

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 571 532**

51 Int. Cl.:

C12M 1/00 (2006.01)

G01N 33/50 (2006.01)

C12N 5/071 (2010.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.07.2012** **E 12174599 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.02.2016** **EP 2682747**

54 Título: **Dispositivo para la selección de espermatozoides**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
25.05.2016

73 Titular/es:

ZECH, JOSEF (100.0%)
Brennerstrasse 15
6020 Innsbruck, AT

72 Inventor/es:

ZECH, JOSEF

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 571 532 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Dispositivo para la selección de espermatozoides

5 La presente invención se refiere a un dispositivo para selección de espermatozoides. Más específicamente, la presente invención se refiere a un dispositivo para selección de espermatozoides que tiene una primera cámara que está adaptada para recibir un primer fluido seminal y una segunda cámara que está adaptada para recibir un segundo fluido, estando la primera cámara y la segunda cámara conectadas en comunicación de fluido por al menos un conducto. Los dispositivos y métodos de la presente invención se pueden utilizar para incrementar la calidad de muestras de semen y, en particular, para seleccionar y concentrar espermatozoides para motilidad y/o madurez.

10 Las muestras de semen de baja calidad están correlacionadas con fertilización fallida, desarrollo de pre-implantación deficiente y resultado del embarazo. Los factores que contribuyen negativamente a la calidad de la muestra de esperma incluyen alteraciones meióticas, aneuploidía o daño del ADN del esperma, particularmente fragmentación del ADN del esperma.

15 Dispositivos para retirar espermatozoides de fluido seminal que tienen un primer contenedor y un segundo contenedor, en los que un tubo capilar proporciona un puente líquido entre los contenedores, han sido descritos por el presente inventor en los documentos WO-A1 94/17742 y WO-A2 03/031564, cuyo contenido se incorpora aquí por referencia en su integridad.

20 El dispositivo de selección descrito en el documento WO-A2 03/031564 se ilustra en las figuras 1 y 2. Como se muestra, el dispositivo de selección comprende un primer elemento de puente 3 que tiene cuatro canales 6a-6d y un elemento de cámara 27 que tiene una primera cámara 1 configurada en forma de anillo para recibir fluido seminal 13 y una segunda cámara 2 para recibir un medio 12a, estando conectada la segunda cámara 12a con la primera cámara 1 en forma de anillo sobre una conexión 5 de forma anular. El elemento de puente 3 comprende cuatro paredes límite 4a.4e que forman los canales 6a-6d, estando formado un canal adicional 7 por la pared límite 4e con la pared límite de la conexión 5 de forma anular cuando el elemento de puente está montado en el elemento de cámara 27.

25 Como se especifica en WO-A2 03/031564, la selección se realiza llenado fluido seminal 13 con espermatozoides dentro de una primera cámara 1 de forma anular, de tal manea que dicho fluido seminal no llega a los orificios 8a-8d y 9 de los canales sobre el lado de la cámara 1 de forma anular y colocando el elemento de puente 3 sobre las cámaras 1, 2. Posteriormente, el medio 12a es llenado en la cámara 2 a través del orificio central 29, de tal manera que los canales 6a-6d y 7 son llenados con medio 12a. Además, el fluido seminal 1 en la primera cámara 1 de forma anular puede cubrirse con medio hasta alcanzar los orificios 8a-8d y 9 de los canales en el lado de la cámara 1 de forma anular. Los canales 6a-6d y 7, por lo tanto, proporcionan un puente de líquido, que está libre de corrientes, permitiendo que los espermatozoides se muevan a través de los puentes de líquido formados por canales 6a.6d y 7 en el medio en la cámara central 2. El documento US-A-20120052485 describe también un dispositivo de selección con dos cámaras.

35 Como se describe por el presente inventor, la calidad de los espermatozoides recogidos en la cámara central 2 del dispositivo de selección descrito anteriormente, incluyendo el rendimiento de espermatozoides, depende altamente del volumen del fluido seminal lleno en la primera cámara 1 de forma anular. En particular, el dispositivo de selección de la técnica anterior está optimizado para cantidades específicas de fluido seminal y los volúmenes más pequeños deben compensarse utilizando medio adicional. Sin vincularse a ninguna teoría, se cree que el incremento del volumen de medio requerido en la primera cámara de forma anular conducirá a una densidad menor de espermatozoides en la cámara central. En este contexto, se ha descubierto que la eficiencia de los dispositivos de selección de la técnica anterior se puede reducir en particular cuando se utilizan volúmenes de fluido seminal de 1 ml o menos. Principalmente, muchos pacientes varones que requieren selección de espermatozoides, por ejemplo para procedimientos de fertilización in-vitro, proporcionan muestras de semen de 2 ml o menos. Además, los dispositivos de la técnica anterior no funcional idealmente si se utiliza demasiado o demasiado poco medio.

40 Además, el dispositivo de la técnica anterior descrito en el documento WO-A2 03/031564 puede requerir la dispersión del fluido seminal a través de la superficie de la primera cámara de forma anular 1. Sin vincularse por ninguna teoría, se cree que los espermatozoides se pueden dañar mecánica y/o químicamente (por ejemplo, debido a contacto con O₂ de la atmósfera) durante este procedimiento, en particular cuando se trata de dispersar volúmenes pequeños de fluido seminal incluso a través de la superficie de dicha primera cámara 1 de forma anular. Además, se cree que la dilución más alta de la muestra de esperma puede incrementar el tiempo requerido para el procedimiento de selección, Esto puede afectar a la calidad de los espermatozoides (por ejemplo, debido a daño químico) y podría permitir a los espermatozoides de menor calidad llegar a la cámara central 2.

55 Como se ha descubierto de manera sorprendente por el presente inventor y se ha descrito en la WO 2012/032165 publicada, asignada comúnmente, cuyo contenido se incorpora aquí por referencia en su integridad, la calidad de fluidos seminales se puede mejorar sustancialmente colocando un fluido seminal en la primera cámara del dispositivo de selección anterior, llenado una segunda cámara de un dispositivo de selección con un medio para

- 5 recibir espermatozoides libres de rotura de la cadena de ADN y conectando ambas cámaras por un elemento de puente, de tal manera que se forma un puente de fluido entre la primera cámara y la segunda cámara, que permite a los espermatozoides libres de rotura de la cadena de ADN moverse desde dicha primera cámara hasta dicha segunda cámara. No obstante, se ha indicado que los espermatozoides con roturas de ADN se pueden extraer desde la primera cámara a través del puente de fluido cuando se recogen los espermatozoides libres de rotura de la cadena de ADN desde la segunda cámara. Sin vincularse a ninguna teoría, se supone que se puede provocar una corriente macroscópica ligera desde a primera cámara a través del puente de líquido dentro de la segunda cámara cuando se toma una muestra.
- 10 A la vista de lo anterior, un objeto de la presente invención es proporcionar un dispositivo de selección mejorado y un método correspondiente que soluciona algunos o todos los inconvenientes de la técnica anterior. En particular, un objeto de la presente invención es proporcionar un dispositivo y método de selección que se pueden utilizar con pequeñas cantidades de fluido seminal.
- Otro objeto de la presente invención es proporcionar un dispositivo y un método de selección mejorados que no requieren dilución del fluido seminal para procedimientos de selección o reduce la cantidad de dilución requerida.
- 15 Otro objeto de la presente invención es proporcionar un dispositivo y método de selección mejorados, en los que se puede utilizar la misma cantidad de medio independientemente del volumen de fluido seminal disponible.
- Otro objeto de la presente invención es proporcionar un dispositivo y método de selección mejorados, en los que se reduce la exposición del fluido seminal a oxígeno antes, durante y/o después del procedimiento de selección.
- 20 Otro objeto de la presente invención es proporcionar un dispositivo y método de selección, en los que se mejora la humidificación de la conexión de fluido.
- Además, un objeto de la presente invención es proporcionar un dispositivo y método de selección mejorados que previenen la contaminación de la muestra recogida por espermatozoides con roturas de la cadena.
- Otro objeto de la presente invención es reducir el tiempo requerido para el procedimiento de selección.
- 25 Los objetivos mencionados anteriormente se consiguen por el dispositivo de selección mejorado de acuerdo con las reivindicaciones. Otros aspectos, mejoras y variaciones se describen en las figuras y en la descripción.
- En el contexto de la presente descripción, los términos “superior” e “inferior” denominan aquellas partes del dispositivo localizadas más cerca del extremo superior y del extremo inferior del dispositivo, respectivamente, cuando el dispositivo montado se mantiene de una manera vertical, de tal manera que el primero y segundo fluidos pueden ser recibidos en las cámaras.
- 30 De acuerdo con una forma de realización de la invención, el dispositivo para selección de espermatozoides comprende una primera cámara configurada para recibir un primer fluido seminal; una segunda cámara configurada para recibir un segundo fluido, estando la segunda cámara en comunicación de fluido con la primera cámara por medio de al menos un conducto que tiene un primer orificio hacia la primera cámara y un segundo orificio hacia la segunda cámara; y un medio de desplazamiento adaptado para desplazar al menos algo del primer fluido seminal hacia o hasta el primer orificio. En formas de realización preferidas, el medio de desplazamiento está adaptado para desplazar el primer fluido seminal, de tal manera que la superficie superior, es decir, el nivel de llenado, del primer fluido seminal está dispuesto a una distancia predeterminada desde el primer orificio.
- 35 Puesto que el nivel de llenado del primer fluido seminal en la primera cámara se puede ajustar con el medio de desplazamiento, el dispositivo de la presente descripción se puede utilizar con diferentes volúmenes de primer líquido seminal. El medio de desplazamiento permite adaptar el volumen y/o la forma de la primera cámara de tal modo que se puede utilizar con volúmenes de fluido seminal tan pequeños como 1 ml o menos, con preferencia 0,5 ml o menos. Por lo tanto, las muestras de semen de volumen pequeño requieren menos o ninguna dilución.
- 40 En el contexto de la presente invención, el término fluido se puede referir a cualquier fluido que permita movimiento auto-propulsado de células móviles, en particular líquidos o geles. Por lo tanto, cada uno del primero y segundo fluidos se pueden denominar como líquido o gel.
- 45 El primer fluido seminal es con preferencia un fluido seminal que puede ser de mala calidad, tal como un fluido seminal que comprende una cantidad sustancial de espermatozoides con movilidad y/o madurez reducidas, particularmente espermatozoides con alteraciones meióticas, aneuploidía o daño del ADN del esperma, particularmente fragmentación del ADN del esperma, por ejemplo rotura de la cadena de ADN. Por ejemplo, el primer fluido puede comprender al menos 15 % de oligoespermia, al menos 32 % de astenoespermia y/o al menos 4 % de teratozoospermia basado en la cantidad total de espermatozoides en el fluido. En formas de realización, el primer fluido seminal puede ser una muestra de semen (es decir, eyaculado) de un paciente. No obstante, el primer fluido puede ser también un fluido con otras células móviles, que pueden ser seleccionadas por el dispositivo de la

presente invención. Más preferiblemente, el primer fluido seminal comprende una cantidad sustancial de espermatozoides con roturas de la cadena de ADN.

5 El segundo fluido es con preferencia un medio para recibir espermatozoides u otras células móviles, por ejemplo, un medio tampón- Las células seleccionadas son recibidas con preferencia en el segundo fluido contenido en la segunda cámara durante el proceso de selección. El segundo fluido se puede extraer entonces, por ejemplo, por medio de una pipeta, y se puede utilizar en o procesar adicionalmente para tecnologías de reproducción artificial (por ejemplo, inseminación artificial), crioconservación o fines de diagnóstico. Alternativamente, uno o varios huevos pueden ser localizados en la segunda cámara. Tal configuración se puede utilizar, por ejemplo, para simular lo más estrechamente posible una selección natural y fisiológica de esperma durante la fertilización in-vitro.

10 Cuando el conducto está lleno con un líquido, el conducto proporciona con preferencia un puente líquido entre la primera cámara y la segunda cámara. Con preferencia, los espermatozoides en la primera cámara se pueden mover a lo largo de este puente líquido hasta la segunda cámara cuando los fluidos en la primera y la segunda cámaras llegan al primero y segundo orificios del conducto, respectivamente.

15 De acuerdo la presente invención, la primera cámara puede estar provista por un recipiente con un extremo inferior cerrado, con preferencia un recipiente tubular, de tal manera que el primero fluido seminal se acumula en dicho extremo inferior cerrado bajo el efecto de la gravedad. El extremo inferior cerrado puede ser de cualquier forma adecuada, por ejemplo cónica, truncada, redonda (por ejemplo, hemisférica) o lisa.

20 Además, el extremo inferior del recipiente puede estar configurado para que sea auto-estable. Por ejemplo, el extremo inferior puede estar provisto con un soporte, que puede estar formado por una proyección cilíndrica que se proyecta sobre el extremo inferior cerrado.

El recipiente puede estar provisto, además, con un extremo superior abierto, a través del cual se puede introducir el primer fluido seminal en la primera cámara, por ejemplo introduciéndolo con una pipeta. El recipiente puede estar formado de cualquier material adecuado, por ejemplo plástico o vidrio. Se prefieren materiales traslúcidos o transparentes.

25 De acuerdo con la presente invención, los medios de desplazamiento comprenden un elemento de desplazamiento (que puede ser denominado también como un cuerpo de desplazamiento) y puede comprender un mango para manipular los medios de desplazamiento. El elemento de desplazamiento está localizado con preferencia en el extremo inferior del medio de desplazamiento. El mango es con preferencia hueco y se abre dentro de la segunda cámara. El mango y la segunda cámara pueden estar conectadas en comunicación de fluido, de tal manera que el
30 segundo fluido se puede llenar en la segunda cámara a través del mango y/o de tal manera que el segundo fluido puede ser recogido extendiendo una pipeta a través de dicho mango dentro de la segunda cámara, por ejemplo, una vez que los espermatozoides separados están contenidos allí. El elemento de desplazamiento y el mango pueden estar formados o conectados integralmente de una manera fija o desprendible. Se puede utilizar cualquier material adecuado, por ejemplo, plástico o virio para formar el cuerpo de desplazamiento y/o el mango. De nuevo, se
35 prefieren materiales traslúcidos o transparentes.

Los medios de desplazamiento son recibidos con preferencia dentro de la primera cámara y/o el recipiente de una manera deslizable, asegurando de esta manera cualquier manipulación segura y fácil del dispositivo. Más preferentemente, los medios de desplazamiento son recibidos concéntricamente en el recipiente y deslizables a lo largo del eje longitudinal del recipiente. Se pueden utilizar espaciadores y/o guías para definir adecuadamente la
40 posición de los medios de desplazamiento y guiar los medios de desplazamiento dentro del recipiente. Alternativa o adicionalmente, el recipiente y los medios de desplazamiento (y/u otros componentes conectados con él) pueden estar provistos con porciones roscadas interactivas con el fin de guiar los medios de desplazamiento dentro del recipiente y/o para mantener los medios de desplazamiento en una cierta posición con relación al recipiente durante el procedimiento de selección.

45 La segunda cámara puede estar localizada en el recipiente cuando el recipiente está montado. Como tal, la segunda cámara forma en uso una cámara "central" o "interior", mientras que la primera cámara forma en uso una cámara "circundante" o "exterior". En otras formas de realización, un receptáculo exterior puede formar la segunda cámara y recibir un recipiente que forma la primera cámara allí.

50 La segunda cámara puede tener un volumen de 0,5 ml o menos. En formas de realización, parte de este volumen puede ser proporcionado por el mango hueco.

Al menos una parte del elemento de desplazamiento puede tener una superficie exterior hemisférica, sustancialmente hemisférica, cónica, sustancialmente cónica, cilíndrica o sustancialmente cilíndrica. La superficie exterior de los medios de desplazamiento puede coincidir o no con la superficie interior de la primera cámara. La porción inferior de los medios de desplazamiento y/o el elemento de desplazamiento puede tener una forma exterior
55 que corresponde generalmente a la forma interior del extremo inferior cerrado del recipiente. Un intersticio variable puede estar formado entre los medios de desplazamiento y el recipiente. El intersticio puede estar formado de tal

manera que se incrementa (por ejemplo, en anchura) desde una parte inferior de la primera cámara hacia una parte superior de la primera cámara cuando los medios de desplazamiento están insertados lo más posible en el recipiente ("posición totalmente insertada"). Por ejemplo, la superficie exterior del elemento de desplazamiento puede seguir la superficie interior de la primera cámara a lo largo de sus secciones inferiores, y separarse de la primera cámara a lo largo de secciones superiores, de tal manera que al menos una porción substancial, con preferencia todo o la mayor parte del primer fluido seminal en la primera cámara es recogido en la sección superior próxima al primer orificio en un espacio de colección formado entre la primera cámara y los medios de desplazamiento.

En formas de realización preferidas de la invención, la segunda cámara puede estar comprendida en los medios de desplazamiento. La segunda cámara puede estar formada integralmente con los medios de desplazamiento, en particular el elemento de desplazamiento o conectada con ellos de una manera fija. Por ejemplo, el elemento de desplazamiento puede ser provisto con una abertura o hueco rodeados por un borde que se extiende hacia fuera que forma la segunda cámara. Esto permite configurar el dispositivo economizando espacio y de una manera fácil de usar.

Los medios de desplazamiento pueden comprender, además, una tapa de forma anular. La tapa de forma anular se puede extender a lo largo o alrededor de la periferia del borde a una distancia definida, formando de esta manera el conducto entre el borde y la tapa de forma anular. La tapa de forma anular está localizada con preferencia al menos a 0,1 mm, con preferencia al menos 0,2 mm, y más preferentemente entre 0,3 mm y 0,4 mm desde el borde para esta finalidad. De acuerdo con ello, el conducto tiene con preferencia una anchura de al menos 0,1 mm, más preferentemente al menos 0,2 mm y más preferentemente entre 0,3 mm y 0,4 mm. Las distancias y/o anchuras establecidas permiten el llenado y humidificación óptimos del conducto por acción capilar ejercida sobre el primer fluido seminal y/o el segundo fluido. Esto asegura que el conducto forme el puente líquido entre la primera cámara y la segunda cámara. La tapa de forma anular puede estar formada integralmente o conectada al mango de una manera fija o desprendible. La tapa de forma anular puede estar formada de cualquier material adecuado, por ejemplo plástico o vidrio. Además, la tapa de forma anular (además o en lugar de los espaciadores / guía mencionados anteriormente) pueden ayudar a definir la posición del medio de desplazamiento en el recipiente, por ejemplo manteniendo los medios de desplazamiento en una posición concéntrica.

De acuerdo con otras formas de realización, el conducto puede tener una anchura máxima de 1 mm, con preferencia 0,5 mm a lo largo de toda su longitud o al menos un segmento.

La longitud del conducto está con preferencia entre 2 y 40 mm, más preferentemente entre 5 y 35 mm, más preferentemente entre 5 y 15 mm medida desde el primer orificio hasta el segundo orificio, por ejemplo cuando se considera una sección transversal del dispositivo a lo largo de su eje longitudinal. Esto asegura el llenado del canal por acción capilar y en enriquecimiento óptimo de espermatozoides libres de rotura de la cadena de ADN en la segunda cámara, mientras que conductos más largos pueden conducir a una selección no deseable de espermatozoides de acuerdo con seis características.

El conducto principal comprende al menos un primer segmento que se extiende en una dirección que tiene una componente direccional hacia el extremo superior del dispositivo y al menos un segundo segmento que se extiende en una dirección que tiene una componente direccional hacia el extremo inferior del dispositivo. Cuando se sigue el conducto desde su primera abertura hacia su segunda abertura, el primer segmento que se extiende hacia arriba está con preferencia antes que el segundo segmento que se extiende hacia abajo. Con preferencia, el curso del conducto descrito anteriormente se puede apreciar cuando se considera una sección transversal a lo largo del eje longitudinal del dispositivo.

De acuerdo con la presente invención, el conducto puede tener una sección transversal en forma de U, V o W, por ejemplo cuando se considera una sección transversal a lo largo de un eje longitudinal del dispositivo y/o un eje longitudinal de los medios de desplazamiento. Esto significa que el conducto puede tener la forma de una U, una V o una W cuando se considera una sección transversal del dispositivo y/o los medios de desplazamiento a lo largo del eje longitudinal respectivo. En formas de realización, el conducto puede estar sustancialmente en forma de U, V o W.

El conducto se extiende con preferencia a lo largo de una parte, la mayor parte o todo el perímetro de la segunda cámara. El dispositivo de selección puede comprender varios de tales conductos que se extienden a lo largo del perímetro de la segunda cámara de acuerdo con formas de realización de la invención.

La sección transversal tiene con preferencia la forma de una U invertida, extendiéndose una primera pata de la U dentro de la primera cámara y extendiéndose una segunda pata de la U en la segunda cámara. El conducto puede proporcionar, por lo tanto una comunicación de fluido entre dicha primera cámara y dicha segunda cámara que requiere células móviles (por ejemplo, espermatozoides) localizados en la primera cámara para "nadar" o moverse contra la gravedad a lo largo de al menos un segmento del conducto con el fin de llegar a la segunda cámara. Con preferencia, la segunda pata de la U es más larga que la primera pata, es decir, que la segunda pata se extiende

más en la segunda cámara que la primera para se extiende dentro de la primera cámara. En otras formas de realización, la primera para puede ser más larga que la segunda.

De acuerdo con la presente invención, el dispositivo puede estar provisto con una escala para evaluar un volumen del primer fluido seminal en la primera cámara (primera escala). Dicha primera escala puede estar prevista, por ejemplo, sobre el recipiente que forma la primera cámara, por ejemplo, sobre una superficie interior o una superficie exterior de la misma. Adicional o alternativamente, el volumen introducido en la primera cámara puede ser evaluado también por otros medios, por ejemplo una pipeta.

También puede estar prevista una escala para evaluar el recorrido de los medios de desplazamiento (segunda escala). La segunda escala se puede utilizar para evaluar hasta qué punto los medios de desplazamiento y/o el elemento de desplazamiento han sido introducidos en la primera cámara. La escala puede estar prevista, por ejemplo, sobre los medios de desplazamiento o el recipiente que forma la primera cámara, mientras que el otro de los medios de desplazamiento y el recipiente pueden estar provistos con una línea o indentación de referencia para medir el recorrido sobre la segunda escala. Marcas, líneas, indentaciones y/o medios similares pueden formar las gradaciones de la primera y/o segunda escalas. Las gradaciones pueden estar espaciadas de una manera regular o irregular.

De acuerdo con forma de realización de la invención, la segunda escala puede indicar el recorrido requerido para los medios de desplazamiento dependiendo del volumen del primer fluido seminal previsto en la primera cámara. Esto significa que la segunda escala puede indicar la posición óptima de los medios de desplazamiento y/o el elemento de desplazamiento dependiendo de dicho volumen del primer fluido seminal. La gradación de la segunda escala puede indicar hasta qué punto deberían introducirse los medios de desplazamiento en la primera cámara o recipiente con el fin de desplazar un volumen predeterminado del primer fluido seminal hacia el primer orificio. Con preferencia, la segunda escala indica hasta qué punto deberían introducirse los medios de desplazamiento dentro de la primera cámara o recipiente con el fin de desplazar el primer fluido seminal, de tal manera que permanece un intersticio fijo entre el primer fluido seminal y el primer orificio, independientemente del volumen del primer fluido seminal previsto en la primera cámara.

La extensión hasta la que el nivel de fluido alcanza en la primera cámara cuando los medios de desplazamiento se insertan depende de varios factores, que incluyen la forma de la primera cámara y la forma de los medios de desplazamiento. Puede no estar relacionada linealmente con el recorrido de los medios de desplazamiento. Aunque se puede requerir un recorrido grande para volúmenes pequeños, la diferencia de recorrido pueden ser mínimas para volúmenes mayores. La segunda escala puede tener en cuenta estos efectos. Por ejemplo, la segunda escala puede ser no-lineal y la distancia entre gradaciones adyacentes puede disminuir a medida que se incrementa el volumen. La segunda escala puede utilizarse para insertar los medios de desplazamiento hasta el recorrido requerido después de determinar el volumen del primer fluido seminal en la primera cámara con la primera escala y/u otros medios (por ejemplo, una pipeta).

En implementaciones mecánicas o electromecánica de la invención, el recorrido de los medios de desplazamiento se puede medir con sensores y/o controlar por actuadores.

En formas de realización, la presente invención puede incluir también un medio de cierre para sellar la primera cámara con relación al entorno, por ejemplo cubriendo y/o llenando el extremo superior abierto del recipiente. El medio de cierre puede ser un tapón, por ejemplo un tapón con un taladro pasante que se puede conectar al mango. El medio de cierre puede estar formado de cualquier material adecuado para sellar la primera cámara de una manera hermética al aire o sustancialmente hermética al aire (por ejemplo, caucho). Cuando la primera cámara está sellada con relación al medio ambiente, el fluido en la primera cámara no penetrará en la segunda cámara incluso cuando se recoja el fluido contenido allí, por ejemplo, con una pipeta. Por lo tanto, el tapón evita que espermatozoides con roturas de la cadena sean introducidos en la segunda cámara cuando se recogen allí espermatozoides libres de roturas de la cadena de ADN.

De acuerdo con formas de realización de la invención, el medio de cierre (por ejemplo, el tapón) se puede insertar en la primera cámara después sellarla con él. Más específicamente, el medio de cierre puede insertarse en el recipiente después de sellarlo, por ejemplo en su extremo superior abierto. Aunque se puede emplear cualquier tipo adecuado de medio de cierre para esta finalidad, el medio de cierre está configurado con preferencia de tal manera que se puede insertar a una profundidad predeterminada y/o fija dentro del recipiente. Por ejemplo, el tapón puede comprender una superficie de tope que inhibe la inserción del tapón cuando se alcanza la profundidad predeterminada.

En formas de realización, una caperuza (por ejemplo, una caperuza roscada que se puede enroscar en el recipiente) se puede utilizar para presionar el tapón contra el recipiente con el fin de proporcionar una obturación hermética al aire. Además, la caperuza se puede utilizar también para insertar el tapón (con o sin una superficie de tope) hasta una profundidad predeterminada. La caperuza puede tener una estructura de fijación (por ejemplo, una porción roscada con una rosca interna o externa o un ajuste elástico) que se acopla o es acoplada por un medio de fijación

(por ejemplo, una rosca externa o interna o un ajuste elástico) previsto sobre el recipiente. El tapón puede estar separado de la caperuza, fijado a ella o formado integralmente con ella. La inserción del medio de cierre en el recipiente puede conducir a una presión positiva en la primera cámara, que puede causar que algo del fluido en el conducto (por ejemplo, fluido en la parte interior del conducto próxima al segundo orificio) fluya dentro de la segunda cámara. Esto puede incrementar el rendimiento de espermatozoides obtenido por el procedimiento de selección. De acuerdo con la presente invención, el dispositivo puede comprender, además, una pipeta que contiene un volumen predeterminado del segundo fluido. Esto asegura que se utilice el volumen correcto del segundo fluido y que el conducto sea humedecido de una manera óptima. Puesto que el nivel del primer fluido seminal en la primera cámara puede ser adaptado a los medios de desplazamiento, el volumen del segundo fluido en la pipeta puede estar fijado y puede ser independiente del volumen a proporcionar en la primera cámara. Esto puede asegurar que se proporcione un volumen correcto del segundo fluido en la segunda cámara y se obtienen resultados reproducibles. La pipeta puede estar configurada y adaptada para inyectar el segundo fluido en la segunda cámara del dispositivo y/o para extraer fluidos desde la segunda cámara. Opcionalmente, la pipeta puede estar configurada de tal manera que el fluido no sea inyectado en la segunda cámara demasiado rápidamente. Esto puede ser útil para prevenir la formación de burbuja de aire en el segundo fluido, que podrían ocluir parte del conducto. Además, la pipeta puede estar configurada de tal manera que el fluido no sea inyectado en la segunda cámara demasiado lentamente. Esto puede ser útil para asegurar que el conducto se llene adecuadamente. En formas de realización, el volumen del segundo fluido previsto en la pipeta puede ser 0,5 ml o menos, que corresponde a la cantidad que se inyecta idealmente en el útero.

El dispositivo de selección de la presente invención puede reutilizarse o ser desechable, es decir, destinado para un solo uso. Se prefiere el uso desechable de acuerdo con las especificaciones reguladoras.

La presente invención se puede referir también a un equipo que comprende un dispositivo para seleccionar espermatozoides y una pipeta que contiene un volumen predeterminado del segundo fluido.

Además, la presente invención se puede referir a un método para selección de célula móviles (por ejemplo, espermatozoides) utilizando el dispositivo descrito aquí. El método puede incluir las etapas de (a) proporcionar un primer fluido que comprende células móviles en la primera cámara del dispositivo; (b) proporcionar un medio tampón en la segunda cámara del dispositivo; (c) conectar la primera cámara y la segunda cámara por medio de una conexión líquida; y (d) desplazar al menos algo del primer fluido hacia, cerca o hasta el primer orificio del conducto con los medios de desplazamiento.

Como se ha descrito por el inventor, el método puede utilizarse para seleccionar espermatozoides para movilidad y/o maduras, y en particular para obtener un fluido en la segunda cámara enriquecido con espermatozoides libres de roturas de la cadena de ADN.

De acuerdo con otra forma de realización de la invención, el plasma seminal que permanece después de la sección de los espermatozoides se puede utilizar en otros procedimientos, por ejemplo infusión de plasma seminal.

De acuerdo con un primer aspecto, la presente invención se refiere a una estructura de canal para llenar un líquido en un recipiente. La estructura de canal tiene con preferencia un orificio de entrada que tiene una primera área de la sección transversal que es mayor que la segunda área de la sección transversal. El orificio de entrada está posicionado con preferencia de tal manera que está por encima del orificio de salida cuando el canal está en una posición vertical. Además, la estructura del canal comprende con preferencia un orificio intermedio. Cuando la estructura de canal está en una posición vertical, dicho orificio intermedio está dispuesto con preferencia entre el orificio de entrada y el orificio de salida.

La estructura de canal está configurada con preferencia para ser fijada a un recipiente y puede comprender una estructura de fijación. Las estructuras de fijación adecuadas pueden incluir, entre otros, una porción de la estructura de canal que proporciona un ajuste de forma y/o un ajuste de fricción con el recipiente. Por ejemplo, la estructura de canal puede estar provista con una porción que tiene una rosca interior, una rosca exterior, un ajuste elástico y/o un tornillo sobre collar. La estructura de fijación está configurada con preferencia para proporcionar una fijación a prueba de fugas con el recipiente, de tal manera que un líquido contenido en el recipiente no se puede escapar en la zona de fijación, por ejemplo, cuando el recipiente y la estructura de canal se extienden horizontalmente o se invierten. Con preferencia, la estructura de canal está provista con una porción cilíndrica (por ejemplo, una porción cilíndrica con una rosca interior) que rodea una abertura del recipiente y, por lo tanto, previene que las paredes interiores del recipiente entren en contacto con elementos extraños. Por lo tanto, se reduce al mínimo la probabilidad de contaminación.

La estructura de canal tiene con preferencia un compartimento o cámara de recuperación que están configurados para recoger y retener al menos parte del líquido contenido en el recipiente cuando el recipiente y/o el canal de extienden horizontalmente o se invierten, por ejemplo cuando se voltea inadvertidamente. El compartimento de recuperación está configurado con preferencia, además, de tal manera que el líquido recogido y retenido allí fluye de retorno al recipiente cuando el recipiente es posicionado después den una posición vertical. El compartimento de

recuperación puede tener un extremo superior centrado y que se abre en dirección hacia abajo. La abertura del compartimiento de recuperación puede estar prevista alrededor del orificio intermedio.

5 La estructura de canal comprende con preferencia una primera pared circunferencial que se estrecha hacia dentro cuando sigue el eje longitudinal de la estructura de canal en una dirección desde el orificio de entrada hasta el orificio de salida. La primera pared circunferencial tiene con preferencia una forma generalmente cónica a lo largo de al menos un segmento de la misma. La primera pared circunferencial puede formar un primer canal, que puede ser un canal exterior de acuerdo con aspectos de la invención. La primera pared circunferencial se puede extender hasta y/o desde el orificio exterior. Además, la primera pared circunferencial puede extenderse próxima al orificio de entrada.

10 La estructura de canal comprende también con preferencia una segunda pared circunferencial. La segunda pared circunferencial se puede estrechar hacia dentro cuando sigue el eje longitudinal de la estructura de canal en una dirección desde el orificio de entrada hasta el orificio de salida y puede tener una forma generalmente cónica a lo largo de al menos un segmento de la misma. La segunda pared circunferencial se puede extender generalmente paralela a la primera pared circunferencial a lo largo de al menos un segmento. Además, la segunda pared circunferencial puede formar un segundo canal, que puede ser un canal interior que está dispuesto dentro del canal exterior totalmente o a lo largo de un segmento. La primera pared circunferencial se puede extender hasta y/o formar el orificio de entrada. Además, la primera pared circunferencial se puede extender hasta y/o formar el orificio intermedio.

20 El compartimiento de recuperación puede estar previsto entre la primera y segunda paredes circunferenciales. La primera y segunda paredes circunferenciales están conectada con preferencia por una pared superior, que puede formar el extremo superior cerrado de la cámara de recuperación de acuerdo con aspectos de la descripción. Aunque se utiliza el término "circunferencial", debería indicarse que ni la estructura de canal ni la primera y segunda paredes circunferenciales tienen que ser simétricas en rotación. En formas de realización, una o ambas de estas paredes pueden no rodear totalmente la estructura de canal.

25 La primera y segunda paredes circunferenciales del canal pueden estar formadas integralmente, por ejemplo, de un solo material (por ejemplo, un material polimérico o vidrio).

30 La estructura de canal puede comprender un orificio de ventilación. El orificio de ventilación proporciona una conexión de fluido adicional entre el interior del recipiente al que está fijada la estructura de canal y el medio ambiente. Por lo tanto, se puede prevenir la formación de burbujas de aire cuando la estructura de canal está llena. El orificio de ventilación proporciona con preferencia una conexión de fluido entre el interior del recipiente y el compartimiento de recuperación. En este caso, cualquier líquido que fluye fuera del recipiente a través del orificio de ventilación puede ser recogido en dicho compartimiento de recuperación. El orificio de ventilación puede ser proporcionado por un taladro que atraviesa la primera pared circunferencial.

35 La estructura de canal puede reutilizarse, pero, con preferencia, es un artículo desechable configurado para un solo uso. La estructura de canal puede ser particularmente ventajosa para aplicaciones de laboratorio.

40 La estructura de canal proporciona un tipo mejorado de canal que previene que líquidos, por ejemplo líquidos valiosos, sean derramados cuando se vuelca o se da la vuelta al recipiente, en el que los líquidos están llenos. Ventajosamente, el líquido es recibido en el compartimiento de recuperación y posteriormente puede ser llenado de nuevo en el recipiente sin tener contacto con el medio ambiente. Por lo tanto, se puede prevenir la contaminación del líquido y/o del medio ambiente. Además de líquidos, la estructura de canal se puede utilizar también con otras sustancias que son llenadas dentro de algún tipo de estructura de recepción por medio de un canal. Otras sustancias pueden incluir polvos y/o granos.

45 La estructura de canal y el dispositivo de selección de la presente invención se pueden adaptar para uso combinado. Por ejemplo, cualquiera de los dispositivos descritos anteriormente puede comprender un medio de fijación configurado para fijar el dispositivo, por ejemplo su recipiente, a la estructura de canal (por ejemplo, por medio de la estructura de fijación). El medio de fijación puede comprender, entre otras cosas, una porción que tiene una rosca interna, una rosca externa, un ajuste elástico y/o un tornillo sobre collar. El medio de fijación puede estar previsto próximo al extremo superior abierto del recipiente. Un equipo que comprende la estructura de canal y un dispositivo de selección pueden estar previstos de acuerdo con aspectos de la presente invención. No obstante, debería indicarse que la estructura de canal puede estar prevista también separadamente.

50 De acuerdo con otro aspecto, se proporciona un soporte para un recipiente. El soporte se puede utilizar para retener el dispositivo de la presente invención en una posición vertical, por ejemplo cuando la estructura de canal está fijada al dispositivo y/o cuando se realiza el procedimiento de selección. Un equipo que comprende un soporte, una estructura de canal y/o un dispositivo de selección pueden estar previstos de acuerdo con aspectos de la presente invención.

55 La estructura de canal descrita anteriormente es particularmente ventajosa para recoger muestras de esperma. Los

- pacientes varones que deben proporcionar tales muestras están a menudo nerviosos y a veces vuelcan el recipiente en el que se recibe la muestra. La estructura de canal previene la pérdida de toda o la mayor parte de la muestra en este caso. También es particularmente útil en este contexto que la estructura de canal pueda prevenir la contaminación del interior del recipiente. Por ejemplo, la estructura de canal puede prevenir que el paciente entre en contacto con las superficies interiores del recipiente con las manos o el pene, reduciendo de esta manera la probabilidad de contaminación.
- Además, cuando se utiliza la estructura de canal con el recipiente del dispositivo de selección, la muestra de esperma puede ser recibida en el recipiente utilizado directamente para selección de espermatozoides. De esta manera se evitan las transferencias de un recipiente a otro, que podría conducir a daño mecánico y/o químico de las células de esperma y pérdida de las células de esperma que permanecen en los recipientes usados.
- Las figuras descritas a continuación describen formas de realización de la invención para fines ilustrativos. En particular, la descripción proporcionada por las figuras no limitan el alcance de la protección conferida por la invención. Las figuras son sólo dibujos esquemáticos y las formas de realización mostrada se pueden modificar de muchas maneras dentro del alcance de la reivindicaciones,
- La figura 1 es una vista en sección de un dispositivo de selección de la técnica anterior descrito en WO 03/031594.
- La figura 2 es una vista despiezada ordenada del dispositivo de selección de la técnica anterior mostrado en la figura 1.
- La figura 3A es una vista en planta de un dispositivo para selección de espermatozoides de acuerdo con una forma de realización de la presente invención.
- La figura 3B es una vista despiezada ordenada del dispositivo mostrado en la figura 3A.
- La figura 4 es una vista en planta de los medios de desplazamiento del dispositivo mostrado en las figuras 3A y 3B.
- La figura 5 es una vista ampliada de la sección que ilustra la porción inferior de los medios de desplazamiento mostrados en la figura 4.
- La figura 6 es un dibujo ampliado de la sección de la porción inferior del dispositivo mostrado en las figuras 3A y 3B.
- Las figuras 7A-7C son una secuencia de dibujos esquemáticos de la sección que muestran el uso de un dispositivo de acuerdo con la presente invención.
- La figura 7D es un dibujo esquemático que ilustra la selección de espermatozoides.
- Las figuras 8A-8D son dibujos en sección que muestran la porción inferior de un dispositivo de selección de acuerdo con varias formas de realización de la invención.
- La figura 9 es una vista en planta que muestra un recipiente para dispositivos de selección de acuerdo con formas de realización de la presente invención, estando provisto el recipiente con primera y segunda escalas.
- La figura 10 es una vista en planta que muestra un medio de desplazamiento para dispositivos de selección de acuerdo con forma de realización de la presente invención, estando provistos los medios de desplazamiento con una escala.
- La figura 11A es una vista en planta que muestra un equipo de acuerdo con formas de realización de la presente invención.
- La figura 11B es una vista despiezada ordenada del equipo mostrado en la figura 11A.
- La figura 12A es un dibujo en sección del dispositivo de selección de acuerdo con otra forma de realización de la invención.
- La figura 12B es un dibujo en sección que muestra una vista ampliada de la porción inferior del dispositivo de selección de la figura 12A.
- La figura 13A es un dibujo en sección que muestra una estructura de túnel de acuerdo con aspectos de la invención.
- La figura 13B es un dibujo en sección que muestra el principio funcional de la estructura de canal ilustrada en la figura 13A.
- La figura 3A muestra una vista en plante de un dispositivo 101 para selección de espermatozoides de acuerdo con formas de realización de la presente invención. Como se muestra, el dispositivo puede ser rotatorio simétrico con

respecto a su eje longitudinal A.

- Como se muestra en la vista despiezada ordenada ilustrada en la figura 3B, el dispositivo 101 comprende una primera cámara 103 y un medio de desplazamiento 105. La primera cámara 103 puede estar formada por una porción interior de un extremo inferior de un recipiente 104, que rodea con preferencia los medios de desplazamiento 105 cuando el dispositivo 101 está en el estado montado (ver la figura 3A). Aunque el recipiente 104 se muestra con un extremo inferior hemisférico, hay que indicar que el extremo inferior del recipiente puede tener cualquier forma adecuada. Como tal, el recipiente puede tener un extremo inferior cónico, generalmente cónico, truncado, redondo o plano. Además, el extremo inferior del recipiente puede estar formado de tal manera que el recipiente es auto-estable.
- La figura 4 muestra una vista en planta de los medios de desplazamiento 105 ilustrados en las figuras 3A y 3B. Como se muestra, los medios de desplazamiento 105 pueden comprender un elemento de desplazamiento 109 localizado en una porción inferior 107 del mismo. La porción inferior 107 puede estar provista también con una segunda cámara 115, que está prevista por encima del elemento de desplazamiento 109 en la forma de realización ilustrada y formada integralmente con él.
- Los medios de desplazamiento 105 pueden comprender, además, un mango 123 para la manipular y retener los medios de desplazamiento. Como tal, el mango 123 puede utilizarse por un usuario para deslizar los medios de desplazamiento dentro del recipiente 104 y la primera cámara 103 (ver la figura 3A). Cuando se utiliza un mango hueco 123 como se muestra en las figuras, se puede conectar la atmósfera en conexión de fluido con la segunda cámara 115, de tal manera que el segundo fluido se puede llenar entro y/o extraerse fuera de la segunda cámara a través del mango 123. El mango puede estar provisto con uno o varios espaciadores 125 para centrar los medios de desplazamiento 105 en el recipiente 104. Los espaciadores aseguran que los medios de desplazamiento 105 sean recibidos en el recipiente 104 de una manera coaxial. Debería indicarse, no obstante, que se pueden utilizar para esta finalidad también otros elementos conectados al recipiente y/o a los medios de desplazamiento, por ejemplo la tapa 119 de forma anular.
- Como se muestra también, por ejemplo, en la figura 3A, se puede utilizar un tapón 127 para cerrar el recipiente 104. El tapón 127 puede ser parte de los medios de desplazamiento y se pueden fijar allí de una manera fija o deslizable. Alternativamente, el tapón 127 puede estar formado integralmente con los medios de desplazamiento 105, por ejemplo, como parte del mango 123. El tapón puede cerrar el recipiente 104 de una manera sellada, por ejemplo hermética al aire.
- Los detalles de la porción inferior 107 de los medios de desplazamiento se ilustran esquemáticamente en la vista ampliada de la figura 5. Como se muestra, la segunda cámara 115 puede estar rodeada por un borde 117 que tiene una superficie extrema superior, una superficie de la pared exterior y una superficie interior de la pared. Una tapa 19 de forma anular se puede extender alrededor de al menos parte de la superficie exterior de la pared, la superficie extrema superior y la superficie interior de la pared el borde 117 a una distancia predeterminada formando un conducto 111. El elemento de desplazamiento 109 y la segunda cámara 115 están formados integralmente en la forma de realización mostrada. Se puede utilizar cualquier material adecuado, por ejemplo plástico o vidrio.
- La pieza espaciadora 121 permite mantener el miembro 119 de forma anular a una distancia predeterminada con el fin de proporcionar al conducto 111 una anchura predeterminada. La tapa de forma anular puede estar formada integralmente con o conectada con el mango y puede estar formada de cualquier material adecuado, por ejemplo plástico o vidrio. El mango con la tapa de forma anular puede conectarse al elemento de desplazamiento de una manera fija.
- La figura 6 ilustra esquemáticamente una sección transversal del dispositivo a lo largo de su eje longitudinal A. Como se muestra aquí, el conducto 111 tiene sustancialmente la forma de una U invertida, extendiéndose una primera pata hasta la primera cámara y extendiéndose una segunda pata hasta la segunda cámara. El conducto 111 tiene un primer orificio 112 hacia la primera cámara 103 y un segundo orificio 113 hacia la segunda cámara 115. Los orificios 112, 113 están configurados con preferencia de forma anular. Como se ilustra, el conducto 111 en forma de U se puede extender más dentro de la segunda cámara 115 que dentro de la primera cámara 103. Las flechas mostrada en la figura 6 indican la trayectoria a lo largo de la cual pueden circular los espermatozoides desde la primera cámara 103 hasta la segunda cámara 115.
- El uso del dispositivo para selección de espermatozoides de acuerdo con forma de realización de la presente invención se ilustra, además, por los dibujos esquemáticos de las figuras 7A-7C. Como se muestra en la figura 7A, el primer fluido seminal 135 puede ser recibido en la primera cámara 103 formada en el extremo inferior del recipiente 104. Puesto que el primer fluido seminal puede ser, por ejemplo, semen de un paciente, el volumen proporcionado puede variar considerablemente.
- Una vez que el primer fluido seminal 135 es recibido en la primera cámara 103, los medios de desplazamiento 105, en particular el elemento de desplazamiento 109, pueden introducirse en dicha primera cámara 103 hasta que el primer fluido seminal 135 está localizado próximo al primer orificio 112. En el ejemplo ilustrado, los medios de

desplazamiento se insertan una distancia L en el primer fluido seminal. La superficie superior del primer fluido seminal se desplaza, como consecuencia, una distancia D hacia el primer orificio 112 (ver la figura 7B). En la forma de realización ilustrada, el primer fluido seminal 135 no alcanza el primer orificio 112 totalmente. Más bien, permanece un espacio S entre el primer fluido seminal 135 y el primer orificio 112, que es cubierto posteriormente por el segundo fluido 136 que fluye a través del conducto 111 cuando la segunda cámara 115 está llena. Esto previene que el primer fluido seminal penetre en el conducto 111 por acción capilar y, por lo tanto, evita que los espermatozoides lleguen a la segunda cámara 115 sin para el proceso de selección. No obstante, el desplazamiento del primer fluido seminal 135 hacia el primer orificio 112 puede ser considerado para alguna aplicaciones. Con el dispositivo de selección de la presente invención, el espacio S entre el primer fluido seminal 135 y el primer orificio 112 puede ser igualado para un amplio rango de volúmenes de primer fluido seminal previsto en la primera cámara 135 insertando el elemento de desplazamiento 109 hasta la profundidad L adecuada. De esta manera, el volumen del segundo fluido 136 se puede mantener constante y se pueden obtener resultados reproducibles.

Como se muestra en la figura 7C, el segundo fluido, por ejemplo un medio tampón, es proporcionado posteriormente en la segunda cámara 115. Como se ha mencionado anteriormente, el segundo fluido es introducido con preferencia en el conducto 111 por acción capilar y/o debido a la presión ejercida cuando se llena en la segunda cámara, por ejemplo a lo largo del mango 123 por medio de una pipeta. De acuerdo con ello, el conducto 111 establece un puente de líquido entre la primera cámara 103 y la segunda cámara 115, que permite a los espermatozoides moverse a lo largo de la trayectoria indicada por las flechas mostradas en las figuras 6 y 7C. Como se ilustra esquemáticamente en la figura 7D, los espermatozoides u otras células móviles en el primer fluido 135 nadarán o fluirán desde la primera cámara a través del conducto 110 dentro del segundo fluido 136 contenido en la segunda cámara.

Una vez que los espermatozoides están separados (por ejemplo, después de esperar durante 15-120 min.), se puede extraer el segundo fluido desde la segunda cámara, por ejemplo por medio de una pipeta introducida a través del mango 123. La primera cámara 103 puede estar sellada con relación al medio ambiente (es decir, cerrado en extremo superior abierto del recipiente 104 con el tapón 127, como se muestra en la figura 3A) con el fin de prevenir que el primer fluido seminal 135 sea introducido en la segunda cámara 115 cuando se recoge el fluido contenido allí.

Como se apreciará por los técnicos en la materia, la secuencia de las etapas descritas anteriormente se puede cambiar en formas de realización. Por ejemplo, el segundo fluido 136 puede ser recibido en la segunda cámara 115 antes de que los medios de desplazamiento sean introducidos en la primera cámara 103. Además, los medios de desplazamiento pueden ser introducidos en la primera cámara antes de que el primer fluido seminal 135 sea recibido en ella.

La tapa 119 de forma anular está localizada con preferencia al menos 0,1 mm, con preferencia al menos 0,2 mm y más preferentemente entre 0,3 mm y 0,4 mm desde el borde. De acuerdo con ello, el conducto 111 tiene con preferencia una anchura de al menos 0,1 mm, más preferentemente al menos 0,2 mm y más preferentemente entre 0,3 y 0,4 mm. Como se comprenderá por el técnico, las anchuras óptimas dependerán de los materiales y de los fluidos empleados, ya que ambos pueden influir en la acción capilar. La longitud del conducto 111 está con preferencia entre 15 y 40 mm, más preferentemente entre 20 y 38 mm, más preferentemente entre 25 y 35 mm, medido desde el primer orificio hasta el segundo orificio cuando se considera una sección transversal del elemento de desplazamiento a lo largo del eje longitudinal B.

La superficie exterior de la porción inferior de los medios de desplazamiento que se introduce en la primera cámara, en particular la superficie exterior del elemento de desplazamiento 109, puede estar configurada de diferentes maneras, por ejemplo de una manera sustancialmente esférica, hemisférica, cónica, truncada o cilíndrica. También la superficie interior de la primera cámara 103, en particular la superficie interior del extremo inferior cerrado del recipiente 104 puede tener varias formas. Como tal, la superficie interior puede ser, entre otras, sustancialmente hemisférica, cónica, truncada o cilíndrica. Dependiendo de los requerimientos particulares, las formas mencionadas anteriormente se pueden combinar como se desee. Por ejemplo, se pueden utilizar medios de desplazamiento redondeados con recipientes cónicos y viceversa.

Las figuras 8A-8E ilustran diferentes formas de realización de medios de desplazamiento para dispositivos de acuerdo con la presente invención, cuyas formas también se pueden combinar. Como se muestra en estas figuras, se puede formar un intersticio G entre la porción inferior de los medios de desplazamiento 105 y la pared interior del recipiente 104. Más específicamente, el intersticio G está formado con preferencia entre el elemento de desplazamiento 109 y el recipiente 104.

Como se muestra en las figuras 8A-8C, el intersticio G puede ser variable. En este caso, el intersticio G se forma con preferencia de tal manera que una fracción relativamente grande del primer fluido seminal recibido en la primera cámara es desplazada desde la parte inferior de la primera cámara próxima al primer orificio del conducto. El intersticio G puede proporcionar un espacio de colección ampliado próximo al primer orificio. Para esta finalidad, la anchura del intersticio G se incrementa con preferencia desde una parte inferior hacia una parte superior de la primera cámara 103 cuando los medios de desplazamiento 105 están totalmente insertados. Por ejemplo, el

elemento de desplazamiento 109 puede seguir la superficie interior de la primera cámara en el fondo del recipiente 104 (es decir, en el extremo inferior cerrado) y separado de la primera cámara próxima al primer orificio 112 para formar el espacio de colección (ver, por ejemplo, la figura 8A).

5 No obstante, como se muestra en las figuras 8D y 8E, la forma del elemento de desplazamiento 109 puede coincidir también con la forma del extremo inferior del recipiente 104. Por ejemplo ambos elementos pueden tener una forma generalmente hemisférica (figura 8D), o generalmente cónica (figura 8E) a lo largo de al menos sus segmentos de conexión. Como es evidente, además, a partir de las figuras 8A-8E, los medios de desplazamiento 109 pueden tener diferentes tamaños y volúmenes de desplazamiento, siendo los medios de desplazamiento 109 de las figuras 8D y 8E alto “más cortos” a lo largo del eje longitudinal B. Debería indicarse que cualquiera de los medios de desplazamiento descritos anteriormente (por ejemplo, los medios de desplazamiento ilustrados en las figuras 8A-8B) pueden ser “más cortos” o “más largos” para proveer el elemento de desplazamiento 109 con un volumen de desplazamiento y/o forma deseados.

10 Como se muestra, además, en las figuras 9 y 10, el dispositivo puede estar provisto con primera y segunda escalas 129, 131 para evaluar el volumen del primer fluido seminal previsto en la primera cámara y el recorrido de los medios de desplazamiento con relación al recipiente 104, respectivamente. En la forma de realización ejemplar mostrada en la figura 9 y 10, la primera escala 129 está prevista sobre el recipiente 104 y la segunda escala 131 está prevista sobre los medios de desplazamiento 105 (por ejemplo, en una porción superior). No obstante, la segunda escala puede estar localiza también en el recipiente 104, por ejemplo en una porción superior del mismo. Aunque se ha descrito anteriormente que la segunda escala 131 está localizada en la porción superior del recipiente 104 y los medios de desplazamiento 105, debería indicarse que la segunda escala puede estar localizada a cualquier altura adecuada a lo largo del eje longitudinal del dispositivo.

15 En formas de realización de la invención, la segunda escala 131 puede indicar el recorrido requerido para los medios de desplazamiento dependiendo del volumen del primer fluido seminal previsto en la primera cámara. Los usuarios del dispositivo podrán evaluar entonces el volumen del primer fluido seminal en la primera cámara por medio de la primera escala y posteriormente el recorrido requerido para los medios de desplazamiento en la segunda escala, sin tener que realizar etapas o cálculos intermedios.

20 En algunos casos, la distancia hasta la que los medios de desplazamiento deben insertarse no será inversamente proporcional al volumen recibido en la primera cámara sino que estará correlacionada, por ejemplo, de alguna manera recíproca. Por lo tanto, la distancia entre gradaciones adyacentes de la segunda escala 131 puede variar y puede ser, por ejemplo, menor para volúmenes mayores.

25 Con el dispositivo de la presente invención, se puede requerir el mismo volumen del segundo fluido, independientemente del volumen del primer fluido seminal recibido en la primera cámara. Como se muestra en las figuras 11A y 11B, el dispositivo 101 puede comprender también una pipeta 140. La pipeta 140 puede estar adaptada para ser insertada en el mando 123 y puede contener un volumen definido y/o fijo de segundo fluido 136, determinado de tal manera que se asegura la humidificación óptima del conducto. Puesto que el nivel del fluido en la primera cámara se puede ajustar con los medios de desplazamiento, este volumen puede ser fijo, independientemente del volumen del primer fluido seminal previsto en la primera cámara. Además, la pipeta 140 puede estar configurada para inyectar el segundo fluido 136 a una velocidad predeterminada y/o con una presión predeterminada con el fin de prevenir la formación de burbujas de aire en el segundo fluido 136. El dispositivo 101 y la pipeta 140 pueden estar previstos como un equipo.

30 De acuerdo con formas de realización de la invención, los medios de cierre (por ejemplo, tapón 127) pueden insertarse en la primera cámara 103 después de sellarla con ello. Más específicamente, los medios de cierre pueden insertarse en el recipiente 104 después de sellarlo, por ejemplo, en su extremo superior abierto.

35 Como se ilustra en la figura 12A, los medios de cierre pueden estar configurados de tal manera que se pueden insertar hasta una profundidad máxima predeterminada en el recipiente. A modo de ejemplo, el tapón 227 tiene una porción inferior con un primer diámetro y una porción superior con un segundo diámetro que es mayor que el primer diámetro. Por lo tanto, se forma una superficie de tope que se apoya a tope contra el extremo superior de la pared lateral del recipiente 104 y previene la inserción adicional del tapón cuando se ha alcanzado la profundidad máxima. La forma de realización ilustrada comprende, además, una caperuza roscada opcional 228 que está provista con una rosca interior 229 para acoplamiento con un medio de fijación 106 del recipiente 104. Como se muestra, los medios de fijación 106 pueden estar formados por una rosca exterior formada sobre la superficie exterior de la pared del recipiente. Debería indicarse que también se pueden emplear otros tapones (por ejemplo, un tapón generalmente cilíndrico que tiene un diámetro que corresponde al diámetro interior del extremo superior el recipiente 104). Tales tapones pueden estar fijados a la caperuza 228 o pueden estar formados como componentes separados.

40 Cuando la segunda cámara está llena de la manera mostrada en la figura 12B, con el nivel del segundo fluido 136 más alto que el primer orificio el conducto, la presión positiva causada por la inserción del tapón 127, 227 en el

recipiente 104 puede empujar un volumen fijo del segundo fluido 136 localizado a lo largo de la parte interior del conducto próxima al segundo orificio en la segunda cámara. Como se ha descrito anteriormente, el recipiente 104 se puede sellar posteriormente, de manera que no se introduce fluido adicional en la segunda cámara cuando se extrae el fluido contenido allí.

5 La figura 13A ilustra la estructura de canal 170 de la presente invención en una posición vertical, de tal manera que el canal se puede utilizar para llenar líquidos en un receptáculo o recipiente. La estructura de canal 170 tiene una primera pared circunferencial 171 y una segunda pared circunferencial 172, que se estrechan ambas hacia el interior de la estructura de canal 170 (es decir, hacia su eje central) en una dirección descendente. Como se muestra, la primera pared circunferencial 171 puede formar un canal exterior y la segunda pared circunferencial puede formar un canal interior con respecto a dicho canal exterior. Los canales interior y exterior pueden tener formas generalmente cónicas a lo largo de al menos un segmento.

10 La primera y segunda paredes circunferenciales pueden estar conectadas por una pared superior 173. Con preferencia, un compartimiento de recuperación 179 está formado entre la primera y segunda paredes circunferenciales. El extremo superior del compartimiento de recuperación puede estar cerrado por la pared superior 173 y puede estar abierto en una dirección descendente cuando la estructura del canal 170 está posicionada de una manera vertical. Una, varias o todas las paredes de la estructura de canal pueden estar formadas de materiales poliméricos o vidrio. Las paredes pueden estar formadas integralmente.

15 Además, la estructura de canal 170 comprende un orificio de entrada 175 y un orificio de salida 177. El orificio de salida 177 tiene con preferencia un área de la sección transversal más pequeña que el orificio de entrada 175 y con preferencia está dispuesta debajo del orificio de entrada 175 cuando la estructura de canal 170 está en la posición vertical, como se muestra en la figura 13A. Un orificio intermedio 176 puede estar dispuesto entre el orificio de entrada 175 y el orificio de salida 177.

20 Con preferencia, el orificio de entrada 175 está formado en el extremo superior de la segunda pared circunferencial 172 y el orificio intermedio 176 está formado en el extremo inferior de la segunda pared circunferencial 172. El orificio de salida 177 está formado con preferencia en el extremo inferior de la primera pared circunferencial 171.

25 La estructura de canal 170 puede estar provista con una estructura de fijación 174 para fijar el canal a un recipiente. En el ejemplo ilustrado, la estructura de fijación 174 está prevista sobre una proyección cilíndrica con una rosca interior. El recipiente 104 puede estar insertado en la proyección cilíndrica para prevenir la contaminación de las paredes interiores del recipiente. No obstante, también se pueden prever otros tipos de conectores y/o estructuras de fijación, como sea apropiado.

30 Como se muestra en la figura 13A, la estructura de canal puede comprender también un orificio de ventilación 178 opcional, que conecta en fluido el interior del recipiente 104 y el medio ambiente. En la forma de realización mostrada, el orificio de ventilación 178 proporciona una conexión de fluido entre el interior del recipiente 104 y el compartimiento de recuperación 179. El orificio de ventilación 178 puede ser proporcionado por un taladro que atraviesa la primera pared circunferencial 171.

35 Como se muestra, además, en la figura 13A, la estructura de túnel puede estar fijada al recipiente 104 del dispositivo de selección y se puede utilizar en combinación con él. El recipiente 104 puede estar provisto con medios de fijación 106 para esta finalidad. Los medios de fijación 106 pueden estar configurados para acoplarse con la estructura de fijación 174 de la estructura de canal 170. Como se ilustra, los medios de fijación 106 pueden estar previstos próximos al orificio superior del recipiente 104 de acuerdo con las formas de realización de la invención.

40 El recipiente 104 puede estar insertado en un soporte 180 para mantenerlo en una posición vertical o puede ser auto-estable.

45 La figura 13B ilustra el principio funcional de la estructura de canal 170. Cuando el recipiente 104 y la estructura de canal 170 están dispuestos en una posición horizontal, volcada o volteada, la mayor parte o todo el líquido (por ejemplo, el líquido seminal 135) que está contenido en el recipiente 104 y fluye hacia fuera a través del orificio exterior 177 de la estructura de canal 170 es capturado en el compartimiento de recuperación 179. Por lo tanto, se previene la contaminación del líquido que fluye fuera del recipiente y el líquido puede retornar al recipiente 104, por ejemplo manteniendo la estructura de canal 170 y el recipiente 104 en la posición vertical mostrada en la figura 13A.

50 Además, la estructura de fijación 174 está configurada con preferencia para proporcionar una fijación a prueba de fugas con el recipiente 104, de tal manera que cuando el recipiente 104 está dispuesto en una posición horizontal, volcada y/o invertida, el líquido 135 que permanece en el recipiente 104 no fuga a través del orificio superior del recipiente 104. No obstante, el recipiente 104, la estructura de canal 170 y/o el soporte 180 pueden estar configurados también de tal manera que el fondo del recipiente está por debajo de su orificio cuando se vuelca el recipiente y/o se coloca horizontalmente. En este caso, puede no ser necesaria una junta de estanqueidad entre la estructura de fijación 174 de la estructura de canal 170 y los medios de fijación 106 del recipiente 104.

5 Como se reconocerá por el técnico, a la vista de la descripción proporcionada anteriormente, la presente invención proporciona dispositivos y métodos de selección mejorados que se pueden utilizar con volúmenes variables de fluido seminal. En particular, el dispositivo se puede utilizar para volúmenes de fluido seminal inferiores a 1 ml o inferiores a 0,5 ml, sin requerir dilución. El tiempo requerido para separar tales muestras de esperma se pueden reducir significativamente, reduciendo de esta manera la tensión química debida al contacto con O₂ atmosférico. Además, se requieren menos etapas de manipulación y se reduce también la tensión mecánica.

10 Puesto que la primera cámara puede estar sellada con relación al medio ambiente, se previene la contaminación de a muestra recogida por espermatozoides con roturas de la cadena y/o baja movilidad. Además, se reduce adicionalmente la exposición de espermatozoides a oxígeno antes, durante y/o después del procedimiento de selección.

15 Adicionalmente, se puede utilizar la misma cantidad de medio independientemente del volumen de fluido seminal recibido en la primera cámara. Por lo tanto, se simplifica la manipulación del dispositivo y se obtienen más fácilmente resultados repetibles. La humidificación de la conexión de fluido se mejora, por ejemplo, cuando se utiliza la pipeta descrita anteriormente para inyectar el medio, lo que puede conducir también a mejores resultados cuando se realiza el procedimiento de selección.

20

25

REIVINDICACIONES

- 1.- Dispositivo (101) para selección de espermatozoides, que comprende:
- una primera cámara (103) con figurada para recibir un primer fluido seminal (135), y
- 5 una segunda cámara (115) configurada para recibir un segundo fluido (136), estando la segunda cámara (115) en comunicación de fluido con la primera cámara (103) por medio de al menos un conducto (111) que tiene un primer orificio (112) hacia la primera cámara (103) y un segundo orificio (113) hacia la segunda cámara,
- estando caracterizado el dispositivo por que comprende, además:
- un medio de desplazamiento (105) con un cuerpo de desplazamiento (109) adaptado para desplazar al menos algo del primer fluido seminal (135) hacia el primer orificio (112).
- 10 2.- Dispositivo de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la primera cámara está provista con un recipiente con un extremo inferior cerrado, con preferencia un recipiente tubular.
- 3.- Dispositivo de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en el que el medio de desplazamiento es recibido de forma desplazable en la primera cámara.
- 4.- Dispositivo de acuerdo con las reivindicaciones 1, 2 ó 3, en el que el medio de desplazamiento está adaptado para desplazar el primer fluido seminal de tal manera que la superficie superior del primer fluido seminal está dispuesta a una distancia predeterminada desde el primer orificio.
- 15 5.- Dispositivo de acuerdo con la reivindicación 2, en el que una porción inferior del medio de desplazamiento tiene una forma exterior que corresponde generalmente a la forma interior del extremo inferior cerrado del recipiente.
- 6.- Dispositivo de acuerdo con la reivindicación 2, en el que se forma un intersticio variable entre el medio de desplazamiento y el recipiente, con preferencia en el que en una posición totalmente insertada del medio de desplazamiento, el tamaño del intersticio se incrementa desde una parte inferior de la primera cámara hacia una parte superior de la primera cámara.
- 20 7.- Dispositivo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el medio de desplazamiento comprende, además, un mango para manipular el medio de desplazamiento.
- 25 8.- Dispositivo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la segunda cámara está formada en el medio de desplazamiento.
- 9.- Dispositivo de acuerdo con la reivindicación 7 u 8, en el que el mango está hueco y se abre en la segunda cámara.
- 10.- Dispositivo de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en el que el conducto tiene la sección transversal de una U invertida, una primera pata de dicha U se extiende hasta la primera cámara y una segunda pata de dicha U se extiende hasta la segunda cámara.
- 30 11.- Dispositivo de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en el que el cuerpo de desplazamiento comprende un borde que se extiende hacia arriba y en el que el mango está conectado con una tapa de forma anular, en el que el conducto está formado entre el borde y la tapa.
- 35 12.- Dispositivo de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en el que el recipiente está provisto con una primera escala para evaluar un volumen del primer fluido seminal en la primera cámara.
- 13.- Dispositivo de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, que comprende una segunda escala para evaluar el recorrido del medio de desplazamiento.
- 40 14.- Dispositivo de acuerdo con las reivindicaciones 12 y 13, en el que la segunda escala indica el recorrido requerido del medio de desplazamiento dependiendo del volumen indicado por la primera escala.
- 15.- Dispositivo de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, que comprende, además, un medio de cierre para sellar la primera cámara con relación al medio ambiente.
- 16.- Método para seleccionar células móviles utilizando el dispositivo (101) de la reivindicación 1, que incluye las etapas:
- 45 (a) proporcionar un primer fluido (135) que comprende células móviles en la primera cámara (103).

- (b) proporcionar un medio tampón (136) en la segunda cámara (115); y
- (c) conectar la primera cámara (103) y la segunda cámara (115) por medio de una conexión líquida; y
- (d) desplazar al menos algo del primer fluido (135) hacia, cerca o hasta el primer orificio (112) del conducto (111) con el cuerpo de desplazamiento (109).

5

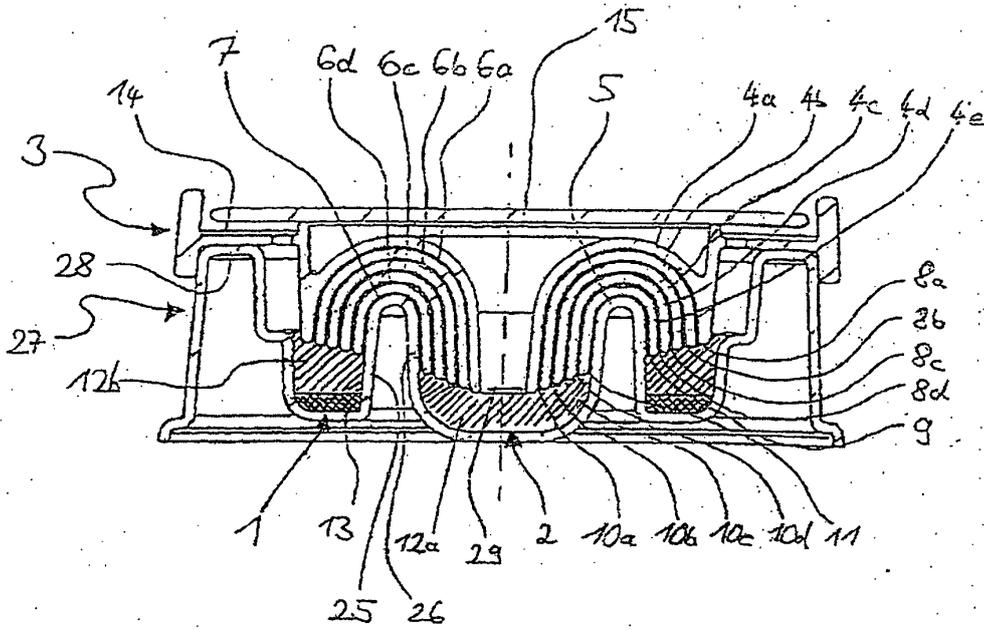


Fig. 1

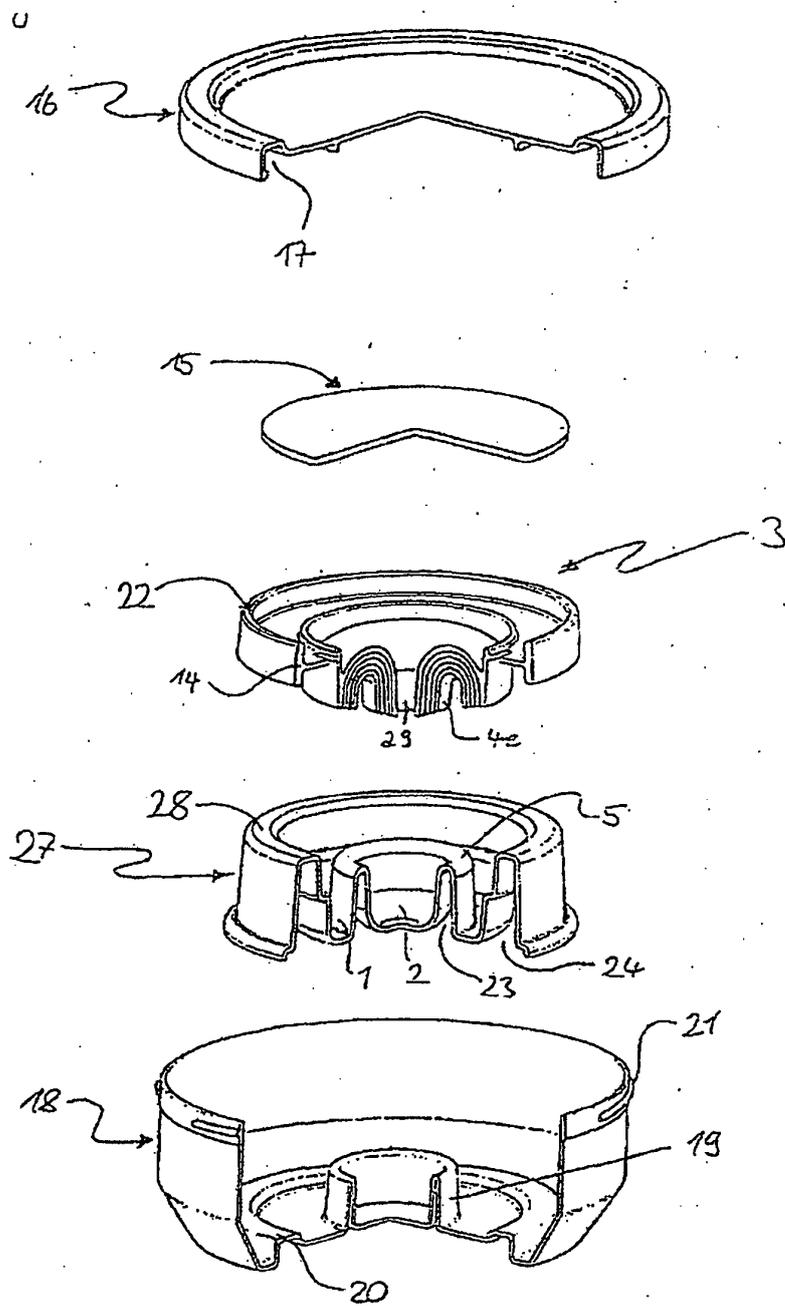


Fig. 2

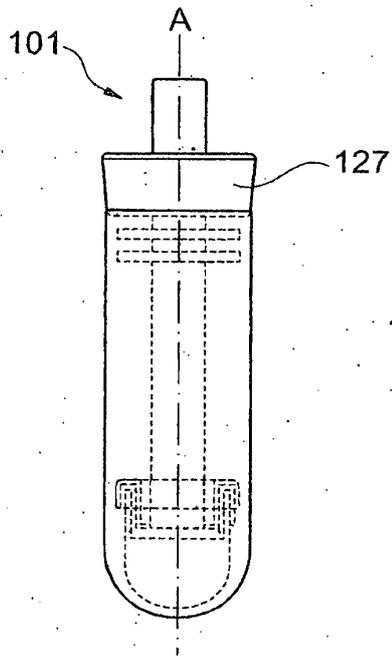


Fig. 3A

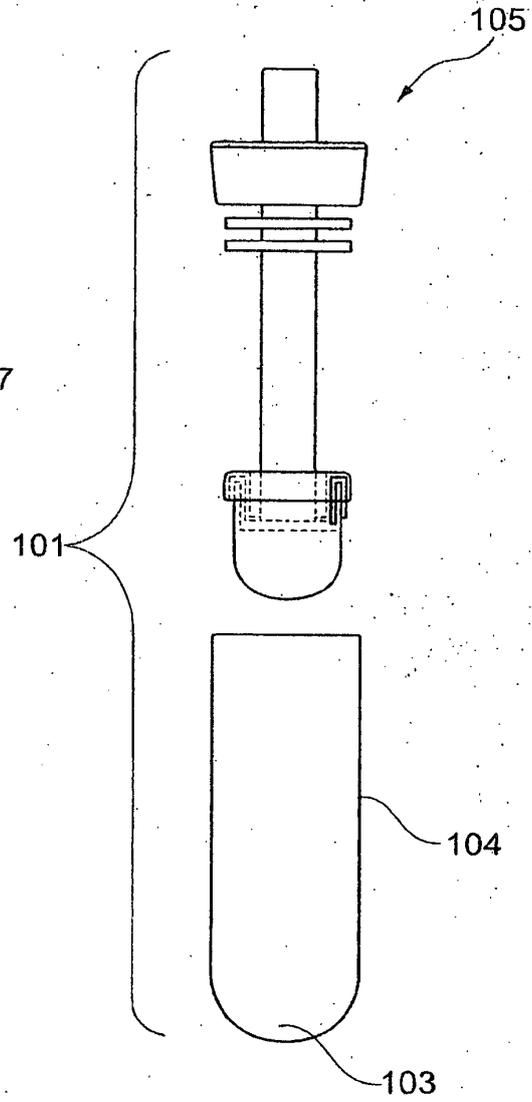


Fig. 3B

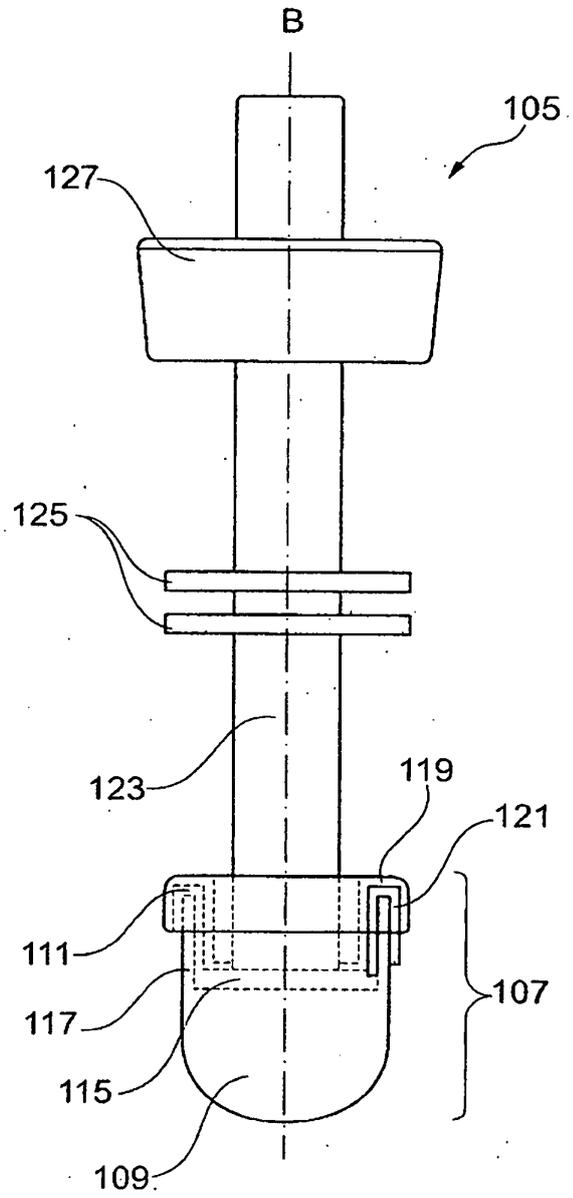


Fig. 4

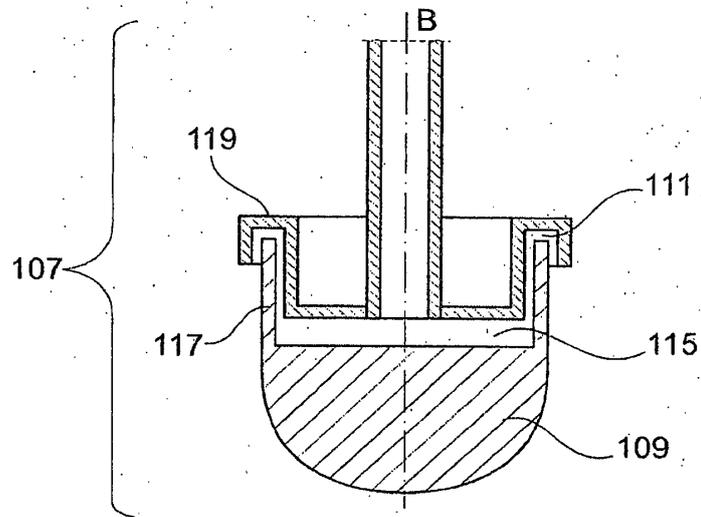


Fig. 5

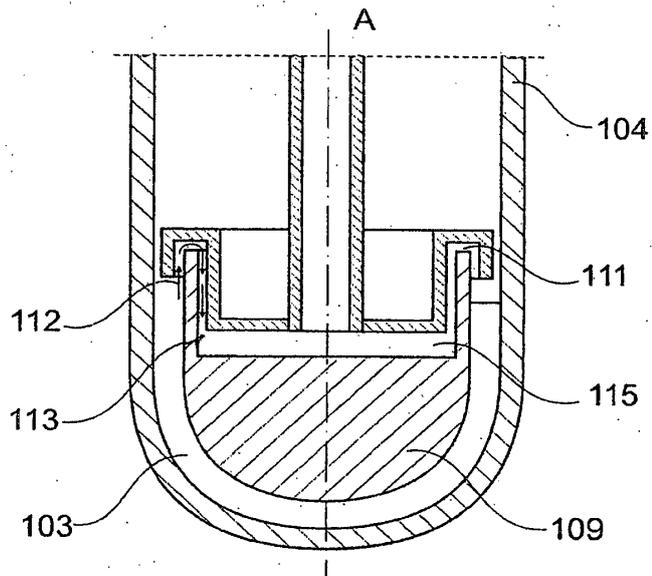


Fig. 6

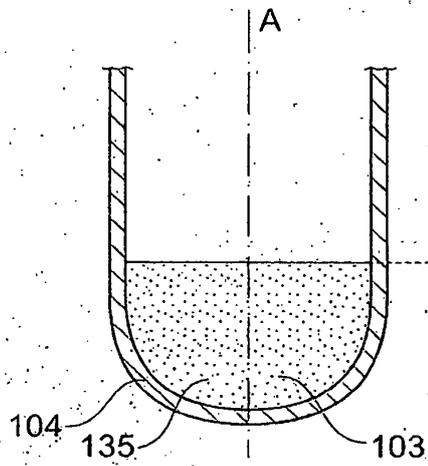


Fig. 7A

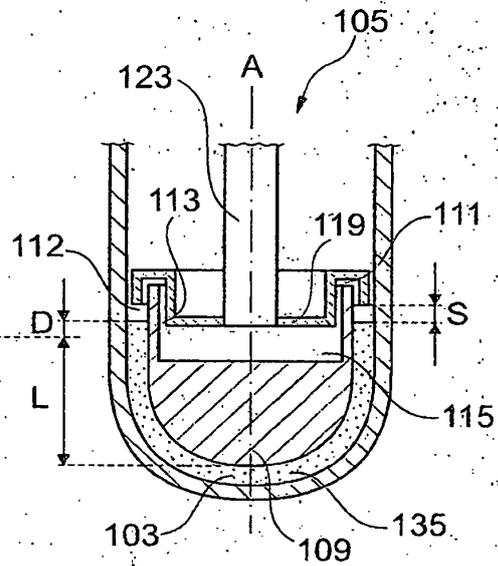


Fig. 7B

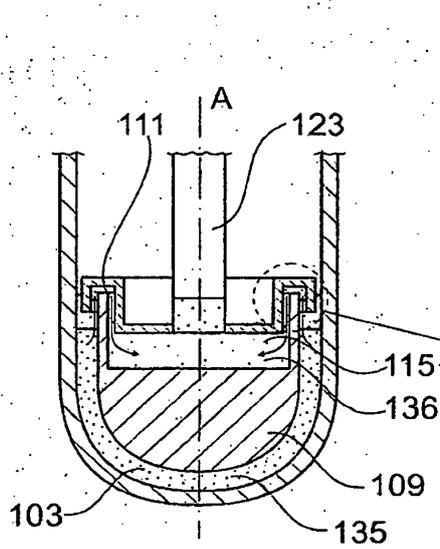


Fig. 7C

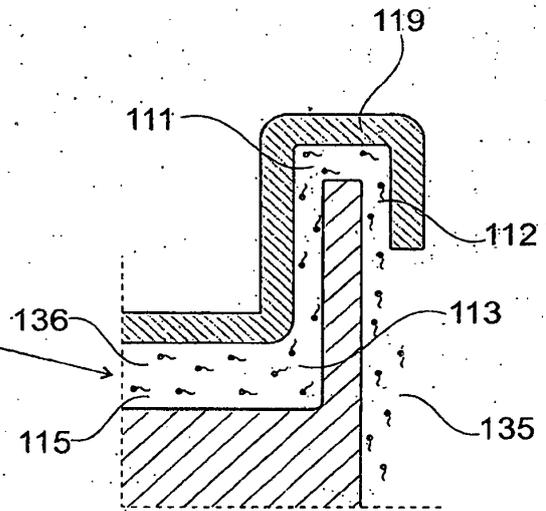


Fig. 7D

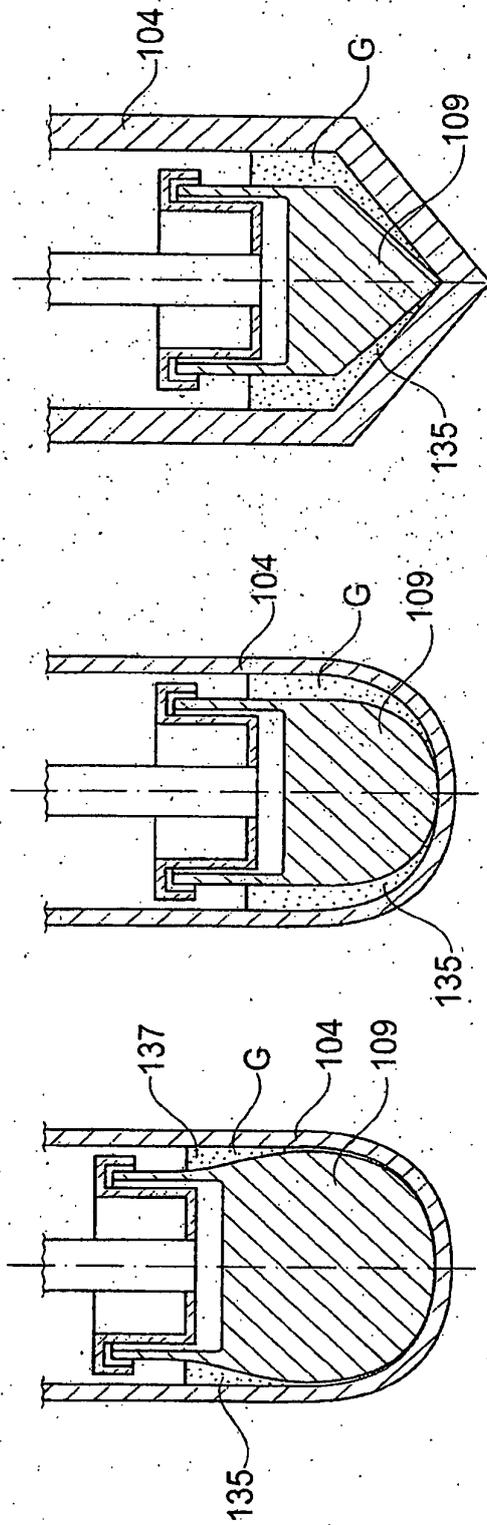


Fig. 8A

Fig. 8B

Fig. 8C

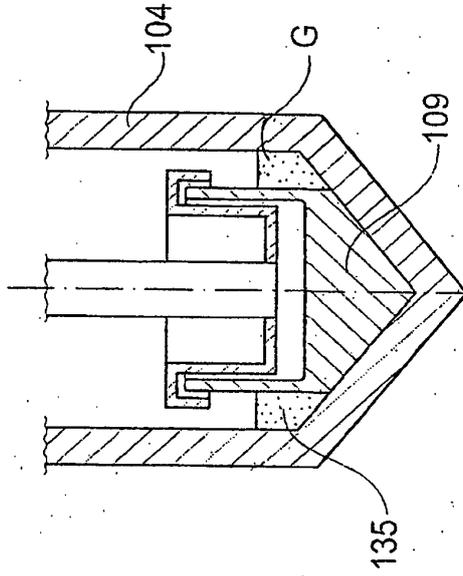


Fig. 8E

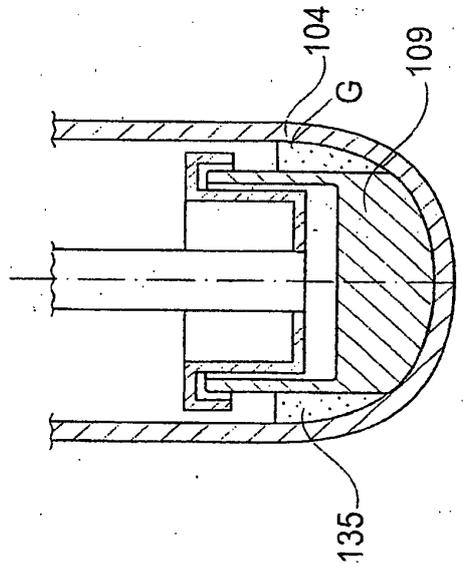


Fig. 8D

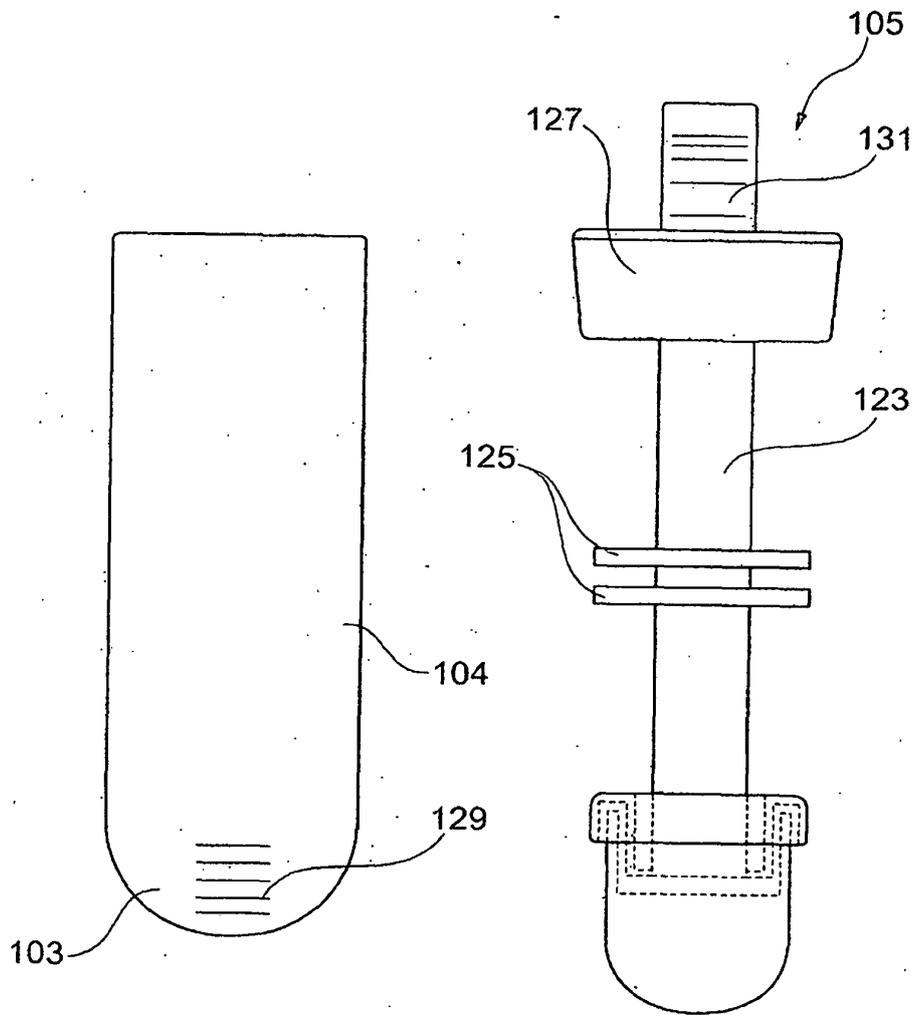


Fig. 9

Fig. 10

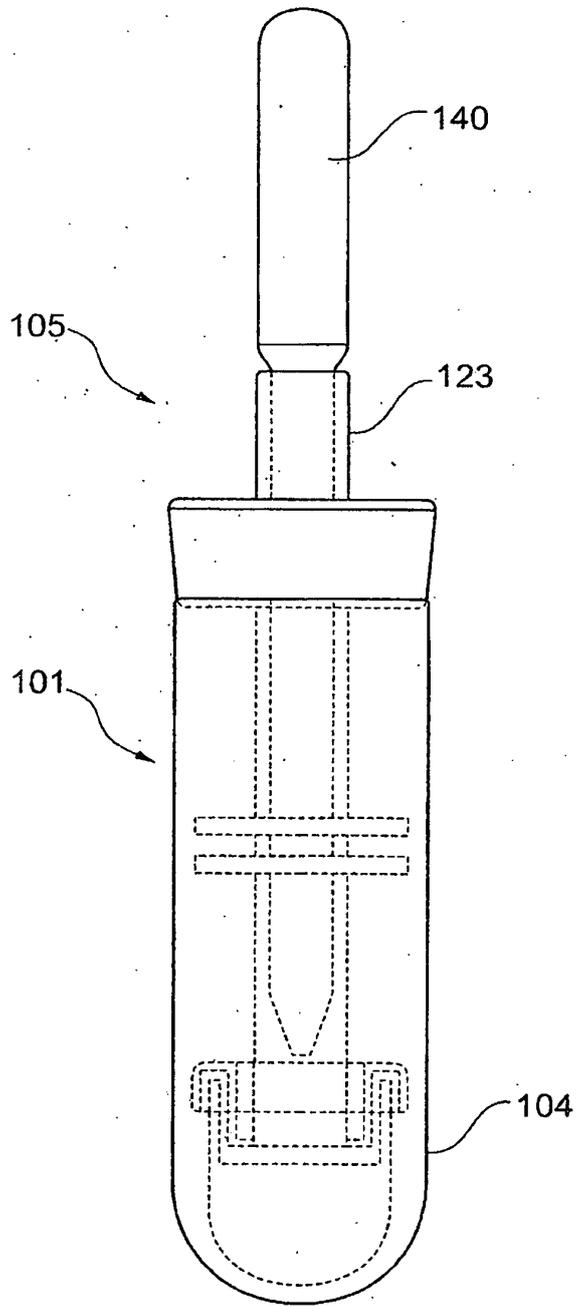


Fig. 11A

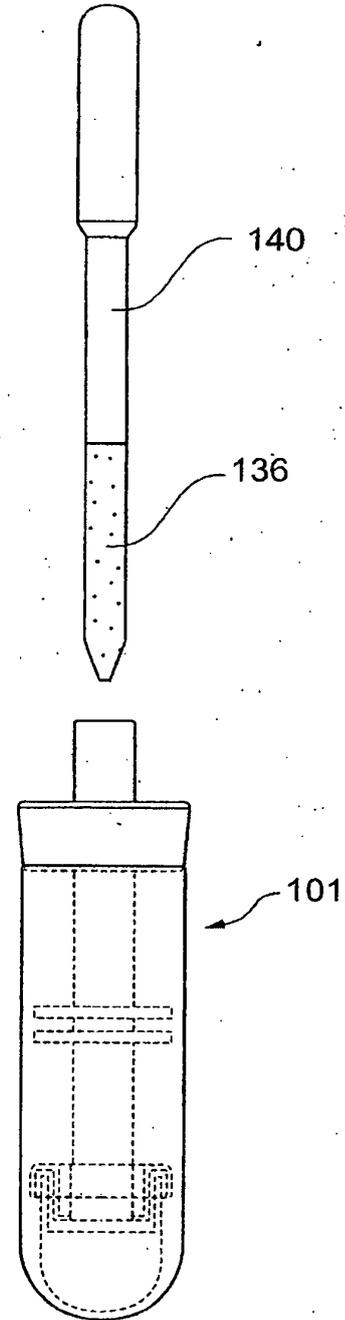


Fig. 11B

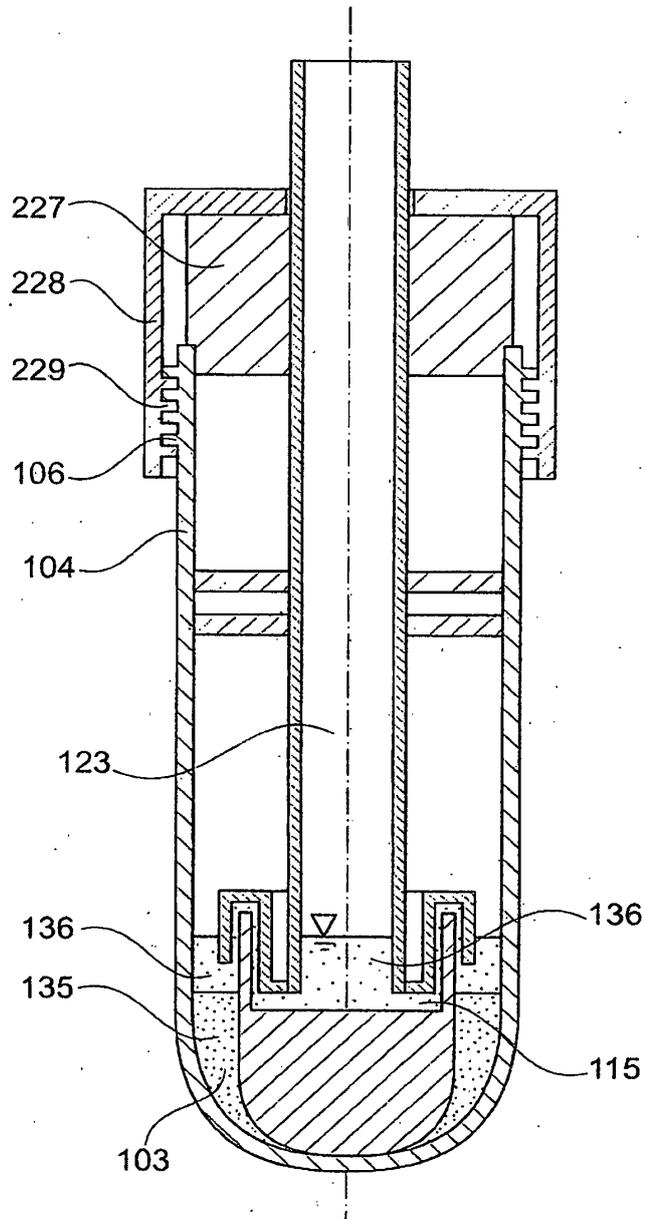


Fig. 12A

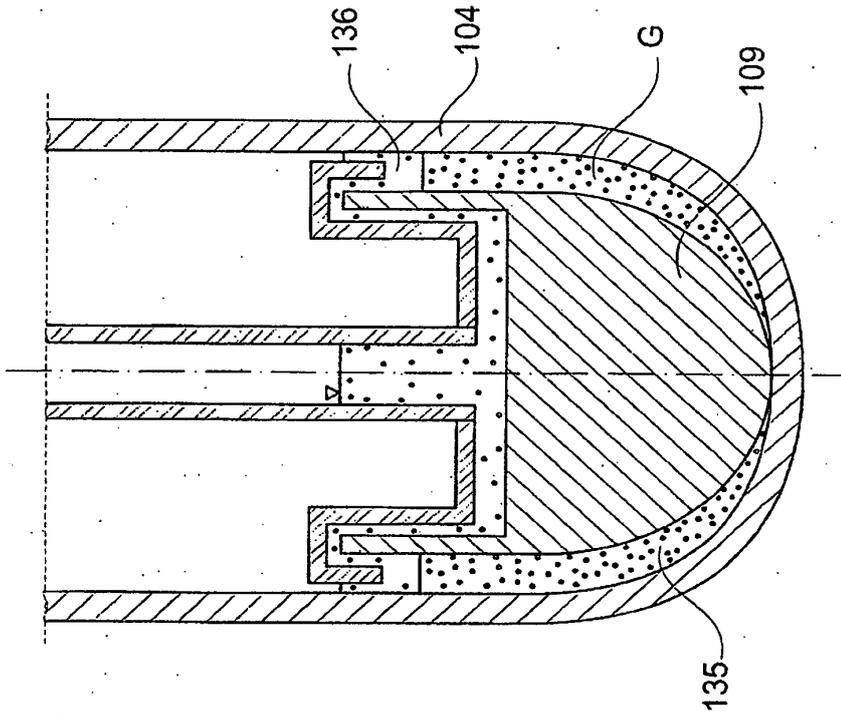


Fig. 12B

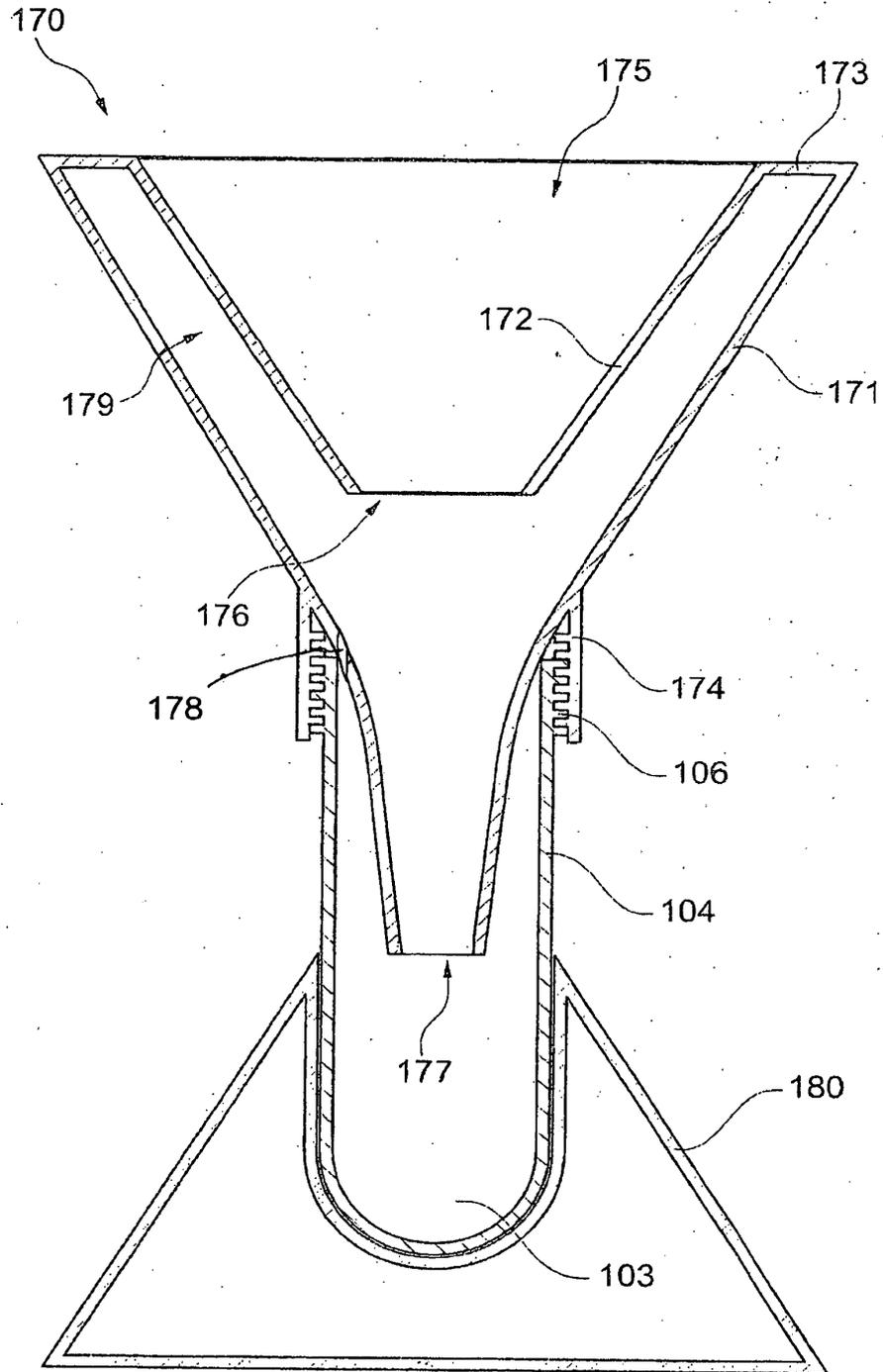


Fig. 13A

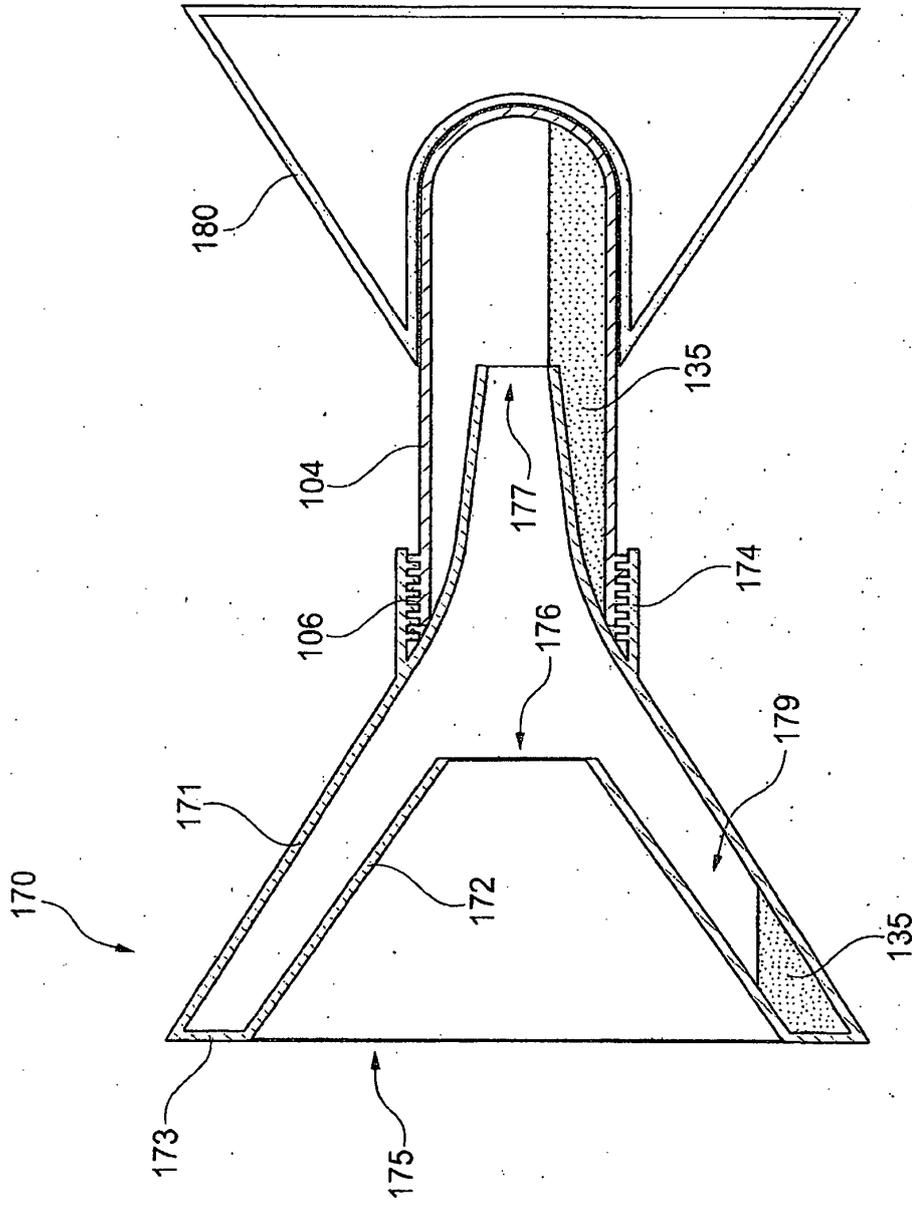


Fig. 13B