

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 548 158**

51 Int. Cl.:

G01N 21/00 (2006.01)
G01N 31/00 (2006.01)
G01N 33/00 (2006.01)
G01N 15/06 (2006.01)
G01N 33/48 (2006.01)
B01L 3/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.04.2003 E 11002712 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.08.2015 EP 2420814**

54 Título: **Aparato de procesamiento de portaobjetos automático**

30 Prioridad:

26.04.2002 US 375679 P

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

14.10.2015

73 Titular/es:

**VENTANA MEDICAL SYSTEMS, INC. (100.0%)
1910 Innovation Park Drive
Tucson AZ 85737, US**

72 Inventor/es:

**LEMME, CHARLES, DR.;
BRYANT, DAVID;
CAMPBELL, DEVON C.;
GHUSSON, ANDREW;
REINHARDT, KURT;
RICHARDS, WILLIAM;
RIZZO, VINCENT y
SHOWALTER, WAYNE**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 548 158 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

Aparato de procesamiento de portaobjetos automático

5 La presente invención se dirige a un aparato para su uso en la patología molecular diagnóstica y, más especialmente, a un aparato de este tipo usado para la tinción y/o el tratamiento automatizados de muestras de tejido montadas en portaobjetos de microscopio.

10 La patología molecular es el examen a un nivel molecular del ADN, el ARNm, y las proteínas que provocan o se asocian de otro modo con una enfermedad. A partir de este examen, puede esclarecerse información importante sobre el diagnóstico, el pronóstico y las opciones de tratamiento del paciente. La práctica de la patología molecular se divide, en general, en dos áreas principales: (i) el análisis de ADN, ARNm y proteínas en células intactas (in situ), y (ii) el análisis de estos materiales biológicos después de que se han extraído de los tejidos. La primera categoría, a la que se dirige principalmente la presente invención, tiene la ventaja de que permite que un patólogo o un científico
15 estudien la arquitectura o la morfología histopatológica de la muestra de tejido bajo el microscopio al mismo tiempo que se ensayan el ácido nucleico o las proteínas. Estas técnicas incluyen la inmunohistoquímica (IHC), que analiza las proteínas, la hibridación in situ (ISH), que analiza los ácidos nucleicos, la histoquímica (HC), que analiza los hidratos de carbono, y la histoquímica enzimática (EHC), que analiza la química de las enzimas. Por ejemplo, la ISH puede usarse para buscar la presencia de una anomalía o una condición genética tal como el aumento de los genes
20 que provocan el cáncer específicamente en las células que, cuando se observan en un microscopio, parecen ser morfológicamente malignas. La ISH también es útil en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas, ya que permite la detección no solo de una secuencia microbiana, sino también de las células que están exactamente infectadas. Esto puede tener importantes implicaciones clínico-patológicas y es un medio eficaz para descartar la posibilidad de que una señal de hibridación positiva pueda proceder de un tejido adyacente sin ningún interés clínico o de la sangre o de la contaminación exterior.

La IHC utiliza anticuerpos que se unen específicamente con epítomos únicos presentes solo en determinados tipos de tejidos celulares enfermos. La IHC requiere una serie de etapas de tratamiento realizadas en una sección de tejido o células (por ejemplo, sangre o médula ósea) montadas sobre un portaobjetos de vidrio para resaltar por
30 tinción selectiva determinados indicadores morfológicos de estados de enfermedad. Las etapas habituales incluyen el pretratamiento de la sección de tejido para retirar la parafina y reducir la unión inespecífica, la recuperación de antígenos o el acondicionamiento de células enmascarado por la reticulación de las proteínas a partir de los fijadores químicos, el tratamiento y la incubación de anticuerpos, el tratamiento y la incubación de anticuerpos secundarios etiquetados con una enzima, la reacción del sustrato con la enzima para producir un fluoróforo o un cromóforo que resalte las áreas de la sección de tejido que tienen epítomos que se unen con el anticuerpo, la contratinción, y similares. La mayoría de estas etapas están separadas por múltiples etapas de enjuague para retirar el reactivo residual sin reaccionar procedente de la etapa anterior. Las incubaciones pueden realizarse a temperaturas elevadas, en general de 37 °C aproximadamente, y el tejido debe protegerse continuamente de la deshidratación. El análisis ISH, que se basa en la afinidad de unión específica de sondas de ADN o ARN con secuencias de
40 nucleótidos únicas o repetitivas de las células de muestras de tejido o fluidos corporales, requiere una serie similar de etapas de proceso con muchos reactivos diferentes y se complica aún más variando los requisitos de temperatura.

En vista del gran número de etapas de tratamiento repetitivas necesarias tanto para la IHC como para la ISH, se han introducido sistemas automatizados para reducir el trabajo humano y la tasa de costes y de errores asociada con el mismo, y para introducir uniformidad. Ejemplos de sistemas automatizados que se han empleado con éxito incluyen los sistemas de tinción ES®, NexES®, DISCOVERY™, BENCHMARK™ y Gen II® disponibles en Ventana Medical Systems (Tucson, Arizona). Estos sistemas emplean un sistema controlado por microprocesador que incluye un carrusel giratorio que soporta portaobjetos colocados radialmente. Un motor paso a paso hace girar el carrusel de
50 portaobjetos colocando cada portaobjetos por debajo de uno de una serie de dispensadores de reactivos colocados por encima de los portaobjetos. Como se describe en la patente de Estados Unidos N° 6.352.861 B1, los códigos de barras en los portaobjetos y los dispensadores de reactivos automatizan por completo el accionamiento controlado por ordenador de los dispensadores sobre los portaobjetos, de manera que pueden realizarse diferentes tratamientos de reactivos para cada una de las diversas muestras de tejido.

55 Unos instrumentos tales como los sistemas ES®, Gen II® NexES®, BENCHMARK® y DISCOVERY® de Ventana Medical Systems están diseñados fundamentalmente para aplicar de manera secuencial los reactivos en unas secciones de tejido montadas en portaobjetos de microscopio de vidrio de 2,54 por 5,08 cm (una por tres pulgadas) en condiciones ambientales controladas. El instrumento debe realizar varias funciones básicas tales como la aplicación de reactivos, el lavado (para retirar un reactivo aplicado anteriormente), el drenaje a chorro (una técnica para reducir el volumen de solución reguladora residual en un portaobjetos posterior al lavado), la aplicación de Liquid Coverslip™ (una aplicación de aceite ligero usado para contener reactivos y evitar la evaporación), y otras funciones instrumentales.

65 Los instrumentos de tinción de Ventana Medical Systems mencionados anteriormente procesan los portaobjetos en un carrusel de portaobjetos rotatorio. Los instrumentos descritos en el presente documento tienen los portaobjetos

fijados en una posición estacionaria y hacen girar las estaciones de procesamiento básicas por encima de los portaobjetos fijados. En la siguiente descripción de cómo se procesan los portaobjetos, el algoritmo de proceso es el mismo independientemente de la configuración física.

5 El proceso de tinción de tejido en un portaobjetos consiste en la repetición secuencial de las funciones instrumentales básicas descritas anteriormente. Esencialmente, se aplica un reactivo al tejido, que se incuba a continuación durante un tiempo especificado a una temperatura específica. Cuando se completa el tiempo de incubación, el reactivo se lava fuera del portaobjetos y se aplica el siguiente reactivo, se incuba, y se lava, etc., hasta que se hayan aplicado todos los reactivos y el proceso de tinción esté completo.

10 Es deseable permitir que se ejecute cualquier protocolo de tinción para cualquiera de los portaobjetos, es decir, cualquier combinación de reactivos y tiempos de incubación. Además, para tinter múltiples portaobjetos tan rápido como sea posible, el instrumento debe procesar los portaobjetos simultáneamente. Esto es posible puesto que la mayoría de las veces se acaban incubando los portaobjetos, dejando de este modo tiempo para realizar el lavado, la aplicación del reactivo y otras funciones en otros portaobjetos.

15 Un algoritmo para lograr una tinción simultánea (a veces denominado método de "acceso aleatorio") es para crear una programación de la tarea y el tiempo para cada portaobjetos en la ejecución, realizando, a continuación, cada tarea en cada portaobjetos cuando la programación lo requiera. El problema con este método es que los tiempos de incubación no serán precisos si el instrumento está ocupado realizando una tarea en un portaobjetos cuando es el momento de lavar otro portaobjetos (completando de este modo la incubación en ese portaobjetos). La variación en los tiempos de incubación será impredecible, ya que varía el número total de portaobjetos y los protocolos de portaobjetos.

20 El procesamiento de portaobjetos usando un algoritmo de paso con bloqueo garantiza que todos los tiempos de incubación son precisos y predecibles con independencia del número de portaobjetos procesados o la variación en los protocolos de portaobjetos. Aunque los tiempos de incubación están garantizados, el algoritmo de paso con bloqueo implica que los tiempos de incubación deben ser un aumento del período de tiempo de incubación fundamental. Por ejemplo, con un ciclo de incubación de dos minutos, los tiempos de incubación totales deben ser múltiplos de dos, es decir, dos, cuatro, seis, ocho, etc., minutos de duración. Sin embargo, la realización preferida de la presente invención usa un tiempo de incubación de cuatro minutos. En general, esto no es una limitación especial, ya que el orden de magnitud de los tiempos de incubación habituales es más largo que el período de incubación fundamental.

25 Los sistemas de tinción de la técnica anterior incluyen, habitualmente, cualquier convección o radiación para calentar las muestras por encima de la temperatura ambiente del laboratorio para las etapas que requieren temperaturas elevadas. El calentamiento de los portaobjetos mejora la calidad de tinción por la aceleración de la reacción química y puede permitir una temperatura de reacción mucho más pareja con la temperatura corporal (aproximadamente 37 °C) a la que los anticuerpos están diseñados para reaccionar. Aunque tales sistemas de calentamiento por convección o radiación han sido, en general, adecuados para la IHC, que está basada en anticuerpos, son menos adecuados para la ISH, que está basada en ácido nucleico y requiere un control de temperatura más alto y más preciso con el fin de desnaturalizar el ADN. Con el fin de desnaturalizar la doble hélice de ADN tanto de la muestra objetivo como de la sonda con el fin de hacerlas monocatenarias, la temperatura debe elevarse por encima del punto de fusión del bicatenario, en general 94 °C aproximadamente. También se requiere un control de temperatura preciso en la ISH para efectuar una hibridación de sonda con la rigurosidad deseada. La temperatura seleccionada debe ser lo suficientemente baja para permitir la hibridación entre la sonda y la muestra objetivo, pero lo suficientemente alta para evitar que coincidan los híbridos de la formación.

30 Las unidades de calentamiento por convección, conducción o radiación de aire caliente, empleadas habitualmente con los sistemas de tinción de tejido automatizados de la técnica anterior no permiten que la temperatura de los portaobjetos individuales se controle de manera independiente. Con los sistemas de la técnica anterior, todos los portaobjetos se calientan a la misma temperatura en cualquier momento dado durante el proceso. Por ejemplo, las patentes de Estados Unidos números 5.645.114 y 6.180.061 de Bogen et al. desvelan un conjunto de dispensación adaptado para sostener una pluralidad de portaobjetos de microscopio. Se proporcionan retenedores de portaobjetos individuales que contienen unidades de calentamiento resistivas. Sin embargo, con el conjunto enseñado por Bogen et al., todos los portaobjetos se calentarían a una temperatura común, debido a que no se desvelan medios para que los controles de calentamiento independientes o los portaobjetos de protección generen calor para los portaobjetos adyacentes.

35 Otras dificultades encontradas con frecuencia en los ensayos tanto de la IHC como de la ISH resultan de la manera en la que se conservan habitualmente los tejidos. El fundamento de los laboratorios de patología diagnóstica ha sido durante muchas décadas el bloque de tejido embebido en parafina y fijado en formol, seccionado y montado sobre portaobjetos de vidrio. La fijación en tal conservante provoca la reticulación de las macromoléculas, tanto de aminoácidos como de ácidos nucleicos. Estos componentes reticulados deben retirarse, en el caso de la ISH, para permitir el acceso de la sonda al ácido nucleico objetivo, y, en el caso de la IHC, para permitir que el anticuerpo

reconozca el antígeno correspondiente. "Desenmascarar" el antígeno y/o el ácido nucleico se logra habitualmente de manera manual con las múltiples etapas de pretratamiento, digestión protolítica y lavado.

5 Antes de la tinción, también se requiere la retirada completa de la parafina de manera que no interfiera con la unión de anticuerpos o de sondas. Normalmente, la desparafinización manual se logra mediante el uso de dos o tres reactivos de limpieza sucesivos que son disolventes de parafina, tales como el xileno, los sustitutos del xileno o el tolueno. Sin embargo, en la patente de Estados Unidos Nº 6.544.798 B1 de Christensen et al. se revelan nuevos métodos automatizados que están basados en gran medida en mecanismos de separación física, que no requieren disolventes tóxicos y están basados en agua.

10 El análisis precedente de la técnica anterior se deriva en gran medida de la patente de Estados Unidos Nº 6.296.809 de Richards et al., asignada a Ventana Medical Systems, en la que se describen aparatos y métodos para tintar o tratar automáticamente múltiples muestras de tejido montadas en portaobjetos de microscopio, de tal manera que cada muestra puede recibir un protocolo de tinción o de tratamiento individualizado, incluso cuando tales protocolos requieren diferentes parámetros de temperatura. Más específicamente, en la patente '809 se describe un aparato que comprende un instrumento de tinción accionado por código de barras y controlado por ordenador, que aplica de manera automática reactivos químicos y biológicos a tejidos o células montadas o fijadas en portaobjetos de microscopio de vidrio convencionales. De acuerdo con la patente '809, se monta una pluralidad de portaobjetos en una disposición circular en un carrusel que gira, dirigido por el ordenador, a una localización de dispensación que coloca cada portaobjetos por debajo de uno de una serie de dispensadores de reactivos en un segundo carrusel rotatorio colocado por encima de los portaobjetos. Cada portaobjetos recibe los reactivos seleccionados (por ejemplo, una sonda de ADN) y se lava, se mezcla y/o se calienta en una secuencia óptima y durante el período de tiempo requerido.

25 El documento US 6.352.861 desvela un soporte de portaobjetos de carrusel que tiene una pluralidad de localizaciones de portaobjetos que se accionan para colocar los portaobjetos en una posición con respecto a las estaciones de tratamiento. Las estaciones de tratamiento se fijan en un soporte estacionario, mientras que el carrusel hace girar los portaobjetos de una estación a otra según se desee. Después del tratamiento, un soporte rotatorio, que sostiene un carrusel de botellas de reactivo, hace girar los portaobjetos a tratar.

30 De acuerdo con la presente invención, se proporciona un aparato de procesamiento de portaobjetos automático como se define en la reivindicación 1. Más especialmente, la presente invención, en lugar de llevar los portaobjetos a las estaciones de reactivos, de tinción y de lavado, lleva las estaciones de reactivos, de tinción y de lavado a los portaobjetos colocados de manera fija. Es decir, en la presente invención, los portaobjetos se colocan de manera fija en el aparato, y los diversos fluidos de lavado, de tinción y de reactivo se suministran de manera selectiva a los portaobjetos. La fijación de los portaobjetos en una posición en el aparato simplifica el cableado en los calentadores, y también elimina la posibilidad de que un portaobjetos pueda desencajarse por el movimiento rápido de arranque y parada del carrusel de portaobjetos, lo que, en el peor de los casos, podría dar como resultado un efecto dominó o de descarrilamiento en el que un portaobjetos desencajado golpea el portaobjetos más cercano haciendo que ese portaobjetos se desencaje, y así sucesivamente.

Otras características y ventajas de la presente invención se verán a partir de la siguiente descripción detallada, considerada junto con los dibujos adjuntos, en los que números similares representan partes similares:

45 Las figuras 1 a 10 de la siguiente descripción se refieren a un ejemplo comparativo de un aparato de procesamiento de portaobjetos, que no forma parte de la presente invención. Las figuras 13 a 19 representan una realización de la presente invención.

La figura 1 es una vista en perspectiva de un aparato con la cubierta de caja de portaobjetos retirada, y la figura 1A es una vista ampliada que muestra detalles de partes de las sondas de transferencia de reactivos;

50 La figura 2 es una vista en perspectiva del aparato de la figura 1, mostrado junto con un ordenador y otros instrumentos con los que opera;

La figura 3 es una vista en perspectiva y la figura 3A es una vista parcialmente despiezada de detalles de la parte de soporte de boquilla de la figura 1;

La figura 4 es una vista despiezada de detalles de la parte de placa de portaobjetos de la figura 1;

55 Las figuras 5 y 6 son vistas en perspectiva, desde arriba y desde abajo, respectivamente, de partes de la parte de placa de portaobjetos de la figura 1;

La figura 7 es una vista en perspectiva de la parte de soporte de reactivos de la figura 1;

La figura 8 es una vista en perspectiva parcialmente despiezada que muestra dos botellas de reactivo de la figura 1;

60 La figura 8A es una vista en sección transversal de una botella de reactivo, una tapa y una inserción;

La figura 9 es una vista en planta desde arriba de dos botellas de reactivo de la figura 1;

Las figuras 10A-10B son diagramas de flujo del funcionamiento y el control de la figura 1;

La figura 11 es una vista en perspectiva de una realización y el aparato de la presente invención mostrado con la cubierta de caja de portaobjetos retirada;

65 La figura 12 es una vista en perspectiva de la realización de la figura 11, mostrada junto con un ordenador y otros instrumentos con los que opera;

La figura 13 es una vista en perspectiva que muestra detalles de la parte de soporte de boquilla de la realización de la figura 11;

La figura 14 es una vista despiezada de detalles de la realización de la figura 11;

5 Las figuras 15 y 16 son vistas en perspectiva, desde arriba y desde abajo, respectivamente, de partes de la parte de placa de portaobjetos de la realización de la figura 11;

Las figuras 17A y 17B son vistas en perspectiva, frontal y trasera, respectivamente, del dispensador de reactivos y la parte de portador de dispensadores de la realización de la figura 11;

La figura 18 es una vista en perspectiva que muestra detalles de la parte de activador de dispensador de reactivos de la realización de la figura 11; y

10 Las figuras 19A y 19B son diagramas de flujo del funcionamiento y control de la realización de la figura 11.

Haciendo referencia ahora en detalle a los dibujos, en los que las partes similares se indican con números de referencia similares de principio a fin, se ilustra en la figura 1 una vista en perspectiva del aparato de patología molecular de acuerdo con un ejemplo comparativo que se indica, en general, con el número de referencia 10. Con fines de claridad, se omiten de los dibujos varias de las botellas de reactivo, así como la cubierta de caja, y las tuberías de suministro de líquido y de aire y el cableado eléctrico. El aparato 10 está diseñado para tinter de manera automática o tratar de otro modo el tejido montado en portaobjetos de microscopio con sondas de ácido nucleico, anticuerpos, y/u otros reactivos en una secuencia, un tiempo y una temperatura deseados. Las secciones de tejido tintadas o tratadas de este modo pueden observarse, a continuación, bajo un microscopio por un profesional sanitario que lee el portaobjetos con fines de diagnóstico, pronóstico o selección de tratamiento del paciente.

En el ejemplo, el aparato 10 funciona como un componente o módulo de un sistema 12 (figura 2), que también comprende un ordenador central 14, preferentemente un ordenador personal, un monitor 16, un teclado 18, un ratón 20, recipientes de fluido a granel 22, un recipiente de residuos 23 y el equipamiento relacionado. Unos módulos de tinción adicionales u otros instrumentos pueden añadirse al sistema 12 para formar una red con el ordenador 14 que funcione como un servidor. Como alternativa, algunos o todos estos componentes separados podrían incorporarse en el aparato 10 convirtiéndolo en un instrumento independiente.

Haciendo referencia también a las figuras 3, 3A y 4-7, como se expone con mayor detalle a continuación, una pluralidad de plataformas de portaobjetos 50 (figuras 4, 5) se montan radialmente alrededor de un punto central 32 del cajón 34 (figura 1) sobre el que pueden colocarse unos portaobjetos de vidrio convencionales 60 con muestras de tejido. El cajón 34 se monta de manera deslizante en la carcasa 30 sobre los carriles 40 o similares. La temperatura de cada portaobjetos puede controlarse de manera individual por medio de sensores y un microprocesador, es decir, como se enseña en la patente '809 mencionada anteriormente.

Cada una de las plataformas de portaobjetos 50 se conecta a través de cables individuales a un multiplexor (no mostrado) que, a continuación, se conecta a su vez a un microprocesador (no mostrado). Una característica y ventaja de la presente invención, que resulta del montaje fijo de las plataformas de portaobjetos en el cajón 34, es que cada uno de los calentadores y los sensores térmicos puede cablearse, eliminando de este modo la necesidad de un conjunto de anillo de deslizamiento o unos acoplamientos de rotor, así como de complejos motores paso a paso, etc., para localizar y colocar un carrusel de portaobjetos rotatorio como se requiere en los dispositivos de la técnica anterior. Además, se elimina la posibilidad de que un portaobjetos o unos portaobjetos puedan desplazarse o desenchajarse durante la rápida rotación de arranque y parada del carrusel de portaobjetos.

Una pluralidad de ranuras o canales se forman en la superficie superior de cada uno de los calentadores de portaobjetos, es decir, la superficie de contacto entre el calentador de portaobjetos y el portaobjetos, para la recogida y la ventilación de las burbujas de gas que pueden formarse durante el calentamiento.

Haciendo referencia también a las figuras 1, 2, 5 y 6, el cajón 34 soporta una bandeja de soporte de portaobjetos 33 que, a su vez, soporta un plato circular 35 que tiene una pared periférica 36 que sirve como una protección contra salpicaduras, un canalillo periférico 37 y un drenaje central 38, es decir, en el punto central 32, ambos conectados a las líneas de drenaje 39 que, a su vez, están conectadas al recipiente de residuos 23. El cajón 34 se monta de manera deslizante en la carcasa 30 sobre los carriles 40. Los carriles 40, en una realización preferida, comprenden tres piezas de carriles telescópicos, de manera que el cajón 34 puede deslizarse lejos de la carcasa 30 para permitir el acceso a todas las plataformas de portaobjetos 50 para la carga y la retirada de portaobjetos. Un medio de amortiguación, tal como un medio neumático, un medio electromotriz, un amortiguador de resorte mecánico, o similares, se proporciona preferentemente para suavizar el movimiento del cajón, para evitar de este modo un posible desprendimiento de los portaobjetos, especialmente cuando el cajón está cerrado. La bandeja de soporte de portaobjetos 33 se soporta en un mecanismo de elevación, tal como unos cilindros neumáticos 52 (véase la figura 1), que se indexan automáticamente para permitir que la bandeja de soporte de portaobjetos 33 se mueva hacia arriba y hacia abajo, de manera que la bandeja de soporte de portaobjetos 33 y el plato circular 35 pueden soltarse para permitir que la pared 36 limpie el soporte de boquilla 100 cuando el cajón se desliza dentro y fuera del aparato.

El cajón de portaobjetos 34 se divide en treinta y cinco secciones iguales en forma de tarta 70. Treinta de las secciones en forma de tarta 70 están ocupadas por plataformas de portaobjetos 50, mientras que las cinco secciones en forma de tarta restantes 70A (figura 4) en la parte trasera del cajón están desprovistas de plataformas

de portaobjetos 50. En otras palabras, una fila de treinta plataformas de portaobjetos 50 se montan de manera radial en el cajón 34 y se espacian de manera uniforme entre sí, excepto en los extremos de la fila.

5 Sin embargo, el ejemplo no se limita a treinta localizaciones de portaobjetos activas, y pueden emplearse más o menos localizaciones de portaobjetos. Una realización alternativa puede implementarse alineando las plataformas 50 de manera lineal, lo que da como resultado un número potencialmente ilimitado de plataformas.

10 Haciendo referencia a las figuras 1 y 3, un soporte de boquilla 100 está montado de manera concéntrica y rotatoria por encima del cajón de portaobjetos 34. El soporte de boquilla 100 está montado en un eje (no mostrado) soportado por un puente 110, y accionado por un motor paso a paso y una correa de transmisión controlados por ordenador (no mostrados), y gira más o menos 180°, aproximadamente, a partir de una posición de inicio 104 en la parte trasera del cajón. El motor paso a paso y la correa de transmisión controlados por ordenador son convencionales en esta técnica. En consecuencia, se omiten los detalles en aras de la claridad.

15 El soporte de boquilla 100 sostiene las diversas estaciones de tratamiento de portaobjetos, excepto la localización de dispensación de reactivos. Por lo tanto, el soporte de boquilla 100 sostiene el bloque de boquilla de enjuague dual 102, el bloque de ajuste/rigurosidad de volumen 103, el bloque de aplicación de líquido inhibidor de evaporación Liquid Coverslip™ 105, el bloque de chorro de aire mezclador de vórtice 106, el drenaje a chorro 108, y similares, todos para preparar un portaobjetos para la tinción, la retirada de tintes, y similares, y para borrar los códigos de barras (no mostrados) que llevan los portaobjetos, y un lector de código de barras 109, todos descritos en detalle en las patentes de Estados Unidos números 5.595.707; 5.650.327; 5.654.199; o 5.654.200 de Copeland et al. En otras palabras, el soporte de boquilla 100 realiza todas las funciones para la preparación, limpieza, mezcla de reactivos, aplicación de Liquid Coverslip™, etc., de los portaobjetos, excepto la aplicación de reactivos, como se describe, por ejemplo, en la patente '707 de Copeland et al., más las estaciones de lavado 121, 122 para las sondas de aplicación de reactivos, como se describirá en detalle a continuación.

20 Preferentemente, pero no necesariamente, los diversos bloques de boquilla de enjuague, bloques de chorro de aire mezclador de vórtice, drenaje a chorro, etc., están dispuestos adyacentes entre sí, de manera que el soporte de boquilla 100 puede indexarse y hacerse avanzar en un manera de "paso con bloqueo" para tratar de forma secuencial un portaobjetos de acuerdo con un protocolo aceptado. Por ejemplo, el drenaje a chorro 108 puede disponerse inmediatamente adyacente a los bloques de boquilla de enjuague 102, de manera que el soporte de boquilla 100 puede hacerse avanzar en un manera de "paso con bloqueo" más allá de un portaobjetos seleccionado, y el portaobjetos se enjuaga y el líquido se extrae, etc. Además, si se desea, los bloques de chorro de aire mezclador de vórtice 106 pueden orientarse para incidir de manera simultánea sobre dos portaobjetos adyacentes.

30 En aras de la claridad, se han omitido de los dibujos las tuberías de suministro de fluido y de aire para las diferentes estaciones de tratamiento de portaobjetos. Se entenderá, sin embargo, que las tuberías de suministro de fluido y de aire se hacen lo suficientemente largas para permitir que la placa de válvula gire más o menos 190°, aproximadamente, desde una posición inicial en la parte trasera del aparato, de manera que cada estación de tratamiento de portaobjetos puede alcanzar cada portaobjetos 60. Un par de estaciones de lavado 121, 122 separadas dos trigésimo quintas partes de una revolución (aproximadamente 20°), como se describirá con detalle en lo sucesivo en el presente documento, también se unen a y se extienden radialmente más allá de la periferia del soporte de boquilla 100, y giran con el soporte de boquilla 100.

45 El soporte de reactivos 300 se monta de manera fija en el puente 110 verticalmente por encima del soporte de boquilla 100, cuyo arco se monta de manera fija, a su vez, dentro de la carcasa 30. Una pluralidad de botellas de reactivo 302 se montan de manera extraíble dentro de los rebajes 304 que se forman espaciados por igual adyacentes a la periferia del soporte de reactivos 300. En la realización ilustrada, se montan un total de treinta y cinco botellas de reactivo en el soporte de reactivos 300, separadas entre sí aproximadamente una trigésimo quinta parte (aproximadamente 10°).

50 Los reactivos pueden incluir cualquier material químico o biológico aplicado de manera convencional a los portaobjetos, incluyendo sondas o imprimadores de ácido nucleico, polimerasa, anticuerpos primarios y secundarios, enzimas de la digestión, pre-fijadores, post-fijadores, secuenciación química, contratincciones, y similares.

55 Haciendo referencia también a la figura 8, cada una de las botellas de reactivo 302 comprende un cuerpo hueco cilíndrico 305 cerrado en el extremo inferior por una pared inferior formada de manera integral. Preferentemente, la pared inferior interior de cada botella tiene forma de cono, es decir, como se muestra en líneas de trazos en 303, para facilitar la recogida del reactivo por las sondas de transferencia de reactivos, como se describirá en detalle a continuación. Cada botella 302 incluye una abrazadera formada de manera integral 306 que sirve para mantener las botellas 304 a una altura deseada en el soporte de reactivos 300, y que también puede servir para permitir el encadenado conjunto de una pluralidad de botellas similares 302. En consecuencia, cada abrazadera 306 incluye un elemento de bisagra 308 para cooperar con un elemento de bisagra 310 de una botella adyacente 302. En la realización ilustrada, los elementos de bisagra 308 y 310 se muestran como bisagras de pasador convencionales en las que la bisagra superior 310 incluye un pasador 312 que se ajusta en la bisagra inferior 308, es decir, similar a

una bisagra de puerta convencional. Sin embargo, las botellas 302 pueden abisagrarse entre sí en una diversidad de maneras.

La abrazadera 306 incluye, preferentemente, una superficie plana 314 sobre la que lleva un código de barras 316 para identificar el contenido de la botella 302. Las botellas 302 también incluyen una inserción 318 que tiene una superficie superior ahusada 320 y una entrada 319 ajustada en el extremo superior de las botellas para localizar una sonda de transferencia de reactivos 328, como se describirá en detalle en lo sucesivo en el presente documento, y una tapa 322 que puede o bien retorcerse o ajustarse a presión en la botella 302 para sellar la botella 302.

La sonda 328 se ahúsa en un extremo inferior para ajustarse estrechamente en la parte inferior cónica ahusada 303 de la botella 302. En la inserción 318 se forma un orificio de ventilación 321 para igualar la presión de aire cuando se retira el reactivo. La tapa 322 incluye una superficie interna ahusada y una clavija 323 para sellar la entrada 319.

Hacer las abrazaderas 306 acoplables entre sí permite montar una cadena de reactivos para su uso, y también retirar la cadena de reactivos, de manera que los reactivos puedan refrigerarse, por ejemplo, durante la noche cuando no se usan.

Haciendo referencia a continuación a las figuras 7, 8 y 9, las paredes laterales 324 de las abrazaderas 306 están ahusadas, de manera que se forma un espacio en forma de tarta 326 entre dos botellas cuando dos botellas se sujetan juntas en una cadena, y se montan en los rebajes 304 en el soporte de reactivos 300, exponiendo de este modo los agujeros 328 formados a través del soporte de reactivos 300. Los agujeros 328 se forman en el mismo círculo concéntrico que los rebajes 304, y se espacian por igual entre los rebajes adyacentes 304. El fin de los espacios en forma de tarta 326 y los agujeros 328 es proporcionar un espacio libre para las sondas de transferencia de reactivos 402, 404, como se describirá en detalle a continuación.

Haciendo referencia de nuevo a la figura 1, un brazo 400 está montado de manera rotatoria en el arco 405 concéntricamente por encima del soporte de reactivos 300, y sostiene un par de sondas de transferencia de reactivos 402, 404 localizadas en el extremo distal del brazo 400 y separadas aproximadamente 10°. El brazo 400 también sostiene un lector de código de barras 406 para leer los códigos de barras 316 de las botellas de reactivo. El brazo 400 se acciona de manera rotatoria por un motor paso a paso accionado por ordenador (no mostrado), y gira más o menos 185°, aproximadamente, en cualquier dirección desde una posición inicial 410.

Las sondas de transferencia de reactivos 402 y 404, que son idénticas entre sí, comprenden preferentemente unos dispositivos de recogida de medición/dispensación de pipeta automáticos diseñados para aspirar o "sorber" un reactivo de una botella de reactivo, moverse a un portaobjetos y, a continuación, "escupir" o depositar el reactivo sobre el portaobjetos. Los dispositivos de recogida de medición/dispensación de pipeta automáticos de "sorber" y "escupir" se describen en la solicitud PCT publicada N° PCT/US99/04379, cuya divulgación se incorpora por referencia en el presente documento. Las sondas de transferencia de reactivos 402 y 404 se sostienen en el extremo distal del brazo 400 y están espaciadas entre sí, de manera que cuando una de las sondas, por ejemplo, la sonda 402 está localizada centralmente sobre un portaobjetos 60, la otra sonda de transferencia de reactivos 404 puede colocarse centralmente sobre una de las dos estaciones de lavado de sondas 121 o 122. Los cilindros neumáticos 403a, 403b suben y bajan de manera selectiva las sondas 402 y 404 en una de las siguientes posiciones: una posición de transporte elevada por encima de la parte superior de las botellas 302 donde el brazo 400 es libre de girar; una posición de extracción de reactivo en la que una de las sondas se inserta en una botella de reactivo seleccionada 302 en la que una cantidad medida de reactivo puede introducirse en la sonda; una posición de dispensación de reactivo en la que una sonda de transferencia de reactivos que contiene el reactivo está dispuesta en el espacio en forma de tarta 326 entre dos botellas de reactivo, por encima de un portaobjetos seleccionado para dispensar el reactivo en el mismo; y una posición de limpieza en la que la otra sonda, es decir, la sonda que no se está usando para dispensar el reactivo, está dispuesta operativamente en una de las estaciones de lavado de sondas 121 o 122 que se extiende sobre el portaobjetos que se dispensa. Aunque el aparato de la presente invención podría fabricarse con una sola sonda de transferencia de reactivos, proporcionar dos sondas de transferencia de reactivos separadas mejora la velocidad de ciclo, ya que la medición de reactivos puede realizarse usando una de las dos sondas de transferencia de reactivos, mientras que la otra de las dos sondas de transferencia de reactivos se hace pasar a través del ciclo de lavado como se describirá a continuación. Es decir, mientras que una de las sondas de transferencia de reactivos, por ejemplo, la sonda de transferencia de reactivos 402 está dispensando el reactivo sobre un portaobjetos, la otra sonda de transferencia de reactivos, es decir, la sonda de transferencia de reactivos inactiva 404 puede bajarse a una estación de lavado de sondas 121 donde la sonda de transferencia de reactivos inactiva puede enjuagarse por dentro y por fuera al mismo tiempo.

Haciendo referencia a las figuras 10A y 10B, el proceso general es el siguiente:

Una pluralidad de portaobjetos de apoyo de muestra 60 se montan en las plataformas de portaobjetos 50, se seleccionan las botellas de reactivo 302 montadas en el soporte de reactivos 300, se cierra el cajón de portaobjetos y se leen los códigos de barras del portaobjetos y del reactivo. El ordenador calcula el protocolo maestro y, a continuación, descarga las etapas de ejecución para toda la ejecución, el soporte de boquilla 100 se indexa en el primer portaobjetos, y el portaobjetos se lava y se prepara para la tinción u otro tratamiento de acuerdo con las etapas de ejecución preprogramadas haciendo avanzar el soporte de boquilla 100 en la manera

de "paso con bloqueo". Mientras tanto, se hace girar el brazo de sonda 400 hacia la botella de reactivo apropiada 302, una de las dos sondas de transferencia de reactivos 402 o 404 se indexa sobre la botella de reactivo seleccionada, y se baja la sonda para aspirar una cantidad medida del reactivo deseado. A continuación, se sube la sonda de transferencia que contiene el reactivo, y el brazo 400 se mueve al portaobjetos seleccionado en el que la sonda de transferencia de reactivos cargada se baja justo sobre el portaobjetos, y se dispensa el reactivo en el portaobjetos. Mientras tanto, la sonda de transferencia de reactivos inactiva se baja en una de las estaciones de lavado 121 o 122, en la que la sonda de transferencia de reactivos se lava por dentro y por fuera. A continuación, se suben las dos sondas de transferencia de reactivos 402 y 404, y se repite el proceso, pero usando la sonda de transferencia de reactivos que acaba de limpiarse en la etapa anterior para aspirar y dispensar el reactivo sobre el siguiente portaobjetos. Como antes, de manera simultánea con la dispensación del reactivo sobre el portaobjetos, como en el caso anterior, la sonda de transferencia de reactivos inactiva se lava mientras que la sonda de transferencia de reactivos activa está dispensando el reactivo sobre el nuevo portaobjetos.

Las etapas anteriores se repiten hasta que se procesan todos los portaobjetos. Por conveniencia, en la realización ilustrada, el tiempo de permanencia en cada estación de portaobjetos es de seis y dos tercios de segundo. Esto proviene de dividir un tiempo de ciclo de cuatro minutos en treinta y seis espacios de tiempo, un espacio de tiempo para cada una de las treinta posiciones de portaobjetos, más cinco posiciones de portaobjetos en blanco para el sobredesplazamiento del soporte de portaobjetos, más una posición de portaobjetos "virtual" para hacer volver el soporte de boquilla 100 desde la última posición de portaobjetos a la primera posición de portaobjetos. La posición de portaobjetos virtual permite que el soporte de boquilla 100 vuelva al otro extremo de su intervalo de desplazamiento de una manera ininterrumpida.

El algoritmo de tinción usado en los sistemas de Ventana mencionados anteriormente evita los problemas de programación asociados con los métodos de acceso al azar usando un método de "paso con bloqueo". El algoritmo de paso con bloqueo requiere que el soporte de boquilla 100 que mantiene las funciones de procesamiento se haga girar una indexación de posición de portaobjetos cada "n" segundos, denominado tiempo de indexación de portaobjetos. Preferentemente, el tiempo de indexación de portaobjetos es tan corto como sea posible, pero lo suficientemente largo para que la función que requiere el tiempo más largo pueda completarse dentro del tiempo de indexación. En las realizaciones de las invenciones del presente documento, "n" es seis y dos tercios de segundo. Los tiempos de indexación son, en general, del orden de varios segundos. El tiempo para una rotación completa del soporte de boquilla 100, denominado período de incubación fundamental, será entonces "n" veces el número de posiciones de portaobjetos, incluyendo las posiciones de portaobjetos en blanco y virtuales. (Por ejemplo, si el tiempo de indexación de portaobjetos es de seis segundos y hay veinte posiciones de portaobjetos, el período de tiempo de incubación será de 120 segundos o dos minutos.)

A lo largo de toda la ejecución, el soporte de boquilla 100 se indexa en una posición de portaobjetos cada "n" segundos. Después de la indexación, el sistema comprueba la programación para ver si alguno de los portaobjetos en cada una de las estaciones de procesamiento requiere la función de esa estación. Por ejemplo, si el portaobjetos en la estación de lavado está programado para el lavado, se lava ese portaobjetos. De manera similar, si el portaobjetos en la estación de aplicación de reactivos está programado para la aplicación de un nuevo reactivo, entonces se aplica el nuevo reactivo.

El ejemplo descrito anteriormente tiene varias ventajas. Por una parte, hacer la placa de portaobjetos fija en una posición elimina la posibilidad de que un portaobjetos se desenganche (y se desprenda la muestra) durante el rápido movimiento rotatorio de arranque-detención de un carrusel de portaobjetos rotatorio convencional. Además, el empleo de dos jeringas de transferencia garantiza una mejor limpieza de las jeringas de transferencia sin aumentar el tiempo de ciclo.

Además, puesto que ninguno de los elementos móviles, es decir, el soporte de boquilla 100 y el brazo de soporte de sonda 400 necesita desplazarse más de aproximadamente 190° en cualquier dirección, pueden lograrse todas las conexiones eléctricas y las conexiones de aire y de fluido sin la necesidad de un anillo de deslizamiento o de conexiones giratorias, puesto que las mangueras y los cables son muy capaces de realizar torsiones de más de 190°.

Los instrumentos descritos en el presente documento puede o puede que no tengan la capacidad de hacer girar de manera continua el soporte de boquilla. Puede que el soporte de boquilla 100 necesite volver a una posición de partida antes de que la rotación supere los 360 grados. Esto también puede ser necesario cuando se hacen girar los portaobjetos en un carrusel y las funciones de procesamiento se fijan por encima de los portaobjetos. De manera similar, son posibles otros diseños no rotatorios tales como las configuraciones lineales o bidimensionales. En estos casos será necesario mover los portaobjetos o las funciones de procesamiento de nuevo a la posición de partida original durante la ejecución de la tinción. En la mayoría de los casos es probable que el tiempo requerido para hacer esto supere el tiempo de indexación que infringe el requisito fundamental del algoritmo de paso con bloqueo. El algoritmo de paso con bloqueo todavía puede utilizarse a través del concepto del "portaobjetos virtual" mencionado anteriormente. El portaobjetos virtual se añade al número total de posiciones reales de portaobjetos, de manera que el período de tiempo de indexación asignado al portaobjetos virtual puede usarse para mover los

portaobjetos o las estaciones de procesamiento de vuelta a la posición de partida. Por lo tanto, se mantienen los tiempos de incubación precisos y predecibles.

El ejemplo es susceptible de modificaciones. Por ejemplo, en lugar de usar una o un par de jeringas de transferencia en un brazo suspendido, el carrusel de reactivos podría sostener una pluralidad de micro-dispensadores de fluido de reactivo de suministro tal como se describe en las patentes de Estados Unidos números 6.045.759; 6.416.713; o 6.192.945. Además, aunque se prefiere el uso de plataformas térmicas calentadas individualmente, los portaobjetos pueden calentarse usando técnicas de calentamiento convencionales.

Haciendo referencia a las figuras 11-19, se ilustra una realización de la presente invención. La figura 11 es una vista en perspectiva de un aparato de patología molecular de acuerdo con la segunda realización que se indica, en general, con el número de referencia 1000. Con fines de claridad, se omiten de los dibujos todos menos uno de los dispensadores de reactivos y los portadores de dispensadores, así como la cubierta de caja, y las tuberías de suministro de líquido y de aire y el cableado eléctrico. El aparato 1000 está diseñado para tintar automáticamente o tratar de otro modo el tejido montado en portaobjetos de microscopio con sondas de ácido nucleico, anticuerpos, y/u otros reactivos en una secuencia, un tiempo y una temperatura deseados. A continuación, las secciones tintadas o tratadas de este modo, se observan bajo un microscopio por un profesional sanitario que lee el portaobjetos con fines de diagnóstico, pronóstico o selección de tratamiento del paciente.

En una realización, el aparato 1000 (figura 12) funciona como un componente o módulo de un sistema que también comprende un ordenador central 1014, preferentemente un ordenador personal, unos recipientes de fluido a granel 1022, un recipiente de residuos (no mostrado) y los equipos relacionados. Pueden añadirse al sistema módulos de tinción adicionales u otros instrumentos para formar una red con el ordenador 1014 que funcione como un servidor. Como alternativa, alguno o la totalidad de estos componentes separados podrían incorporarse en el aparato 1000 convirtiéndolo en un instrumento independiente.

Haciendo referencia también a las figuras 14, 15 y 18, como se expone con mayor detalle a continuación, una pluralidad de plataformas de portaobjetos 1050 se montan radialmente alrededor de un punto central 1032 del conjunto de soporte de portaobjetos 1099 sobre el que pueden colocarse los portaobjetos de vidrio de microscopio convencionales 1060 con muestras de tejido. El cajón 1034 se monta de manera deslizante en la carcasa 1030 sobre los carriles 1040 o similares. La temperatura de cada portaobjetos puede controlarse individualmente por medio de sensores de temperatura y un microprocesador, es decir, como se enseña en la patente '809 mencionada anteriormente.

Como en el caso de la primera realización, cada una de las plataformas de portaobjetos 1050 se conecta a través de cables individuales a un multiplexor (no mostrado) que, a continuación, se conecta a su vez a un microprocesador (no mostrado). Además, como en el caso de la primera realización, una pluralidad de ranuras o canales se forman en la superficie superior de cada uno de los calentadores de portaobjetos, es decir, la superficie de contacto entre el calentador de portaobjetos y el portaobjetos, para la recogida y la ventilación de las burbujas de gas que pueden formarse durante el calentamiento, es decir, de acuerdo con la solicitud de Estados Unidos número de serie 09/953.417, en trámite junto con la presente, presentada el 11 de septiembre de 2001, y cedida al cesionario común, cuya divulgación se incorpora por referencia en el presente documento.

Haciendo referencia a las figuras 14-16, el cajón 1034 soporta un conjunto de soporte de portaobjetos 1099 que está compuesto de un soporte de portaobjetos 1033 que, a su vez, soporta un plato circular 1035 que tiene una pared periférica 1036 que sirve como una protección contra salpicaduras, un canalillo periférico 1037 y un drenaje central 1038, es decir, en el punto central 1032, ambos conectados a las líneas de drenaje 1039 que, a su vez, están conectadas al recipiente de residuos 1023. El cajón 1034 se monta de manera deslizante en la carcasa 1030 sobre los carriles 1040. Los carriles 1040, en una realización preferida, comprenden tres piezas de carriles telescópicos, de manera que el cajón 1034 puede deslizarse lejos de la carcasa 1030 para permitir el acceso a todas las plataformas de portaobjetos 1050 para la carga y la retirada de portaobjetos. Un medio de amortiguación, tal como un medio neumático, un medio electromotriz, un amortiguador de resorte mecánico o similares (no mostrados), se proporciona preferentemente para suavizar el movimiento del cajón, para evitar de este modo un posible desprendimiento de los portaobjetos, especialmente cuando el cajón está cerrado. El conjunto de soporte de portaobjetos 1099 se soporta en un mecanismo de elevación, tal como unos cilindros neumáticos 1052 (véase la figura 11), que se indexan automáticamente para permitir que el conjunto de soporte de portaobjetos 1099 se mueva hacia arriba y hacia abajo, de manera que la placa de soporte de portaobjetos 1033 y el plato circular 1035 puedan soltarse para permitir que la pared 1036 limpie el soporte de boquilla 1100 cuando el cajón se desliza dentro y fuera del aparato.

El conjunto de soporte de portaobjetos 1099 está distribuido en treinta y cinco secciones iguales en forma de tarta 1070. Treinta de las secciones en forma de tarta 1070 están ocupadas por plataformas de portaobjetos 1050, mientras que las cinco secciones en forma de tarta restantes 1070A (figura 15) en la parte trasera del cajón están desprovistas de plataformas de portaobjetos 1050. En otras palabras, una fila de treinta plataformas de portaobjetos 1050 están montadas de manera radial en el conjunto de soporte de portaobjetos 1099 y espaciadas de manera uniforme entre sí, excepto en los extremos de la fila.

Sin embargo, la invención no se limita a treinta localizaciones de portaobjetos activas, y pueden emplearse más o menos localizaciones de portaobjetos. Puede implementarse una realización alternativa alineando las plataformas 1050 de manera lineal, lo que da como resultado un número potencialmente ilimitado de plataformas.

Haciendo referencia a las figuras 11, 14 y 18, un soporte de boquilla 1100 está montado de manera concéntrica y rotatoria sobre el conjunto de soporte de portaobjetos 1099. El soporte de boquilla 1100 está montado en un eje 1113 que, a su vez, está montado de manera rotatoria en un puente 1112, y accionado por un motor paso a paso y una correa de transmisión controlados por ordenador (no mostrados), y gira más o menos 190°, aproximadamente, a partir de una posición de inicio en la parte trasera del cajón. El motor paso a paso y la correa de transmisión controlados por ordenador son convencionales en esta técnica. En consecuencia, se omiten los detalles en aras de la claridad.

Con respecto a la figura 13, el soporte de boquilla 1100 sostiene las diversas estaciones de tratamiento de portaobjetos, excepto la estación de dispensación de reactivos. Por lo tanto, el soporte de boquilla 1100 sostiene el bloque de boquilla de enjuague dual 1102, el bloque de ajuste/rigurosidad de volumen 1103, el bloque de aplicación de líquido inhibidor de evaporación Liquid Coverslip™ 1105, el bloque de chorro de aire mezclador de vórtice 1106, el drenaje a chorro 1108, y similares, todos para preparar un portaobjetos para la tinción, la retirada de reactivos de tinción, y similares, y para borrar los códigos de barras (no mostrados) que llevan los portaobjetos, y un lector de código de barras 1109, todos descritos en detalle en la patente de Estados Unidos N° 5.595.707 de Copeland et al, cuya divulgación se incorpora por referencia en el presente documento. En otras palabras, el soporte de boquilla 1100 realiza todas las funciones para la preparación, limpieza, mezcla de reactivos, aplicación de Liquid Coverslip™, etc., de los portaobjetos, excepto la aplicación de reactivos, como se describe en la patente '707 de Copeland et al.

Preferentemente, pero no necesariamente, los diversos bloques de boquilla de enjuague, bloques de chorro de aire mezclador de vórtice, drenaje a chorro, etc., están dispuestos adyacentes entre sí, de manera que el soporte de boquilla 1100 puede indexarse y hacerse avanzar en un manera de "paso con bloqueo" para tratar de forma secuencial un portaobjetos de acuerdo con un protocolo aceptado. Por ejemplo, el drenaje a chorro 1108 puede disponerse inmediatamente adyacente a los bloques de boquilla de enjuague 1106, de manera que el soporte de boquilla 1100 puede hacerse avanzar en un manera de "paso con bloqueo" más allá de un portaobjetos seleccionado, y se enjuaga el portaobjetos y se extrae el líquido, etc. Además, si se desea, los bloques de chorro de aire mezclador de vórtice 1106 pueden orientarse para incidir de manera simultánea sobre dos portaobjetos adyacentes.

En aras de la claridad, se han omitido de los dibujos las tuberías de suministro de fluido y de aire para las diferentes estaciones de tratamiento de portaobjetos. Se entenderá, sin embargo, que las tuberías de suministro de fluido y de aire se hacen lo suficientemente largas para permitir que la placa de válvula gire más o menos 190°, aproximadamente, desde una posición inicial en la parte trasera del aparato, de manera que cada estación de tratamiento de portaobjetos puede alcanzar cada portaobjetos 1060.

Con respecto a las figuras 11 y 14, el soporte de reactivos 1300 se monta de manera fija en una jaula 1110 verticalmente por encima del soporte de boquilla 1100, jaula que, a su vez, se monta de manera rotatoria para la rotación en un eje 1113, que, a su vez, se acciona por un motor paso a paso y una correa (no mostrados). Una pluralidad de dispensadores de reactivos se montan de manera extraíble, espaciados por igual, adyacentes a la periferia del soporte de reactivos 1300. En la realización ilustrada, un total de treinta y cinco dispensadores de reactivos se sostienen por el soporte de reactivos 1300, separados entre sí aproximadamente una trigésimo quinta parte (aproximadamente 10°). Preferentemente, los dispensadores de reactivos se montan en los portadores de dispensadores curvados 1303 que, a su vez, se montan en el soporte de reactivos 1300 (véase la figura 17A).

El portador de dispensadores curvado 1303 permite a un trabajador de laboratorio montar un kit de dispensadores de reactivos para su uso, y también retirar el kit de dispensadores de reactivos de manera que los reactivos puedan refrigerarse, por ejemplo, durante la noche cuando no estén en uso.

Los reactivos pueden incluir cualquier material químico o biológico aplicado de manera convencional a los portaobjetos, incluyendo sondas o imprimadores de ácido nucleico, polimerasa, anticuerpos primarios y secundarios, enzimas de la digestión, pre-fijadores, post-fijadores, secuenciación química, contratincciones, y similares.

Haciendo referencia, en particular, a las figuras 17A y 17B, los dispensadores de reactivos 1302, se muestran montados en el portador de dispensadores 1303.

Haciendo referencia a ambas figuras 17A y 17B, cada uno de los dispensadores 1302 sostiene una placa 1307 sobre la que puede montarse un código de barras que puede leerse por un lector de código de barras (no mostrado).

Haciendo referencia también a la figura 18, un martillo o pistón 1400 se sostiene por un brazo 1402 que está montado en el eje 1113 para la rotación con el eje. El martillo 1400 se enchaveta para moverse con el soporte de boquilla 1100, y se alinea operativamente de manera vertical y concéntrica sobre los dispensadores de reactivos 1302. El martillo o pistón 1400 comprende un servo o pistón 1404 para moverse verticalmente en acoplamiento con la parte superior de un dispensador de reactivos seleccionado, y forzar una cantidad medida de reactivo desde el

- dispensador, es decir, como se explica en detalle en la patente de Estados Unidos 6.192.945. Por lo tanto, con el fin de dispensar un reactivo seleccionado en un portaobjetos seleccionado, el soporte de boquilla 1110 se mueve de manera rotatoria a una posición de dispensación verticalmente sobre el portaobjetos seleccionado que se había preparado previamente, por ejemplo, lavado, etc., por las estaciones de tratamiento sostenidas en el soporte de boquilla 1100. Puesto que el martillo está enchavetado para moverse con el soporte de boquilla 1100, no se pierde tiempo en el movimiento del martillo o pistón, y el martillo o pistón se alinea verticalmente. Una característica y ventaja específica de la presente invención es que el soporte de reactivos 1300 no requiere ni conexiones eléctricas ni de tuberías. Por lo tanto, el soporte de reactivos 1300 es libre de girar en cualquier dirección, sin limitaciones.
- 5
- 10 Haciendo referencia a las figuras 19A y 19B, el proceso general es el siguiente: una pluralidad de portaobjetos de apoyo de muestra 1060 se montan en las plataformas de portaobjetos 1050, y los dispensadores de reactivos seleccionados 1302 se montan en el soporte de reactivos 1300. Se cierra el cajón de portaobjetos y se leen los códigos de barras del portaobjetos y del reactivo. El ordenador calcula el protocolo maestro y, a continuación, descarga las etapas de ejecución para toda la ejecución, el soporte de boquilla 1100 y el martillo o pistón 1400 se indexan en el primer portaobjetos, y el portaobjetos se lava y se prepara para la tinción u otro tratamiento de acuerdo con las etapas de ejecución preprogramadas haciendo avanzar el soporte de boquilla 1100 en la manera de "paso con bloqueo". Mientras tanto, se hace girar el soporte de reactivos 1300 para localizar un dispensador de reactivos seleccionado 1302 sobre el portaobjetos seleccionado 1060, y el martillo o pistón 1400 activado para dispensar una cantidad medida del reactivo deseado. El proceso se repite para un segundo portaobjetos seleccionado, y así sucesivamente.
- 15
- 20

REIVINDICACIONES

1. Un aparato de procesamiento de portaobjetos automático que comprende:

- 5 - un soporte de portaobjetos (1033)
- un soporte de reactivos montado de manera rotatoria (1300) para sostener una pluralidad de dispensadores de reactivos (1302);
- un soporte de boquilla (1100) para sostener unas estaciones de tratamiento de portaobjetos (1106); y
- 10 - un activador de dispensador de reactivos (1400) para activar de manera selectiva los dispensadores de reactivos respectivos (1302),

caracterizado por que

15 el soporte de portaobjetos (1033), durante el funcionamiento del aparato de procesamiento de portaobjetos, se fija en su posición, mientras que el soporte de boquilla (1100) y el soporte de reactivos (1300) pueden girar de manera selectiva e independiente en relación con el soporte de portaobjetos (1033), y en el que el activador de dispensador de reactivos (1400) se monta para girar en sincronización con el soporte de boquilla (1100).

20 2. El aparato de la reivindicación 1, en el que el activador de dispensador de reactivos es un martillo o un pistón (1400) y el activador de dispensador de reactivos y el soporte de boquilla (1100) se enchavetan en un eje (1113) con el fin de girar juntos.

25 3. El aparato de la reivindicación 1 o 2, en el que el soporte de boquilla (1100) puede moverse de manera rotatoria más o menos 180°, aproximadamente, desde una posición inicial.

30 4. El aparato de la reivindicación 1, 2 o 3, en el que dicho soporte de reactivos (1300) puede moverse de manera rotatoria en cualquier dirección desde una posición inicial.

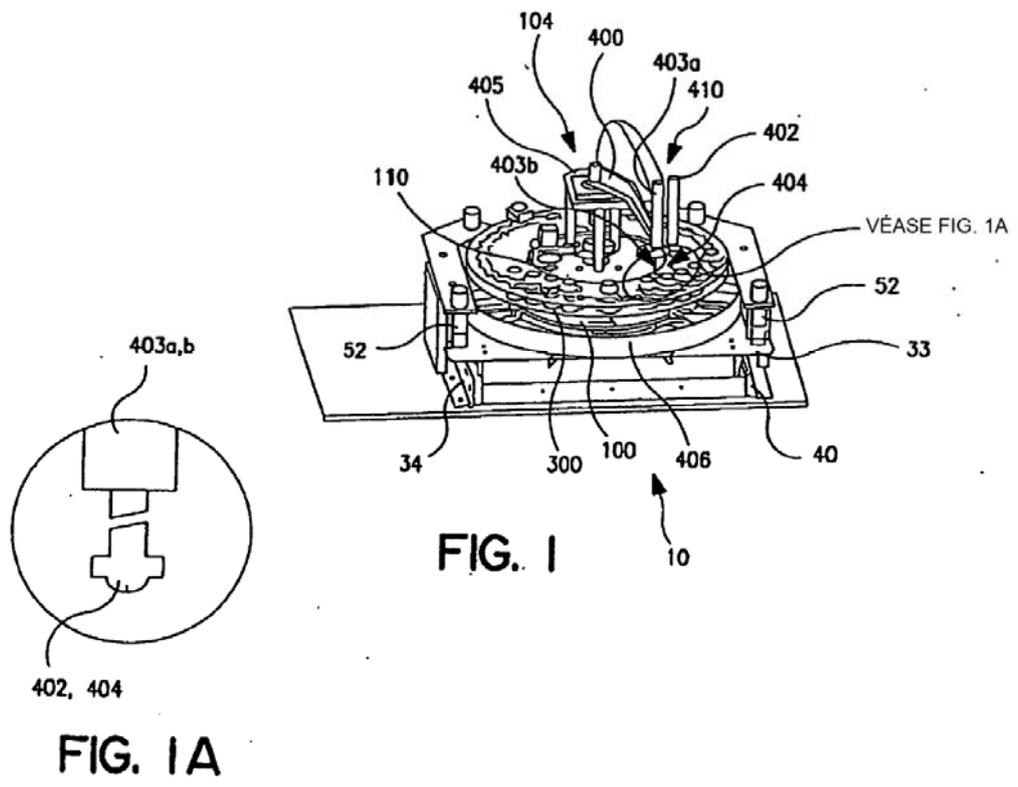
35 5. El aparato de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicho soporte de portaobjetos (1033) se monta de manera deslizante en el aparato sobre unos raíles (1040) para permitir la carga y la descarga de portaobjetos en dicho soporte de portaobjetos (1033), cuando el aparato de procesamiento no está en funcionamiento.

40 6. El aparato de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el soporte de boquilla (1100) sostiene al menos un chorro de aire de vórtice o un drenaje a chorro.

45 7. El aparato de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el soporte de boquilla (1100) sostiene al menos un aplicador para aplicar un fluido de recubrimiento al portaobjetos.

50 8. El aparato de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el soporte de boquilla sostiene una estación de lavado de dispensador, en particular dos estaciones de lavado de dispensador.

55 9. El aparato de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el soporte de reactivos (1300) y el soporte de boquilla se montan de manera vertical por encima del soporte de portaobjetos fijado (1033).



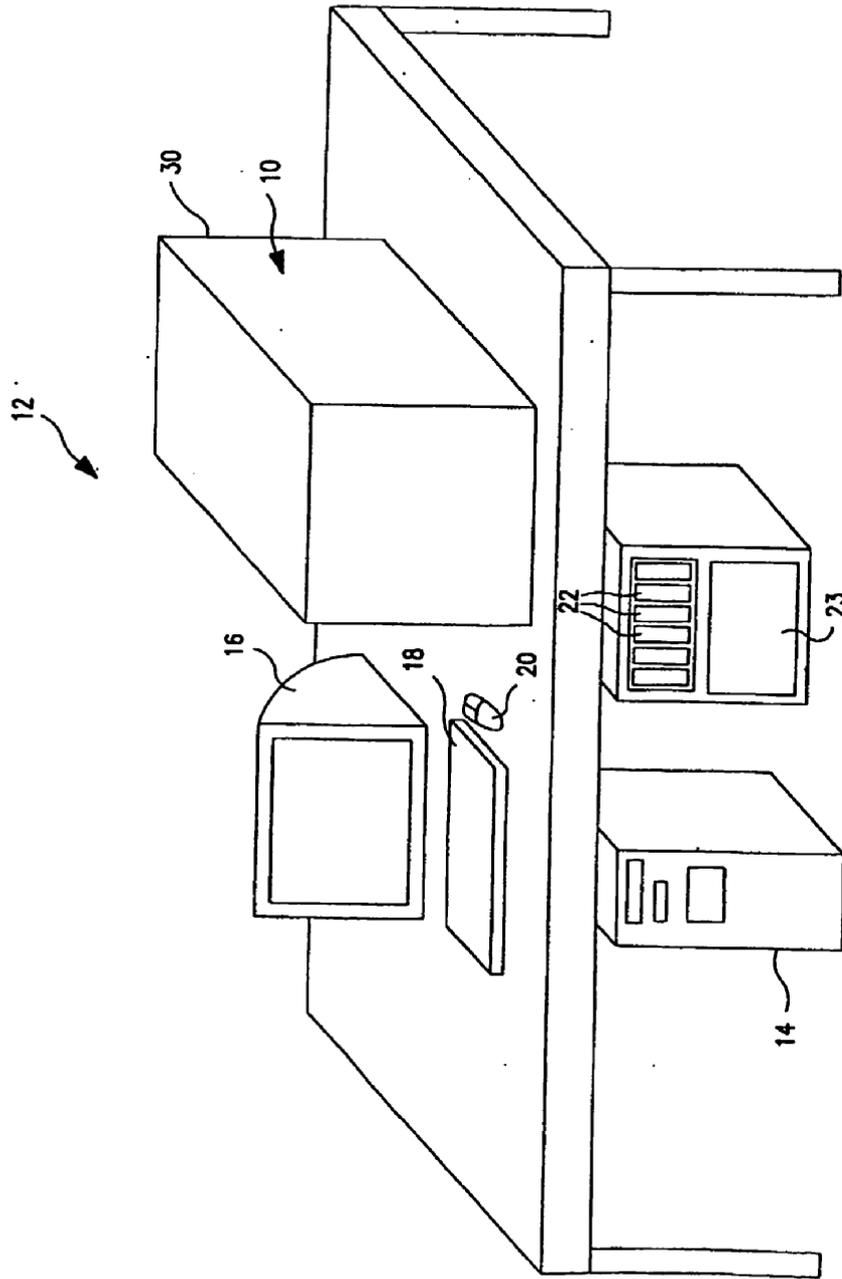


FIG. 2

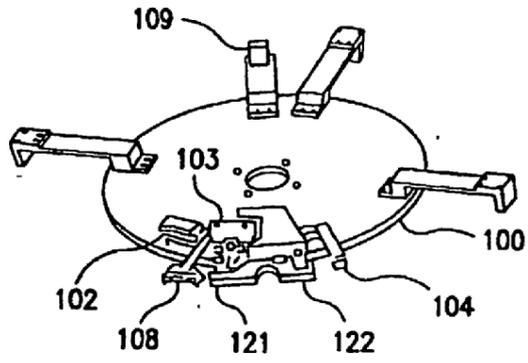


FIG. 3

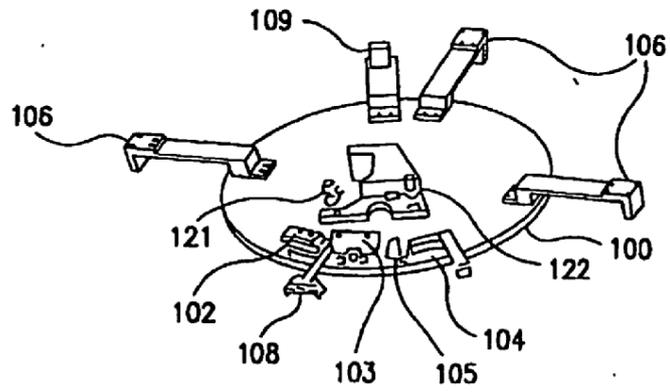


FIG. 3A

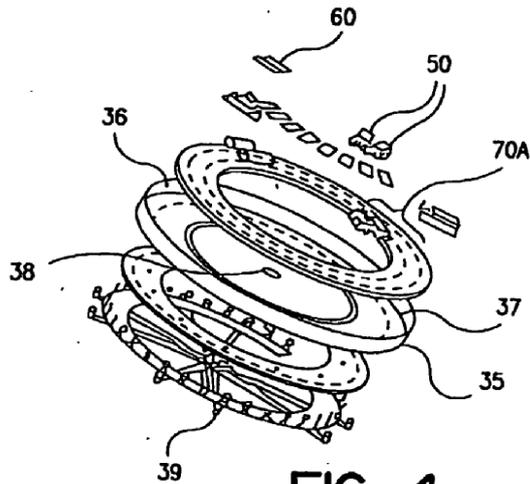


FIG. 4

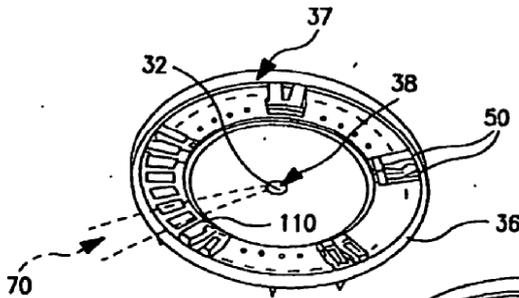


FIG. 5

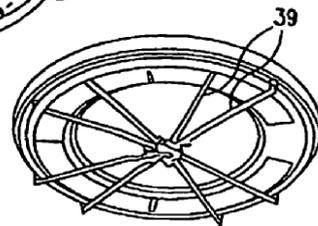


FIG. 6

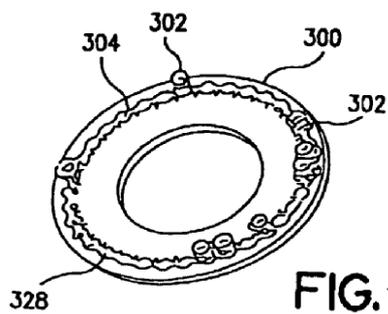


FIG. 7

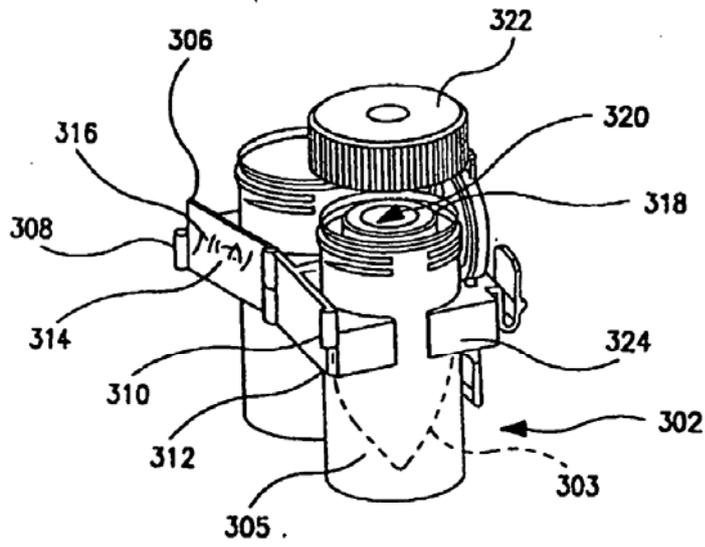


FIG. 8

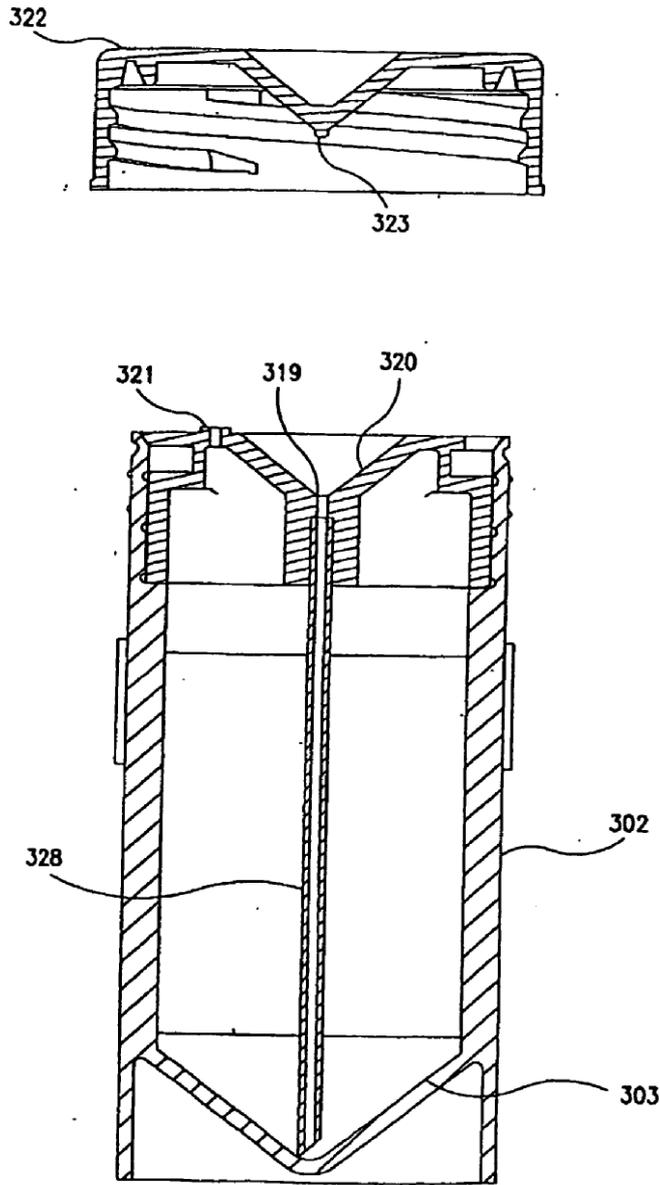


FIG. 8A

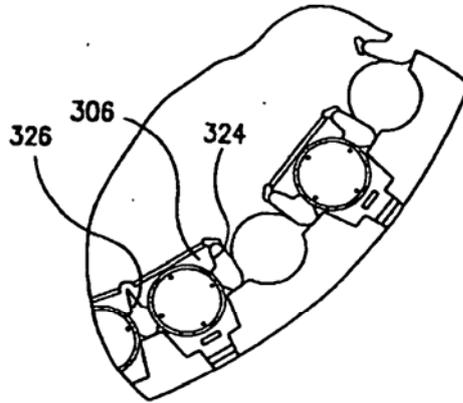


FIG. 9

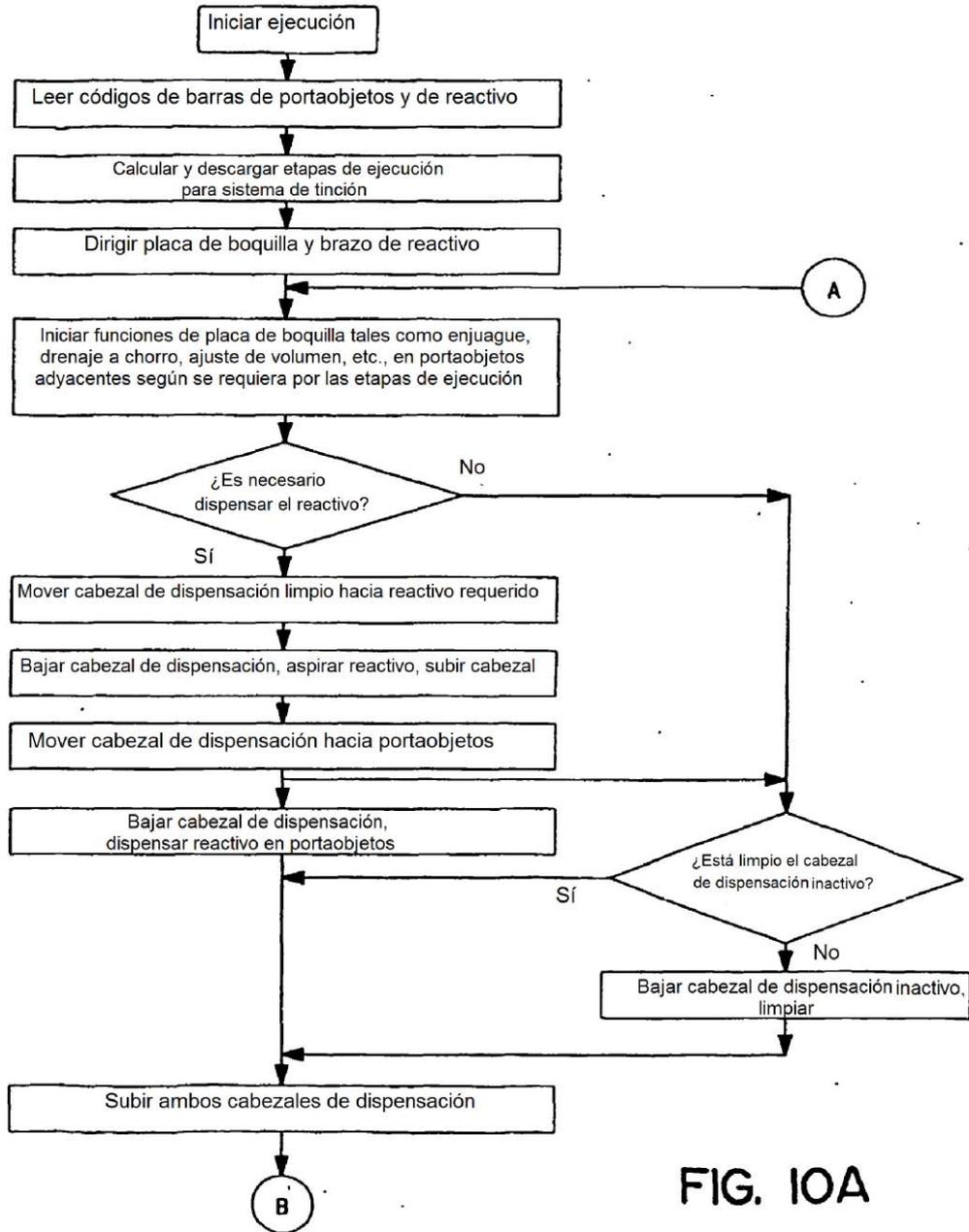


FIG. 10A

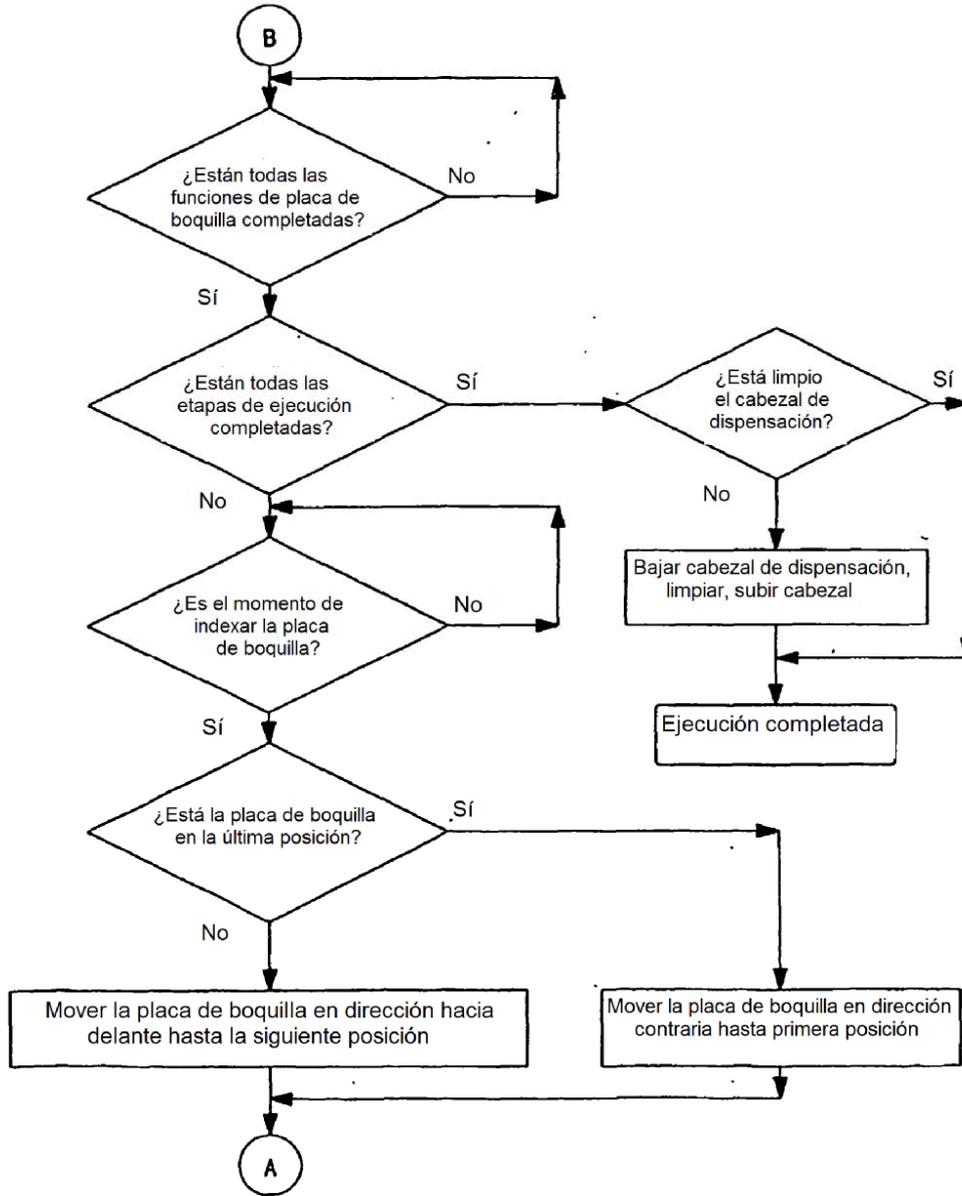


FIG. 10B

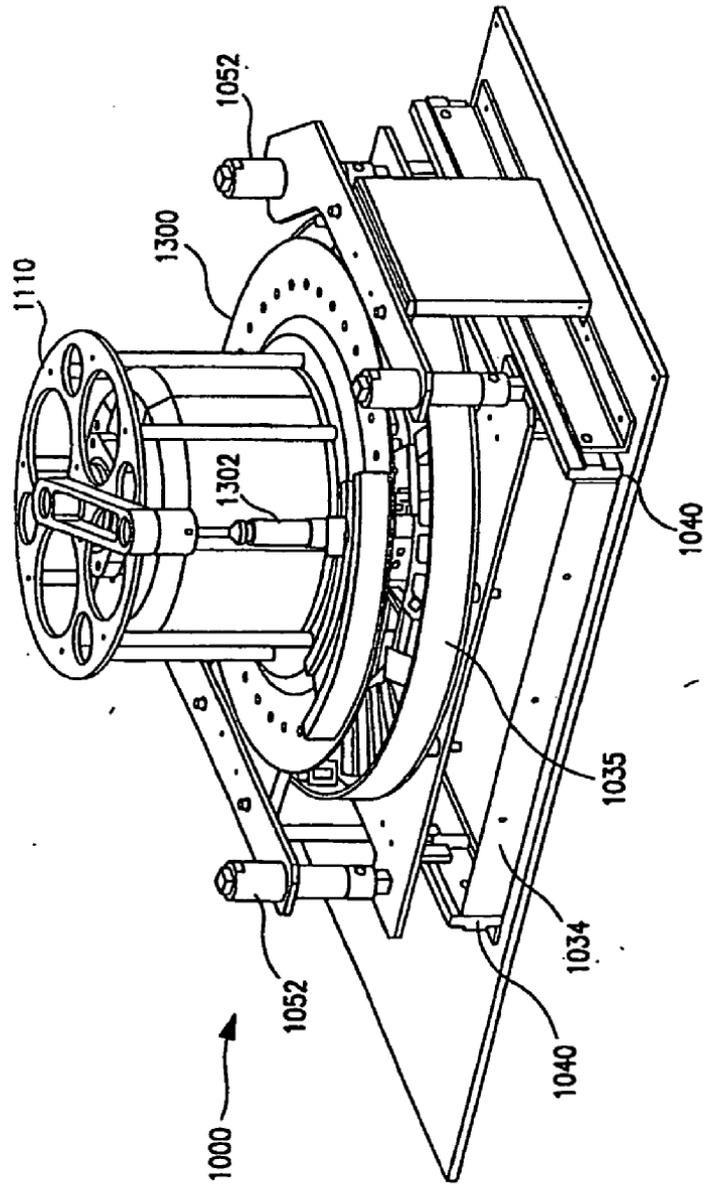


FIG. 11

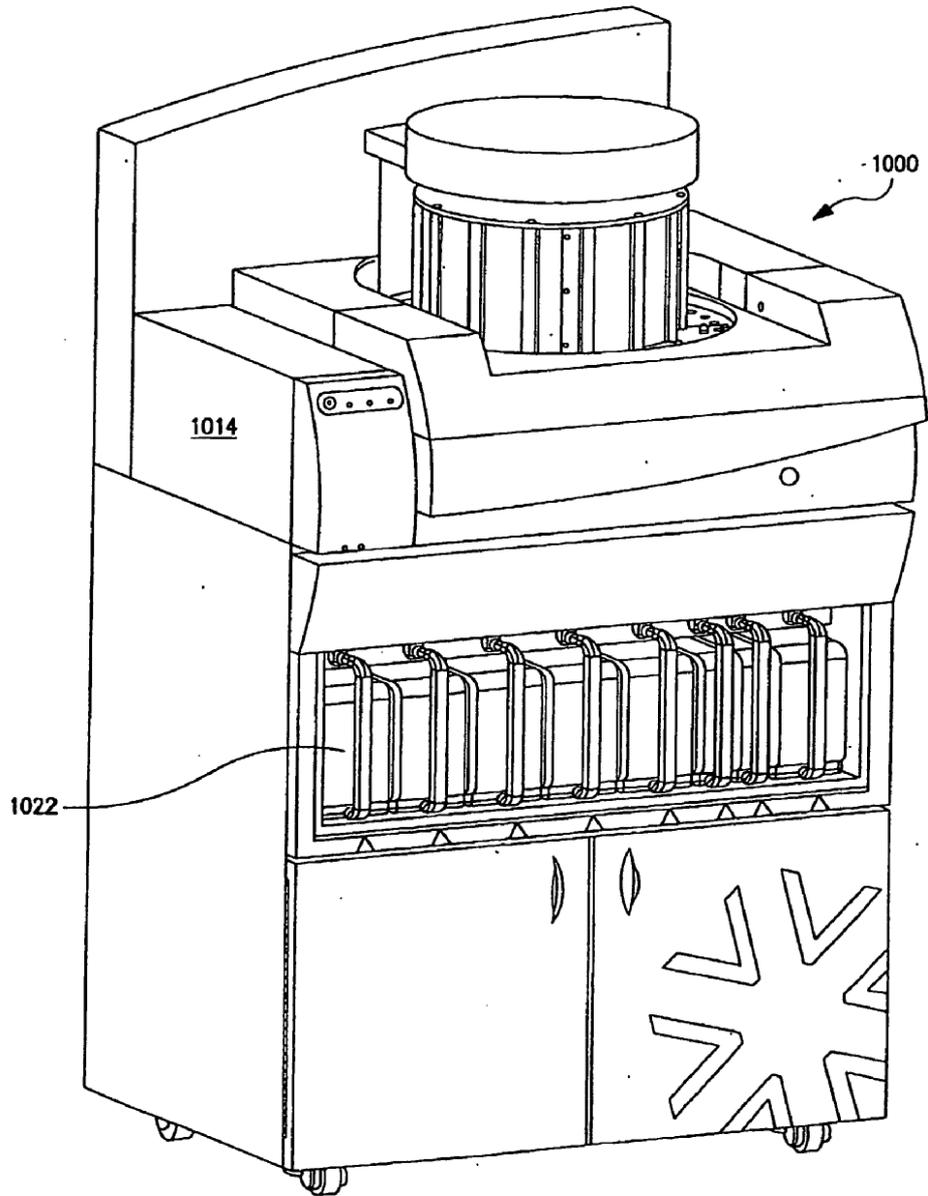


FIG. 12

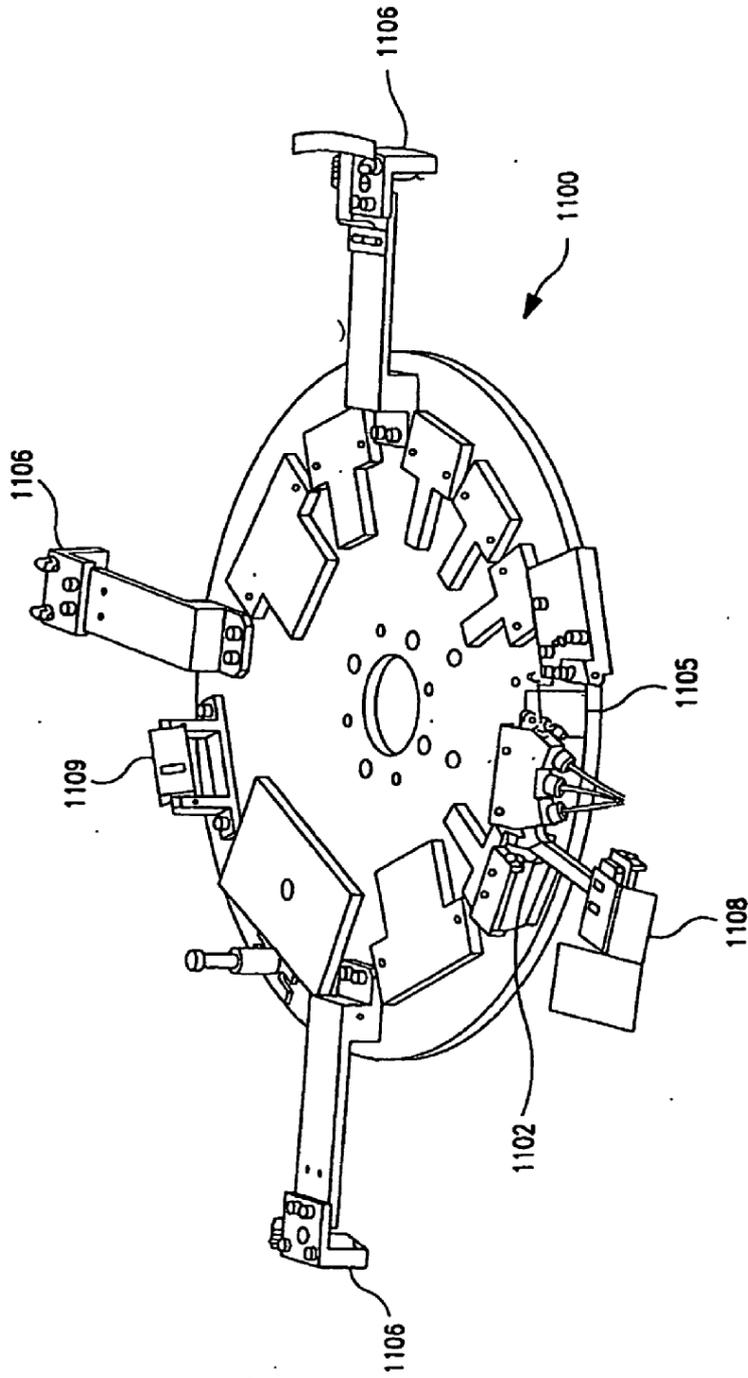


FIG. 13

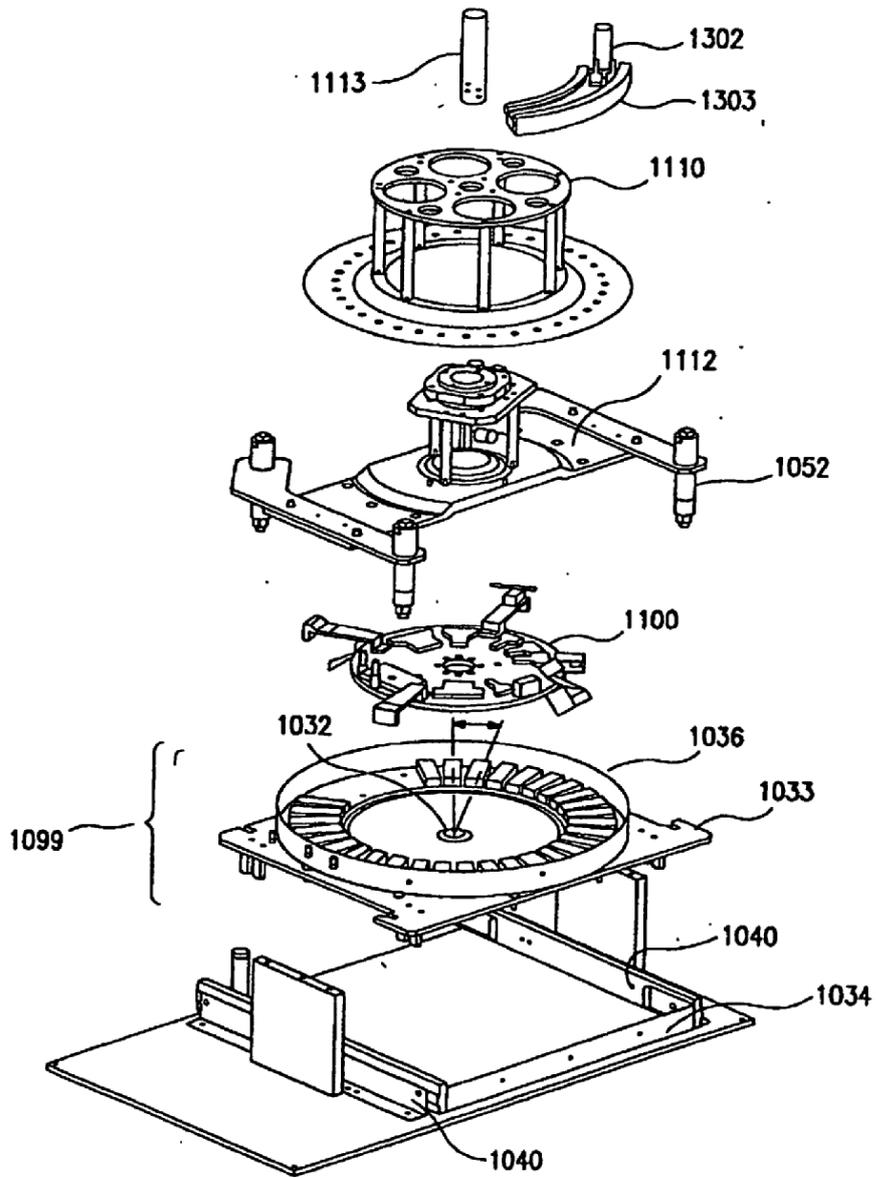


FIG. 14

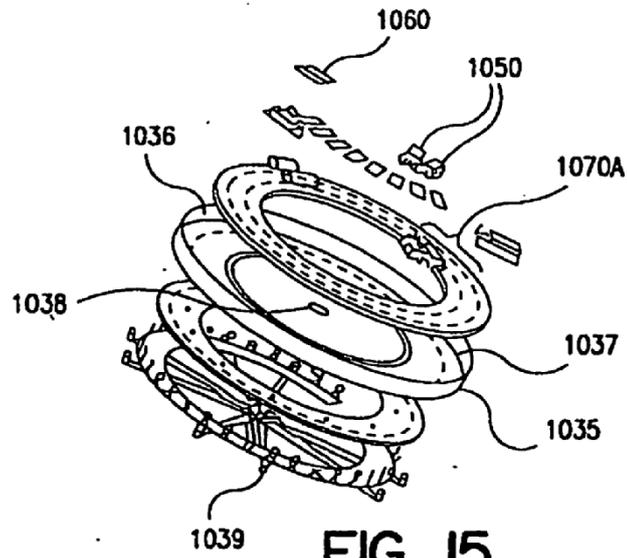


FIG. 15

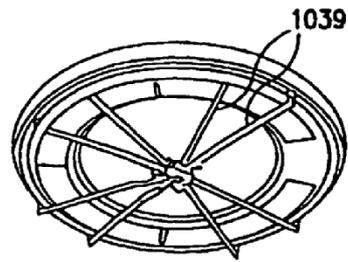


FIG. 16

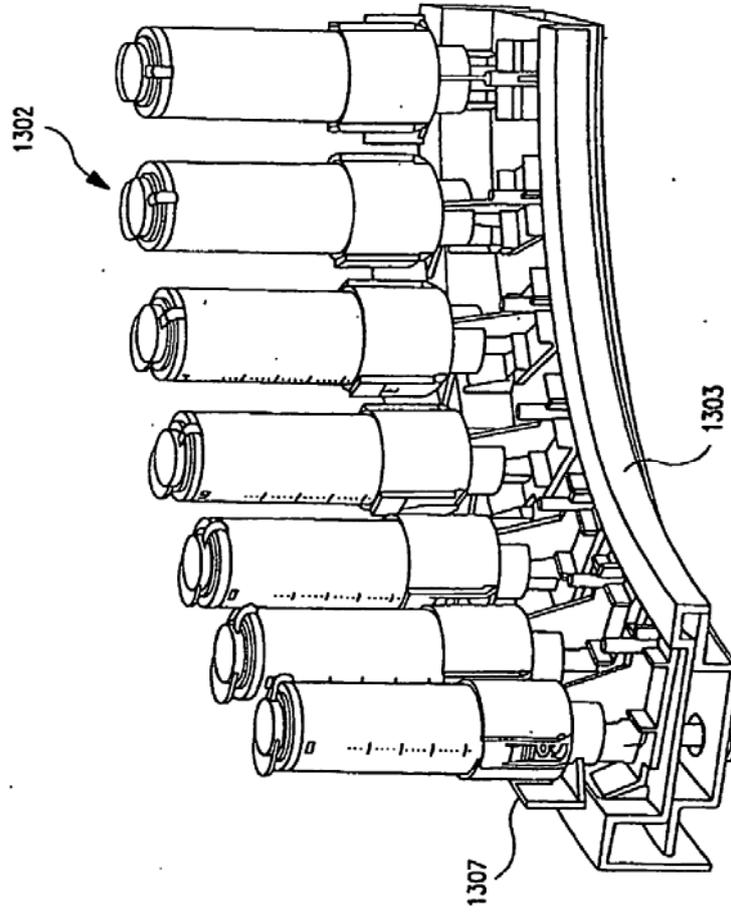


FIG. 17A

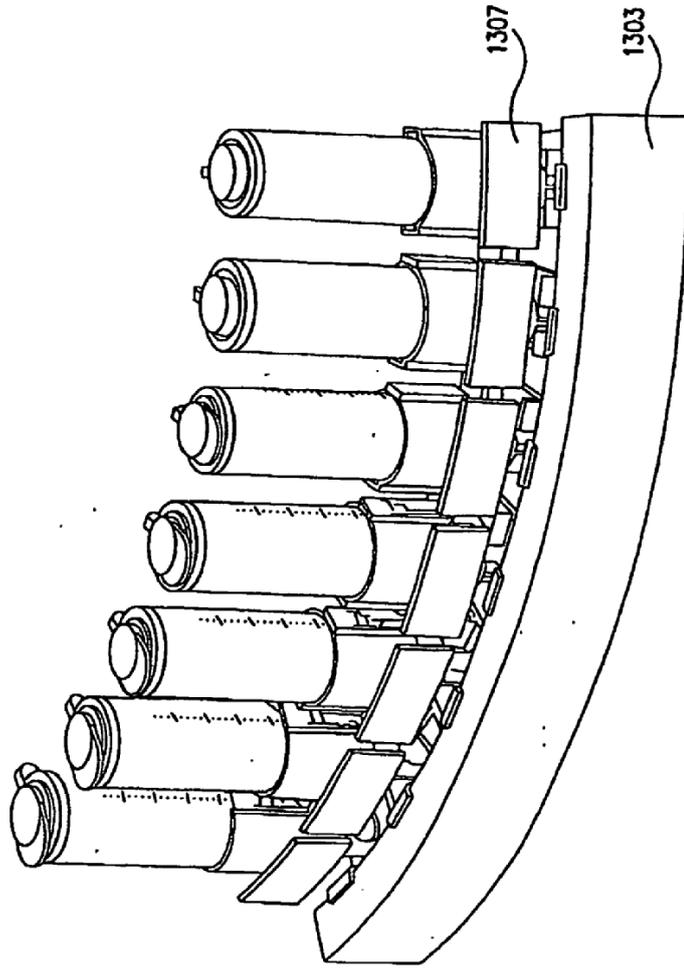


FIG. 17B

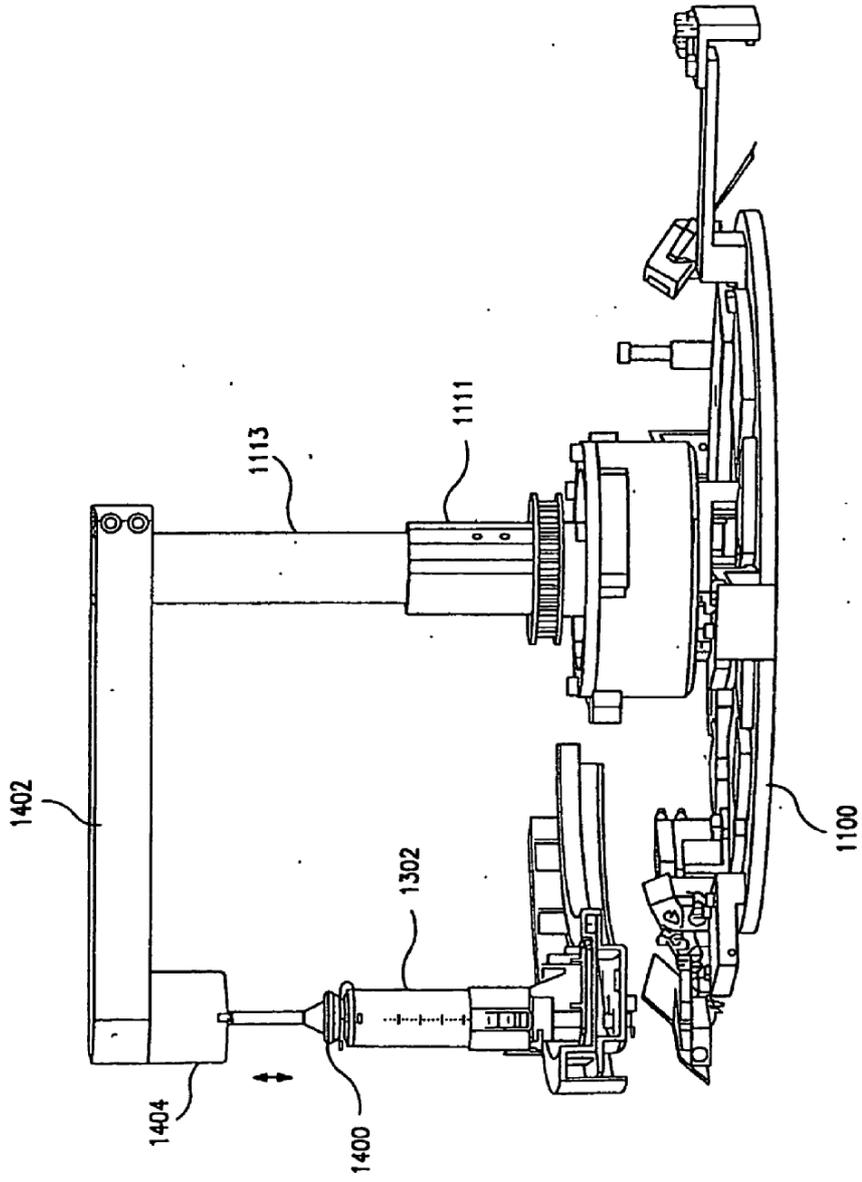


FIG. 18

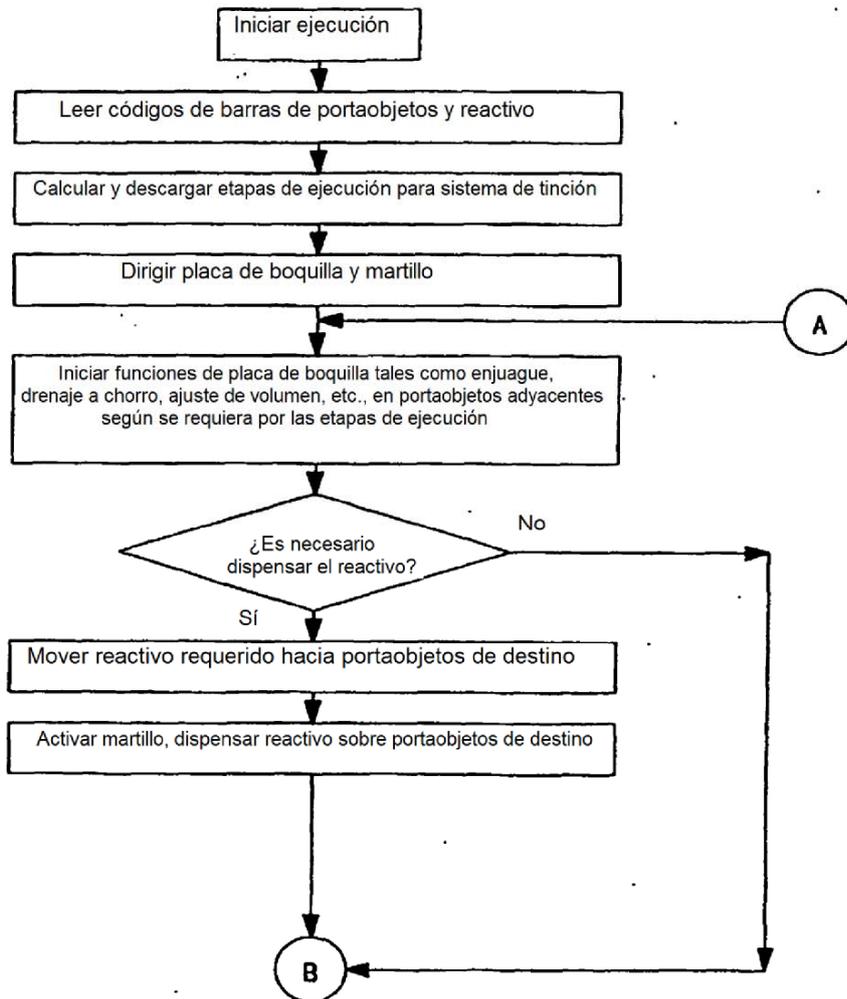


FIG. 19A

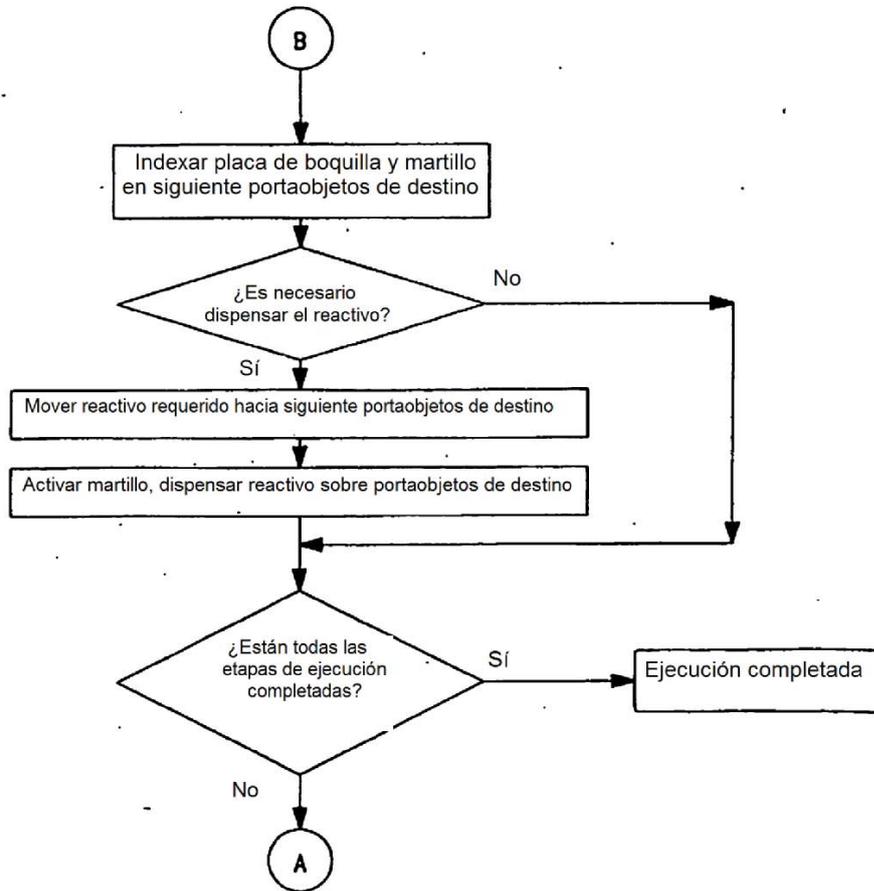


FIG. 19B