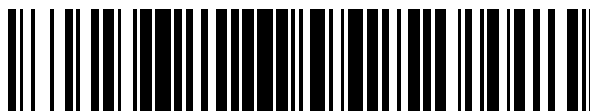


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 377 844**

51 Int. Cl.:  
**B01L 3/00** (2006.01)  
**G01N 1/06** (2006.01)  
**G01N 1/31** (2006.01)  
**B25B 27/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08013740 .9**  
96 Fecha de presentación: **26.09.2002**  
97 Número de publicación de la solicitud: **2002894**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **17.12.2008**

54 Título: **Herramienta de estratificación de muestras de tejidos y procedimiento de estratificación de un casete de muestras**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**02.04.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**02.04.2012**

73 Titular/es:  
**BIOPATH AUTOMATION, L.L.C.**  
**101 SOUTHBEND COURT**  
**LOVELAND, OHIO 45140, US**

72 Inventor/es:  
**Ward, Thomas J.;**  
**Williamson, Warren P. IV;**  
**Berky, Craig B. y**  
**Whitlatch, Stephen P.**

74 Agente/Representante:  
**Ponti Sales, Adelaida**

**ES 2 377 844 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).

Herramienta de estratificación de muestras de tejidos y procedimiento de estratificación de un casete de muestras

## Descripción

### 5 Campo de la invención

[0001] La presente invención en general se refiere a soportes para manipular e insertar muestras de tejido para análisis patológico y, más en particular, a casetes que pueden recibir a una o más muestras de tejido y ser insertadas y después tratadas con micrótopo con la muestra de tejido o muestras.

10

### Antecedentes de la invención

[0002] Para diagnosticar con precisión varias enfermedades y condiciones de tejidos, el personal médico tiene que retirar una o más muestras de tejido del cuerpo de un paciente. Este proceso de recoger el tejido del cuerpo se conoce como biopsia. Una vez que se han retirado la muestra de tejido o muestras y han sido enviadas a un laboratorio de patologías, el tejido pasará a través de una serie de procesos realizados por un técnico de histología y, al final, un patologista, con la finalidad de diagnosticar el tejido. La presente invención se refiere en general a aquellos procesos que son normalmente realizados por el técnico de histología para preparar la muestra de tejido o muestras en láminas que pueden ser analizadas con un microscopio por el patologista.

[0003] Aunque el término singular "muestra" se utiliza a lo largo de esta especificación, debe entenderse que este término igualmente abarca también varias "muestras". Una vez que una muestra de tejido se ha retirado del cuerpo de un paciente, se suele colocar en un recipiente para especímenes que contiene una solución de fijación de tejidos y entonces el recipiente se transporta al laboratorio de patologías. El tejido será sometido a un proceso conocido como "grossing-in" en el laboratorio de patologías durante el cual un técnico de histología retirará la muestra de tejido del recipiente, típicamente cortará el tejido a tamaños adecuados para el procesado del tejido, colocará las muestras individuales en unos pequeños casetes de tejido de plástico dimensionados adecuadamente, y asignará números de seguimiento a cada casete. Estos números de seguimiento serán entonces introducidos en un sistema de seguimiento empleado en el laboratorio. Para las muestras de tejido más pequeñas, que pueden ser solamente rascaduras, el casete tendrá unas pequeñas aberturas de red en los lados y los fondos. En otras situaciones que implican muestras de tejido muy pequeñas, las muestras se colocan en una bolsa que se parece a una bolsita de té y que impide escaparse a las muestras más pequeñas. Las muestras de tejido mayores se colocan en casetes que tienen unas aberturas con ranuras algo mayores que son también menores que la muestra de tejido dentro del casete.

[0004] Los casetes se colocan a continuación en una cesta perforada de acero inoxidable y pasan a través de una máquina de procesado de tejidos, a menudo durante la noche. Esta máquina usa una combinación de vacío, calor, y productos químicos para retirar los fluidos intersticiales. Una vez que los fluidos se han retirado de las muestras de tejido, la máquina de procesado sumerge las muestras de tejidos en un baño de parafina fundida de modo que los intersticios en el tejido se sustituyan con parafina. El técnico de histología retira entonces la cesta de la máquina y retira los casetes de tejido individuales. En una estación de inserto, que tiene un depósito y dispensador de parafina fundida, el técnico de histología retirará individualmente el tejido de cada casete. El técnico de histología debe orientar cuidadosamente la muestra de tejido, basada en un tipo de tejido, en un molde de base de acero inoxidable que es aproximadamente del tamaño del casete de tejido y está parcialmente relleno con parafina fundida. La muestra de tejido debe ser sostenida manualmente, típicamente empleando un fórceps, contra el fondo del molde. Si no se hace así, se podría comprometer la capacidad para hacer láminas adecuadas del tejido más tarde en el micrótopo. La parafina fundida es entonces rápidamente enfriada en una placa de refrigeración, que puede ser un refrigerador térmico eléctrico (TEC), para solidificar parcialmente la parafina y así mantener la muestra de tejido con la orientación adecuada contra el fondo del molde. Entonces el casete se coloca sobre el molde de base y la parafina se vierte a través de la parte alta del casete en el molde de base. El casete cambia su función en este punto del proceso desde un componente de soporte de tejido a un dispositivo de fijación para su uso posterior para tomar rascaduras o láminas de parafina solidificada en un micrótopo. El molde de base se enfría hasta que toda la parafina fundida se ha solidificado y el técnico de histología retira el molde de base de acero inoxidable del bloque incrustado o embebido en parafina. La muestra de tejido queda así embebida en bloque de parafina rectangular con un casete de tejido de plástico en el lado opuesto que entonces se empleará como soporte en el recinto del micrótopo. Igual que con la máquina de procesado de tejidos, el proceso de inserto se realiza en forma de lotes (*batches*) en cada uno de los cuales un técnico de histología medio puede insertar aproximadamente 40 a 60 casetes por hora.

[0005] Los bloques de parafina endurecida que contienen las muestras de tejido incrustadas están entonces listas para ser laminados en secciones extremadamente finas para su colocación en un microscopio de láminas. El técnico de histología monta el bloque de tejido embebido en un recinto en el micrótopo que está dimensionado para aceptar el lado del bloque que tiene el casete de plástico embebido. El técnico de histología puede entonces empezar a laminar el bloque de parafina que tiene la muestra de tejido insertada opuesta a la superficie del casete de plástico. Esto da como resultado una tira de láminas individuales de tejido embebido en parafina. La acción del micrótopo provoca que las láminas individuales se peguen entre sí cuando se hace correctamente y, después, estas tiras muy

finas de láminas se hacen flotar en un baño de agua y se dispone una lámina de vidrio cuidadosamente bajo la lámina. La lámina, con la fina muestra de tejido seccionada insertada en esta, se adhiere entonces a la parte alta de la lámina.

- 5 **[0006]** Cuando el técnico de histología tiene suficientes láminas de la muestra de tejido, las láminas se colocan en una máquina de tinción automática. La máquina de tinción pasa a través de una serie de etapas de infiltración para colorear los diferentes tejidos y células de diferentes colores. Esto ayuda al patólogo a identificar diferentes estructuras y facilitar la detección de cualquier anomalía en el tejido. Tras haberse completado el proceso de tinción, las láminas se cubren y se preparan para que el patólogo las ponga bajo un microscopio para analizarlas.
- 10 **[0007]** A partir del resumen del proceso descrito más arriba, se apreciará que el manipulado y procesado convencionales de la muestra de tejido es un proceso muy laborioso que implica varias etapas manuales realizadas por un técnico de histología. De este modo, se dan varias lesiones por esfuerzos repetitivos tales como el síndrome del túnel del carpiano. Esto ocurre especialmente con el proceso de embebido de la muestra de tejido. Estas operaciones manuales múltiples y manipulación de tejido repetida aumenta la probabilidad de errores humanos y, además, precisa de técnicos de histología muy bien entrenados y expertos para asegurar que las muestras de tejido
- 15 adheridas definitivamente a las láminas para el análisis por parte del patólogo estén en condiciones y orientación óptimas para hacer diagnósticos precisos.
- [0008]** La patente americana N° 5,817,032 (patente '032) describe varias mejoras en esta área de la tecnología, incluyendo nuevas maneras de sostener muestras de tejido durante el *grossing* en procesos de embebido, y micrótopo o laminado. Más específicamente, la patente '032 se refiere a un dispositivo de captura y soporte de
- 20 tejidos, que puede ser un casete, y que puede ser cortado con un micrótopo. Cuando se utiliza un casete, la muestra de tejido se inmoviliza en el casete y se somete al proceso de sustitución de fluidos de tejido por parafina. Entonces, la muestra de tejido y el casete se laminan al mismo tiempo para montarlos en las láminas de un microscopio. Como la muestra de tejido no se retira en ningún momento del casete a partir del momento en que se procesa en la máquina de procesamiento de tejidos hasta que el momento en que se corta con el micrótopo, se ahorra
- 25 un tiempo de manipulación significativo. Además, la posibilidad de error humano o pérdida de tejido debidos, por ejemplo, a la caída del tejido durante la manipulación, se reduce significativamente debido a la eliminación de etapas de manipulación de tejido separadas. Esta patente también trata en general sobre un proceso automatizado que, junto con los nuevos casetes de tejido, reduce aún más las etapas de manipulación durante todo el proceso.
- 30 **[0009]** A pesar de todos los avances realizados en este campo, hay una necesidad en aumento de mejoras adicionales relacionadas con una capacidad de producción aumentada y de mejora de la calidad de muestras de tejido incrustadas y de muestras más consistentes y también de láminas y tiras de tejido embebido que serán sometidas a diagnóstico.

### Resumen de la invención

- 35 **[0010]** La invención proporciona un dispositivo para montar un casete de muestra de tejido desde una posición superior en un marco empleado durante un proceso de inclusión de tejido a una posición inferior en el marco, comprendiendo el dispositivo un mecanismo de estratificación configurado para encajarse en una superficie superior del casete, y un tope configurado para parar el movimiento vertical de dicho mecanismo de estratificación cuando el
- 40 casete alcanza la posición inferior en el marco.
- [0011]** La invención también proporciona un procedimiento de estratificación de un casete de muestra de tejido desde una posición superior en un marco empleado durante un proceso de inclusión de tejido a una posición inferior en el marco, comprendiendo el procedimiento acoplar el casete con el marco de modo que el casete está en la posición superior; mover el casete con respecto al marco a la posición inferior de modo que el casete está expuesto
- 45 para insertar el casete en un medio de inserción y cortar subsecuentemente una muestra de tejido insertada en el medio de inserción.
- [0012]** Según una realización, el casete incluye un cuerpo con una pared de fondo y una pluralidad de paredes laterales que se extienden hacia arriba con respecto a la pared de fondo para definir un espacio interior para recibir a la muestra de tejido. La pared de fondo y la pluralidad de paredes laterales están hechas de un material capaz de
- 50 degradación durante el procesamiento que comprometería su capacidad de funcionar según la invención. La pluralidad de paredes laterales comprende unas paredes laterales primera y segunda en lados opuestos de la pared de fondo que incluyen cada una unas porciones que forman un ángulo desde aproximadamente los puntos medios de las paredes laterales primera y segunda hacia las otras paredes laterales primera y segunda en el lado opuesto de la
- 55 pared de fondo. En la realización preferida, las dos paredes laterales más largas de las cuatro paredes laterales que comprenden un casete rectangular tienen en general forma de V en una dirección que se aleja del interior del casete. Este presenta un ápice de la forma en V a la hoja del micrótopo, después de completarse el proceso de embebido, que ayuda en la acción de corte. Específicamente, se ha comprobado que esta característica reduce o impide que la parafina endurecida se rompa o se desprenda del material de la pared lateral del casete al hacer
- 60 láminas en el micrótopo.
- [0013]** El casete preferentemente incluye además una tapa configurada para acoplarse con el cuerpo para el movimiento entre las posiciones abierta y cerrada. La tapa puede ser hundida hacia abajo sobre la muestra de tejido en el casete interior. La tapa es preferentemente más rígida que la pared de fondo del casete. Esta característica

permite a la tapa posicionar la muestra de tejido en el casete paralela al fondo del molde durante el proceso de embebido. Más específicamente, la tapa más rígida empuja la muestra de tejido y la pared de fondo más flexible del casete contra el fondo rígido de un molde de base mientras la parafina fundida se solidifica. Esto contribuye a asegurar que la pared de fondo del casete se pueda quitar en su totalidad durante una operación de ponerlo frente al micrótopo antes de laminar la muestra de tejido, y que el tejido quede posicionado plano contra la pared de fondo del casete.

**[0014]** Según otra forma de realización, las paredes laterales del casete están perforadas de modo que hay al menos un ratio de aproximadamente 2.5:1 de área abierta a área de material sólido de parafina solidificada que ocupa el área abierta de las paredes laterales. Este ratio se puede alterar empleando materiales diferentes para el casete y/o medio de embebido de la parafina. Por ejemplo, una parafina de peso molecular mayor o un casete de peso molecular inferior permitirán variar la relación de alguna manera. De hecho, una parafina estándar industrial (por ejemplo, procesado/ medio de inserción Sakura VIP) funciona mejor con un ratio de al menos aproximadamente 3.0:1 y, más preferentemente, al menos aproximadamente 3.5:1. Esto reduce la cantidad de material del casete que hay que cortar con la hoja del micrótopo al recoger láminas de tejido y, por lo tanto, aumenta la vida de la hoja y la calidad de las muestras de tejido incrustadas en tiras. Además, este ratio garantiza que la parafina es suficientemente fuerte como para no romperse cuando se corta por la hoja del micrótopo. Otra característica que da como resultado similares ventajas implica formar las paredes laterales a partir de nervaduras y desplazar los nervaduras de una de las paredes laterales primera y segunda con respecto a las de la pared lateral opuesta a lo largo la longitud de la pared lateral. De este modo, la hoja del micrótopo entrará en contacto más uniformemente con una cantidad del material del casete a lo largo de su longitud durante cada pasada. Esto reduce el desgaste de la hoja al cortar a través del material del casete. La reducción del desgaste de la hoja es ventajoso para mantener los costes de bajo control ya que la mayoría de hojas empleadas son desechables.

**[0015]** Según otra forma de realización, el casete incluye además un flanco que se extiende a lo largo de las porciones superiores de al menos dos de las paredes laterales. El flanco incluye depresiones configuradas para encajarse con elementos de retención en un marco durante el proceso de embebido de tejido. Esto aumenta la dimensión de altura eficaz del casete interior, lo cual permite colocar más tejido en el casete y realizar más pasadas en el micrótopo. Respecto a esto, cada pasada del micrótopo puede tomar solamente láminas de 5 micras. Por lo tanto, empleando depresiones que tienen una profundidad de, por ejemplo, 0.14" es posible recoger aproximadamente 70 más láminas en el micrótopo.

**[0016]** Aquí se dan a conocer varios ensamblados únicos de dos o más entre de entre el casete de tejido, marco, y molde de base. Con respecto al marco y al molde de base, por ejemplo, se prevé una estructura para sostener físicamente el marco contra el molde de base. En la realización preferida, se prevé un sellado para realizar esta función de soporte y también para evitar la fuga de parafina líquida del molde de base.

**[0017]** Preferentemente, el dispositivo incluye un mango, y el mecanismo de estratificación superior está operativamente acoplados al mango. El mecanismo de estratificación comprende además una pluralidad de dedos que están configurados para encajarse en una pluralidad correspondiente de emplazamientos sobre la superficie superior del casete. Por ejemplo, se pueden prever cuatro dedos para encajar cuatro esquinas en el casete. Esto contribuye a asegurar que el casete se encaja con al menos cuatro pares de elementos de retención ubicados cerca de las esquinas del casete posicionando de este modo la pared de fondo del casete paralela a y contra la pared de fondo del molde de base.

**[0018]** Según una realización, el dispositivo de estratificación es un miembro rígido y el tope comprende un miembro de tope fijado acoplado para desplazarse con el mecanismo de estratificación y configurado para pararse contra una superficie superior del marco. En otra forma de realización, el dispositivo incluye un mecanismo de estabilización acoplado al mango y desplazable con respecto al mecanismo de estratificación. El mecanismo de estabilización está configurado para encajarse en una superficie superior del marco cuando el mecanismo de estratificación desplaza el casete desde la posición superior a la posición inferior en el marco. En esta realización, el mecanismo de estratificación está normalmente solicitado mediante muelle en una posición ascendente y está forzado hacia abajo contra la sollicitación del muelle moviendo el casete desde la posición superior hasta la posición inferior. El tope en esta realización comprende además unas superficies respectivas para que el mango y el mecanismo de estabilización se encajen mutuamente cuando el mecanismo de estratificación ha colocado el casete en la posición inferior. Los dispositivos de estratificación de esta invención aseguran que el casete queda completamente montado en el molde de base, garantizando a la vez que el casete no se empuja demasiado lejos a través del marco.

Además, los dispositivos de estratificación aseguran que la pared de fondo del casete y, por lo tanto, la muestra de tejido, quedan planos contra el fondo del molde de base. Este mejora la eficiencia y calidad de las rascaduras de tejido que se realizan posteriormente en el micrótopo.

**[0019]** Estos y otros objetos, ventajas, y características de la invención se volverán más fácilmente para aquellos expertos en la materia tras el examen de la siguiente descripción junto con los dibujos adjuntos.

### Breve descripción de los dibujos

**[0020]** La figura 1 es una vista en perspectiva en despiece de un ensamblado que incluye el casete de tejido, en cuyo marco el casete se inserta y en cuyo molde de base el ensamblado de marco y casete se insertan. La figura 2 es una vista en perspectiva ensamblada del casete de tejido, marco y molde de base.

La figura 3 es una vista en sección transversal tomada a lo largo de la línea 3-3 de la figura 2 y que muestra el casete de tejido en su posición superior inicial.

La figura 4 es una vista en perspectiva ensamblada, similar a la figura 2 pero que ilustra la segunda posición de estratificación del casete de tejido.

5 La figura 5 es una vista en sección transversal tomada a lo largo de la línea 5-5 de la figura 4 y que muestra el casete de tejido montado abajo en su segunda, posición inferior contra el fondo del molde de base.

La figura 6 es una vista en sección transversal del marco y el casete de tejido embebido en material tal como parafina, después de liberarlos del molde de base.

La figura 7 es una vista en perspectiva de un manual, solicitado mediante muelle dispositivo de estratificación.

10 La figura 8 es una vista en sección longitudinal del dispositivo de estratificación de la figura 7 empleado para hacer pasar un casete de tejido a través del marco y dentro del molde de base.

La figura 9 es una vista en perspectiva de un casete de tejido construido según una segunda realización de la invención.

La figura 10 es una vista en sección transversal tomada a lo largo de la línea 10-10 de la figura 9.

15 La figura 11 es una vista en perspectiva de un manual dispositivo de estratificación construido según una segunda realización.

La figura 12 es una vista en perspectiva inferior del mecanismo de estratificación asociado al dispositivo de estratificación de la figura 11.

## 20 Descripción detallada

[0021] Con referencia en primer lugar a las figuras 1-3, un casete de tejido 10 construido según la invención es recibido en un marco 12 y el casete de tejido 10 y marco 12 se posicionan entonces en un molde de base 14.

25 Después de una operación de estratificación el molde de base 14 se rellena a continuación con parafina líquida, tal como se explica más adelante. El casete de tejido 10 incluye un cuerpo perforado 20 constituido por cuatro paredes laterales 22a, 22b, 22c, 22d y una pared de fondo 24. Cada pared está preferentemente hecha con perforaciones o aberturas 26 y nervaduras 28. Un flanco superior 30 envuelve y se extiende hacia fuera desde las paredes laterales respectivas 22a-d. Una tapa 32 está fijada al cuerpo 20 mediante una bisagra 34 que permite el movimiento vertical de la tapa 32 en el interior del cuerpo 20 para retener una o más muestras de tejido contra la pared de fondo 24. La

30 tapa 32 también está hecha con perforaciones 36 que pueden ser alargadas y que están en general separadas por nervaduras 38. Tal como se muestra mejor en la figura 1, las perforaciones alargadas 26, 36 sobre la pared de fondo 24 y tapa 32 se extienden respectivamente hacia las áreas centrales 24a, 32a de la pared de fondo 24 y la tapa 32. Estas ayudan a rellenar el molde (no mostrado) con material, tal como PFA, durante el proceso de moldeado del casete 10.

35 [0022] La tapa 32 está formada con una forma a lo largo de su circunferencia que se complementa con la forma de las paredes laterales 22ad. A este respecto, unos cantos longitudinales respectivos 40a, 40b de tapa 32 están formados con la forma de una "V" poco profunda y cada una incluye un ápice 42a, 42b en general en la porción central de los mismos. Esto también corresponde a la forma en "V" poco profunda longitudinal de la pared lateral 22a y de la pared lateral opuesta 22c. De este modo, cuando el casete de tejido embebido se coloca posteriormente en un micrótopo y se laminan las secciones del casete de tejido embebido, la hoja del micrótopo estará inicialmente en

40 contacto con el ápice correspondiente de la pared lateral 22a o 22c, dependiendo del lado que esté frente al micrótopo. Se ha comprobado que esto aumenta la calidad de las tiras de láminas realizadas a partir del casete de tejido embebido. Es decir, que no se dará o apenas se fracturará la parafina en las interfaces de la parafina/ casete.

[0023] El marco 12 incluye más específicamente un interior abierto 50 que recibe a un casete 10, y una pared frontal

45 en ángulo 52 que se puede utilizar para registrar datos, tales como los datos del paciente. Unos conjuntos superior e inferior respectivamente de elementos de retención 54, 56 y 58, 60 se extienden hacia dentro del interior abierto 50 del marco 12. Inicialmente, el casete de tejido 10 está sostenido entre los pares superiores de elementos de retención 54, 56 para presionar el flanco superior 30 hacia más allá de los conjuntos superiores de elementos de retención 54 y contra el conjunto inferior de elementos de retención 56 después de haber colocado una o más

50 muestras de tejido en el cuerpo de casete 20 y se haya cerrado la tapa 32. Los elementos de retención respectivos 61 se extienden hacia dentro desde las paredes laterales 22ad para permitir a la tapa 32 ser capturada y retenida en posición cerrada. Durante una operación de estratificación, el casete de tejido 10 será desplazado verticalmente hacia abajo a través del marco 12 hasta que el flanco 30 quede capturado tras los elementos de retención 58 y descansa contra los elementos de retención 60 en una posición inferior (La figura 5). Unos recesos 62, 64 están

55 formados en al menos dos paredes laterales opuestas para permitir a los dedos de un mecanismo encajarse con el ensamblado durante las operaciones automáticas de manipulación y embebido, si es necesario. Preferentemente, las paredes laterales 66a, 66b contienen esos recesos 62, 64, mientras que las paredes laterales adicionales 66c, 66d pueden incluir una estructura adicional que permita la manipulación automática, o que permita otras funciones si es necesario. El molde de base 14 incluye un interior abierto 70 para recibir el marco 12 y puede estar envuelto por

60 un sellado de elastómero elástico 72 que evita el escape de parafina líquida durante el proceso de embebido. Esto elimina una etapa adicional de raspar el exceso de parafina endurecida del marco 12 después de completarse el proceso de embebido. Este exceso de parafina puede impedir que el marco encaje adecuadamente en el recinto del micrótopo.

**[0024]** Mediante la comparación de las figuras 2 y 3 con las figuras 4 y 5, se apreciará que durante el proceso de estratificación, el casete de tejido 10 se desplaza verticalmente hacia abajo en el interior 70 de molde de base 14 de modo que el fondo 24 de casete de tejido 10 entre en contacto con el fondo 74 del molde de base 14. En esta posición, el flanco 30 de casete de tejido cuerpo 20 es recibido entre los elementos de retención respectivos 58, 60 manteniéndolo en esta posición inferior. El marco 12 es preferentemente acoplado a presión y mantenido por fricción en el molde de base 14 por uno o más sellados elásticos 72. El sellado 72 realiza dos funciones en esta realización. Primero, sostiene físicamente el marco 12 en el molde de base 14 por fricción. Esto evita que el marco 12 y el casete unido 10 floten o que sino se muevan mientras se rellena el molde de base 14 con parafina. En segundo lugar, evita que la parafina líquida se escape del molde de base 14 en la zona entre las paredes externas 12a de marco 12 e interior 70 del molde de base 14. Se apreciará que se puede utilizar un elemento de mantenimiento distinto del sellado 72 en lugar de sostener físicamente el marco 12 contra el molde de base 14. En este caso, el sellado 72 puede no ser necesario. A modo de ejemplos, estos elementos de mantenimiento pueden ser abrazaderas, cierres, elementos de muelle o pesos. En estas figuras, la muestra de tejido o muestras en el casete 10 se han quitado por claridad. Sin embargo, debe entenderse, que la tapa 32 se hundirá hacia abajo sobre una o más muestras de tejido 80 contenidas en el interior del cuerpo de casete 20 (figura 6). Mientras el ensamblado de casete 10, marco 12 y molde de base 14 están en la configuración montada mostrada en las figuras 4 y 5, la parafina líquida se introduce a través del interior abierto de marco 12 y a través de las perforaciones 26, 36 de casete 10 en el interior 70 del molde de base 14. La parafina líquida es entonces preferentemente enfriada en un dispositivo de enfriamiento adecuado, tal como un TEC, y el ensamblado del casete de tejido 10, marco 12, embebido muestra de tejido 80 y parafina endurecida 82 se retira del molde de base 14 tal como se muestra en la figura 6. Entonces se puede utilizar el marco 12 como dispositivo para fijar el ensamblado en el recinto del micrótopo y entonces se recogen las láminas del micrótopo de la superficie de fondo 82a de parafina 82. Inicialmente, se utiliza una hoja frontal para retirar la capa inicial de parafina 82 y la pared de fondo 24 de casete de tejido 10. En este punto, se puede utilizar una hoja del micrótopo diferente para recoger las tiras laminadas o rascaduras de la muestra de tejido 80 y la parafina 82 y las paredes laterales 22a-d que envuelven al cuerpo del casete de tejido 20. A menudo, la misma hoja que se utiliza para encarar se puede utilizar también para seccionar.

**[0025]** Las figuras 7 y 8 ilustran un tipo de dispositivo de estratificación 100 que se puede utilizar en conjunción con el casete de tejido 10, marco 12 y molde de base 14 descritos arriba. El dispositivo de estratificación 100 incluye un mango 102 en un extremo superior y un mecanismo de estratificación 104 en un extremo inferior. El mecanismo de estratificación 104 está acoplado a un cilindro hueco 106 que se extiende hacia arriba en otro cilindro hueco 108 rígidamente conectado con el mango 102. Una pluralidad de cuatro miembros estabilizadores 110 están rígidamente acoplados a un cilindro 106, mientras que una pluralidad de dedos de estratificación 112 preferentemente desplazables están acoplados a un eje de reciprocidad 114 que se extiende a través del cilindro 106. El eje 114 está rígidamente conectado al mango 102 y está solicitado mediante este hacia una posición superior por un muelle 116 posicionado entre un fondo de superficie 102a del mango 102 y una superficie superior 106a del cilindro 106. De este modo, se apreciará que los miembros estabilizadores 110 pueden colocarse contra una pared lateral del marco 12 con al finalidad de estabilizar y entonces el mango 102 puede ser hundido hacia abajo tal como se indica mediante la flecha 118. Este desplaza el eje de reciprocidad 114 y los dedos de estratificación asociados 112 hacia abajo contra el casete de tejido 10 desplazando así el casete de tejido 10 en relación con el marco 12 hacia su posición superior mostrada en la figura 3 hacia su posición de estratificación inferior mostrada en la figura 5. Para evitar empujar el casete 100 demasiado lejos a través del marco 12, la superficie 108a se para contra la superficie 110a cuando el flanco 30 alcanza su posición inferior entre los elementos de retención 58, 60.

**[0026]** Las figuras 9 y 10 ilustran una segunda realización de un casete de tejido 120. El casete de tejido 120 incluye un cuerpo de casete 122 que tiene cuatro paredes laterales 124a-d que envuelven un interior abierto y que está limitado por una pared de fondo 126. Las paredes laterales 124a-d están hechas de nervaduras 128 separadas por perforaciones 130 y la pared de fondo 126 está hecha de nervaduras 132 separadas por perforaciones 134. Las nervaduras 128 de la pared lateral 124a están desplazadas en la dirección longitudinal con respecto a las nervaduras 128 de la pared lateral opuesta 124b, tal como se ilustra mediante la distancia "d" en la figura 10. La distancia "d" puede variar, sin embargo, en esta realización, en promedio, es de aproximadamente 0.015" a 0.030". Las nervaduras 128 desplazadas de esta manera garantizan que una hoja del micrótopo que pasa a través de las paredes 124a y 124b pueda entrar en contacto más uniforme con una cantidad de material del casete a lo largo de su longitud. Esto conduce a una vida de hoja más larga, un desgaste de hoja más uniforme y una mayor calidad de las láminas de tejido embebido. Las nervaduras 132 y las perforaciones 134 se extienden según su dirección longitudinal hacia una zona central 126a de la pared de fondo 126. En esta realización preferida, las paredes laterales 124a-d están hechas de modo que la relación de material del casete de plástico, tal como PFA, con respecto a la superficie abierta constituida por las perforaciones 130 es de aproximadamente 3.7:1. Para lograr al menos este ratio en la realización preferida, las nervaduras 128 tienen una anchura w1 de aproximadamente 0.010" a 0.014" mientras que las perforaciones 130 tienen una anchura w2 de aproximadamente 0.040" a 0.050". Esta superficie perforada, que está por debajo de la porción lateral de pared sólida 136 es la superficie que será cortada una hoja del micrótopo después de embeber la muestra de tejido 80 (Ver figura 6). Especialmente cuando se emplea PFA con una dureza D de 48 a 55 shore como material para el casete 120, en combinación con la parafina estándar industrial como material de embebido mencionado más arriba, este ratio de material del casete con respecto a la superficie abierta ha resultado que mejora significativamente la calidad de los cortes hechos a través

del casete embebido y el aumento de la vida de la hoja. Según los pesos moleculares respectivos del material de embebido y el material del casete, este ratio puede aumentarse o reducirse.

- [0027]** Un flanco 140 envuelve la pared lateral de cuerpo de casete 122 y contiene unas depresiones orientadas hacia arriba respectivas 142a, 142b, 142c, 142d. También hay un número depresiones orientadas hacia abajo 142e, 142f (sólo dos de estas referenciadas) contenidas en el flanco 140. Estas depresiones encajan respectivamente con al menos unos elementos de retención 54, 56 y 58, 60 de marco 12 (ver las figuras 3 y 5). Se apreciará que se pueden formar elementos de retención inferiores adicionales en el marco 12 para dar más soporte y evitar que el casete 10 sea empujado demasiado lejos a través de marco 12. En este caso, se forman unas depresiones adicionales en el flanco del lado inferior 140 para acomodar los elementos de retención de soporte adicionales. Las depresiones permiten aumentar la extensión de cuerpo de casete 120 eficaz que sale del marco 12 aumentando de este modo el número de láminas que pueden ser extraídas del casete embebido en un micrótopo. Esto puede ser importante en varias situaciones con la finalidad de obtener las láminas que se deseen para su examen patológico.
- [0028]** También hay unos elementos de retención 144 formados en las paredes laterales 124ad para retener una tapa 150 en su lugar. La tapa 150 está acoplada al cuerpo de casete 122 mediante una bisagra 152. La tapa 150 está concebida para ser más rígida que la pared de fondo 126 del cuerpo de casete 122 de manera que la tapa 150 se puede utilizar para presionar la muestra de tejido contra la pared de fondo 126 y para presionar la pared de fondo 126 contra el fondo rígido 74 del molde de base 14 (ver figura 5). La tapa 150 está formada por una pluralidad de nervaduras 154 en general separadas por perforaciones 156 y extendiéndose cada una de forma alargada en la dirección longitudinal hacia una zona central 150a de tapa 150. La tapa 150 incluye además unos cantos laterales 158a, 158b que se extienden sobre esta longitudinalmente y que tienen una forma de "V" poco profunda con un ápice central 160a, 160b. El ángulo  $\alpha$  (ver figura 10) es preferentemente de aproximadamente 4°. Igual que en la primera realización, la forma de los cantos laterales 158a, 158b se complementan con una forma similar de paredes laterales 124a, 124b del cuerpo de casete 122. A este respecto, estas paredes laterales 124a, 124b, de las cuales una puede ser el corte de pared inicial en el micrótopo, incluyen unos ápices respectivos 162, 162b. Los extremos respectivos 164a, 164b de la tapa 150 también se complementan con unas formas similares de las paredes laterales del cuerpo de casete 124c, 124d para lograr un buen ajuste de la tapa 150 en el cuerpo de casete 122. El uso del casete 120 en el proceso de embebido de una o más muestras de tejido, incluyendo el proceso de estratificación en el marco 12 y el proceso de embebido o de moldeado en el molde de base 14 es el mismo que el descrito más arriba con respecto a las figuras 1-8.
- [0029]** Las figuras 11 y 12 ilustran un dispositivo de estratificación manual 200 según una segunda realización. El dispositivo de estratificación 200 comprende un mango superior 202 y un mecanismo de estratificación inferior 204 acoplados entre sí rígidamente mediante un eje 206. En la figura 12, el mango 202 y el eje 206 se han omitido por claridad. El mecanismo de estratificación 204 comprende preferentemente una pluralidad de cuatro miembros de estratificación 210, 212, 214, 216 que se extienden en general radialmente hacia fuera del eje 206 y que incluyen cada uno una porción de dedo 210a, 212a, 214a, 216a. Las porciones de dedo 210a-216a se encajan respectivamente con las porciones de esquina superiores del casete 10 (La figura 1) o del casete 120 (ver figura 9). Entonces, cuando el usuario empuja hacia abajo el mango 202, las porciones de dedo 210a-216a conducen el casete 10 o casete 120 hacia abajo a la posición inferior montada (ver figura 5). Para evitar que el casete se desplace demasiado hacia abajo, se prevén un par de topes 218, 220 en el mecanismo de estratificación 204. En esta realización, las superficies de tope 218a, 220a hacen tope contra la superficie de marco superior 12 cuando el casete 10 o casete 120 alcanza la posición de estratificación inferior (ver figura 5). De este modo, la distancia entre los extremos inferiores de las porciones de dedo 210a-216a y las superficies de tope 218a, 220a se igualan con la distancia entre el par de retenciones superiores 54, 56 y el par de retenciones inferiores 58, 60. Se apreciará que se pueden proporcionar otras formas de mecanismos de estratificación y de tope quedando igualmente en el concepto y alcance de la invención.
- [0030]** Aunque la presente invención se haya descrito mediante una descripción de varias realizaciones de la misma, y aunque las realizaciones se hayan descrito con mucho detalle, las ventajas y modificaciones adicionales serán fácilmente aparentes para los expertos en la materia.

**REIVINDICACIONES**

1. Dispositivo para estratificar un casete de muestra de tejido (10, 120) desde una posición superior en un marco (12) empleado durante un proceso de inclusión de tejido a una posición inferior en el marco (12), comprendiendo el  
5 dispositivo un mecanismo de estratificación (104, 204) configurado para encajarse en una superficie superior del casete (10, 120), y un tope (108a, 218, 220) configurado para parar el movimiento vertical de dicho mecanismo de estratificación (104, 204) cuando el casete (10, 120) alcanza la posición inferior en el marco (12).
2. El dispositivo de la reivindicación 1, en el que el tope comprende un miembro de tope fijado (218, 220) acoplado  
10 para desplazarse con el mecanismo de estratificación (204) y configurado para pararse contra una superficie superior del marco (12).
3. El dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en el que el mecanismo de estratificación (104, 204)  
15 comprende además una pluralidad de dedos (112, 210a, 212a, 214a, 216a) configurados para encajarse en una pluralidad correspondiente de emplazamientos en una superficie superior del casete (10, 120).
4. El dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que también comprende un mecanismo de  
20 estabilización (110) desplazable con respecto a dicho mecanismo de estratificación (104), dicho mecanismo de estabilización (110) configurado para encajarse en una superficie superior del marco (12) a medida que dicho mecanismo de estratificación desplaza el casete (10, 120) desde la posición superior hasta la posición inferior.
5. El dispositivo de la reivindicación 4, en el que dicho mecanismo de estratificación (110) está normalmente  
25 solicitado mediante muelle en una posición ascendente y está forzado hacia abajo contra la sollicitación del muelle moviendo el casete (10, 120) desde la posición superior hasta la posición inferior.
6. El dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 4 ó 5, que también incluye un tope (108a, 110a) donde  
dicho tope incluye una superficie (110a) de dicho mecanismo de estabilización.
7. Procedimiento de estratificación de un casete de muestra de tejido (10, 120) desde una posición superior en un  
30 marco (12) empleado durante un proceso de inclusión de tejido a una posición inferior en el marco, comprendiendo el procedimiento: acoplar el casete (10, 120) con el marco (12) de modo que el casete (10, 120) está en la posición superior; mover el casete (10, 120) con respecto al marco (12) a la posición inferior de modo que el casete (10, 120) está expuesto para insertar el casete en un medio de inserción y cortar subsecuentemente una muestra de tejido insertada en el medio de inserción.
8. El procedimiento según la reivindicación 7, en el que mover el casete (10, 120) a la posición inferior comprende  
35 además mover el casete (10, 120) de modo que la muestra de tejido se posiciona en un molde (14) para recibir el medio de inserción.
9. El procedimiento según la reivindicación 8, en el que el casete (10, 120) comprende además una pared de fondo  
40 (24, 126) sobre la cual la muestra de tejido está posicionada y mover el casete (10, 120) comprende además poner en contacto la pared de fondo (24, 126) del casete con un fondo del molde (14).
10. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, que también comprende acoplar el marco (12)  
45 al molde (14).
11. El procedimiento según la reivindicación 10, que también comprende sellar el marco (12) al molde (14).
12. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11, que también comprende impedir el movimiento  
50 del casete (10, 120) más allá de la posición inferior con un tope (108a, 110a, 218, 220).
13. El procedimiento según la reivindicación 12, que también comprende encajar el tope (108a, 110a, 218, 220) con  
el marco (12) cuando el casete (10, 120) alcanza la posición inferior.
14. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 13, en el que mover el casete comprende además  
55 encajar el casete (10, 120) con una pluralidad de dedos de estratificación (112, 210a, 212a, 214a, 216a).
15. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 14, en el que mover el casete comprende además  
60 encajar el marco (12) con un mecanismo de estabilización (110).



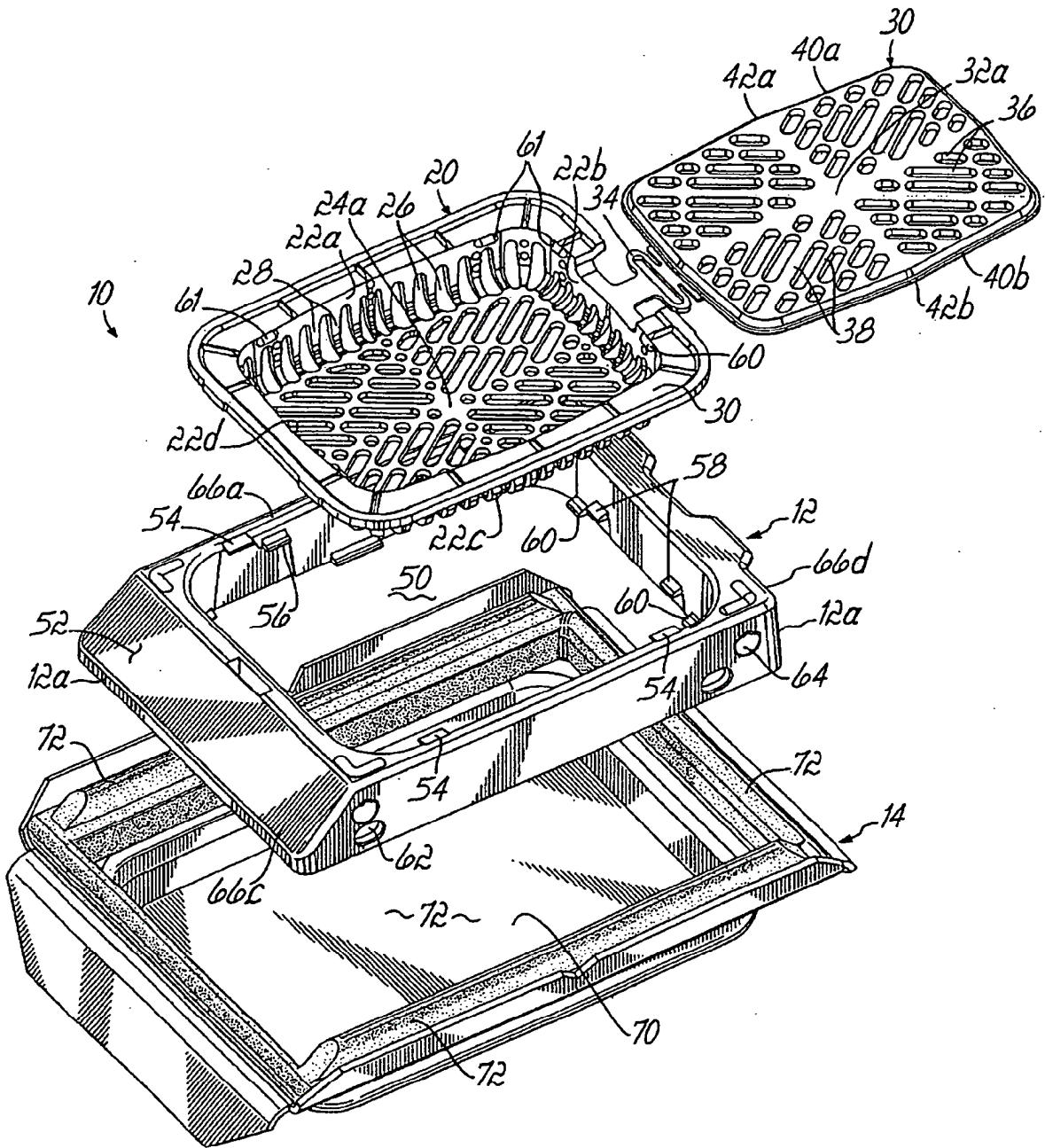


FIG. 1

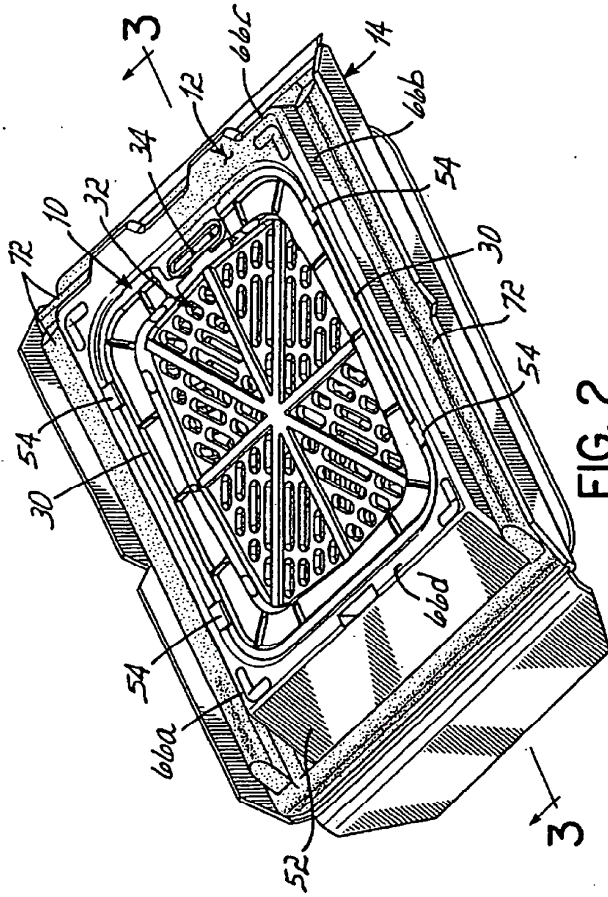


FIG. 2

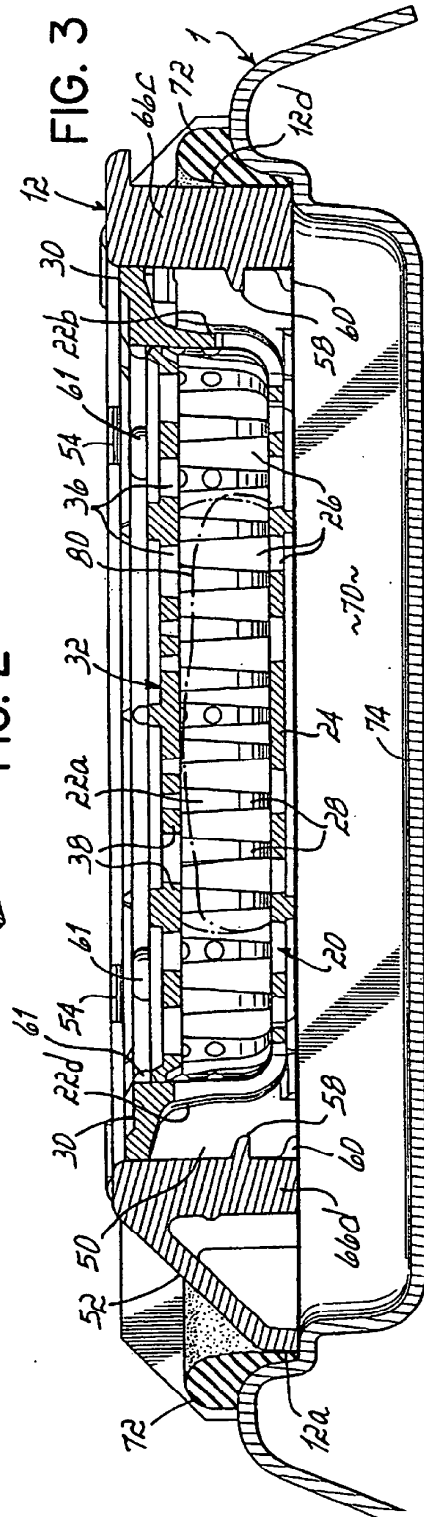
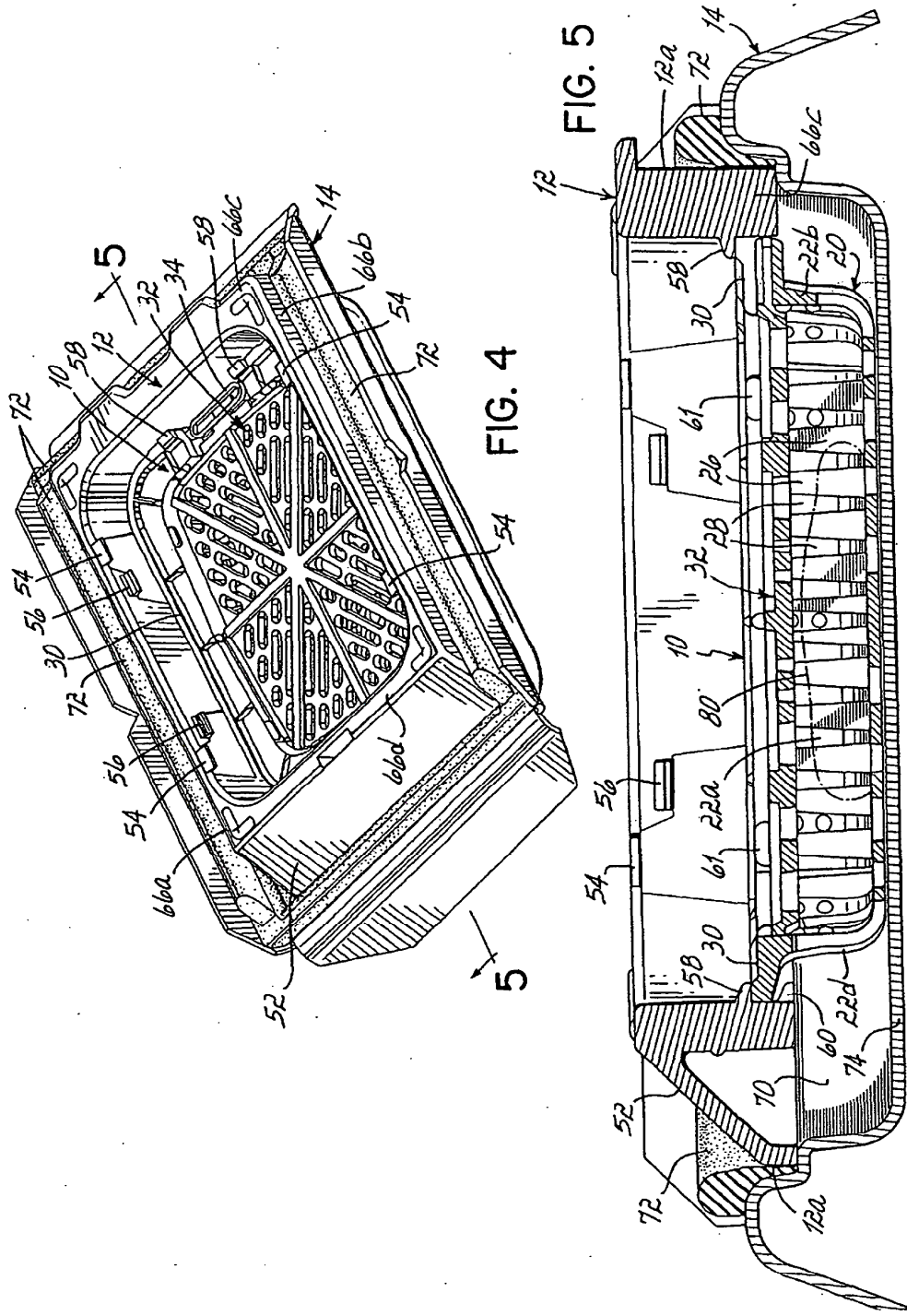


FIG. 3



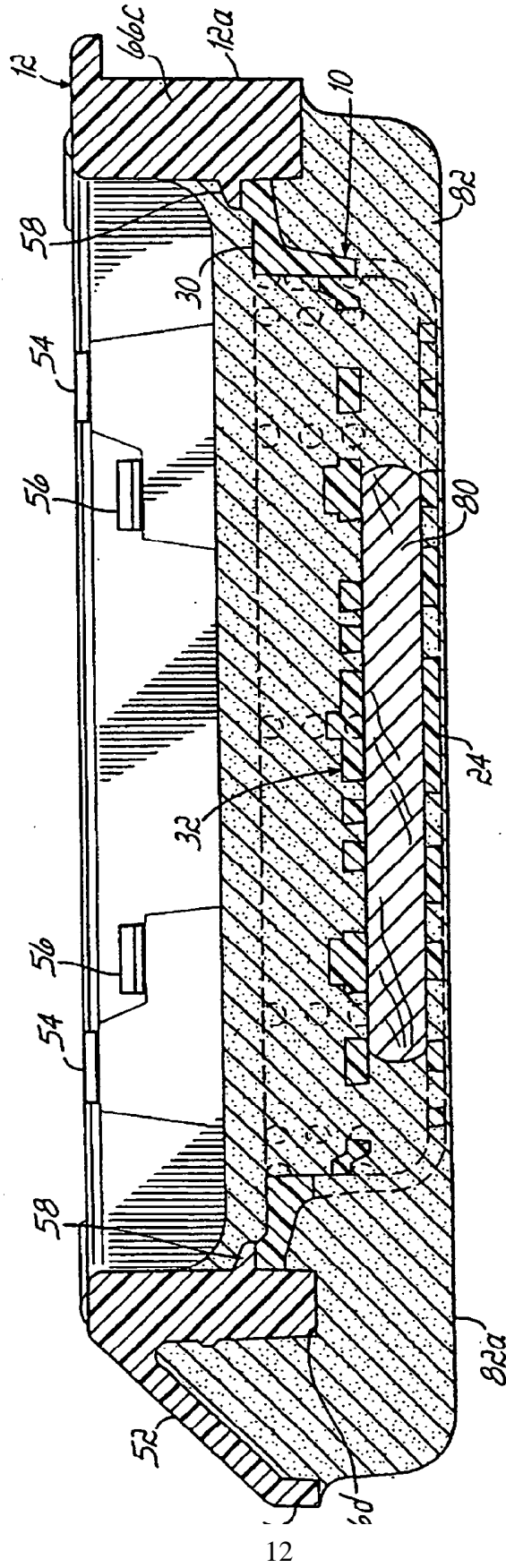
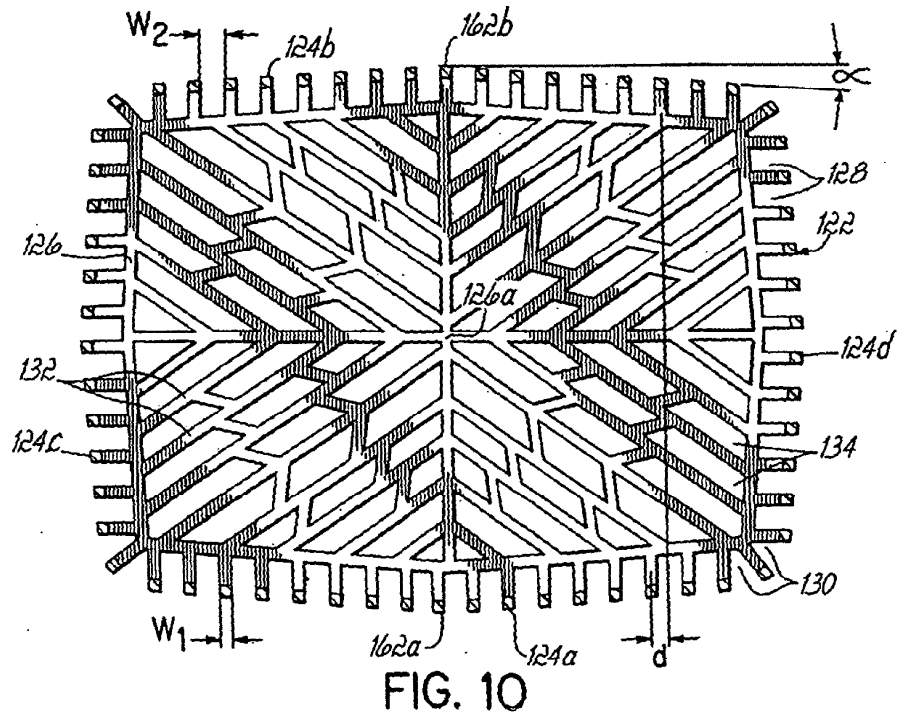
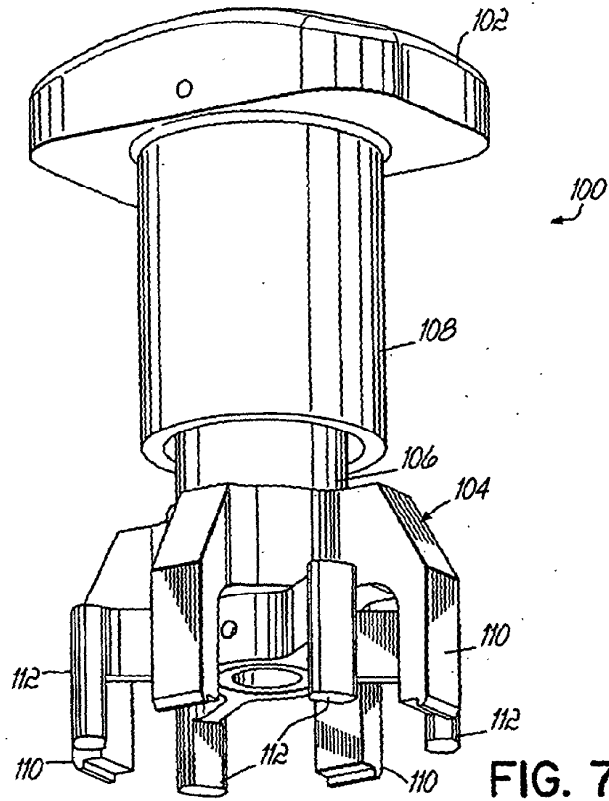


FIG. 6



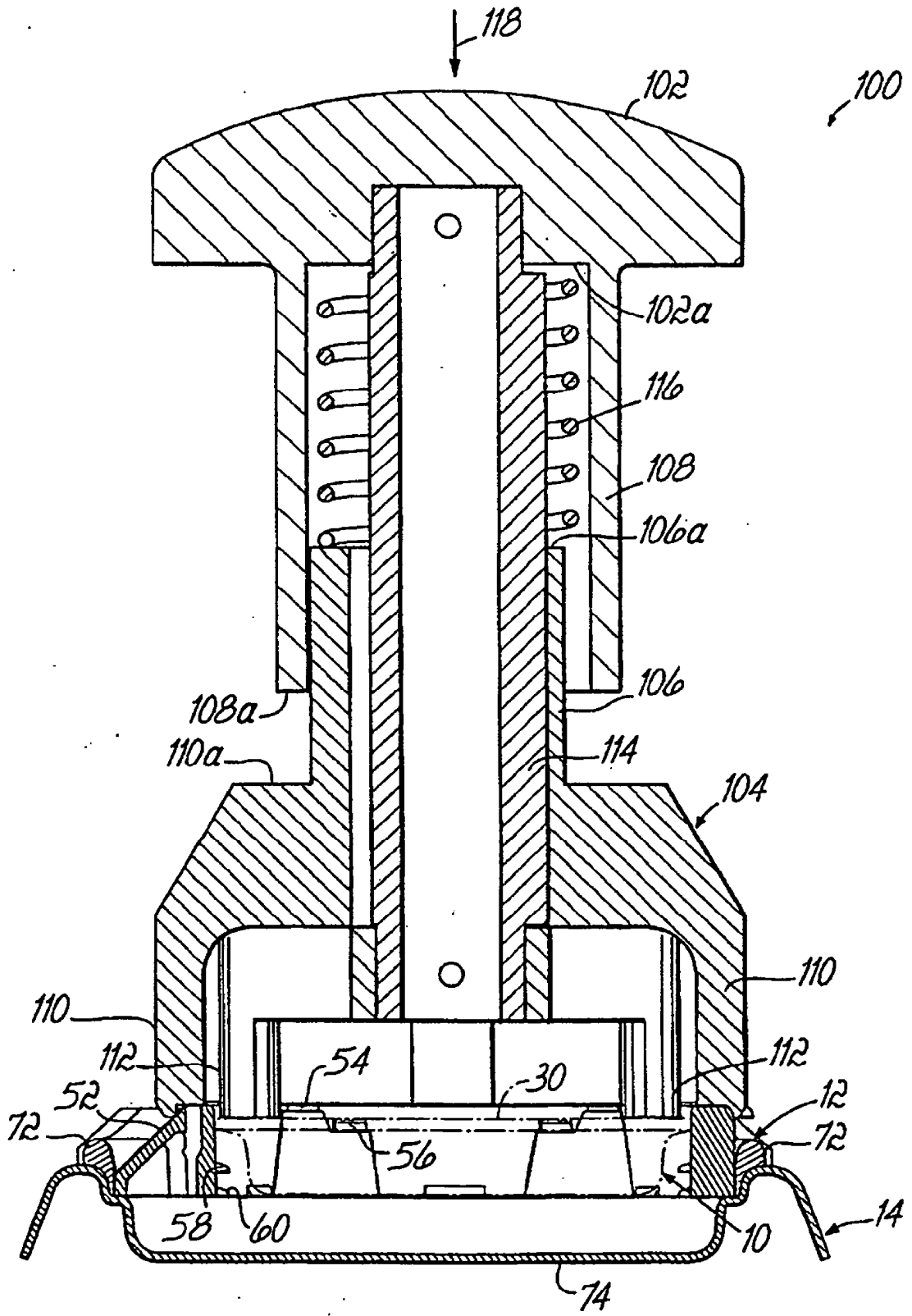


FIG. 8

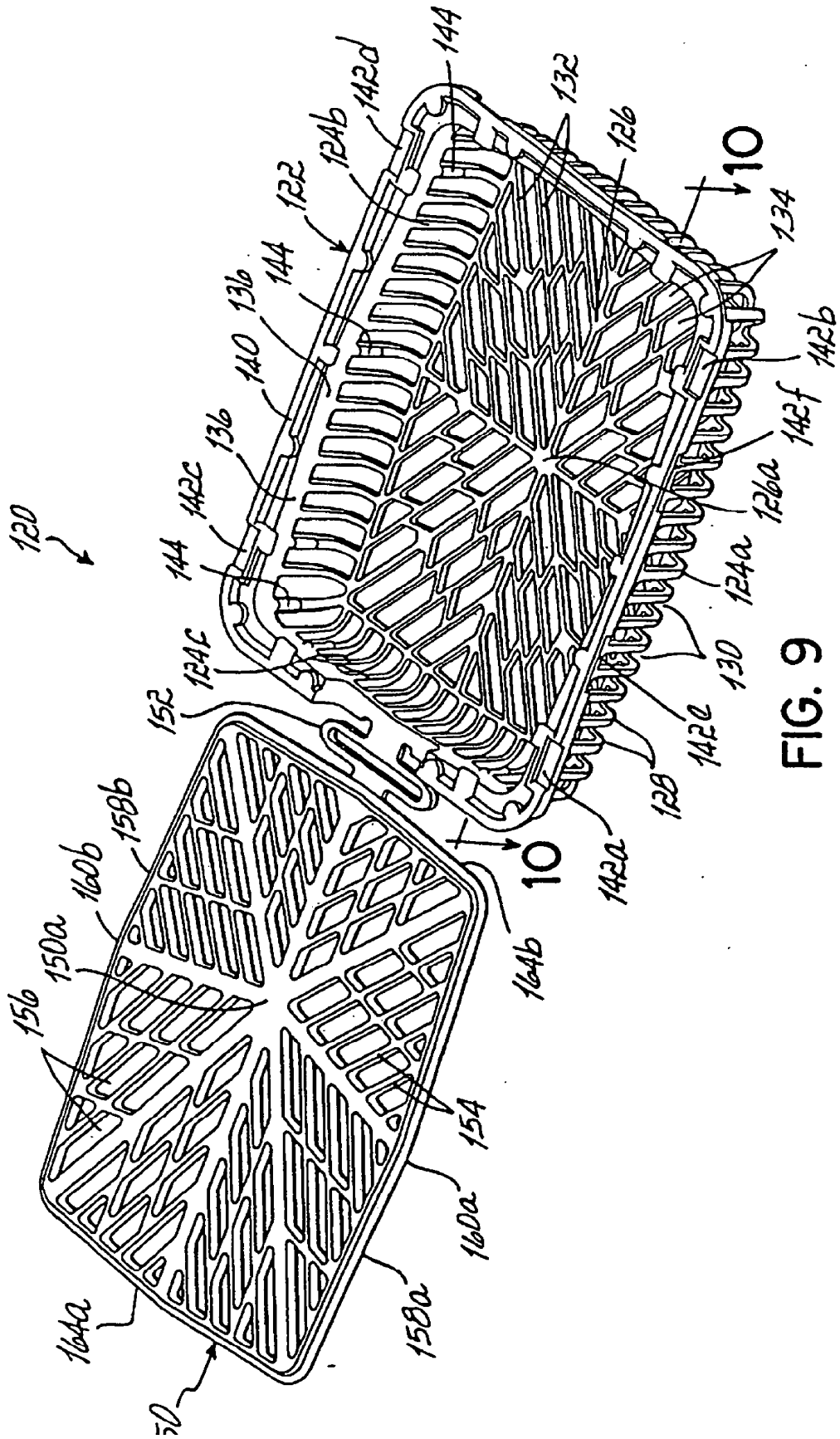


FIG. 9



