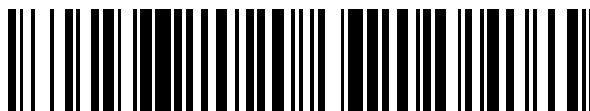


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 618 652**

51 Int. Cl.:

G01N 1/36 (2006.01)

G01N 1/31 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.10.2011 E 11184080 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.12.2016 EP 2439510**

54 Título: **Método y dispositivo para preparar tejido y molde para pretratar material tisular**

30 Prioridad:

06.10.2010 NL 2005461

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

21.06.2017

73 Titular/es:

**SYNOVATION B.V. (100.0%)
't Holland 31
6921 GX Duiven, NL**

72 Inventor/es:

**KUSTERS, RONALD JOHANNES WILHELMUS y
VAN DIJK, MARICUS JOHANNES**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 618 652 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

Método y dispositivo para preparar tejido y molde para pretratar material tisular

5 La invención se refiere a un método y un dispositivo para preparar material tisular. La invención también se refiere a un molde para tratar material tisular y un montaje de tal molde y un elemento de cierre. La invención se refiere además a un método y un dispositivo para extraer agua de material tisular y embeber el material tisular con un material de matriz en una operación.

10 El estudio de material tisular tiene lugar a gran escala para pruebas histológicas o patológicas, tal como con el propósito de realizar un diagnóstico. Se entiende aquí que tejido significa un material orgánico aislado de, por ejemplo, seres humanos, animales o plantas. Con el propósito de estudiar el material tisular, el material tisular se corta en secciones delgadas. Al montar posteriormente el tejido cortado en secciones sobre portaobjetos, el material tisular se puede estudiar bajo un microscopio. Sin embargo, tal material tisular aislado comprende una cantidad sustancial de agua. Esto hace difícil el corte del material en secciones e incrementa el riesgo de variaciones no deseables en el grosor de las secciones. También existe el riesgo durante el corte del material tisular en secciones de que el material tisular se comprima, reduciendo esto la fiabilidad de los resultados del estudio del tejido.

15 A fin de obviar las desventajas indicadas anteriormente, se conoce el pretratamiento del material tisular antes de que se corte en secciones. La preparación de la muestra prepara los especímenes de tejido para el seccionamiento, la tinción y el diagnóstico. El método de procesamiento en parafina conocido mueve especímenes de tejido a través de una serie de etapas que comprenden una etapa de fijación destinada a conservar el tejido; una etapa de pretratamiento que retira agua del espécimen al sumergirlo en, por ejemplo, etanol, aclarar el tejido mediante contacto con un agente aclarador tal como xileno e infiltrar el tejido con parafina; y una etapa de imbibición que permite la orientación del espécimen en un bloque de parafina u otro fluido de moldeo. Una etapa de seccionamiento final usando un microtomo produce secciones delgadas a partir del bloque, secciones que se sitúan sobre un portaobjetos para la tinción.

25 En la etapa de pretratamiento el material tisular se pone en un recipiente permeable a los líquidos pertinentes y se pone en contacto con los diferentes líquidos. Un dispositivo conocido para pretratar material tisular se describe por ejemplo en el documento US 2011/0171088 A1. Tal aparato (conocido en la técnica como un procesador de tejidos) comprende una cámara de tratamiento de tejido conectada a un número de recipientes para diferentes líquidos de pretratamiento tales como alcoholes, xileno y parafina. El material tisular se dispone en un recipiente permeable a los líquidos y se coloca en la cámara de tratamiento de tejido, en la que los líquidos fluyen secuencialmente a través de la cámara de tratamiento de tejido y el material tisular se pone en contacto con estos líquidos.

30 Con el propósito de embeber en un material de matriz el material tisular pretratado infiltrado con parafina, según el método conocido el material tisular se extrae del recipiente permeable y se pone en un molde. Un molde conocido aquí comprende un alojamiento provisto de un espacio receptor para el material tisular y una abertura para poner el tejido en el espacio receptor. Un molde conocido para la imbibición se describe en el documento WO 2009/152575 A1 y comprende, además del alojamiento y el espacio receptor, un recipiente permeable a parafina que funciona como una cubierta para el alojamiento. Después de la colocación del material tisular en el espacio receptor, el espacio receptor se cierra con la cubierta o el casete y el total se trata en un dispositivo de imbibición separado, que se describe asimismo en el documento WO 2009/152575 A1. Después de la imbibición del molde, el material tisular y la cubierta en un material de matriz, el molde se retira, en donde permanece la cubierta a la que está conectada una proyección en la forma del espacio receptor y que comprende el material tisular. Diversos materiales de matriz son adecuados con propósitos de imbibición. El único requisito previo es que el material de matriz se pueda llevar desde un primer estado, en el que el material de matriz es fluido con el propósito de embeber el material tisular a través de la penetración del material de matriz en el material tisular, hasta un segundo estado en el que el material de matriz se pueda cortar. Un material de matriz adecuado es la parafina. En el estado cortable el tejido se corta en secciones, se monta sobre un portaobjetos de vidrio y el material tisular está listo para ser estudiado. Durante el corte en secciones el material tisular embebido se asegura con la cubierta en el microtomo.

45 El método conocido descrito anteriormente para preparar material tisular es relativamente trabajoso e implica el riesgo de que material tisular se dañe innecesariamente durante la retirada del material tisular pretratado del recipiente y la colocación del mismo en un molde. El material tisular también se puede intercambiar indeseablemente con material tisular procedente de otro recipiente, reduciendo esto la fiabilidad del origen del material tisular. También es de gran importancia que el material tisular se ponga en la orientación correcta en el molde.

55 La solicitud de patente publicada de EE. UU. US 2008/0254504 divulga un método y un aparato para manejar muestras de tejido. La patente de EE. UU. 5.269.671 describe un aparato para embeber muestras de tejido, la patente de EE. UU. US 5.968.436 detalla un método para soportar fijamente un espécimen de biopsia y embeber un casete, la solicitud PCT WO 2006/060317 describe un aparato y un método para el procesamiento histológico de un espécimen de tejido con medios para mantener la orientación del espécimen a través del procesamiento, y la solicitud de patente publicada de EE. UU. 2010/0206226 divulga un aparato de tratamiento de trozos de tejido.

Por lo tanto, existe una necesidad de un método y un dispositivo para preparar material tisular en los que las

desventajas indicadas anteriormente se obvian al menos parcialmente.

Un objetivo de la presente invención es proporcionar la necesidad indicada anteriormente.

5 La invención proporciona el método para preparar material tisular de la reivindicación independiente 1, y el dispositivo para preparar material tisular de la reivindicación independiente 8. Las reivindicaciones dependientes especifican características preferidas pero opcionales.

La invención proporciona con este propósito un método para preparar material tisular en un dispositivo que comprende un recipiente para líquido y un soporte para soportar en el recipiente para líquido al menos un montaje de un molde y un elemento de cierre acoplado al mismo, comprendiendo el método las etapas de:

10 A) proporcionar al menos un montaje de un molde y un elemento de cierre, en donde el molde comprende un alojamiento provisto de un espacio receptor para el material tisular y una abertura para colocar el material tisular en el espacio receptor, y medios de acoplamiento para acoplar el elemento de cierre al molde, estando adaptado el elemento de cierre para cerrar el material tisular permeablemente a los líquidos en el espacio receptor;

B) colocar una cantidad de material tisular en el espacio receptor del molde;

15 C) cerrar permeablemente a los líquidos la cantidad de material tisular colocada en el espacio receptor al mover el elemento de cierre a una posición de cierre, en donde se evita el desplazamiento del material tisular colocado en el espacio receptor a través de la abertura y fuera del espacio receptor;

D) guiar el material tisular colocado en el espacio receptor al menos a través de un líquido hidrófilo, tal como una solución alcohólica, contenido dentro del recipiente para líquido del dispositivo, en donde se extrae agua del material tisular; y

20 E) embeber el material tisular colocado en el espacio receptor o el recipiente para líquido del dispositivo al rellenar al menos parcialmente el espacio receptor con un material de matriz; en donde el montaje de molde y elemento de cierre tiene una orientación relativa a una dirección de referencia, y la orientación en la etapa D) difiere de la orientación en la etapa E); y

25 en donde el dispositivo está adaptado para variar el nivel de un líquido en el recipiente para líquido y para ajustar la orientación del soporte (20) en el recipiente para líquido.

30 El método según la invención hace posible pretratar material tisular, tal como, por ejemplo, al extraer agua del material tisular colocado en el espacio receptor del molde, después de lo cual el material tisular pretratado se puede embeber inmediatamente en un material de matriz. No es necesario aquí sacar el material de un recipiente permeable a los líquidos separado y colocarlo en un molde asimismo separado. Esto se debe a que el molde aplicado en el método según la invención hace posible pretratar el material tisular colocado en el espacio receptor en el que el material tisular está encerrado permeablemente a los líquidos y la orientación del montaje de molde y elemento de cierre se puede cambiar. Debido a que el pretratamiento y la imbibición del material tisular se realizan consecutivamente, el método para preparar material tisular es menos trabajoso que el método conocido, y particularmente se reduce el riesgo de que el material tisular se dañe innecesariamente y/o el material tisular se intercambie.

35 Según una realización, el cerramiento del material tisular colocado en el espacio receptor comprende el acoplamiento de una parte de pared permeable a los líquidos con el molde y el desplazamiento de la parte de pared a una posición que cierre sustancialmente la abertura permeablemente a los líquidos. Una cantidad de material tisular que se va a estudiar se encierra de ese modo de una manera simple dentro del molde.

40 La invención también proporciona un dispositivo para preparar material tisular, que comprende un recipiente para líquido y un soporte para soportar en el recipiente para líquido al menos un montaje de un molde y un elemento de cierre como el descrito anteriormente acoplado al mismo, en donde el dispositivo está adaptado para variar el nivel del líquido en el recipiente para líquido y para ajustar la orientación del soporte en el recipiente para líquido. Al variar la orientación del soporte con relación a una dirección de referencia, por ejemplo la dirección horizontal, se varía asimismo la orientación de los montajes de molde y elemento de cierre recibidos en el recipiente. El dispositivo según la invención hace posible guiar una pluralidad de líquidos de pretratamiento, tales como, por ejemplo, un líquido hidrófilo, a través del material, en donde aire que posiblemente está presente puede escapar del molde. Con el propósito de variar el nivel de líquido en el recipiente, el dispositivo puede comprender, por ejemplo, una bomba para bombear líquido adentro y/o afuera del recipiente. El dispositivo también puede comprender una alimentación que desemboca en el recipiente para subir el nivel de líquido al alimentar líquido al recipiente y una descarga situada preferiblemente en o cerca de un fondo del recipiente y que desemboca en el recipiente para bajar el nivel de líquido en el recipiente al descargar líquido a través de la descarga.

55 En una realización el dispositivo se adapta para trasladar líquido contenido en el recipiente para líquido y el soporte uno con relación al otro. El material tisular y el líquido se pueden desplazar de ese modo uno con relación al otro, con lo que no solo se puede ampliar la superficie de contacto del material tisular sino con lo que el líquido que ya ha

entrado en contacto con el material tisular también se fuerza afuera del material tisular y se pone en contacto con líquido que todavía no ha entrado en contacto con el material tisular. Si el líquido es un líquido hidrófilo, el agua se puede extraer de ese modo del material tisular de un modo más eficaz, es decir dentro de un período más corto.

5 Usando el dispositivo según la invención, material tisular se puede guiar a través de diferentes líquidos de pretratamiento tales como un líquido hidrófilo, xileno, parafina y similares al colocar el montaje de molde y elemento de cierre en el recipiente para líquido, en donde el molde se provee en el espacio receptor del mismo con material tisular que se mantiene encerrado, y bajar y subir repetidamente el nivel del líquido de pretratamiento en el recipiente de modo que el material tisular esté repetidamente sustancialmente por encima y por debajo del nivel del líquido de pretratamiento, en donde durante la bajada y la subida del nivel del líquido de pretratamiento en el
10 recipiente el espacio receptor del molde mira respectivamente al menos parcialmente hacia abajo y hacia arriba. De ese modo, el líquido de pretratamiento se guía a través del material tisular, en donde aire que posiblemente está presente puede escapar del molde.

15 En una realización preferida adicional se proporciona un método en el que la orientación del montaje de molde y elemento de cierre es oblicua con relación a la dirección horizontal cuando el nivel del líquido de pretratamiento en el recipiente se eleva. Se entiende que oblicuo significa que los montajes de molde y elemento de cierre están orientados con un ángulo que difiere de cero con relación a la dirección horizontal. El ángulo oblicuo asciende preferiblemente a más de 45°, y más preferiblemente más de 60°. Aire presente en el material tisular puede escapar de este modo con relativa facilidad durante el llenado del recipiente para líquido.

20 En otra realización preferida más, se proporciona un método en el que la orientación del montaje de molde y elemento de cierre es sustancialmente vertical con relación a la dirección horizontal cuando el nivel del líquido de pretratamiento en el recipiente se baja. Líquido de pretratamiento todavía presente en el material tisular o el molde puede escapar de ese modo con relativa facilidad durante el drenaje del recipiente para líquido.

25 En otra realización preferida más, se proporciona un método en el que la orientación del montaje de molde y elemento de cierre es sustancialmente horizontal cuando se realiza la etapa E) en la que el espacio receptor se llena con un material de matriz y el material tisular colocado en el espacio receptor se embebe. Con este propósito, el nivel del material de matriz en el recipiente se sube hasta una altura a la que este material de matriz puede fluir hacia dentro del molde. Material de matriz presente en el material tisular o el molde se retiene de ese modo durante el drenaje del recipiente para líquido.

30 El método y el dispositivo según la invención hacen posible mejorar el pretratamiento y la imbibición de material tisular en un material de matriz adecuado para el propósito. El riesgo de que esté presente aire en, o en la proximidad inmediata de, el material tisular del que se retira el agua también se reduce, reduciendo de ese modo el riesgo de que el material tisular se dañe, particularmente durante el corte en secciones del material tisular embebido.

35 El dispositivo según la invención hace uso de un soporte en el que se recibe un número de montajes de molde y elemento de cierre. El soporte puede girar alrededor de un eje preferiblemente horizontal. A fin de asegurar que, durante las diferentes operaciones en las que el soporte se puede situar en diferentes posiciones orientadas con relación a la dirección horizontal, el material tisular recibido en el molde no pueda escapar pero los líquidos de pretratamiento y el material de matriz sin embargo puedan fluir apropiadamente a su través, la invención proporciona con este propósito un molde con medios de acoplamiento que están adaptados para acoplar un elemento de cierre al molde para cerrar el tejido permeablemente a los líquidos en el espacio receptor con el propósito de evitar el
40 desplazamiento de material tisular mantenido en el espacio receptor a través de la abertura y fuera del espacio receptor.

45 Los medios de acoplamiento pueden tomar muy diversas formas. Los medios de acoplamiento pueden comprender, por ejemplo, una banda fabricada de material elástico que se puede acoplar al alojamiento de modo que ese material tisular situado en el espacio receptor esté encerrado sesgadamente. En una realización, los medios de acoplamiento comprenden al menos un elemento de acoplamiento adaptado para acoplar el elemento de cierre al molde en acción combinada con al menos un elemento de contraacoplamiento que forma parte del elemento de cierre. Una cantidad de material tisular que se va a estudiar se puede encerrar de ese modo de forma simple en el molde. Debido a que el elemento de cierre encierra el material tisular permeablemente a los líquidos en el espacio receptor, el material tisular situado en el espacio receptor se puede poner en contacto con líquido hidrófilo, con lo que se puede extraer agua del material tisular. Se apunta en la presente que se entiende que permeable a los
50 líquidos significa que, mientras que el líquido se puede desplazar a través de la parte de pared, el material tisular no puede hacerlo. El elemento de cierre puede comprender, por ejemplo, una parte de pared que está provista de una pluralidad de aberturas pasantes en una disposición distribuida.

55 Aunque no se excluye un elemento de acoplamiento adaptado para acoplar el elemento de cierre en una sola posición al molde, en otra realización al menos un elemento de acoplamiento está adaptado para acoplar el elemento de cierre al molde para el desplazamiento entre una primera posición que deja la abertura sustancialmente despejada y una segunda posición que cierra sustancialmente la abertura permeablemente a los líquidos. Una cantidad de material tisular puede colocarse de ese modo fácilmente en el espacio receptor en la posición del elemento de cierre que deja la abertura sustancialmente despejada, después de lo cual el material tisular colocado

5 en el espacio receptor se encierra en el espacio receptor al desplazar el elemento de cierre hasta una posición que cierra sustancialmente la abertura permeablemente a los líquidos. Debido a que el elemento de cierre se acopla al molde durante el desplazamiento del elemento de cierre hasta una posición que cierra sustancialmente la abertura permeablemente a los líquidos, se reduce el riesgo del desplazamiento no deseable del elemento de cierre durante la colocación del material tisular en el espacio receptor.

10 En otra realización, los medios de acoplamiento comprenden un primer elemento de acoplamiento y un segundo elemento de acoplamiento situado a una distancia del primer elemento de acoplamiento para acoplar el elemento de cierre al molde en dos posiciones de acoplamiento que están a una distancia mutua en acción conjunta con un primer elemento de contraacoplamiento que forma parte del elemento de cierre y un segundo elemento de contraacoplamiento situado a una distancia del primer elemento de acoplamiento. Se obtiene de ese modo un método fiable para acoplar el elemento de cierre al molde. Esto reduce el riesgo de que el elemento de cierre acoplado al molde se separe del molde.

15 Para una colocación inequívoca de la parte de pared en una posición que cierre sustancialmente la abertura permeablemente a los líquidos, el molde comprende un tope que está adaptado para limitar el desplazamiento de una parte de pared acoplada al molde en una posición que cierra sustancialmente la abertura permeablemente a los líquidos. Esto incrementa la fiabilidad con la que el material tisular se encierra en el espacio receptor. No se excluye encerrar el tejido desplazablemente en el espacio receptor. Sin embargo, si se quiere encerrar tejido sesgadamente en el espacio receptor y se tienen que probar múltiples trozos individuales de material tisular, en donde los trozos individuales de material tisular tienen dimensiones predeterminadas, el sesgo con el que los trozos individuales de material tisular colocado en los espacios receptores se mantiene sustancialmente constante. Los trozos individuales de material tisular se preparan de ese modo de una manera más uniforme.

20 Un acoplamiento simple del elemento de cierre al molde se obtiene cuando el alojamiento comprende en una primera cara del molde una primera pared estática que se extiende desde el tope, en donde la primera pared estática está provista en el extremo libre de la misma de un primer elemento de acoplamiento formado como una pestaña, y comprende en una segunda cara del molde opuesta a la primera cara una segunda pared estática que se extiende desde el tope y formada como un segundo elemento de acoplamiento, en donde la segunda pared estática encierra un ángulo con el tope. El elemento de cierre se acopla al molde al colocar el elemento de cierre entre la pestaña y el tope y entre la segunda pared estática y el tope. La primera pared estática y la pestaña proporcionada en el extremo libre de la misma y la segunda pared estática están formadas preferiblemente de modo que el elemento de cierre y/o la pestaña y/o la segunda pared estática tengan que deformarse, con lo que el elemento de cierre se acopla en modo inmovilizado al molde.

25 Aunque el material tisular se puede poner en contacto hasta un punto suficiente con un líquido hidrófilo para extraer agua del material tisular cuando al alojamiento del molde no se le da una forma permeable a los líquidos, en otra realización una pared de al menos el espacio receptor del alojamiento del molde es permeable a los líquidos. La puesta en contacto del material tisular del que se ha de extraer el agua se mejora de ese modo, puesto que durante el guiado del material tisular a través del líquido hidrófilo se obtiene un flujo del líquido hidrófilo a través del molde y junto al material tisular. Es ventajoso en la presente que una pared del espacio receptor del alojamiento opuesta a la abertura sea permeable a los líquidos. Durante el guiado del material tisular a través del líquido hidrófilo se obtiene de ese modo un buen flujo del líquido hidrófilo junto y a través del material tisular, con lo que la extracción de agua del material tisular tiene lugar eficazmente, es decir homogéneamente y en un período relativamente corto.

30 Cuando una pared de al menos el espacio receptor de un alojamiento toma una forma permeable a los líquidos, la parte permeable a los líquidos del alojamiento se puede adaptar con el propósito de embeber el material tisular con un material de matriz de modo que no se permita líquido a su través. La parte permeable a los líquidos del alojamiento, por ejemplo, puede estar cubierta así con una cobertura que (sustancialmente) bloquea los líquidos, tal como una película opcionalmente autoadhesiva. En una realización la pared permeable a los líquidos del alojamiento está adaptada para permitir el paso de un líquido hidrófilo para extraer agua del material tisular colocado en el espacio receptor y para bloquear el material de matriz en estado líquido para embeber el material tisular colocado en el espacio receptor. De ese modo el molde se puede usar sin modificaciones adicionales para extraer agua del material tisular al guiar el tejido a través de un líquido hidrófilo así como embeber con un material de matriz el material tisular del que se ha retirado el agua. El material de matriz tendrá después de todo una viscosidad superior que el líquido hidrófilo, con lo que el líquido hidrófilo se deja a través del alojamiento pero el material de matriz será mantenido de nuevo por las partes de pared permeables a los líquidos.

35 El molde puede estar fabricado de diversos materiales. Es deseable en la presente que al menos la parte del alojamiento del molde que encierra el espacio receptor sea hasta cierto punto inerte de modo que no afecte a las propiedades del material tisular que se va a estudiar, o al menos solo lo haga ligeramente. Si se desea que el líquido hidrófilo y/o el material de matriz tengan una temperatura incrementada predeterminada, es deseable que las propiedades del material del que está fabricado el molde no estén afectadas, o al menos estén afectadas hasta un punto limitado, por esta temperatura superior. Un ejemplo de una temperatura superior es 60°C, a la que la parafina es líquida. En una realización el molde está fabricado sustancialmente de un material seleccionado del grupo que consiste en: un metal, una aleación metálica, en particular acero, una aleación de acero, aluminio, una aleación de aluminio, plástico o combinaciones de los mismos. Tales materiales combinan buena resistencia e inercia y se

pueden procesar fácilmente.

5 En una realización adicional el molde comprende un retenedor para material tisular colocado en el espacio receptor, en donde el retenedor está fabricado de material flexible cortable con un microtomo y en el que al menos durante la preparación y el estudio de material tisular el material es resistente a colorantes, disolventes y productos químicos usados para preparar material tisular. Un usuario puede así colocar el material tisular en una posición deseada en el espacio receptor. Existe un riesgo aquí de que el material tisular se coloque en una posición no deseada durante la colocación del mismo en el molde y/o debido a la imbibición del mismo en un material de matriz. Debido a que el retenedor es cortable con un microtomo, el montaje de material tisular, retenedor y material de matriz se puede sacar como un todo del espacio receptor y cortar en secciones usando un microtomo. Un microtomo es un aparato con el que se pueden cortar rodajas muy delgadas con el propósito de elaborar preparaciones microscópicas.

10 En una realización ventajosa el retenedor está adaptado para mantener el material tisular en una orientación predeterminada. De ese modo un usuario puede colocar material tisular en el espacio receptor del molde de modo que un usuario sepa cómo está orientado el material tisular con relación a las cuchillas cortadoras del microtomo. De ese modo, un usuario puede ejercer influencia sobre la orientación del material tisular cortado en secciones, y así sobre la fiabilidad y la exactitud del análisis del material tisular.

15 En una realización adicional el retenedor comprende medios de sujeción. Esto reduce el riesgo de que la colocación y la orientación del material tisular colocado en el espacio receptor del molde cambien durante, por ejemplo, la imbibición del mismo con un material de matriz. Los medios de sujeción comprende particularmente una pluralidad de pernos que se extienden desde el retenedor con el propósito de soportar el material tisular sobre y/o entre los pernos. Se proporciona de ese modo un retenedor que es simple de producir, en el que los pernos proporcionan al usuario la opción de tener los pernos sujetos al material tisular en muchas posibles orientaciones con relación al retenedor.

20 El retenedor puede estar fabricado de diversos materiales. Lo que es importante es que el material sea flexible y cortable con un microtomo y que al menos durante la preparación y el estudio del material tisular el material sea resistente a colorantes, disolventes y productos químicos usados para preparar el material tisular. Se encuentra que en retenedor particularmente adecuado está fabricado sustancialmente de un caucho silicónico y/o hidrogel. Tales materiales no solo tienen las propiedades indicadas anteriormente sino que también se pueden conformar fácilmente y son homogéneos, reduciendo de ese modo el riesgo de que un usuario se distraiga o se confunda durante el estudio de material tisular preparado.

25 La invención también proporciona un montaje de un molde según la invención y un elemento de cierre acoplado al molde. Para las ventajas del montaje según la invención se hace referencia al molde según la invención que se describe anteriormente.

30 En una realización el elemento de cierre comprende una parte de pared. Con el propósito de permitir el paso de líquido, la parte de pared puede comprender una película permeable a los líquidos. La parte de pared también puede estar provista de una pluralidad de aberturas pasantes en una disposición distribuida. Tal parte de pared es simple de producir y es resistente, puede estar fabricada de diversos materiales y particularmente está fabricada de un material seleccionado del grupo que consiste en: un metal, una aleación metálica, en particular acero, una aleación de acero, aluminio, una aleación de aluminio, plástico y combinaciones de los mismos. Tales materiales combinan buena resistencia e inercia y se pueden procesar fácilmente.

35 En una realización adicional se proporciona a la parte de pared, en la posición que cierra sustancialmente la abertura permeablemente a los líquidos, de paredes estáticas en la cara remota del espacio receptor, paredes estáticas que encierran un espacio. De ese modo se obtiene un espacio para recibir el material de matriz. De ese modo, se reduce el riesgo de que el material de matriz se encuentre en posiciones no deseables durante la imbibición del tejido. El espacio para recibir el material de matriz también puede estar al menos parcialmente relleno con el material de matriz. Esto refuerza la conexión del material tisular embebido con la parte de pared permeable a los líquidos ya que se obtiene un anclaje mecánico del material tisular embebido a la parte de pared permeable a los líquidos. Una fuerte conexión del material tisular embebido y la parte de pared permeable a los líquidos es ventajosa cuando la parte de pared permeable a los líquidos se usa para mantener el material tisular embebido durante el corte del material tisular en secciones.

40 A fin de seguir el material tisular retrospectivamente hasta las diferentes fuentes del material tisular, en una realización adicional el molde y/o la parte de pared están provistas de al menos una superficie informativa para disponer datos. Puesto que generalmente se estudian y analizan en los laboratorios grandes cantidades de muestras de tejido, existe el riesgo de que ya no se pueda seguir el origen del material tisular. Al proveer al molde y/o la parte de pared de al menos una superficie informativa para disponer datos, el origen del material se puede seguir retrospectivamente al menos de manera mejorada hasta la hormona estimulante de gónadas a partir de la cual se origina. Esto, por ejemplo, puede ser un número unido a etiquetas en un cuaderno, una base de datos o un número de registro de un paciente. Estos números, por ejemplo, se pueden disponer a mano usando un bolígrafo. La superficie informativa también puede estar hecha de un material que se puede decolorar por radiación electromagnética, en donde el material que se puede decolorar por radiación electromagnética comprende un

pigmento absorbente de radiación. El pigmento absorbente de radiación puede comprender en la presente al menos uno de los siguientes componentes: mica, un pigmento perlescente, caolín, aluminio metálico, silicato de aluminio, trióxido de antimonio, óxido de hierro, óxido de estaño, óxido de titanio e hidróxido de aluminio.

5 La invención se elucidará sobre la base de realizaciones ejemplares no limitativas como las mostradas en las figuras. En las que:

la figura 1a es una vista frontal de un molde según la invención;

la figura 1b es una vista lateral del molde según la figura 1a;

la figura 2 es una vista en perspectiva del molde según la figura 1a;

la figura 3 es una vista en perspectiva de un elemento de cierre según el montaje de las figuras 4a y 4b;

10 la figura 4a es una vista frontal de un molde según la invención y un elemento de cierre acoplado al molde;

la figura 4b es una vista lateral del montaje según la figura 4a;

la figura 5a es una vista lateral de un bastidor para mantener una pluralidad de moldes de un dispositivo para preparar material tisular según la invención, en donde el bastidor está orientado de modo que las aberturas de los moldes miren hacia arriba;

15 la figura 5b es una vista lateral del bastidor de la figura 5a, en donde el bastidor está orientado de modo que las aberturas de los moldes miren asimismo hacia arriba;

la figura 5c es una vista lateral del bastidor de la figura 5a, en donde el bastidor está orientado de modo que las aberturas de los moldes miren hacia abajo; y

20 la figura 5d es una vista lateral del bastidor de la figura 5a, en donde el bastidor está orientado de modo que las aberturas de los moldes miren hacia arriba y en donde los moldes se extienden de forma sustancialmente horizontal.

En referencia a las figuras 1a y 1b, se muestra un molde para contener material tisular indicado en su totalidad con 1. El molde 1 comprende un alojamiento 2 formado integralmente que está fabricado de un polioximetileno (POM) y que está provisto de un espacio 3 receptor para el material tisular. El alojamiento 2 también comprende una abertura 4 (véase además la figura 2) para colocar el material tisular en el espacio 3 receptor. El alojamiento 2 comprende una parte 2a de pared plana que conecta la abertura 4 y que encierra la abertura 4. El alojamiento 2 comprende en una primera cara 1a del molde 1 una primera pared 2b estática que se extiende desde la parte 2a de pared plana, en donde la pared 2b estática está provista en el extremo libre de la misma de una pestaña 2c. En una segunda cara 1b del molde 1 el molde 1 comprende una segunda pared 2d estática, en donde la segunda pared estática encierra un ángulo V con la parte 2a de pared plana, en donde el ángulo V es aproximadamente 45° . También conectados a la parte 2a de pared plana hay dos salientes 7 que se extienden a lo largo del espacio 3 receptor y forman un tope para que un elemento 6 de cierre se acople al molde 1. La pestaña 2c y la segunda pared 2d estática forman de ese modo dos medios de acoplamiento que se encuentran a una distancia mutua para acoplar el elemento 6 de cierre al molde 1 con el propósito de encerrar el material tisular permeablemente a los líquidos en el espacio 3 receptor (véanse las figuras 4a y 4b). Con este propósito, los bordes del elemento 6 de cierre se extienden respectivamente entre la segunda pared 2d estática y la parte 2a de pared plana y entre la pestaña 2c y la parte 2a de pared plana (véanse las figuras 4a y 4b). El elemento 6 de cierre descansa aquí sobre los salientes 7. Un elemento 6 de cierre acoplado de tal modo al molde 1 asegura evitar el desplazamiento del material tisular mantenido en el espacio 3 de cierre a través de la abertura 4 y fuera del espacio 3 receptor. Aunque no se excluye que el elemento 6 de cierre esté sesgado respectivamente entre la segunda pared 2d estática y la parte 2a de pared plana y entre la pestaña 2c y la parte 2a de pared plana, en la realización mostrada aquí el elemento de cierre es recibido móvilmente con relación al alojamiento 2 del molde 1. A un fondo 2e del espacio 3 receptor también se le puede dar aquí una forma permeable a los líquidos, por ejemplo al proveer al fondo 2e de una pluralidad de aberturas pasantes dispuestas en el fondo 2e. El líquido llevado al espacio receptor se puede descargar de ese modo a través del fondo 2e permeable a los líquidos.

45 En referencia a la figura 3, se muestra un elemento 6 de cierre fabricado sustancialmente de polioximetileno (POM). El elemento 6 de cierre comprende una parte de pared incluida como el fondo 8, en donde el fondo 8 está provisto de una pluralidad de aberturas 9 pasantes en una disposición distribuida. Las paredes 10a, 10b, 10c, 10d estáticas conectan con el fondo 8, encerrando las paredes 10a, 10b, 10c, 10d estáticas un espacio 11. Las paredes 10a, 10b, 10c estáticas se extienden aquí transversalmente del fondo 8 y la pared 10d estática encierra un ángulo \exists con el fondo 8, en donde el ángulo \exists es aproximadamente 45° . El elemento 6 de cierre comprende una superficie informativa para disponer datos formada por la pared 10d estática. La pared 10d estática está fabricada con este propósito de un material que se puede decolorar por radiación electromagnética, en donde el material que se puede decolorar por radiación electromagnética comprende silicato de aluminio con el propósito de absorber radiación.

En referencia a las figuras 4a y 4b, se muestra un montaje de un molde 1 según la figura 1a y un elemento 6 de

cierre según la figura 3 acoplado al molde 1.

La preparación del material tisular procede como sigue:

En la realización mostrada aquí una cantidad de material tisular aislado de un cuerpo humano, tal como un tejido tumoral, se coloca en el espacio 3 receptor del molde 1. Sin embargo, también se puede colocar en el espacio 3 receptor del molde 1 material aislado de, por ejemplo, animales o plantas. A continuación, el elemento 6 de cierre se acopla al molde 1. La pared 10d estática del elemento 6 de cierre se coloca con este propósito entre la parte 2a de pared plana y la segunda pared 2d estática. El elemento 6 de cierre está acoplado al molde como se muestra en las figuras 4a y 4b al trasladar la pared 10b estática del elemento 6 de cierre en la dirección de la pestaña 2c y forzarla bajo la pestaña 2c al deformar elásticamente la pestaña 2c y la pared 2b estática del molde 1. El elemento de cierre descansa aquí sobre los salientes 7. El material tisular colocado en el espacio 3 receptor está encerrado aquí en el espacio 3 receptor en la posición que cierra la abertura 4 permeablemente a los líquidos mediante el elemento 6 de cierre acoplado al molde 1. Se extrae agua del material tisular al guiar posteriormente el molde 1, provisto del material tisular encerrado en el espacio 3 receptor, a través de un líquido hidrófilo tal como una solución alcohólica. El nivel del líquido hidrófilo con relación al molde 1 preferiblemente se baja y se sube repetidamente aquí, en donde el material tisular se sitúa repetidamente sustancialmente por encima y por debajo del nivel del líquido hidrófilo. Durante la subida y la bajada del nivel del líquido hidrófilo con relación al material tisular, el espacio 3 receptor del molde 1 respectivamente mira respectivamente hacia abajo y hacia arriba. Aire presente en el material tisular se escapará de ese modo del material tisular, con lo que la extracción de agua tiene lugar de modo mejorado, es decir en un período más corto en el que se extrae una cantidad mayor de agua. Después de la extracción de agua del material tisular, el espacio 3 receptor se rellena con parafina, al tener el flujo de parafina a través del fondo 8 del elemento 6 de cierre, que está provisto de una pluralidad de aberturas 9 pasantes en una disposición distribuida y es así permeable a los líquidos, adentro del espacio 3 receptor, con lo que el material tisular que está colocado en el espacio 3 receptor y del que se ha retirado agua se embebe con parafina. Con este propósito, la parafina se puede alimentar de modo simple a través del elemento 6 de cierre acoplado al molde 1 y adentro del espacio 3 receptor. El espacio 11 encerrado por las paredes 10a, 10b, 10c, 10d estáticas también está aquí al menos parcialmente relleno con parafina. La parafina presente en el espacio 3 receptor y el espacio 11 encerrado por las paredes 10a, 10b, 10c, 10d estáticas forma aquí un todo y de ese modo forma una conexión anclada mecánicamente con el elemento 6 de cierre.

El material tisular se prepara de ese modo y se puede procesar adicionalmente. Con este propósito, el material tisular se debe cortar en secciones. Estos se puede hacer de modo simple como sigue. El elemento 6 de cierre se desacopla del molde 1, en donde la parafina presente en el espacio 3 receptor y el espacio 11 encerrado por las paredes 10a, 10b, 10c, 10d estáticas, y de ese modo el material tisular, se libera asimismo del molde 1. Al sujetar a continuación el elemento 6 de cierre con un dispositivo de corte, preferiblemente sobre una o más de las paredes 10a, 10b, 10c estáticas, el material tisular se puede cortar en secciones fácilmente. Debido a que la pared 10d estática está provista de una superficie informativa, los datos del material tisular se acoplan al material tisular durante la preparación y el corte del mismo en secciones. Esto disminuye o incluso reduce hasta cero el riesgo de que el origen del material tisular ya no se pueda seguir retrospectivamente.

En referencia a la figura 5a, se muestra un bastidor 20 que está conectado para la rotación alrededor de un eje 21 a un armazón (no mostrado) de un dispositivo, no mostrado adicionalmente con detalle, para preparar material tisular. El bastidor 20 está fabricado de plástico y comprende dos paredes 22 laterales, entre las que se extienden elementos 23 de soporte. Entre los elementos 23 de soporte se pueden colocar moldes 1 (los moldes 1 son según la invención y por lo tanto están provistos de elementos de cierre) para soportar los moldes 1 entre los elementos 23 de soporte. El bastidor 20 provisto de moldes 1 se coloca en un recipiente para líquidos de pretratamiento, de modo que el bastidor 20 pueda girar alrededor del eje 21. Con este propósito, el dispositivo está provisto de medios de accionamiento tales como un motor de accionamiento. La orientación horizontal del bastidor 20 mostrada aquí proporciona una orientación oblicua de los moldes 1 con relación a la dirección horizontal. Esta orientación es apropiada cuando el nivel del líquido de pretratamiento en el recipiente se eleva desde el fondo del recipiente hasta más allá del nivel horizontal del bastidor 20. De este modo, aire posiblemente presente en el tejido se puede desplazar ascendentemente a través del líquido y fuera del tejido durante el relleno del recipiente con líquido de pretratamiento. En la figura 5a los moldes están orientados con un ángulo con la dirección horizontal de aproximadamente 45°.

En la orientación mostrada en la figura 5b, el bastidor 20 se hace girar en el sentido de las agujas del reloj alrededor del eje 21 a través de un arco predeterminado con relación a la orientación mostrada en la figura 5a. En la orientación mostrada en la figura 5c, el bastidor 20 se hace girar en sentido contrario al de las agujas del reloj alrededor del eje 21 a través de un arco predeterminado. En la orientación mostrada aquí, líquido hidrófilo puede penetrar fácilmente en el tejido colocado en el molde 1.

En la orientación mostrada en la figura 5d, el bastidor 20 se hace girar en el sentido de las agujas del reloj alrededor del eje 21 con relación a la orientación mostrada en la figura 5a de modo que el molde se extienda de forma sustancialmente horizontal, en donde las aberturas 4 de los moldes 1 miran hacia arriba. En la orientación mostrada aquí, los moldes 1 se pueden rellenar de manera simple con parafina con el propósito de embeber el tejido del que se ha extraído el agua. Cuando los moldes 1 se han rellenado con parafina, los moldes 1 se pueden retirar del

bastidor 20, después de lo cual la parafina se enfría.

Para permitir el corte de secciones, el alojamiento se separa del elemento de cierre saturado con parafina, en donde el material tisular asimismo embebido en parafina permanece unido al elemento de cierre y está asegurado con el elemento de cierre en el microtomo.

- 5 Será evidente que la invención no se limita a las realizaciones ejemplares mostradas y descritas aquí, sino que dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas son posibles numerosas variantes que serán evidentes para el experto en este campo. Así, es posible, por ejemplo, disponer una pluralidad de bastidores en el soporte que pueden girar cada uno alrededor de un eje horizontal.

- 10 El método y el dispositivo según la invención hace posible preparar material tisular en un solo dispositivo, en donde ya no es necesario retirar el material tisular pretratado de un soporte y colocarlo en un molde. Al proporcionar un montaje de un molde y un elemento de cierre para el molde que es permeable a líquidos, más específicamente los líquidos de tratamiento, se hace posible ahora dar al material tisular encerrado en el molde un pretratamiento y embeberlo en un material de matriz sin que el material tisular abandone o tenga que abandonar el molde.

REIVINDICACIONES

1. Método para preparar material tisular en un dispositivo que comprende un recipiente para líquido y un soporte (20) para soportar en el recipiente para líquido al menos un montaje de un molde (1) y un elemento (6) de cierre acoplado al mismo, comprendiendo el método las etapas de:
- 5 A) proporcionar al menos un montaje de un molde (1) y un elemento (6) de cierre, en donde el molde (1) comprende un alojamiento (2) provisto de un espacio (3) receptor para el material tisular y una abertura (4) para colocar el material tisular en el espacio (3) receptor, y medios (2c, 2d) de acoplamiento para acoplar el elemento (6) de cierre al molde (1), estando adaptado el elemento (6) de cierre para cerrar el material tisular permeablemente a los líquidos en el espacio (3) receptor;
- 10 B) colocar una cantidad de material tisular en el espacio (3) receptor del molde (1);
- C) cerrar permeablemente a los líquidos la cantidad de material tisular colocada en el espacio (3) receptor al mover el elemento (6) de cierre a una posición de cierre, en donde se evita el desplazamiento del material tisular colocado en el espacio (3) receptor a través de la abertura (4) y fuera del espacio (3) receptor;
- 15 D) guiar el material tisular colocado en el espacio (3) receptor al menos a través de un líquido de pretratamiento, tal como una solución alcohólica, contenido dentro del recipiente para líquido del dispositivo, en donde se extrae agua del material tisular; y
- E) embeber el material tisular colocado en el espacio (3) receptor al rellenar al menos parcialmente el espacio (3) receptor con un material de matriz;
- 20 en donde el montaje de molde (1) y elemento (6) de cierre tiene una orientación relativa a una dirección de referencia, caracterizándose el método por que la orientación en la etapa D) difiere de la orientación en la etapa E); y por que el dispositivo está adaptado para variar el nivel de un líquido en el recipiente para líquido y para ajustar la orientación del soporte (20) en el recipiente para líquido.
2. Método según la reivindicación 1, en el que el guiado del material tisular a través del líquido de pretratamiento comprende colocar el montaje de molde (1) y elemento (6) de cierre en un recipiente para el líquido de pretratamiento, en donde el molde (1) está provisto en el espacio (3) receptor del mismo de material tisular que se mantiene encerrado; y bajar y subir repetidamente el nivel del líquido de pretratamiento en el recipiente de modo que el material tisular se encuentre repetidamente, respectivamente, sustancialmente por encima y por debajo del nivel del líquido de pretratamiento, en donde durante la bajada y la subida del nivel del líquido de pretratamiento en el recipiente para el líquido de pretratamiento, la abertura (4) del alojamiento (2) del molde (1) respectivamente mira al menos parcialmente hacia abajo y hacia arriba.
- 25 30
3. Método según la reivindicación 2, en el que la orientación del montaje de molde y elemento de cierre es oblicua con relación a la dirección horizontal cuando se sube el nivel del líquido de pretratamiento en el recipiente.
4. Método según la reivindicación 3, en el que el ángulo oblicuo asciende a más de 45° con relación a la dirección horizontal.
- 35 5. Método según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en donde la orientación del montaje de molde y elemento de cierre es sustancialmente vertical con relación a la dirección horizontal cuando se baja el nivel del líquido de pretratamiento en el recipiente.
6. Método según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la orientación del montaje de molde y elemento de cierre es sustancialmente horizontal cuando se realiza la etapa E) en la que el espacio receptor se rellena con un material de matriz y el material tisular colocado en el espacio receptor se embebe.
- 40 7. Método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el líquido de pretratamiento comprende un líquido hidrófilo.
8. Dispositivo para preparar material tisular, que comprende un recipiente para líquido y un soporte (20) para trasladar en el recipiente para líquido al menos un montaje de un molde (1) y un elemento de cierre (6) acoplado al mismo, en donde el molde comprende un alojamiento provisto de un espacio receptor para el material tisular y una abertura para colocar el material tisular en el espacio receptor, y medios de acoplamiento para acoplar el elemento de cierre al molde, estando adaptado el elemento de cierre para encerrar el material tisular permeablemente a los líquidos en el espacio receptor, en donde el dispositivo está adaptado para variar el nivel del líquido en el recipiente para líquido, caracterizándose el dispositivo por que está adaptado para ajustar la orientación del soporte (20) en el recipiente para líquido.
- 45 50
9. Dispositivo según la reivindicación 8, en donde el dispositivo está adaptado para trasladar el soporte (20) con relación al líquido contenido en el recipiente para líquido.

10. Dispositivo según la reivindicación 8 o 9, que comprende un soporte (20) en el que se puede recibir un número de montajes de molde y elemento de cierre, en donde el soporte puede girar alrededor de un eje (21) preferiblemente horizontal.

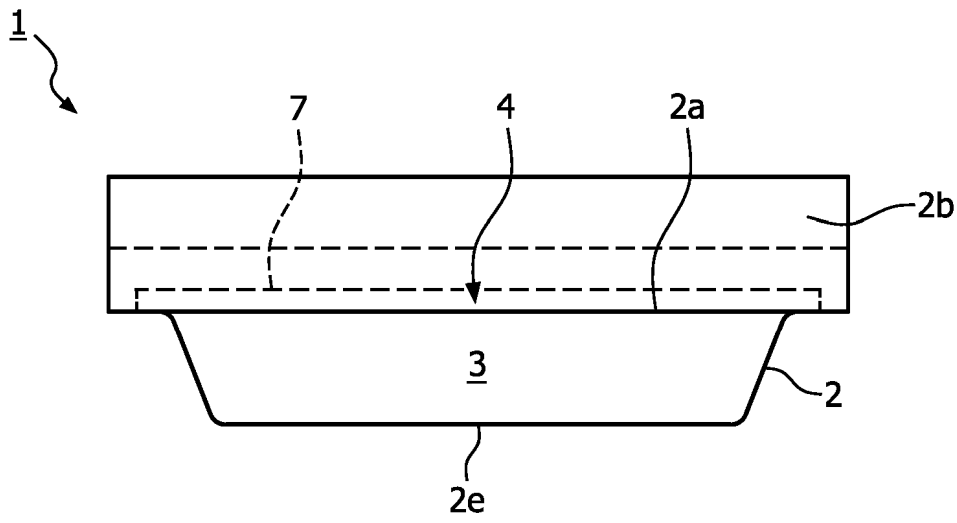


FIG. 1a

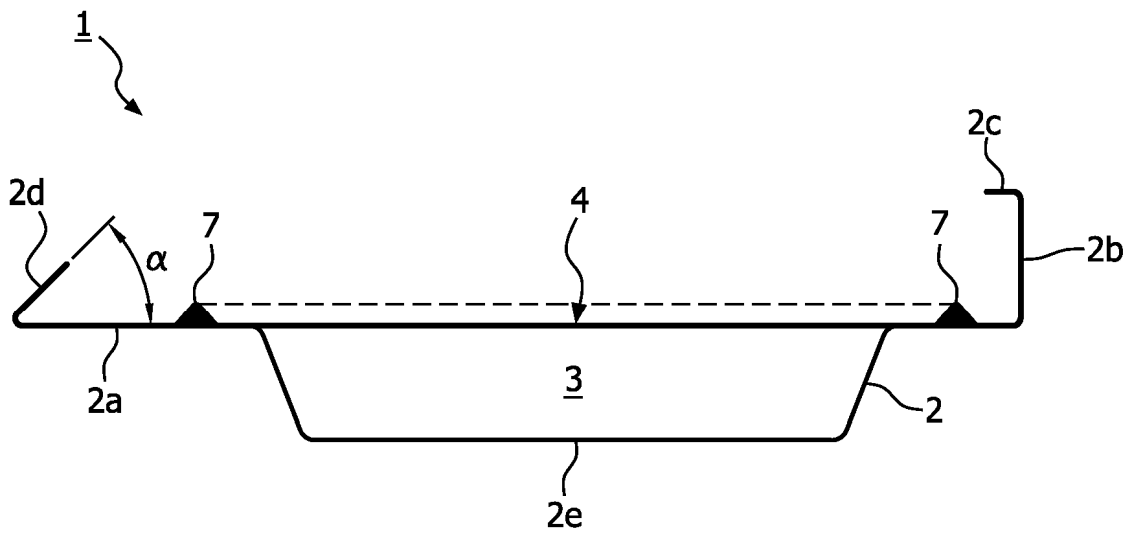


FIG. 1b

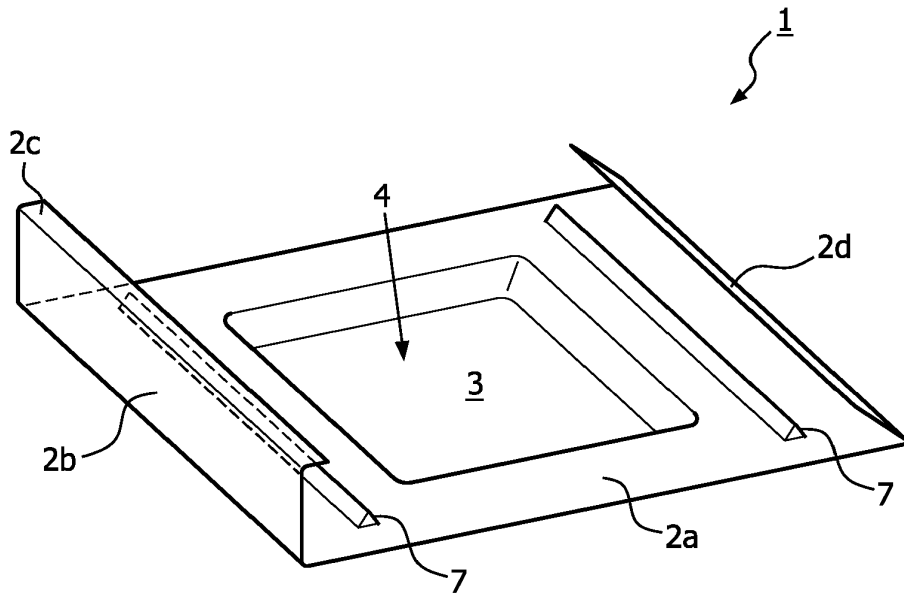


FIG. 2

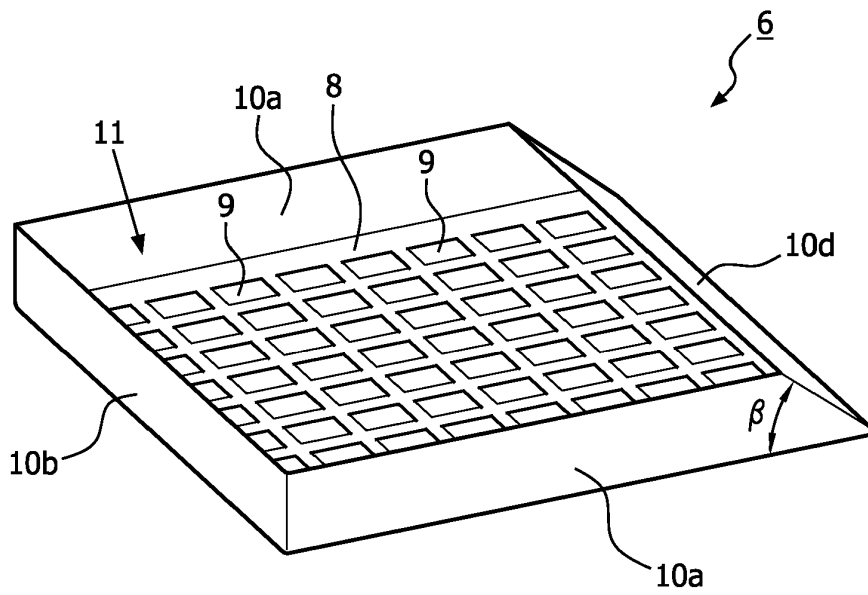
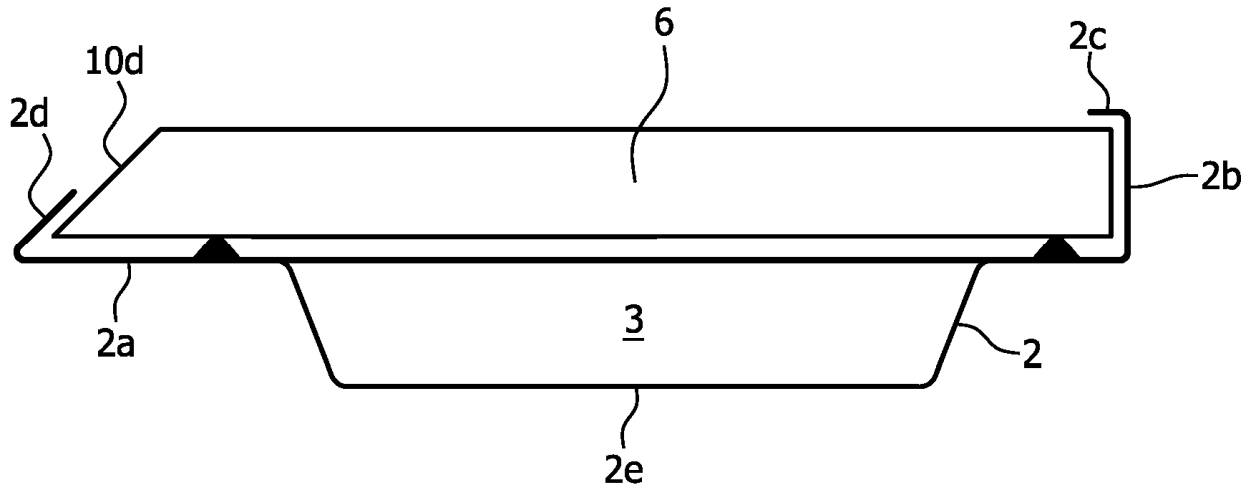
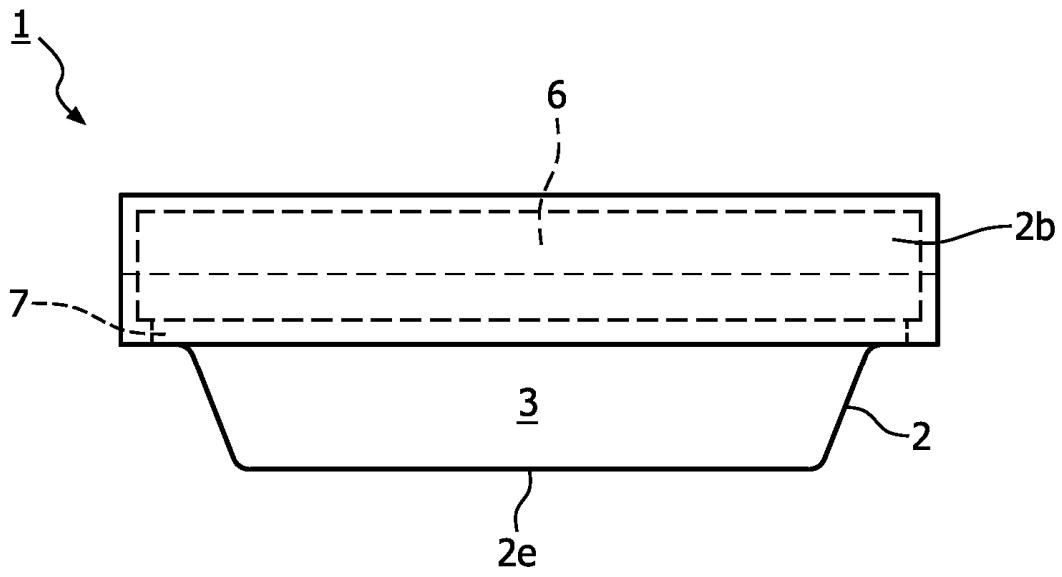


FIG. 3



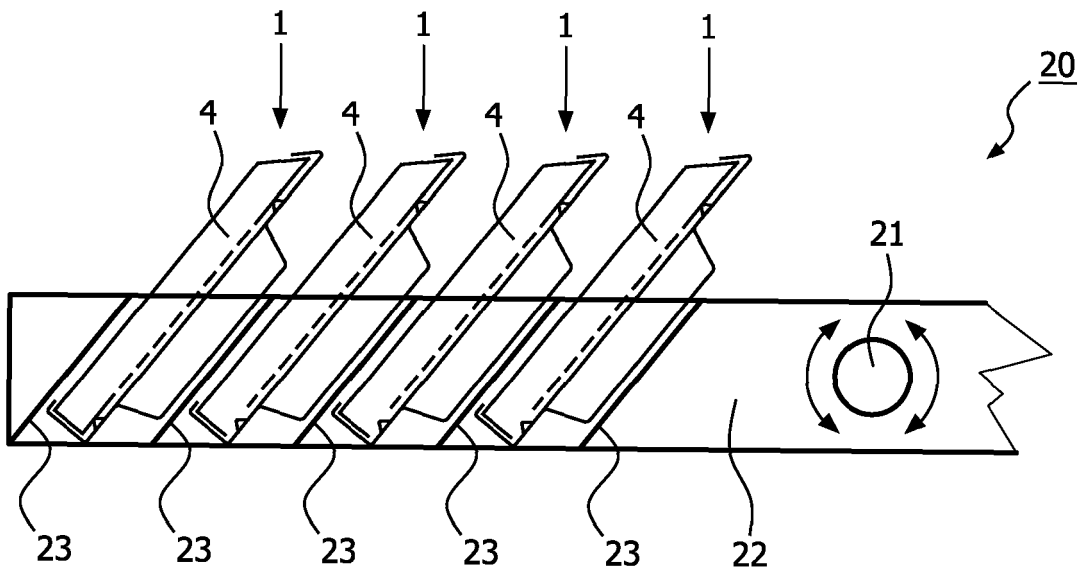


FIG. 5a

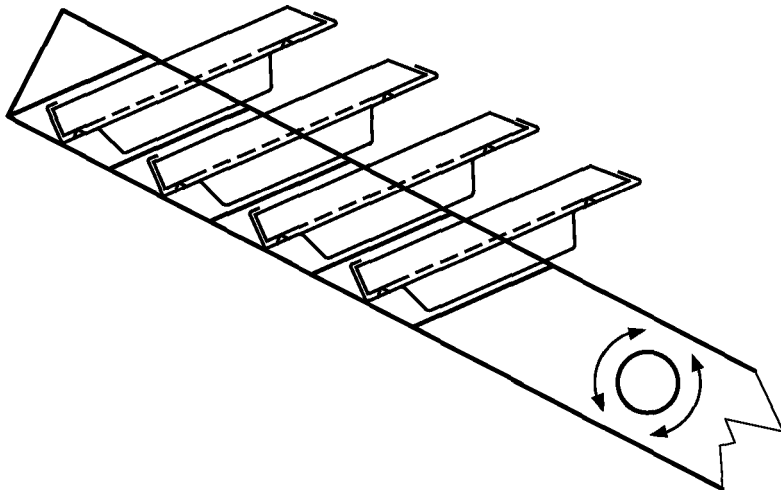


FIG. 5b

FIG. 5c

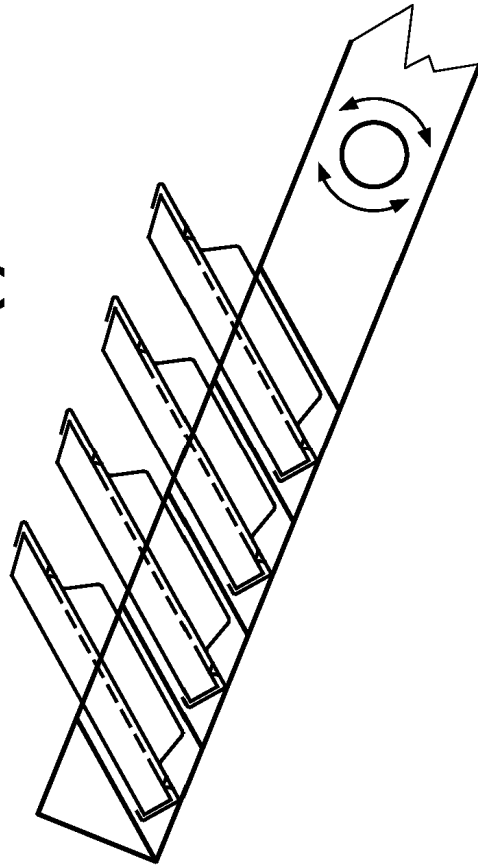


FIG. 5d

