



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 364 687**

51 Int. Cl.:
B01L 99/00 (2006.01)
B01L 3/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **02756462 .4**
96 Fecha de presentación : **27.02.2002**
97 Número de publicación de la solicitud: **1381468**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **21.01.2004**

54 Título: **Sistema de toma de muestras mediante pipeta.**

30 Prioridad: **27.02.2001 US 271829 P**
26.02.2002 US 85687

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
12.09.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
12.09.2011

73 Titular/es: **ALFA WASSERMANN, Inc.**
4 Henderson Drive
West Caldwell, New Jersey 07006, US

72 Inventor/es: **Mehra, Ravinder, C.;**
Andrevski, Zygmunt, M. y
Loewy, Zvi, G.

74 Agente: **Polo Flores, Luis Miguel**

ES 2 364 687 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

Sistema de toma de muestras mediante pipeta.

5 **CAMPO DE LA INVENCION**

[0001] La invención se refiere a un dispositivo para extraer una alícuota de una muestra de un receptáculo sellado, según las reivindicaciones 1 y 8 incluidas en el presente documento, con las realizaciones preferidas que se describen en las reivindicaciones dependientes.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0002] La dilucidación de las secuencias completas del genoma de innumerables organismos procariotas y eucariotas, entre los que se incluyen los humanos en especial, ha fijado los cimientos para un análisis exhaustivo del genoma. El análisis de expresión génica mediante micro-matrices, el diagnóstico de ADN y el descubrimiento de fármacos basado en genes, entre otras aplicaciones, dependen del conocimiento y acceso a la secuencia del genoma. El genoma humano contiene aproximadamente tres billones de pares de bases contenidos en 24 cromosomas independientes que albergan un total estimado de 30.000 genes distintos, cada uno de los cuales posee una longitud media de codificación de proteína de unos 3.000 pares de bases. Además, se ha establecido que el contenido genético que comprende la totalidad de los genes identificados en el genoma humano explica solamente alrededor del diez por ciento de la secuencia total de nucleótidos. La función de la porción de genoma restante todavía no se comprende en su totalidad.

15

20

[0003] Concomitante con la reciente finalización de la secuenciación del genoma humano, se ha desarrollado un esfuerzo mundial a gran escala, en el que están implicados científicos de centros de investigación académicos, públicos y privados, para comprender las funciones de todos los nuevos genes identificados, los productos de proteína que codifican y las complejas interacciones de estos componentes. Existe la creencia generalizada de que esta investigación tendrá un efecto inmediato y profundo sobre la futura comprensión de los procesos bioquímicos, genéticos y fisiológicos, así como en el diagnóstico y tratamiento de los trastornos médicos.

25

30

[0004] En particular, la tecnología de genotipado se está desarrollando a gran velocidad. Esta tecnología vincula diferentes enfermedades humanas y rasgos moleculares a variaciones específicas encontradas en los genes. Estas variaciones se definen en términos de una sección específica de un gen puesto que, cuando la secuencia de nucleótidos de dicha sección cambia, se origina un defecto correspondiente en la proteína u otro material sintetizado a partir del gen. Estas porciones del gen se denominan polimorfismos de nucleótido único o SNP (single-nucleotide polymorphisms). Los SNP pueden utilizarse para predecir si un individuo es propenso a desarrollar cierta enfermedad o si ciertos fármacos serán efectivos para dicho individuo. Esta tecnología es inmensamente interesante para las empresas farmacéuticas, puesto que los SNP que controlan las respuestas ante un fármaco pueden utilizarse para desarrollar pruebas para el cribado de pacientes antes de la prescripción de un medicamento, lo que, a su vez, resulta beneficioso para reducir las reacciones adversas al fármaco mediante la identificación de individuos susceptibles. Además, las investigaciones sobre el fármaco se volverán más eficientes, puesto que el conocimiento de los SNP ayudará a definir nuevos fármacos y a determinar y documentar la eficacia terapéutica de un compuesto farmacéutico dado.

35

40

[0005] La revelación de la secuencia del genoma humano ha creado, de la noche a la mañana, una plétora de métodos para estudiar el ADN, el ARN y otras macromoléculas biológicas como las proteínas. Se están generando en la actualidad nuevas secuencias de todo el genoma de multitud de organismos a un ritmo cada vez más elevado. Las secuencias y los patrones de expresión de los genes se comparan y contrastan para encontrar diferencias y similitudes, en un esfuerzo por promover la comprensión de la biología humana en los niveles genético, bioquímico y fisiológico. La generación, examen, análisis y análisis comparativo rápidos de las secuencias de ácido nucleico de todo el genoma de los organismos biológicos característicos de la técnica se ha calificado como "genómica".

45

50

[0006] El campo de la genómica puede dividirse en dos áreas principales: (a) genómica funcional, que intenta interpretar las funciones de los genes, incluyendo la investigación de la expresión y el control de los genes, y la (b) genómica comparativa, que estudia el genoma humano a través de comparaciones con los genomas de los seres no humanos, con el fin de comprender la función de los genes y la evolución de los genes, proteínas y organismos. Además, la bioinformática, disciplina relacionada, se ha desarrollado concomitante con la expansión de la genómica. Este campo, en rápida evolución, se ha definido como aquel que integra métodos computacionales para la manipulación e interpretación de cantidades masivas de información sobre la secuencia de nucleótidos y proteínas que se está generando actualmente en la técnica. El desarrollo de nuevos ordenadores, software y métodos de extracción de datos constituyen componentes críticos de esta tecnología.

55

60

[0007] Aunque son innumerables los pasos que comprenden el análisis genómico, ocurre a menudo que las etapas iniciales de las metodologías de la genómica conforman los pasos limitantes del proceso completo. La purificación

del ácido nucleico es un ejemplo de uno de tales procesos que tienen lugar en las etapas iniciales de los métodos de la genómica y que pueden afectar a la velocidad total del proceso. En la técnica actual, la purificación de los ácidos nucleicos es realizada todavía, en gran parte, en pequeños lotes y por técnicos formados. Además, el técnico está limitado a procesar unas pocas muestras al día y a generar una menor producción de ácidos nucleicos. Este hecho restringe la capacidad de generar información sobre la secuencia de nucleótidos, expone al técnico a agentes infecciosos, amplía el riesgo de contaminación de las muestras y genera un malgasto de los recursos. Por consiguiente, la purificación de los ácidos nucleicos puede representar un paso determinante para la velocidad en las metodologías de la genómica.

[0008] Una técnica para aumentar la eficiencia, productividad y calidad de la purificación de macromoléculas biológicas sería emplear métodos automatizados. Existen disponibles varios métodos semi-automatizados de procesamiento de muestras para la purificación de los ácidos nucleicos, pero todavía precisan de la intervención del hombre y no proporcionan un rendimiento elevado. Por ejemplo, la Patente Nº 5 270 211 de los EE. UU. hace referencia a una toma de entrada de tubo de muestras para un analizador químico automático que facilita la extracción de muestras con la pipeta sin que el operador se exponga a un contacto accidental con los materiales líquidos contenidos en el tubo de extracción.

[0009] Existen además sistemas totalmente automatizados para la purificación de los ácidos nucleicos, pero su uso no es extenso debido a su falta de flexibilidad y al elevado coste. Estos sistemas se utilizan, por lo general, en aplicaciones dedicadas de gran volumen, como las que se realizan en los grandes laboratorios de pruebas genéticas centrados en el aislamiento y purificación del ADN en tipos de muestras en particular. Los sistemas totalmente automatizados no se usan, por lo general, en laboratorios de menor tamaño donde existe, típicamente, una mayor diversidad de tipos de muestras biológicas a partir de las cuales se purifican con regularidad los ácidos nucleicos. En la actualidad, los sistemas totalmente automatizados también sufren de falta de flexibilidad en el volumen de muestras y se han diseñado, por lo general, para muestras de pequeño tamaño. Además, la integridad, pureza, concentración y producción de ácidos nucleicos tiende a ser baja.

[0010] Otra etapa inicial de las metodologías de la genómica es la toma de muestras biológicas. A este paso se le denomina en ocasiones "parte frontal", puesto que se produce al principio del proceso y, en consecuencia, puede determinar el ritmo de la totalidad de éste, en especial cuando es preciso tomar muestras de una gran cantidad de tubos. La toma de una muestra biológica, como de sangre, se realiza por lo general aspirando una cantidad definida de líquido de un recipiente, típicamente un tubo de muestra sin tapón. En numerosos laboratorios clínicos son comunes las gradillas de tubos de muestra sin tapón.

[0011] Puesto que las muestras biológicas son con frecuencia fuente de materiales peligrosos (bacterias, virus, hongos, toxinas biológicas), pueden entrañar peligro para los técnicos de laboratorio y trabajadores sanitarios de numerosos ambientes de trabajo diferentes, incluidos los laboratorios clínicos y de investigación. Además, la manipulación de muestras por parte de los técnicos conduce a menudo a una contaminación involuntaria de las muestras biológicas debido a los microorganismos existentes en el entorno que rodea al técnico. En otras palabras, el técnico debe ser cauto y ejercer una manipulación cautelosa para no contaminarse ni provocar ningún tipo de contaminación en la muestra.

[0012] Una vez retirados los tapones de los tubos, las muestras ya no estarán selladas y podría originarse, de forma involuntaria, una entrada de contaminación en el tubo o una liberación de contaminación de éste, incluso respetando de manera escrupulosa las medidas necesarias. Sería preferible que la toma de muestras se realizase directamente a partir del tubo sellado, de tal modo que no resultase necesario retirar los tapones durante el proceso. Tras la obtención de la muestra, las cantidades de muestras biológicas definidas se procesan individualmente a través de distintos pasos para obtener macromoléculas biológicas purificadas, como los ácidos nucleicos.

[0013] A la vista de los problemas de la técnica mencionada hasta este momento, surge la necesidad de un sistema de toma de muestras mediante pipeta que permita la extracción de muestras biológicas de los tubos de un modo seguro, sin necesidad de usar las manos y con el tubo cerrado. También es necesario un sistema de toma de muestras mediante pipeta en tubo cerrado que esté automatizado o semi-automatizado y que pueda integrarse con los sistemas de procesamiento automatizados y no-automatizados secuencia abajo para purificación de macromoléculas biológicas, incluyendo, aunque sin limitación, la purificación de ácidos nucleicos y proteínas. Existe también la necesidad de un sistema de toma de muestras mediante pipeta en tubo cerrado que pueda adaptarse a una gama flexible de cantidades y tipos de muestras biológicas, incluyendo, aunque sin limitación, sangre completa, plasma, líquido cefalorraquídeo, suero, saliva, esputo, orina, heces, células bucales, espermatozoides, tejidos sólidos, bacterias, levadura, muestras víricas, semen, líneas celulares cultivadas, plantas y combinaciones de éstos. Y también es necesario un sistema de toma de muestras mediante pipeta que elimine o minimice la posible contaminación de la muestra o del operador, que permita la toma de muestras de una pluralidad de tubos y que sea de bajo coste. La US 5 525 298 describe un dispositivo para suministrar una muestra de suero a partir de un tubo de recogida de sangre.

RESUMEN Y OBJETOS DE LA INVENCION

5 **[0014]** De acuerdo con la presente invención se suministra un dispositivo para extraer una alícuota de una muestra biológica de un receptáculo sellado que contenga dicha muestra biológica según las reivindicaciones 1 y 8. Las realizaciones preferidas de la invención se describen en las reivindicaciones dependientes.

[0015] Más abajo se describen los dispositivos reivindicados.

10 **[0016]** También se describe un método para extraer una alícuota de una muestra biológica de un receptáculo sellado que contenga dicha muestra biológica, que comprenda la perforación de dicho receptáculo cerrado con un dispositivo que comprende una cámara hueca de volumen predefinido y con paredes interior y exterior y extremos superior e inferior, una punta perforadora hueca que presente extremos afilados y romos, donde el extremo romo se encuentre introducido en el extremo inferior de la cámara hueca, y medios de filtrado en las paredes interiores de la cámara hueca para evitar la contaminación cruzada de fluidos, aerosoles o muestras más allá de dicha cámara de volumen predefinido, y que aspire una cantidad predefinida de dicha muestra biológica hacia dicha cámara hueca.

15 **[0017]** Además, se describe un sistema de tubo de toma de muestras para extraer una alícuota de una muestra biológica de un receptáculo sellado que contenga dicha muestra biológica, que comprenda un abrazo de carga compuesto, como mínimo, de un soporte de membrana inflable para sujetar de modo reversible dicho tubo de muestra para la aspiración de la muestra biológica de dicho tubo, un brazo de transferencia que comprenda un elemento de posicionamiento sujeto de modo reversible al brazo de carga para hacer girar dicho brazo de carga e invertir dicho tubo de muestra, una punta de pipeta sujeta de modo reversible al brazo de transferencia que comprenda una barrera de filtro, una cámara de volumen predefinido y una punta perforadora para traspasar dicho tubo de muestra, un tubo de aspiración colocado en dicha punta de pipeta para aspirar dicha muestra biológica una vez que la punta perforadora haya traspasado dicho tubo de muestra y, como opción, un porta-tiras para sujetar dichas puntas de pipeta.

20 **[0018]** Conforme a una realización de la presente invención, se suministra un dispositivo para extraer una alícuota de una muestra (biológica) de un receptáculo sellado que contiene dicha muestra (biológica), el cual comprende de una cámara hueca de volumen predefinido y con paredes interior y exterior y extremos superior e inferior, una punta perforadora hueca que presenta extremos afilados y romos, donde el extremo romo se encuentra introducido en el extremo inferior de la cámara hueca, una barrera de filtro sujeta a las paredes interiores de la cámara hueca, un orificio de ventilación lateral situado dentro de la cámara hueca y entre la barrera de filtro y la punta perforadora y una placa deflectora que separa la cámara hueca y el orificio de ventilación lateral, donde el deflector evita o bloquea sustancialmente la entrada del excedente de muestra en el orificio de ventilación lateral.

25 **[0019]** Conforme a otra realización de la presente invención, se suministra un dispositivo para extraer una alícuota de una muestra (biológica) de un receptáculo sellado que contiene dicha muestra (biológica), el cual comprende una cámara hueca de volumen predefinido y con paredes interior y exterior y extremos superior e inferior, una punta perforadora hueca que presenta extremos afilados y romos, donde el extremo romo se encuentra introducido en el extremo inferior de la cámara hueca, una barrera de filtro sujeta a las paredes interiores de la cámara hueca y un orificio de ventilación lateral situado dentro de la cámara hueca y entre la barrera de filtro y la punta perforadora, donde la punta perforadora se extiende hacia el interior de dichas cámaras más allá de una entrada al orificio de ventilación lateral, de tal modo que el extremo romo de la punta perforadora evite o bloquee sustancialmente la entrada del excedente de muestra en el orificio de ventilación lateral.

30 **[0020]** Además, se describe un dispositivo para extraer una alícuota de una muestra de un receptáculo sellado que contiene dicha muestra, el cual comprende una cámara hueca de volumen predefinido y con paredes interior y exterior y extremos superior e inferior, una punta perforadora hueca que presenta extremos afilados y romos, donde el extremo romo se encuentra introducido en el extremo inferior de la cámara hueca, y una barrera de filtro sujeta a las paredes interiores de la cámara hueca.

35 **[0021]** También se describe un sistema de tubos para toma de muestras para extraer una alícuota de una muestra de un tubo de muestra sellado que contiene dicha muestra, el cual comprende un brazo de carga compuesto, como mínimo, por un soporte de membrana inflable para enganchar de modo reversible dicho tubo de muestra durante la aspiración de la muestra, un brazo de transferencia compuesto por un elemento de posicionamiento enganchando de modo reversible al brazo de carga para hacer girar el brazo de carga e invertir dicho tubo de muestra, una punta de pipeta enganchada de modo reversible al brazo de transferencia que comprende una barrera de filtro, una cámara hueca de volumen predefinido y una punta perforadora para traspasar dicho tubo de muestra, un tubo de aspiración sujeto a dicha punta de pipeta para aspirar dicha muestra una vez que la punta perforadora haya traspasado dicho tubo de muestra y, como opción, un porta-tiras para sujetar las puntas de dicha pipeta.

40 **[0022]** Asimismo, se revela un método para la toma de una o más muestras de tubos de muestra sellados que contienen dichas muestras, el cual comprende los pasos para transferir dicho tubo de muestra desde una gradilla de muestras hasta un brazo de carga, donde dicho tubo de muestra se encuentra en posición vertical, perforando dicho

tubo de muestra con una punta de pipeta que comprende una punta perforadora, invirtiendo el tubo de muestra perforado con un grado suficiente para mantener el contacto de la muestra y el cierre durante un periodo de tiempo suficiente para permitir la recogida de la muestra, aspirando dicho fluido desde el tubo de muestra perforado hasta una cámara situada dentro de la punta de pipeta, invirtiendo de nuevo el tubo perforado hasta la posición vertical y retirando la punta perforadora del tubo de muestra.

[0023] Además, se revela un método para evitar la contaminación cruzada de una alícuota compuesta por una muestra, al tiempo que se extrae dicha alícuota de un receptáculo sellado que contenga dicha muestra, el cual comprende los pasos para perforar dicho receptáculo sellado con un dispositivo que comprende una cámara hueca de volumen predefinido y con paredes interior y exterior y extremos superior e inferior, una punta perforadora hueca que presenta extremos afilados y romos, donde el extremo romo se encuentra introducido en el extremo inferior de la cámara hueca, y medios de filtrado sujetos a las paredes interiores de la cámara hueca para evitar la contaminación cruzada de fluidos, aerosoles o muestras más allá de dicha cámara hueca, y que aspira un volumen predefinido de dicha muestra en dicha cámara hueca.

[0024] Un objeto era proporcionar un sistema de toma de muestras mediante pipeta que permita la extracción de muestras biológicas de los tubos de muestra de un modo seguro y con los tubos cerrados, con el fin de eliminar el riesgo de contaminación de la muestra o del operador. Otro objeto era suministrar un sistema de toma de muestras mediante pipeta en tubo cerrado, automatizado, semi-automatizado o manual, que pueda integrarse con los sistemas de procesamiento automatizados y no-automatizados posteriores para la purificación de macromoléculas biológicas, incluyendo, aunque sin limitación, la purificación de ácidos nucleicos y proteínas. Otro objeto era suministrar un sistema de toma de muestras mediante pipeta de tubo cerrado que pueda adaptarse a una gama flexible de volúmenes de muestra y tipos de muestras biológicas, incluyendo, aunque sin limitación, sangre completa, plasma, líquido cefalorraquídeo, suero, saliva, esputo, orina, heces, células bucales, espermatozoides, tejidos sólidos, bacterias, levadura, muestras víricas, semen, líneas celulares cultivadas, plantas y combinaciones de éstos. Otro objeto más era proporcionar un sistema de toma de muestras mediante pipeta y con el tubo cerrado que permita tomar muestras de una pluralidad de tubos, emplee puntas de pipeta y puntas perforadoras desechables, tenga un bajo coste y resulte adecuado para una plataforma de genómica.

[0025] La presente descripción abarca los métodos y componentes para un sistema de toma de muestras mediante pipeta que permita realizar dicha toma a partir de tubos de muestra cerrados que pueden contener una amplia variedad de tipos de muestra. Tales tipos de muestra pueden ser biológicos, como, por ejemplo, sangre completa, plasma, líquido cefalorraquídeo, suero, saliva, esputo, orina, heces, células bucales, espermatozoides, tejidos sólidos, bacterias, levadura, muestras víricas, semen, líneas celulares cultivadas, plantas y combinaciones de éstos. Los tipos de muestra también pueden ser químicos como, por ejemplo, reactivos, catalizadores y similares. Es más, un operario experto comprendería fácilmente que, con la presente invención, podría utilizarse cualquier tipo de muestra que pudiese ser extraída de un tubo mediante aspiración.

[0026] Los componentes que constituyen la presente invención incluyen, aunque sin limitación, un tubo de muestra, preferentemente, aunque sin limitación, un Vacutainer™ (Becton Dickinson), una punta de pipeta, preferiblemente desechable, y un sistema de tubos para toma de muestras, preferiblemente que no precise de la intervención del hombre. Además, la invención puede automatizarse o semi-automatizarse, puede proporcionar toma de muestras a partir de una pluralidad de tubos de muestra y puede integrarse en los sistemas de procesamiento automatizados y no-automatizados posteriores para la purificación de macromoléculas biológicas, incluyendo, aunque sin limitación, la purificación de ácidos nucleicos y proteínas.

[0027] En una realización, la punta de pipeta comprende una cámara principal de volumen definido, una barrera de filtro y una punta perforadora. Preferentemente, la punta perforadora ha sido diseñada para traspasar el cierre del tubo de muestra sin la destrucción o extracción del cierre del tubo. La punta perforadora puede estar fabricada con cualquier material no reactivo conocido en la técnica, incluyendo, por ejemplo, acero inoxidable, plástico, polipropileno y poliestireno.

[0028] El tubo de muestra se compone de una cámara hueca con un orificio en el extremo superior y una superficie cerrada en el extremo inferior. Es preferible que el tubo de muestra sea un tubo de recogida mediante vacío como el representado por, aunque no limitado a, un Vacutainer™ (fabricado por Becton Dickenson). Preferentemente, la barrera de filtro de la punta de pipeta es suficiente para evitar la contaminación cruzada de muestras, fluidos o aerosoles y / o absorción o desplazamiento del fluido más allá de la cámara, como en las líneas o componentes del instrumento. Preferentemente, la barrera de filtro es una barrera de filtro hidrofóbica y esterilizable, como, por ejemplo, Porex™. Preferentemente, la punta de pipeta y la punta perforadora han sido diseñadas y adaptadas para traspasar el cierre del tubo de muestra, son desechables y se suministran pre-esterilizadas.

[0029] La punta de pipeta permite la aspiración de muestras alícuotas de tubos de muestra. Tales alícuotas puede tener un volumen aproximado de entre 1 µl y 5 ml, siendo preferible un volumen aproximado de entre 5 µl y 1 ml o siendo de máxima preferencia un volumen aproximado de entre 20 y 100 µl. Preferentemente, la punta de pipeta ha sido diseñada y adaptada para su uso en un sistema de toma de muestras mediante pipeta en tubo cerrado y

sistemas de procesamiento automatizados y no-automatizados posteriores para la purificación de macromoléculas biológicas.

5 [0030] La presente invención comprende además un sistema de tubos para toma de muestras que permite el acceso del sistema de tubos de toma de muestras mediante pipeta a muestra contenida en el tubo, con el fin de obtener un volumen definido de la muestra. El volumen definido puede ser de entre 1 μ l y 5 ml, siendo preferible un volumen de entre 5 μ l y 1 ml o siendo de máxima preferencia un volumen de entre 20 y 100 μ l. Además, es preferible que el tubo de muestra se encuentre cerrado con una barrera de que selle el tubo y evite que la muestra tenga fugas, se derrame o libere aerosoles. Un ejemplo de sistema de tubos disponible en la técnica que podría utilizarse es el tubo
10 Vacutainer™, un tipo de tubo de recogida mediante vacío (Becton Dickinson). Estos tubos se suministran con tapones de caucho comunes o con tapones de caucho recubiertos por plástico Hemogard™, que proporcionan un collar protector adicional para evitar todavía más el contacto accidental con los fluidos de muestra en la superficie del tapón. Los tubos de recogida mediante vacío disponibles en la técnica se han diseñado típicamente para
15 contener volúmenes de fluido de muestra que van desde 3 a 10 ml y presentan diámetros externos de 10,25 a 16 mm y longitudes de 64 a 100 mm. Los tubos pueden incluir una etiqueta, que puede estar fabricada con algún material conocido en la técnica, entre los que se incluyen, aunque sin limitación, papel o plástico. Preferentemente, la etiqueta será un código de barras.

20 [0031] En una realización preferida, el sistema de tubos para toma de muestras permite acceder a la muestra de un modo automatizado o semi-automatizado. De la manera preferente, el acceso se realiza a través de la punta de pipeta de la presente invención, que comprende la punta perforadora, la cámara de volumen predefinido y la barrera de filtro. En la presentación de máxima preferencia, el sistema de tubos para toma de muestras permite la manipulación de la muestra con el tubo cerrado y opera de tal modo que no precisa de la intervención del hombre.

25 [0032] El sistema de tubos de toma de muestras contiene un brazo de carga que sostiene y manipula el tubo de la muestra a través de soportes de membrana hinchable, donde el brazo de carga permite la colocación adecuada del cierre del tubo de la muestra y de la punta perforadora de la punta de pipeta, de tal modo que se produzca la aspiración de la muestra a través del cierre perforado. Un brazo de transferencia gira y desplaza el brazo de carga para tomar muestras de varios tubos de modo paralelo o en serie.

30 [0033] La presente invención abarca un sistema de toma de muestras mediante pipeta, diseñado para su uso de un modo coordinado y automatizado o semi-automatizado con respecto a la función y al tiempo, el tubo de muestra, la punta de pipeta y el sistema de tubos para la toma de muestras biológicas provenientes de tubos cerrados. Además, la invención puede permitir la toma de muestras a partir de una pluralidad de tubos de muestra y puede integrarse
35 con los sistemas de procesamiento automatizados y no-automatizados posteriores para la purificación de macromoléculas biológicas, incluyendo, pero sin limitación, la purificación de ácidos nucleicos y proteínas.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

40 [0034] La siguiente descripción detallada que se proporciona a modo de ejemplo, pero que no tiene como fin limitar la invención únicamente a las realizaciones específicas aquí descritas, puede comprenderse mejor conjuntamente con los dibujos que se acompañan, en los que:

45 La Figura 1 representa una realización de la punta de pipeta y de un tubo de muestra, siendo preferible, aunque no limitado a, un tubo de recogida mediante vacío y de máxima preferencia, aunque no limitado a, un tubo Vacutainer™.

La Figura 2 representa la realización detallada de una punta de pipeta que comprende distintos elementos, incluida la punta perforadora.

50 La Figura 3 representa otra realización detallada de una punta de pipeta que comprende distintos elementos, incluida la punta perforadora con forma de aguja.

La Figura 4a representa una realización del sistema de tubos para toma de muestras, donde el tubo de muestra se carga en el sistema con una configuración vertical.

La Figura 4b representa una realización del sistema de tubos para toma de muestras, donde el tubo de muestra en posición vertical ha sido traspasado por la punta perforadora.

55 La Figura 4c representa una realización del sistema de tubos para toma de muestras, donde el tubo de muestra se ha invertido para la aspiración.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

60 [0035] Los términos siguientes utilizados en esta exposición tendrán el significado expuesto a continuación:

65 “Parte frontal” alude a, por ejemplo, el proceso o procesos iniciales necesarios para un flujo de trabajo. En el caso de la aplicación actual, la toma de muestras constituye la “parte frontal”, puesto que es el proceso inicial que se necesita antes de que puedan comenzar los procesos de purificación de macromoléculas posteriores y las aplicaciones basadas en genómica, los cuales incluyen, aunque no están limitados a, PCR, secuenciación,

análisis de micro-matrices, detección de SNP y perfiles de transcripción.

“Genómica” hace referencia a, por ejemplo, la caracterización y análisis de la composición genética de los organismos al nivel de genoma completo.

5 “Tecnologías de la genómica” hace referencia a, por ejemplo, los métodos, dispositivos y componentes utilizados en el campo de la genómica.

“Plataforma de genómica” hace referencia a, por ejemplo, grandes números de muestras procesadas durante un período de tiempo dado y de un modo eficaz.

“Formato de matrices paralelas” hace referencia a, por ejemplo, una pluralidad de muestras procesadas simultáneamente.

10 “Robótica X-Y-Z” hace referencia a, por ejemplo, la robótica que controla la posición horizontal, vertical y diagonal de un objeto o grupo de objetos.

15 **[0036]** La presente descripción describe los métodos y componentes para un sistema de toma de muestras mediante pipeta que permita la toma de muestras biológicas en tubos cerrados que contengan una amplia variedad de tipos de muestra. Entre los tipos de muestra se incluyen, aunque no se limitan a, muestras biológicas, muestras químicas, reactivos, muestras fluidas y semi-fluidas y similares. Entre los ejemplos de muestras biológicas se incluyen, aunque sin limitación, sangre completa, plasma, líquido cefalorraquídeo, suero, saliva, esputo, orina, heces, células bucales, espermatozoides, tejidos sólidos, bacterias, levadura, muestras víricas, semen, líneas celulares cultivadas, plantas y combinaciones de éstos

20 **[0037]** Los componentes que constituyen la presente invención incluyen, aunque no están limitados a, un tubo de muestra, una punta de pipeta y un sistema de tubos para toma de muestras. Además, la invención puede proporcionar tomas de muestras de una pluralidad de tubos de muestra, siendo preferible, aunque sin limitación, un número de entre 1 y 200 tubos de muestra. Se prevé que la presente invención pueda ser automatizado e integrado en los sistemas de procesamiento manuales y automatizados posteriores para la purificación de macromoléculas biológicas, que incluyen, aunque sin limitación, la purificación de ácidos nucleicos y proteínas.

30 **[0038]** En una realización, las muestras biológicas se presentan al sistema de toma de muestras mediante pipeta en recipientes tapados. Las muestras biológicas son, preferentemente, de sangre completa, aunque también podrían incluir, aunque sin limitación, plasma, líquido cefalorraquídeo, suero, saliva, esputo, orina, heces, células bucales, espermatozoides, tejidos sólidos, bacterias, levadura, muestras víricas, semen, líneas celulares cultivadas, plantas y combinaciones de éstos. Las muestras, preferentemente alícuotas de pequeño volumen de aproximadamente entre 1 µl y 5 ml, siendo preferible un volumen de aproximadamente entre 5 µl y 1 ml o siendo de máxima preferencia un volumen de aproximadamente entre 20 y 100 µl, se aspiran de tubos de muestra cerrados con una punta de pipeta que comprende una punta perforadora, una cámara de volumen predefinido y una barrera de filtro. La muestra aspirada puede dispensarse y procesarse a continuación mediante cualquier método conocido de la técnica de purificación de macromoléculas biológicas y puede incluir, aunque sin limitación, la purificación de ácidos nucleicos y proteínas. Pueden tomarse muestras de una pluralidad de tubos, preferentemente, aunque sin limitación, de aproximadamente entre 1 y 200, mediante el uso de múltiples pipetas y puede integrarse el sistema con sistemas de procesamiento automatizado y no automatizado posteriores para la purificación de macromoléculas biológicas, incluyendo, aunque sin limitación, la purificación de ácidos nucleicos y proteínas.

45 **[0039]** El sistema de toma de muestras mediante pipeta acepta muestras presentadas en tubos cerrados, preferentemente, aunque sin limitación, en Vacutainers™. En una realización, los tubos de muestra se aceptan en gran número, preferentemente aunque sin limitación, de aproximadamente entre 1 y 200 tubos de muestra, y se cargan en una gradilla de muestras que coloca los tubos para la toma de muestras. Los tubos de muestra se sellan por medio de un cierre situado en la parte superior del tubo, minimizándose así el riesgo de fuga, derrame o generación de aerosoles. El cierre puede ser de alguno de los tipos conocidos en la técnica. El sistema de toma de muestras mediante pipeta utiliza puntas perforadoras para extraer alícuotas de muestra de los tubos, en los que las puntas perforadoras son, preferentemente, un componente de las puntas de pipeta de la presente invención. La técnica de aspiración automatizada de muestras, preferentemente el sistema de tubos para toma de muestras de la presente invención, permite una toma de muestras exacta y precisa y evita el arrastre y la contaminación debidos a fugas, derrames o generación de aerosoles de fluidos de muestras biológicas.

55 **[0040]** La punta de pipeta de la presente invención permite la toma de muestras en tubo o receptáculo cerrado, minimiza o evita la contaminación cruzada y permite la toma de muestras de pequeño volumen. Las muestras de pequeño volumen pueden ser alícuotas de aproximadamente entre 1 µl y 5 ml, siendo preferibles de aproximadamente entre 5 µl y 1 ml o siendo de máxima preferencia de aproximadamente entre 20 y 100 µl. La toma de muestras de tubo cerrado mediante punta perforadora permite la extracción automática de alícuotas de muestra de los tubos, sellados con cierres, sin destrozarse ni retirarse los cierres de los tubos. Los tubos se sellan de nuevo tras la extracción de la punta perforadora de la punta de pipeta a través del movimiento del material del cierre, que regresa a su posición previa a la inserción.

65 **[0041]** La punta de pipeta se acomoda a tubos de muestra de diferentes diámetros y longitudes. Entre las dimensiones de los tubos de muestra se incluyen, por ejemplo, 10,25 mm x 47 mm, 10,25 mm x 64 mm, 13 mm x 75

mm, 13 mm x 100 mm, 16 mm x 100 mm y 16 mm x 125 mm.

[0042] Preferentemente, los tubos disponen de un identificador que se corresponde con otro identificador pegado a las muestras o a la documentación de las muestras. De manera preferente, el identificador es un código de barras.

[0043] En una realización de la presente invención, se extrae un único tubo o receptáculo de una gradilla de muestras. La gradilla de muestras podría configurarse como gradilla recta, gradilla de tipo carrusel o cualquier otra configuración conocida por un operario experto. Preferentemente, los tubos se mantienen en posición vertical en la gradilla de muestras. Además, también es preferible que las gradillas puedan contener de aproximadamente 1 a 200 tubos.

[0044] En un proceso preferido, se retira un tubo de la gradilla de muestras y se presenta al sistema de toma de muestras mediante pipeta. Tras la inserción de la punta perforadora de la punta de pipeta mediante el desplazamiento vertical de una pieza central, el tubo de muestra se invierte unos 180°, provocando el desplazamiento del fluido de muestra hacia la parte superior del tubo de muestra. La muestra se aspira, el tubo de muestra se devuelve a su posición vertical, la punta de pipeta se retira del tubo, el cierre se sellan de nuevo y el tubo es devuelto a la gradilla de muestras. En esta realización se utiliza la robótica X-Y-Z, a través de la cual puede localizarse en el espacio la posición exacta del tubo y de la punta de pipeta para permitir la toma de la muestra.

[0045] En otra realización, los tubos de muestra se cargan en una gradilla de tipo carrusel. Cuando el carrusel gira, un grupo de tubos de muestra se alinea con el sistema de tubos para toma de muestras. Preferentemente, el grupo de tubos es igual o superior a 32 tubos. Se perforan una pluralidad de tubos con las puntas de pipeta en paralelo o en serie, permitiéndose así una aspiración de las muestras paralela o en serie.

[0046] Las puntas de pipeta pueden utilizarse en un proceso de cinco pasos. Cada una de las puntas de pipeta comprende una cámara de volumen definido, una punta perforadora y una barrera de filtro hidrofóbica y esterilizable que evita la contaminación cruzada de los fluidos o aerosoles de las muestras generados en el contacto con los componentes de los sistemas de pipeta. En esta realización, (1) la punta de una pipeta perfora el tubo cerrado, (2) el tubo perforado se invierte unos 180°, (3) se aspira la muestra, (4) el tubo se invierte de nuevo hasta la posición inicial y (5) se retira la punta de pipeta que contiene la muestra aspirada.

[0047] En referencia a la Figura 1, la punta de pipeta comprende una barrera de filtro (100), una cámara principal de volumen predefinido (110) y una punta perforadora hueca (120). Durante el uso, la punta perforadora (120) traspasa el cierre (130), lo que, una vez correctamente insertada en un tubo de muestra (140), da como resultado un tubo cerrado lo suficientemente sellado como para evitar la fuga, derrame o liberación de aerosoles. El tubo de muestra (140) comprende una cámara hueca, un extremo superior (160) con un orificio y un extremo inferior (170) con una superficie cerrada. Preferentemente, el tubo de muestra es, aunque sin limitación, un Vacutainer™.

[0048] Preferentemente, la barrera de filtro (100) evitará de forma considerable la contaminación cruzada de fluidos o aerosoles y / o la absorción de fluido más allá de la cámara, como en las líneas del instrumento. En la práctica, la barrera de filtro (100) es hidrofóbica y puede esterilizarse con métodos conocidos en la técnica. Entre las barreras de filtro adecuadas (100) se incluyen, aunque sin limitación, Porex™ o cualquier otro consumible conocido en la técnica. Puede recortarse la barrera de filtro (100) para adaptar su tamaño a la cámara principal (110).

[0049] En una realización, la punta perforadora (120) se adapta para que traspase un cierre de tubo de muestra como los utilizados en los Vacutainers™. Entre los materiales adecuados para las puntas perforadoras se incluyen, aunque sin limitación, acero inoxidable, plástico, poliestireno y polipropileno. Preferentemente, la punta perforadora (120) es desechable. Entre los métodos de fabricación de la punta perforadora se incluyen todos los conocidos en la técnica.

[0050] En la presentación de máxima preferencia, la punta de pipeta (150) se adapta para la aspiración de muestras de pequeño volumen. Esto resulta especialmente adecuado para su uso en la aspiración de volúmenes asociados a muestras forenses. Preferentemente, las cantidades pequeñas de muestra serán de aproximadamente entre 1 µl y 5 ml. De manera preferente, las cantidades pequeñas de muestra serán de aproximadamente entre 5 µl y 1 ml. En la presentación de máxima preferencia, las cantidades pequeñas de muestra serán de aproximadamente entre 20 y 100 µl.

[0051] La Figura 2 hace referencia a una realización más detallada de una punta de pipeta (200). La punta de pipeta (200) comprende un cuerpo (220), una barrera de filtro (221), que evita en gran medida que fluidos o aerosoles escapen por el orificio de ventilación lateral (230), y una soldadura del cuerpo (250) y una soldadura de la punta (270). Una punta perforadora (290) posee una abertura (280) a través de la cual entra la muestra en la cámara principal (210) de la punta de pipeta. El orificio de ventilación lateral (230) funciona, por ejemplo, para evitar o bloquear en gran medida el paso del excedente de fluido a la barrera de filtro (221). Un deflector (240) evita que la muestra se desplace hasta el orificio de ventilación lateral (230) mientras la muestra se encuentra en la cámara principal (210). Entre los materiales adecuados para la construcción de la punta de pipeta (200) se incluyen, aunque

sin limitación, acero inoxidable, plástico, polipropileno y poliestireno.

[0052] La Figura 3 hace referencia a otra realización detallada de la punta de pipeta (300). La punta de pipeta (300) comprende un cuerpo (320), una barrera de filtro (321), que evita en gran medida que fluidos o aerosoles escapen por el orificio de ventilación lateral (330), y una soldadura del cuerpo (350) y una soldadura de la punta (370). La punta perforadora (360), que en esta realización toma la forma de una aguja, posee una abertura (380) a través de la cual la muestra entra en la cámara principal (321) de la punta de pipeta. La prolongación de la aguja (360) más allá de la entrada al orificio de ventilación (330) evita que la muestra se desplace hacia el orificio de ventilación mientras la muestra se encuentra situada en la cámara principal (321). Entre los materiales adecuados para la construcción de la punta de pipeta (300) se incluyen, aunque sin limitación, acero inoxidable, plástico, polipropileno y poliestireno.

[0053] La presente invención comprende además un sistema de tubos para toma de muestras que permite el acceso del sistema de toma de muestras mediante pipeta a una muestra contenida en el tubo, con el fin de obtener una cantidad definida de la muestra. Preferiblemente, el tubo será un tubo o receptáculo de recogida mediante vacío. De manera preferente, el tubo es un tubo VacutainerTM o un sistema de tubos o receptáculos comparable disponible en la técnica actual. En la presentación de máxima preferencia, el sistema de tubos para toma de muestras permite acceder a la muestra de un modo automatizado o semi-automatizado. Además, el acceso a la muestra biológica se realiza, preferentemente, a través de la punta de pipeta de la presente invención. En la presentación de máxima preferencia, el sistema de tubos para toma de muestras permite la manipulación de la muestra con el tubo cerrado.

[0054] El sistema de tubos para toma de muestras comprende un brazo de carga que sostiene y manipula el tubo de muestra a través de un soporte de membrana inflable. El brazo de carga permite la colocación y alineación adecuadas del cierre del tubo de muestra y de la punta perforadora de la punta de pipeta, de tal modo que se produzca la aspiración de la muestra a través del cierre perforado. El brazo de transferencia gira y desplaza el brazo de carga para tomar muestras de una pluralidad de tubos de modo paralelo o en serie.

[0055] En una realización preferida, la punta de pipeta ha sido diseñada para que se enganche a un sistema de tubos para toma de muestras. En una realización, el sistema de tubos para toma de muestras se acciona de forma manual. En otra realización, se ha automatizado la operación del sistema de tubos para toma de muestras. En una realización adicional, las puntas de pipeta se embalan sueltas y sin esterilizar y el usuario final deberá esterilizarlas. Preferentemente, se embalarán y esterilizarán previamente las puntas de pipeta. Para su uso en el sistema de toma de muestras mediante pipeta, las puntas de las pipetas estarán embaladas previamente en un porta-tiras. Entre los materiales adecuados para la construcción del porta-tiras se incluyen, aunque sin limitación, acero inoxidable, plástico, polipropileno y poliestireno. De manera preferente, las puntas de pipeta se suministrarán en porta-tiras pre-esterilizados y listos para su uso dentro del sistema de toma de muestras mediante pipeta.

[0056] En referencia a la Figura 4a, el sistema de tubos para toma de muestras (400) comprende un tubo de muestra (401) que contiene una muestra (402). El tubo de muestra (401) está situado en vertical en un brazo de carga (430). Soportes de membrana inflados (420) mantienen el tubo de muestra (401) en su sitio. Una vez desinflados, los soportes de membrana (420) liberan el tubo de muestra (401). El brazo de carga se hace girar mediante el uso de un brazo de transferencia (440) y un elemento de posicionamiento (480), de tal modo que el cierre (431) puede engancharse de manera reversible a la punta perforadora (491) de la punta de pipeta (492) cargada en un porta-tiras (450). La punta de pipeta (492) se engancha de forma reversible al brazo de transferencia (440) en un pipeteador (460) y un cilindro de punción (470), lo que permite que el extremo del tubo de aspiración (493) se conecte funcionalmente con la punta de pipeta (492). El cilindro de punción (470) se mantiene en su sitio gracias al adaptador de la pieza central (494).

[0057] En referencia a la Figura 4b, el sistema de tubos para toma de muestras (400) comprende un tubo de muestra (401) que contiene la muestra (402). El tubo de muestra (401) está situado en vertical en el brazo de carga (430). Soportes de membrana inflados (420) mantienen el tubo de muestra (401) en su sitio. Una vez desinflados, los soportes de membrana (420) liberan el tubo de muestra (401). El brazo de carga se hace girar mediante el uso del brazo de transferencia (440) y el elemento de posicionamiento (480), de tal modo que el cierre (431) puede engancharse de manera reversible a la punta perforadora (491) de la punta de pipeta (492) cargada en el porta-tiras (450). La punta de pipeta (492) se engancha de forma reversible al brazo de transferencia (440) en el pipeteador (460) y el cilindro de punción (470), lo que permite que el extremo del tubo de aspiración (493) se conecte funcionalmente con la punta de pipeta (492). El cilindro de punción (470) se mantiene en su sitio gracias al adaptador de la pieza central (494). El adaptador de la pieza central (494) se desplaza hacia arriba para permitir que la punta perforadora (491) traspase el tubo de muestra (401).

[0058] En referencia a la Figura 4c, el sistema de tubos para toma de muestras (400) comprende un tubo de muestra (401) que contiene la muestra (402). Soportes de membrana inflados (420) mantienen el tubo de muestra (401) en su sitio. Una vez desinflados, los soportes de membrana (420) liberan el tubo de muestra (401). El brazo de carga se hace girar mediante el uso del brazo de transferencia (440) y el elemento de posicionamiento (480), de tal modo que el cierre (431) puede engancharse de manera reversible a la punta perforadora (491) de la punta de pipeta (492)

cargada en el porta-tiras (450). El elemento de posicionamiento (480) hace girar el tubo de muestra (401) y la muestra biológica (402) se aspira mediante el tubo de aspiración (493) hacia la punta de pipeta (492).

5 **[0059]** En una realización, el brazo de transferencia lleva la punta de pipeta, que contiene la muestra aspirada, hasta un tubo de procesamiento por el cual la muestra se dispensa. El cilindro de punción (470) se desplaza entonces para extraer el pipeteador (460) de las puntas de pipeta desechables (492). Un nuevo conjunto de puntas de pipeta (492) se inserta automáticamente en el porta-tiras (450), desechándose así la banda de puntas de pipeta usadas y permitiendo que el instrumento tome una muestra de otro tubo o conjunto de tubos de muestra.

10 **[0060]** Las muestras dispensadas se procesan a continuación mediante cualquier método conocido de la técnica para obtener macromoléculas biológicas purificadas, incluyendo, aunque sin limitación, ácidos nucleicos y proteínas. Los ácidos nucleicos incluyen, aunque sin limitación, ADN y ARN. El ADN incluye, aunque sin limitación, tanto material cromosómico como extra-cromosómico. El ARN incluye, aunque sin limitación, ARNm, ARNt, ARNhn y ARNr.

15 **[0061]** El ácido nucleico aislado puede utilizarse posteriormente con cualquier método conocido en la técnica. Entre tales métodos se incluyen, aunque sin limitación, análisis de micro-matrices, secuenciación manual y automatizada, análisis de SNP, todos los tipos de PCR, análisis de fragmentos de restricción, incluyendo análisis RFLP (restriction fragment length polymorphism, *polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción*), transcripción y traducción "in vitro" y clonación.

20 EJEMPLOS DETALLADOS

Ejemplo 1: carga del tubo de muestra

25 **[0062]** Se llenó con sangre y se tapó un tubo de muestra Vacutainer™. El tubo de muestra se colocó en vertical dentro del brazo de carga y se mantuvo en su sitio mediante soportes de membrana inflable.

Ejemplo 2: perforación del tubo de muestra

30 **[0063]** La punta perforadora de la punta de pipeta se colocó por encima del extremo con tapón del tubo de muestra por medio del brazo de carga. El cilindro de punción empujó hacia abajo la punta de pipeta para que se enganchara de forma reversible y perforara el tubo de muestra.

35 Ejemplo 3: aspiración de la muestra contenida en el tubo

40 **[0064]** El tubo de muestra y la punta de pipeta se hicieron rotar unos 180 grados, por lo que el tubo de muestra se invirtió de modo considerable. Se aspiró una alícuota de sangre del tubo de muestra hacia la cámara hueca de la punta de pipeta. El cilindro de punción replegó la punta de pipeta, desenganchándose así la punta perforadora del tubo de muestra. El tubo de muestra se invirtió hasta una posición básicamente vertical. La alícuota de sangre se procesó mediante cualquiera de los métodos conocidos en la técnica para obtener ADN purificado.

REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN

45 *La lista de referencias citadas por el solicitante tiene como fin exclusivamente la comodidad del lector. No forman parte del documento de Patente Europea. Aunque se han extremado los cuidados en la compilación de las referencias, no se excluye la posibilidad de errores u omisiones y la OEP rechaza cualquier tipo de responsabilidad a este respecto.*

50 Documentos de patente citados en la descripción

- US 5525298 A **[0013]**

REIVINDICACIONES

- 5 1. Dispositivo para extraer una alícuota de una muestra de un receptáculo sellado que contiene dicha muestra y que comprende:
- 10 a) una cámara hueca de volumen predefinido que presenta paredes interior y exterior y extremos superior e inferior;
- b) una punta perforadora hueca que presenta extremos afilados y romos, donde el extremo romo se encuentra introducido en el extremo inferior de la cámara hueca;
- 10 c) una barrera de filtro en las paredes interiores de la cámara hueca;
- d) un orificio de ventilación lateral situado dentro de la cámara hueca y entre la barrera de filtro y la punta perforadora; y
- e) una placa deflectora que separa la cámara hueca y el orificio de ventilación lateral,
- 15 donde la placa deflectora evita o bloquea esencialmente la entrada del excedente de muestra en el orificio de ventilación lateral.
2. Dispositivo de la reivindicación 1, donde la muestra es una muestra de tipo biológico.
- 20 3. Dispositivo de la reivindicación 2, donde la punta perforadora es retráctil dentro de dicha cámara hueca.
4. Dispositivo de la reivindicación 2, donde dicha muestra biológica es sangre, plasma, líquido cefalorraquídeo, suero, saliva, esputo, orina, heces, células bucales, espermatozoides, tejidos sólidos, bacterias, levadura, muestras víricas, semen, líneas celulares cultivadas, plantas y combinaciones de éstos.
- 25 5. Dispositivo de la reivindicación 4, donde dicho receptáculo sellado es un tubo de muestra.
6. Dispositivo de la reivindicación 4, donde la punta de pipeta y / o la punta perforadora es / son desechables.
- 30 7. Dispositivo de la reivindicación 4, donde la barrera de filtro es una barrera de filtro hidrofóbica y esterilizable.
8. Dispositivo para extraer una alícuota de una muestra de un receptáculo sellado que contiene dicha muestra y que comprende:
- 35 a) una cámara hueca de volumen predefinido que presenta paredes interior y exterior y extremos superior e inferior;
- b) una punta perforadora hueca que presenta extremos afilados y romos, donde el extremo romo se encuentra introducido en el extremo inferior de la cámara hueca;
- 40 c) una barrera de filtro en las paredes interiores de la cámara hueca; y
- d) un orificio de ventilación lateral situado dentro de la cámara hueca y entre la barrera de filtro y la punta perforadora,
- 45 donde la punta perforadora se extiende al interior de dicha cámara más allá de una entrada al orificio de ventilación lateral, de tal modo que el extremo romo de la punta perforadora evita o bloquea sustancialmente la entrada del excedente de muestra en el orificio de ventilación lateral.
9. Dispositivo de la reivindicación 1, donde la muestra es una muestra de tipo biológico.
- 50 10. Dispositivo de la reivindicación 9, donde dicha alícuota tiene un volumen de aproximadamente entre 1 μ l y 5 ml, siendo preferible un volumen de aproximadamente entre 5 μ l y 1 ml o siendo de máxima preferencia un volumen aproximadamente de entre 20 y 100 μ l.
11. Dispositivo de la reivindicación 9, donde la punta perforadora es retráctil dentro de dicha cámara hueca.
- 55 12. Dispositivo de la reivindicación 9, donde dicha muestra biológica es sangre, plasma, líquido cefalorraquídeo, suero, saliva, esputo, orina, heces, células bucales, espermatozoides, tejidos sólidos, bacterias, levadura, muestras víricas, semen, líneas celulares cultivadas, plantas y combinaciones de éstos.
- 60 13. Dispositivo de la reivindicación 9, donde dicho receptáculo sellado es un tubo de muestra.
14. Dispositivo de la reivindicación 9, donde la punta de pipeta y / o la punta penetrable es / son desechables.
15. Dispositivo de la reivindicación 9, donde la barrera de filtro es una barrera de filtro hidrofóbica y esterilizable.

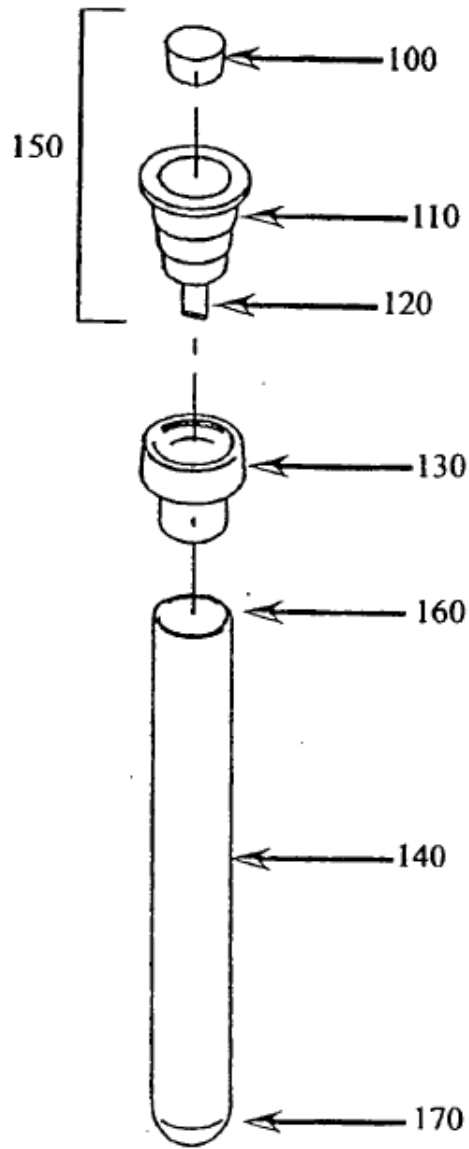


FIG. 1

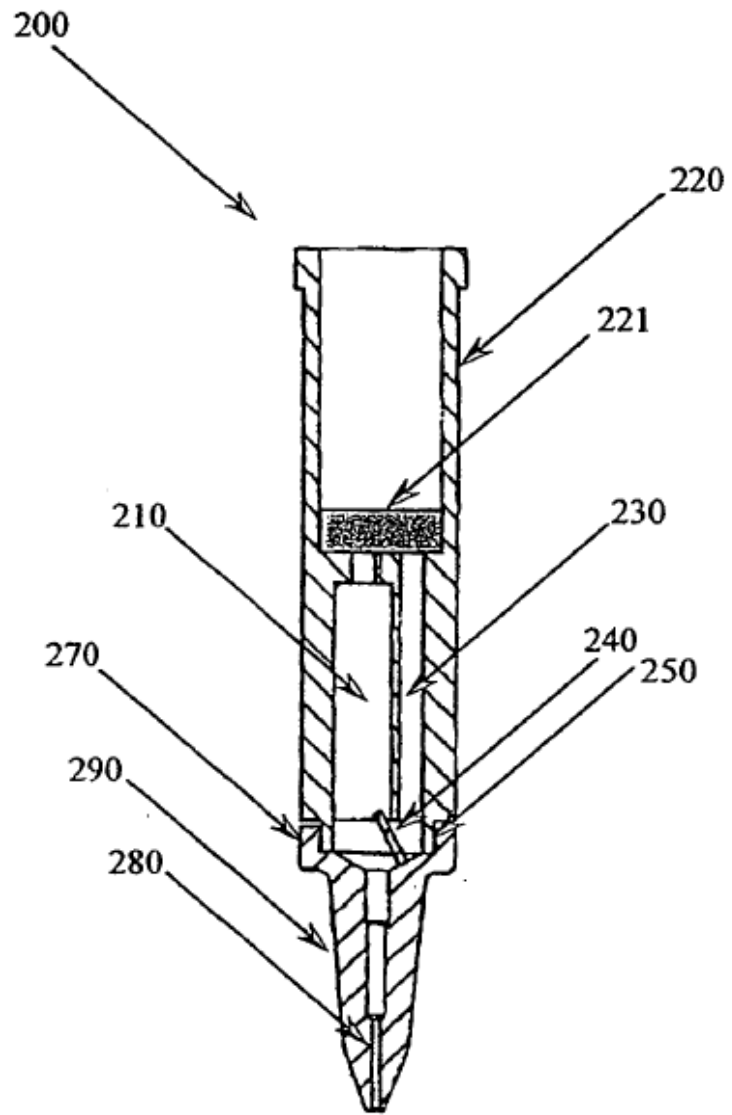


FIG. 2

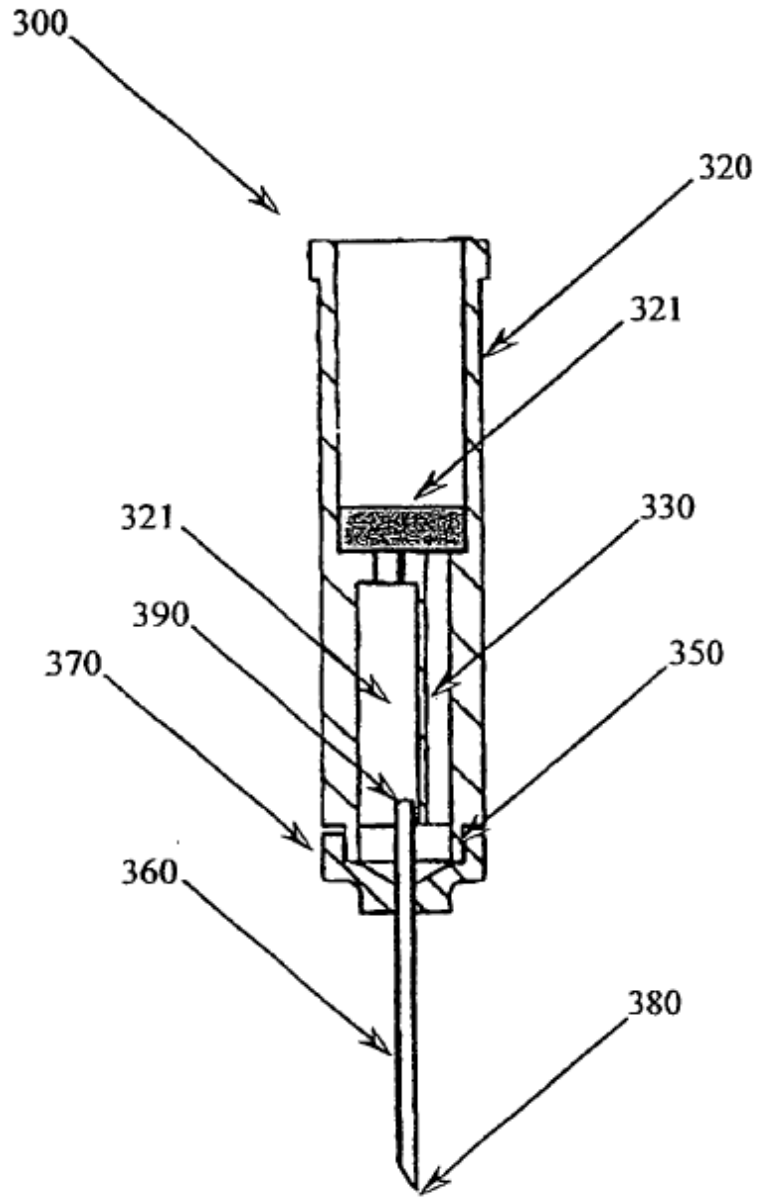


FIG. 3

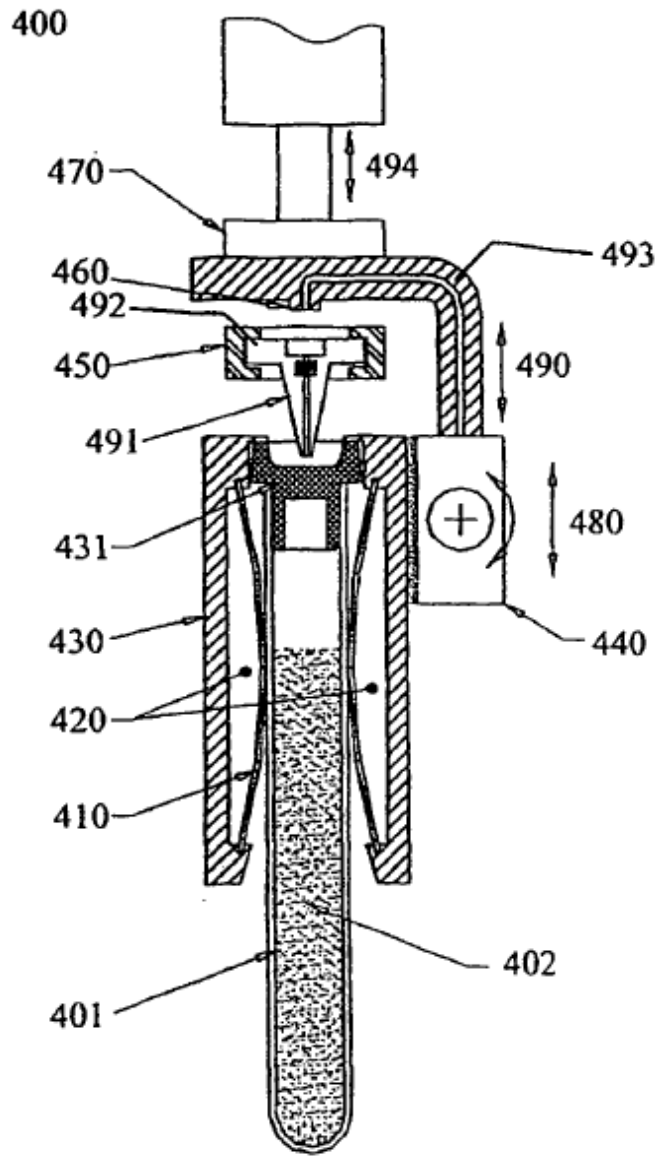


FIG. 4a

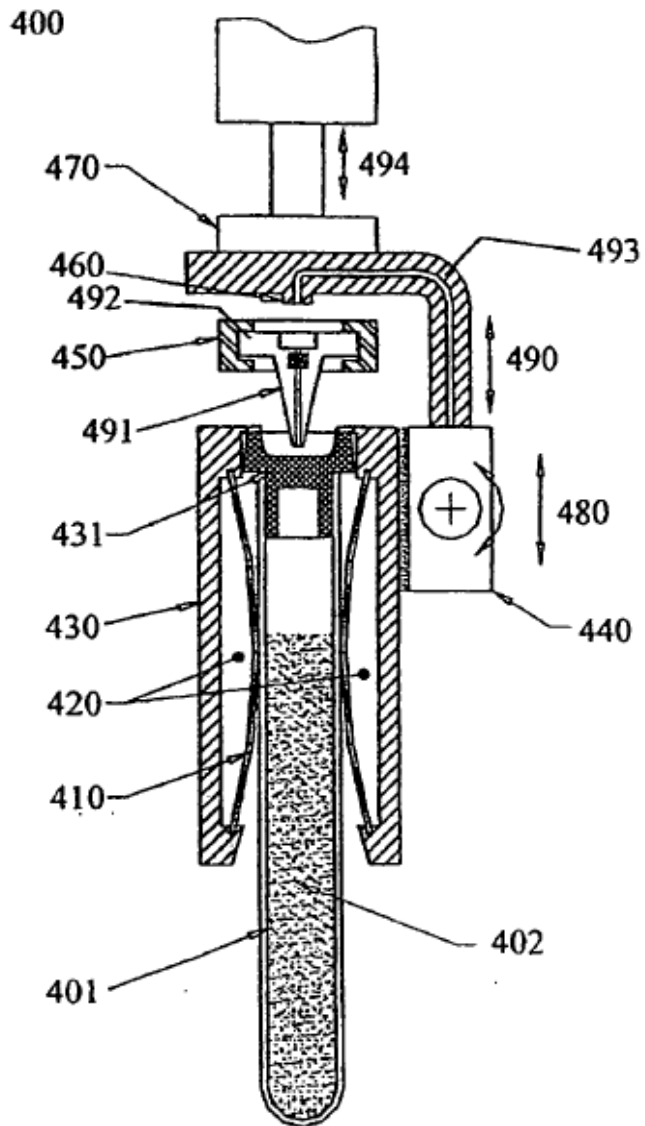


FIG. 4b

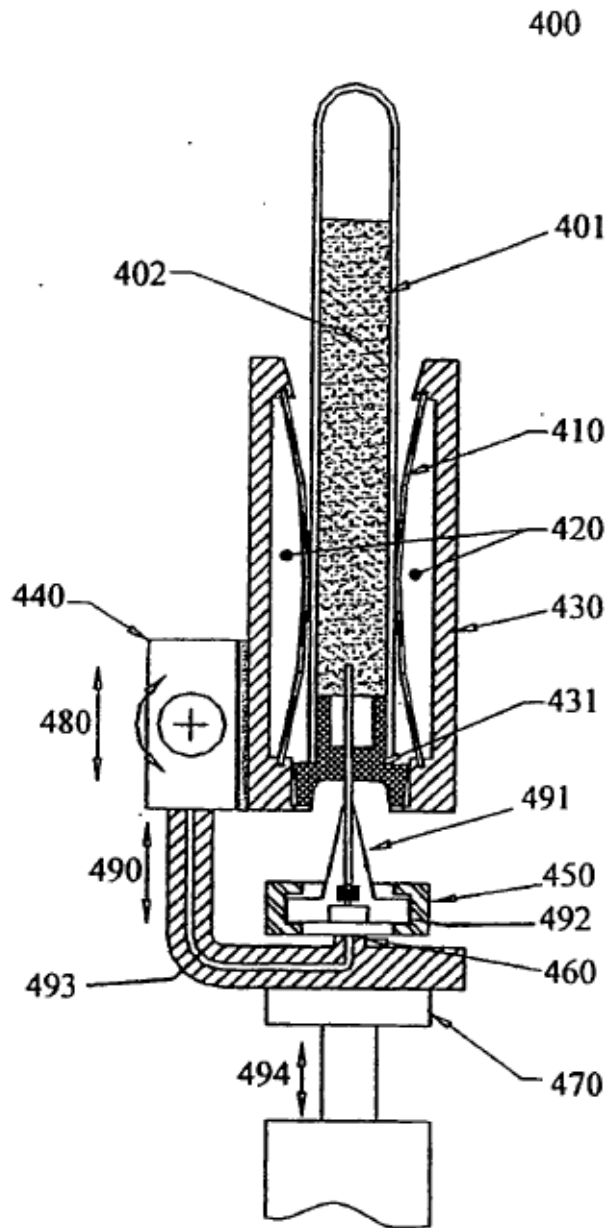


FIG. 4c