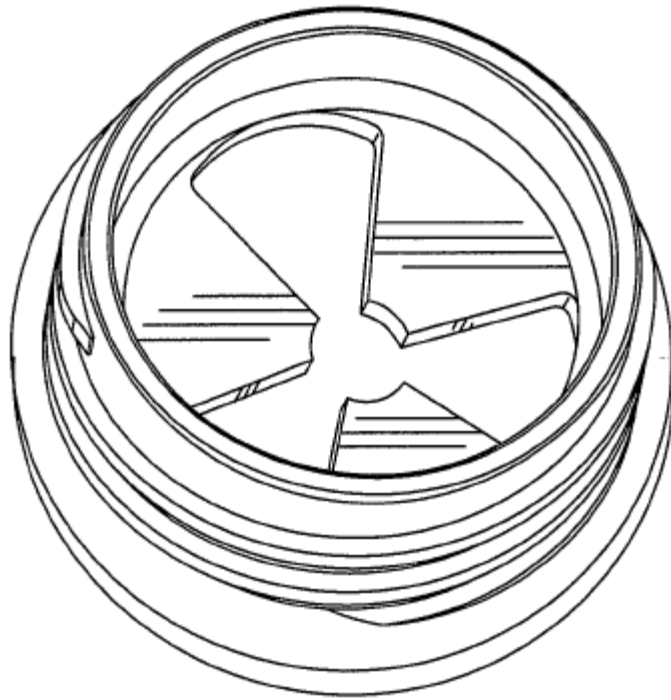


FIGURA 9B

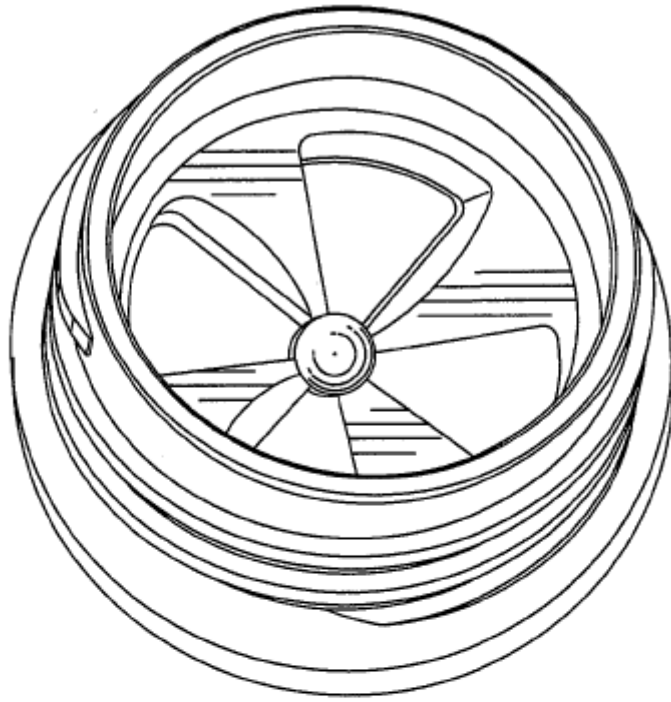


FIGURA 9C



FIGURA 9D

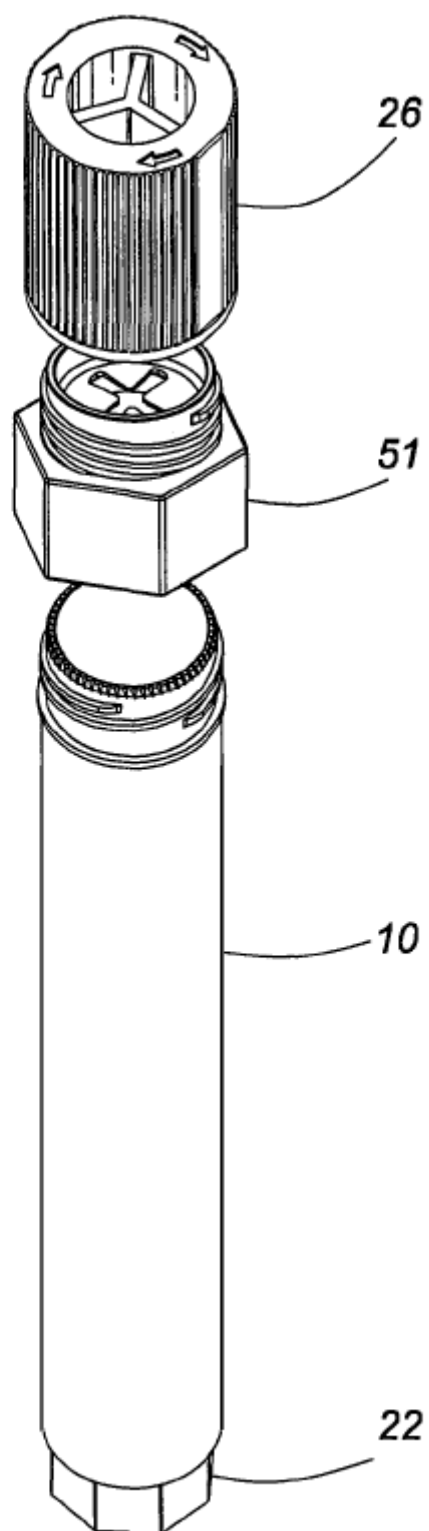


FIGURA 10A

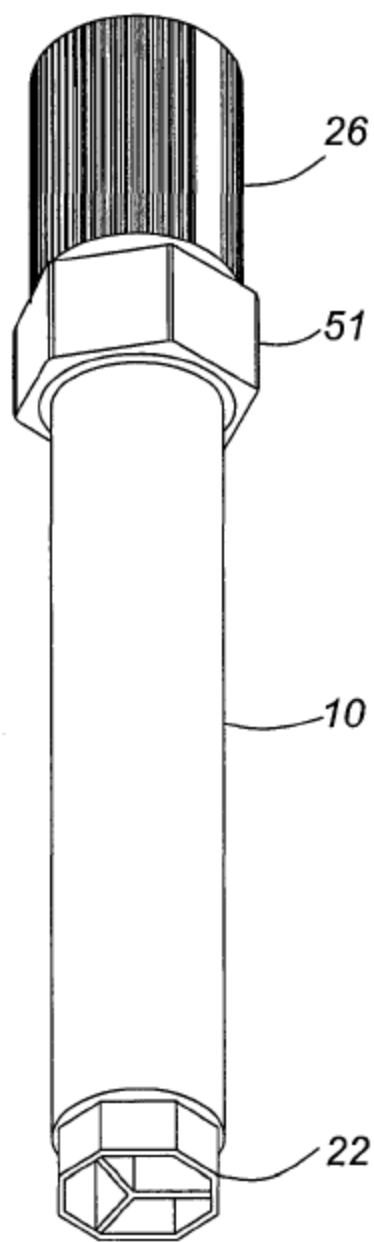


FIGURA 10B

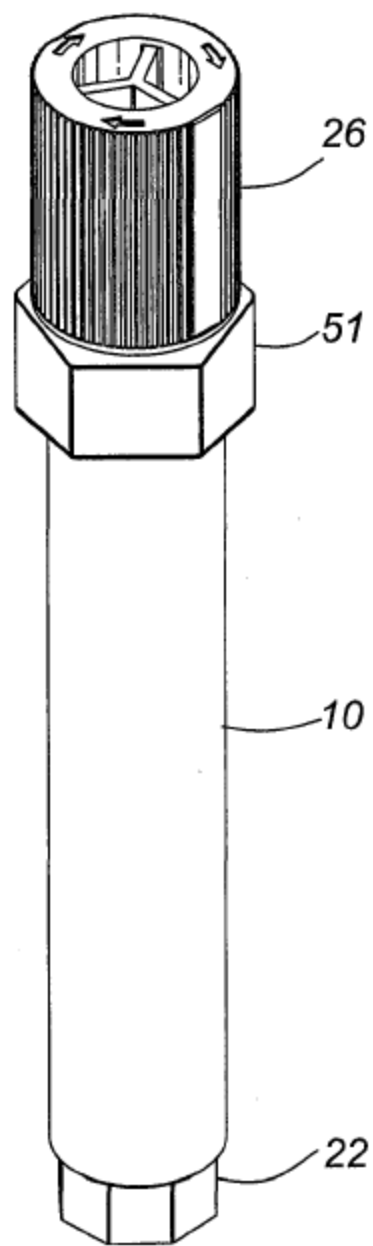


FIGURA 10C