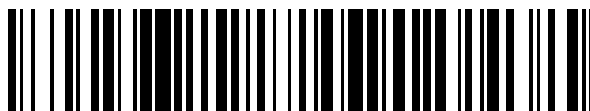


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 710 191**

51 Int. Cl.:

G01N 29/036 (2006.01)

G01N 33/543 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.10.2012 PCT/IB2012/055564**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.04.2013 WO13054311**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.10.2012 E 12797978 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.12.2018 EP 2766722**

54 Título: **Detector de movimiento a nanoescala**

30 Prioridad:
14.10.2011 WO PCT/IB2011/054553

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
23.04.2019

73 Titular/es:
**ÉCOLE POLYTECHNIQUE FÉDÉRALE DE
LAUSANNE (EPFL) (100.0%)
EPFL-TTO, EPFL Innovation Park J
1015 Lausanne, CH**

72 Inventor/es:
**KASAS, SANDOR;
LONGO, GIOVANNI;
DIETLER, GIOVANNI y
ALONSO SARDUY LIVAN, BLADIMIR**

74 Agente/Representante:
UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 710 191 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

Detector de movimiento a nanoescala

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere al análisis a muy baja escala de objetos que tienen un tamaño que varía desde Angstroms hasta micrómetros. Se refiere particularmente pero no exclusivamente a la detección del movimiento o a la dinámica interna de dichos objetos.

10

Estado de la técnica

En los últimos años, los osciladores micro y nano mecánicos se han convertido en una nueva clase de sensores y, los osciladores muy delicados, acoplados a detectores de desplazamiento sensibles, han dado como resultado un número de técnicas (1) experimentales extraordinariamente poderosas. Notablemente, hasta ahora, la aplicación de dichos dispositivos se ha limitado en su mayoría a mediciones de frecuencia de resonancia para determinar la presencia de masas muy pequeñas (2-7) o a la determinación estática de las deflexiones de estrés inducida por la presencia de sistemas de nanotamaño específico (8-13). Además, la sensibilidad de la mayoría de las técnicas descritas en la bibliografía se reduce en gran medida en presencia de ambientes líquidos (14).

15

20

Para resumir, el uso de aquellos sensores del estado de la técnica se limita a una determinación de tipo estático de objetos muy pequeños.

A partir del documento WO 2008/101199 A1, se conoce un sensor de voladizo que comprende un anticuerpo inmovilizado en su superficie. Un analito diana que se une al anticuerpo da como resultado un aumento en la masa eficaz del sensor de voladizo y de esta manera un cambio en la frecuencia de resonancia del sensor. La diferencia en la frecuencia de resonancia medida y la frecuencia de resonancia basal es entonces indicativa de una cantidad de masa de analito acumulada en el sensor de voladizo.

25

El artículo de Bosco et al. (Filippo Bosco et al., "High-throughput automated system for statistical biosensing employing microcantilever arrays", IEEE 24a International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS 2011), IEEE, EE.UU., 23 de enero de 2011, páginas 877-880, XP031982552, DOI: 10.1109/MEMSYS.2011.5734565, ISBN: 978-1-4244-9632-7") desvela un sistema completamente automatizado para biosensores basados en microvoladizos paralelos, en donde se detectan la deflexión y la frecuencia vibracional de los haces de voladizo. El sistema es capaz de cuantificar el cambio de rugosidad de la superficie después de que se haya producido la unión bioquímica sobre la superficie del voladizo.

30

35

El documento US 2006/191320 A1 desvela microvoladizos químicamente funcionalizados para la detección de agentes químicos, biológicos y explosivos, en donde los voladizos se funcionalizan con revestimientos específicos para los compuestos peligrosos. Al hacer esto, se detecta el curvado o el cambio en la frecuencia de resonancia del voladizo como el resultado de los estreses de superficie cambiados y la carga de masa, respectivamente, en presencia de un agente particular.

40

La referencia (3) desvela mediciones resueltas en tiempo de interacciones proteína-ligando usando sensores de matriz de microvoladizos en condiciones fisiológicas. Las mediciones de masa de unión en el modo dinámico se realizan midiendo los desplazamientos de frecuencia de voladizo provocados por la adsorción de masa sobre la superficie del voladizo.

45

La referencia (18) desvela la detección de patógenos usando microvoladizos auto-excitados, en donde la unión de una diana al voladizo se monitoriza por medio del cambio de frecuencia resonante.

La referencia (5) desvela un sistema para detectar un analito usando un haz de voladizo resonante, donde el analito se detecta determinando una diferencia de masa basada en las primera y segunda frecuencias resonantes del haz de voladizo.

50

Proporcionar una medición de tipo dinámica precisa y eficiente de objetos muy pequeños sería de gran interés para una gran comunidad.

Descripción general de la invención

55

La presente invención se refiere a un detector de movimiento, al uso de un detector de movimiento y a un método como se define en las reivindicaciones.

El detector comprende un soporte flexible adaptado para mantener al menos un objeto (por ejemplo, un objeto que tiene un movimiento o una dinámica intrínseca), un sensor para medir el desplazamiento de dicho soporte y medios de procesamiento para diferenciar el movimiento de dicho soporte desde el uno inducido por el dicho objeto. La invención también se refiere a un método para analizar especímenes de pequeño tamaño, que varían típicamente desde Angstroms hasta micrómetros.

60

El método de acuerdo con la invención puede usarse en cualquier clase de ambiente, vacío, aire, líquido o medio fisiológico.

65

En el presente texto el término "fluctuación" abarca cualquier tipo de movimiento, en particular la vibración y la deflexión.

La invención se adapta a detectar el movimiento o la dinámica intrínseca (o la ausencia de los mismos) de objetos tales como proteínas, lípidos, ácidos nucleicos, glúcidos, virus, bacterias o células en presencia o ausencia de estímulos externos o internos.

- 5 Se adapta a analizar objetos que pueden mostrar una actividad que induce un desplazamiento del soporte flexible. El desplazamiento inducido del dicho soporte puede producirse por el movimiento del objeto, por las fluctuaciones térmicas inducidas por el objeto, por cambios en la interacción entre el objeto y el soporte flexible, por la dinámica interna del objeto o por cualquier fenómeno físico, químico o biológico generado por el objeto y que provoca las fluctuaciones del dicho soporte.

10

Descripción detallada de la invención

La invención se entenderá mejor en el presente capítulo, con una descripción detallada que incluye algunos ejemplos no limitantes ilustrados por las siguientes figuras:

15

La Figura 1 ilustra una primera configuración de acuerdo con la invención para la detección del movimiento en la nanoescala.

La Figura 2 ilustra otra configuración de acuerdo con la invención para la detección del movimiento en la nanoescala.

20

La Figura 3 ilustra una estructura molecular teórica de Topoll humana y una configuración de acuerdo con la invención para observar interacciones Topoll fármaco.

La Figura 4 representa un análisis (deflexión y varianza) de la interacción de la Topoisomerasa II humana con ATP y aclarubicina (ACLAR).

25

La Figura 5 representa un análisis (deflexión y varianza) de la interacción de la Topoisomerasa II humana con diferentes concentraciones de ATP.

La Figura 6 representa un análisis (deflexión y varianza) de la interacción de la Topoll humana con ADN superenrollado.

La Figura 7 ilustra otra configuración de acuerdo con la invención para observar la viabilidad de bacterias después de la exposición a estímulos químicos y/o físicos.

30

La Figura 8 representa un análisis (deflexión y varianza) de la resistencia de *E. coli* a antibióticos.

La Figura 9 representa un análisis dependiente de dosis (valores de varianza) con un detector de acuerdo con la invención.

La Figura 10 representa un análisis (deflexión y varianza) de la resistencia de bacterias *Staphylococcus aureus* a ampicilina.

35

Referencias numéricas usadas en las figuras

1. Voladizo
2. Haz de láser
3. Espejo
4. Fotodetector
5. Fibra óptica
6. Espécimen en movimiento
7. Topoll
8. Molécula de ADN
9. Bacterias

40

La Figura 1 representa una primera realización de la invención con un detector de movimiento que comprende un voladizo **1**, un haz de láser **2**, un espejo **3** y dos o cuatro segmentos fotodiodos **4**.

50

La Figura 2 representa un montaje similar pero donde el voladizo se reemplaza por una fibra óptica **5** y donde el haz de láser **2** se colimata en la fibra **5** y se recoge hacia su extremo libre.

Uno o varios objetos movibles (6-9) - véase también las figuras 3, 6 y 7 - a investigarse se posicionan sobre un soporte **1,5** flexible de microtamaño. Las fluctuaciones del soporte **1** se registran como una función del tiempo. El método ofrece la ventaja de monitorizar la evolución de la dinámica del objeto u objetos, por ejemplo cuando se expone a modificaciones químicas o físicas del ambiente. El sistema puede estar hecho ventajosamente de uno o varios soportes fluctuantes, una cámara de análisis en donde los soportes se introducen y un sistema de transducción que detecta y registra los movimientos del soporte.

55

El soporte **1,5** puede ser un voladizo **1**, tal como aquel usado en el microscopio de fuerza atómica (MFA) (véase las figuras 1, 3, 6 y 7), una fibra óptica **5**, un sistema piezoeléctrico (no ilustrado), una membrana o cualquier microdispositivo capaz de fluctuar. Ha de optimizarse para permitir la fijación del objeto sobre su superficie por cualquier medio, por ejemplo usando métodos químicos, biológicos o físicos.

60

Los objetos **6-9** varían desde moléculas únicas a especímenes complejos tales como nanodispositivos, proteínas, ADN, virus, bacterias, células únicas o sistemas multicelulares complejos.

65

La cámara de análisis comprende preferentemente una única o múltiples entradas, un espacio que contiene el sensor y el objeto y una o varias salidas, para permitir la exposición del objeto u objetos a diferentes condiciones

ambientales.

El sistema de transducción, por ejemplo el fotodetector **4**, detecta las fluctuaciones de los objetos **6-9** a través de las fluctuaciones del soporte **1,5**. Puede basarse en, pero sin limitación, sistemas de detección por reflexión óptica, interferencia óptica, piezoeléctrica, eléctrica, magnética, capacitiva o de tunelación. Como ejemplos se emplean sistemas similares típicamente en microscopía MFA, en microbalanzas o acelerómetros.

Los datos recogidos por el sistema de transducción pueden analizarse ventajosamente mediante un sistema electrónico especializado optimizado para resaltar el componente dinámico de la señal, realizando cualquier clase de manipulación capaz de evidenciar la variación en la dinámica del objeto.

En una realización preferida, el detector fluctuante se procesa en primer lugar de manera que se promueva la fijación de los objetos **6-9**. En una segunda etapa el soporte **1,5** se expone a los objetos **6-9**. Este procedimiento puede llevarse a cabo en o fuera de una cámara de análisis. En la siguiente etapa, se producen diferentes condiciones de trabajo en la cámara de análisis modificando el ambiente químico o físico alrededor del espécimen. Los cambios conformacionales del espécimen o sus movimientos, durante todas las etapas descritas, inducen fluctuaciones que se traducen en señales (eléctricas) medibles por el sensor y se registran por el sistema electrónico especializado. Los datos se analizan finalmente por algoritmos especializados para resaltar la insurgencia o la modificación de los movimientos del espécimen.

Ejemplo 1: Detección de afinidad de fármaco

Estos experimentos implican la Topoisomerasa II (Topoll - Figura 3) y su interacción con fármacos anticancerosos. Topoll es una enzima esencial que interactúa con el ADN para simplificar su topología y permite que la transcripción se produzca de forma segura.

Esta enzima requiere ATP para modificar su conformación 3D y para actuar sobre el ADN. La Topoll también es la diana preferida de numerosos fármacos anticancerosos tales como aclarubicina. Este fármaco se une a la Topoll, congela su conformación e inhibe su acción (15). En el primer experimento, la Topoll se adsorbió sobre ambos lados de un voladizo. Después se introdujo en la cámara de análisis de un MFA y su haz de láser se colimató en el ápice del voladizo. La reflexión del haz de láser, enviada a un foto-detector dividido, permitió la detección de las fluctuaciones del voladizo como se representa en la Figura 1 y, más en detalle, en la Figura 3.

El experimento consistió en inyectar sucesivamente un tampón pobre en ATP, una solución enriquecida en ATP y un medio rico en aclarubicina+ATP en la cámara de análisis y registrar las fluctuaciones resultantes del voladizo.

Intercambiando el medio líquido en el que se sumergieron el voladizo y la Topoll los inventores se dieron cuenta sorprendentemente de que la varianza de las fluctuaciones del voladizo fue significativamente más alta en presencia de ATP en comparación con el tampón pobre en ATP o en presencia de aclarubicina, como puede verse en la Figura 4. También pueden verse observaciones similares con otras herramientas estadísticas, distintas del cálculo de varianza, como análisis de espectro en polvo, funciones de correlación, ondas pequeñas, Transformadas de Fourier y Rápidas de Fourier (FFT, por sus siglas en inglés).

Este experimento se realizó usando un voladizo MFA revestido con APTES. Los diferentes tampones inyectados durante el experimento son: tampón (Tris-HCl 50 nM (pH 8,0), NaCl 150 mM, MgCl₂ 10 mM y ditiotreititol 0,5 mM), ATP 0,02 mM y ATP 0,02 mM más aclarubicina 100 µM. El panel superior muestra los datos de deflexión del voladizo, mientras que el inferior evidencia las diferencias de la fluctuación del voladizo en términos de varianza.

Esto indica que, en ausencia de ATP, la Topoll estaba en condición de equilibrio, mientras que se estaba sometiendo a cambios conformacionales en presencia de ATP y de nuevo estaba en equilibrio cuando se expuso a la acción de aclarubicina. Notablemente, los cambios conformacionales inducidos en las moléculas de Topoll por ATP fueron dependientes de su concentración, como se muestra en la Figura 5. Los medios usados en este experimento son: tampón (Tris-HCl 50 nM (pH 8,0), NaCl 150 mM, MgCl₂ 10 mM y ditiotreititol 0,5 mM), ATP 0,02 mM, ATP 0,2 mM, ATP 2 mM y de nuevo tampón. El panel superior muestra los datos de deflexión del voladizo, mientras que el uno inferior evidencia las diferencias de la fluctuación del voladizo en términos de varianza. Esta última figura indica que la técnica propuesta es capaz de enviar información cuantitativamente de los cambios conformacionales de las moléculas.

Ejemplo 2: Detección de reacciones bioquímicas

Como se ha mencionado previamente, la Topoll interactúa con el ADN para simplificar su topología. Para registrar esta reacción con el presente método se depositaron complejos de Topoll-ADN superenrollado en ambos lados de un voladizo de MFA, como se representa en la Figura 6.

El experimento se realizó usando un voladizo MFA revestido con APTES. Los diferentes medios inyectados durante el experimento son: tampón (Tris-HCl 50 nM (pH 8,0), NaCl 150 mM, MgCl₂ 10 mM y ditiotreititol 0,5 mM), AMPPNP 0,02 mM (un análogo de ATP) y ATP 0,02 mM. El panel A muestra los datos de deflexión del voladizo. El panel B representa la configuración experimental para seguir las interacciones de Topoll-ADN. a) molécula de ADN, b) Topoll, c) voladizo de AFM, d) haz de láser. El panel C evidencia las diferencias en términos de la varianza.

Aquí de nuevo el voladizo revestido con complejos de Topoll-ADN superenrollado se insertó en la cámara de análisis

y se expuso a varios ambientes líquidos consecutivos: 1) solución libre de ATP, 2) tampón que contiene un sustituto de ATP no funcional, denominado AMPPMP, 3) medio enriquecido con ATP. El AMPPMP es un análogo de ATP no hidrolizable que inhibe la actividad de Topoll. Inyectando la solución que contiene ATP en la cámara de análisis se observó un aumento significativo en la varianza de fluctuación del voladizo en comparación con los registros realizados en tampones libres de ATP o en soluciones que contienen AMPPMP. Los resultados de dos experimentos se muestran en la Figura 7.

Ejemplo 3: Detección de sensibilidad de antibiótico

El método presentado es lo suficientemente sensible para detectar el movimiento externo así como interno de las bacterias y puede usarse para evaluar la acción de agentes antibacterianos. Este experimento muestra la capacidad de explorar la sensibilidad de las bacterias a antibióticos con una resolución temporal muy alta que varía entre segundos y minutos. Bacterias móviles (*Escherichia coli*), resistentes a kanamicina pero sensibles a ampicilina, se adsorbieron a ambos lados de un voladizo. Las bacterias se expusieron sucesivamente a ambos antibióticos para determinar el impacto en el movimiento / la viabilidad bacterianos (véase la Figura 7).

En estos experimentos el voladizo se introdujo en la cámara de análisis y se expuso a una solución que contenía bacterias que finalmente se fijaron a su superficie. El sistema se expuso después a: 1) tampón pobre en nutrimento, 2) solución de nutrimento (caldo de lisogenia (LB)), 3) solución LB enriquecida con kanamicina, 4) solución LB, 5) solución LB enriquecida con ampicilina y, finalmente, 6) solución LB. Pareció que el movimiento bacteriano aumentó durante la etapa 2), disminuyó cuando se expusieron a kanamicina en la etapa 3), aumentó de nuevo en presencia de nutrimento en la etapa 4), disminuyó drásticamente en presencia de ampicilina en la etapa 5) y se mantuvo en el mismo valor a pesar de la presencia de solución nutriente en la etapa 6).

La Figura 8 representa la evolución de las fluctuaciones del voladizo y de su STD durante las diferentes fases del experimento.

El experimento se realizó usando un voladizo MFA revestido con APTES. Se representan las diferentes fases del experimento: PBS, bacterias en PBS, bacterias en LB, exposición a kanamicina, lavado con LB, exposición a ampicilina, lavado con LB. El panel superior muestra los datos de deflexión del voladizo, mientras que el uno inferior evidencia las diferencias en términos de la varianza.

Se realizaron experimentos similares, usando solamente ampicilina como antibiótico. En particular, en una serie de experimentos paralelos, se cambió la concentración de ampicilina. Esto permitió obtener una gráfica de dependencia de dosis cuantitativa de la variación de las fluctuaciones como una función de la concentración de anticuerpo (Figura 9) que se ha usado para predecir con muy alta precisión la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB). El conjunto de experimentos se realizó usando voladizos de AFM. Las diferentes concentraciones de ampicilina provocan diferentes valores de varianza de las fluctuaciones del voladizo. La curva indica un ajuste sigmoideo de los datos del experimento. La línea es la tangente en el valor de media altura de la varianza. Las intersecciones de esta línea con los ejes 1,0 y 0,0 pueden definirse respectivamente como la CMI y la CMB de la bacteria.

Más tarde, se repitieron experimentos similares usando bacterias no móviles (*Staphylococcus aureus*) susceptibles a ampicilina. Estas bacterias también disminuyeron drásticamente sus movimientos internos tan pronto como se expusieron a ampicilina. Los resultados de RMS de movimiento del voladizo se representan en la Figura 10.

En este experimento se usó un voladizo AFM revestido con APTES. Se representan las diferentes fases del experimento: PBS, bacterias en PBS, bacterias en LB y exposición a ampicilina. El panel superior muestra los datos de deflexión del voladizo, mientras que el uno inferior evidencia las diferencias en términos de la varianza.

Demuestran que el método puede aplicarse indiferentemente para monitorizar bacterias móviles así como no móviles.

Finalmente, se han llevado a cabo más experimentos exitosamente usando, como objetos de ensayo, bacterias de crecimiento lento tales como el Bacilo de Calmette-Guérin (BCG, una vacuna contra la tuberculosis bovina).

Para resumir, la presente invención proporciona un dispositivo y un método que detectan el movimiento de sistemas de tamaño nano a micrométrico con una alta resolución espacial y temporal. El método puede usarse para (pero no se limita a) monitorizar cambios conformacionales de moléculas únicas, reacciones bioquímicas, interacciones fármaco-diana así como movimientos internos y externos de células y bacterias. Debido a su alta sensibilidad al movimiento, puede usarse como un detector de presencia de vida en ambientes extremos (por ejemplo, ambientes extraterrestres). El procedimiento mejora la tecnología existente (16-24) evidenciando fácil y cuantitativamente incluso la fluctuación más ligera del detector de movimiento y puede utilizarse en cualquier clase de ambiente, especialmente en medio fisiológico.

La fluctuación lograda y la resolución temporal permite predecir su posible aplicación a un vasto número de campos, tales como (pero no limitado a) biología celular y molecular, bacteriología, microbiología, desarrollo de fármacos, evaluación farmacéutica de alta velocidad o monitorización conformacional de moléculas. En este marco, es de alto interés la aplicación de esta técnica para ralentizar bacterias en crecimiento, tales como *Mycobacterium tuberculosis*. Además, ya que el principio de funcionamiento es extremadamente sencillo y los materiales requeridos son

convencionales y completamente reusables (sistemas electrónicos, microfluídicos, mecánicos), un dispositivo basado en dicha invención tiene bajos costes de fabricación y de mantenimiento. Finalmente puede paralelizarse fácilmente combinando varios sensores para mejorar el rendimiento de medición y la fiabilidad.

5 Referencias de la técnica anterior

- 1 Boisen et al., Rep. Prog. Phys., 74 (2011) 036101
- 2 Ilic et al., Appl. Phys. Lett., 77 (2000) 450-452
- 3 Braun et al., Nature Nanotech., 4 (2009) 179-185
- 10 4 Lui et al., Sensors 2008 IEEE, 1464-1467
- 5 Patente US 7148017B1
- 6 Solicitud de patente US 2009235746A1
- 7 Solicitud de patente WO 2011021984A1
- 8 Fritz et al., Science, 288 (2000) 316-318
- 15 9 Berger et al., Science, 276 (1997) 2021-2024
- 10 Godin et al., Nanotech., 21 (2010) 075501
- 11 Patente EP 1342789A2
- 12 Patente WO 0058729A2
- 13 Patente WO 03023363A2
- 20 14 Luckulum et al., Anal. Bioanal. Chem., 384 (2006) 667-682
- 15 Jensen et al., Cancer Res., 51 (1991): 5093-5099
- 16 Mckendry et al., PNAS, 99 (2002) 9783-9788
- 17 Gupta et al., J. Vac. Sci. Technol. B, 22 (2004) 2785-2791
- 18 Campbell et al. J. Bios. Bioel., 21 (2005) 462-473
- 25 19 Djuric et al., J. Microel. Eng., 84 (2007) 1639-1642
- 20 Solicitud de patente US 2006121502A1
- 21 Solicitud de patente US 2003045019A1
- 22 Solicitud de patente WO 2004038762A2
- 23 Solicitud de patente WO 03081204A2
- 30 24 Solicitud de patente US 2008136291A1

REIVINDICACIONES

1. Detector de movimiento que comprende:
 - 5 un soporte flexible (1,5) adaptado para mantener al menos un objeto (6-9), en donde el objeto se selecciona del grupo que consiste en lípidos, ácidos nucleicos, glúcidos, nanodispositivos, proteínas, ADN, virus, bacterias, células únicas o sistemas multicelulares complejos y en donde el objeto induce un movimiento que provoca un desplazamiento del soporte, un sensor (4) para medir el desplazamiento de dicho soporte (1) como una función del tiempo, **caracterizado por que** el detector de movimiento comprende además medios de procesamiento
 - 10 adaptados para calcular una varianza de dicho desplazamiento de dicho soporte (1) para diferenciar un movimiento de dicho soporte (1) del movimiento inducido por dicho objeto (6-9), en donde un aumento de la varianza de dicho desplazamiento de dicho soporte (1) en presencia de dicho objeto (6-9) evidencia el movimiento inducido por dicho objeto (6-9).
 - 15 2. Detector de movimiento de acuerdo con la reivindicación 1 en donde dicho soporte comprende un voladizo (1).
 3. Detector de movimiento de acuerdo con la reivindicación 2 en donde dicho sensor se fija a o forma parte de dicho voladizo.
 - 20 4. Detector de movimiento de acuerdo con la reivindicación 3 en donde dicho sensor comprende un material piezoeléctrico.
 5. Detector de movimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 3, en donde dicho sensor (4) es un sensor óptico.
 - 25 6. Detector de movimiento de acuerdo con la reivindicación 5 en donde dicho sensor óptico es un fotodetector (4).
 7. Detector de movimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores que comprende adicionalmente una cámara de análisis.
 - 30 8. Detector de movimiento de acuerdo con la reivindicación 7 en donde dicha cámara de análisis comprende medios de entrada y de salida adaptados de tal manera que proporcionen diferentes ambientes fluidicos al objeto u objetos (6-9) dentro de dicha cámara.
 - 35 9. Uso de un detector de movimiento como se define en una cualquiera de las reivindicaciones anteriores para analizar al menos un objeto (6-9) que se localiza sobre dicho soporte (1), seleccionándose el soporte del grupo que consiste en lípidos, ácidos nucleicos, glúcidos, nanodispositivos, proteínas, ADN, virus, bacterias, células únicas o sistemas multicelulares complejos.
 - 40 10. Uso de acuerdo con la reivindicación 9 para la estimación cuantitativa de CMI y/o CMB.
 11. Método para analizar al menos un objeto mantenido en un soporte flexible (1), seleccionándose el objeto del grupo que consiste en lípidos, ácidos nucleicos, glúcidos, nanodispositivos, proteínas, ADN, virus, bacterias, células únicas o sistemas multicelulares complejos e induciendo un movimiento que provoca un desplazamiento del soporte, comprendiendo dicho método las etapas de:
 - 45 medir el desplazamiento de dicho soporte (1) como una función del tiempo con un sensor (4), **caracterizado por que** el método comprende además calcular una varianza de dicho desplazamiento de dicho soporte (1) con medios de procesamiento para diferenciar un movimiento de dicho soporte (1) del movimiento inducido por dicho objeto (6-9), en donde un aumento de la varianza de dicho desplazamiento de dicho soporte (1) en presencia de dicho objeto (6-9) evidencia el movimiento inducido por dicho objeto (6-9).
 - 50 12. Método de acuerdo con la reivindicación 11, en donde se detecta el movimiento o la dinámica de al menos un objeto (6-9).
 - 55 13. Método de acuerdo con la reivindicación 11 o 12, en donde se aplica un tratamiento preliminar a los objetos (6-9) para facilitar la adherencia de dichos objetos (6-9) a dicho soporte (1,5).

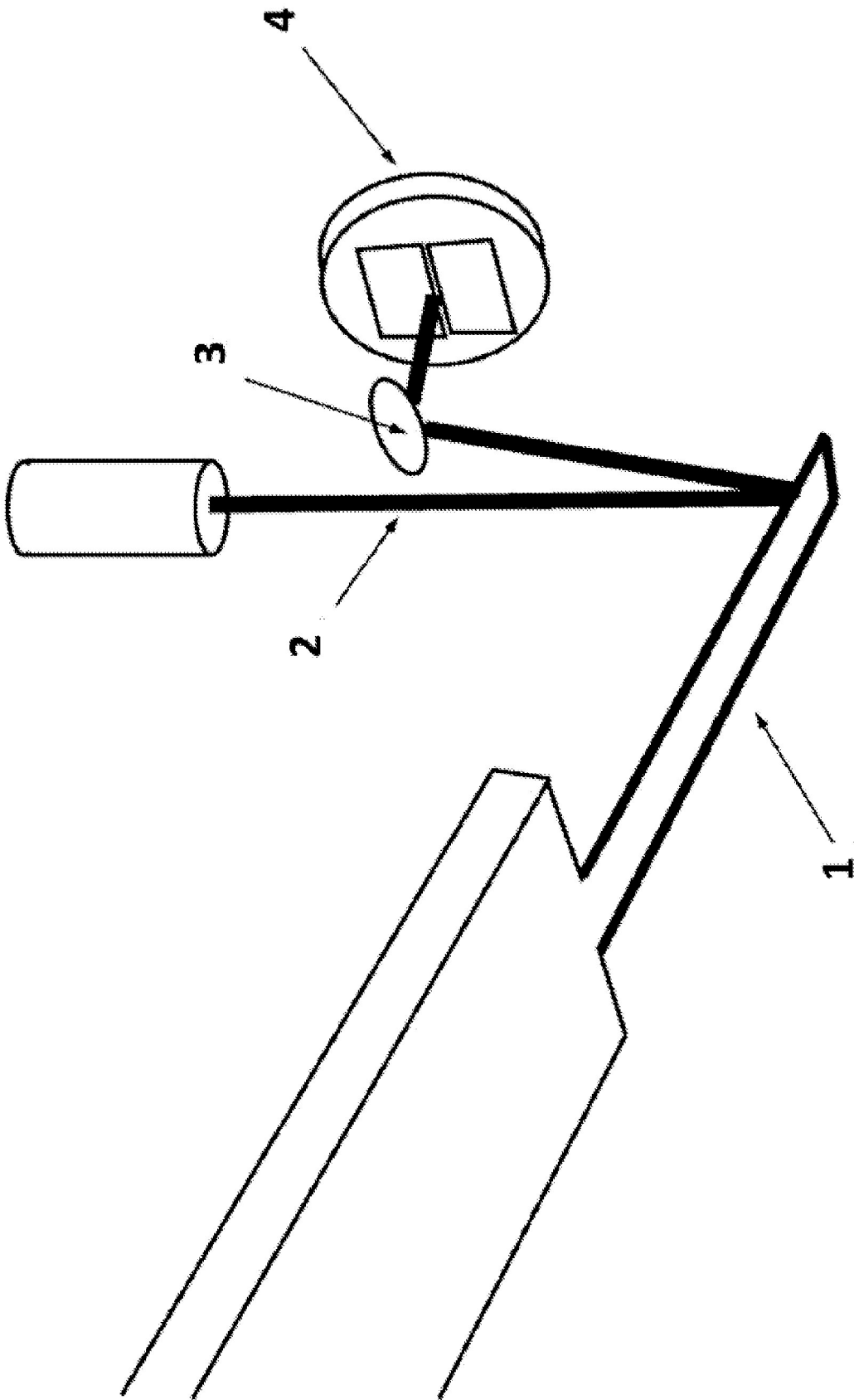


Figura 1

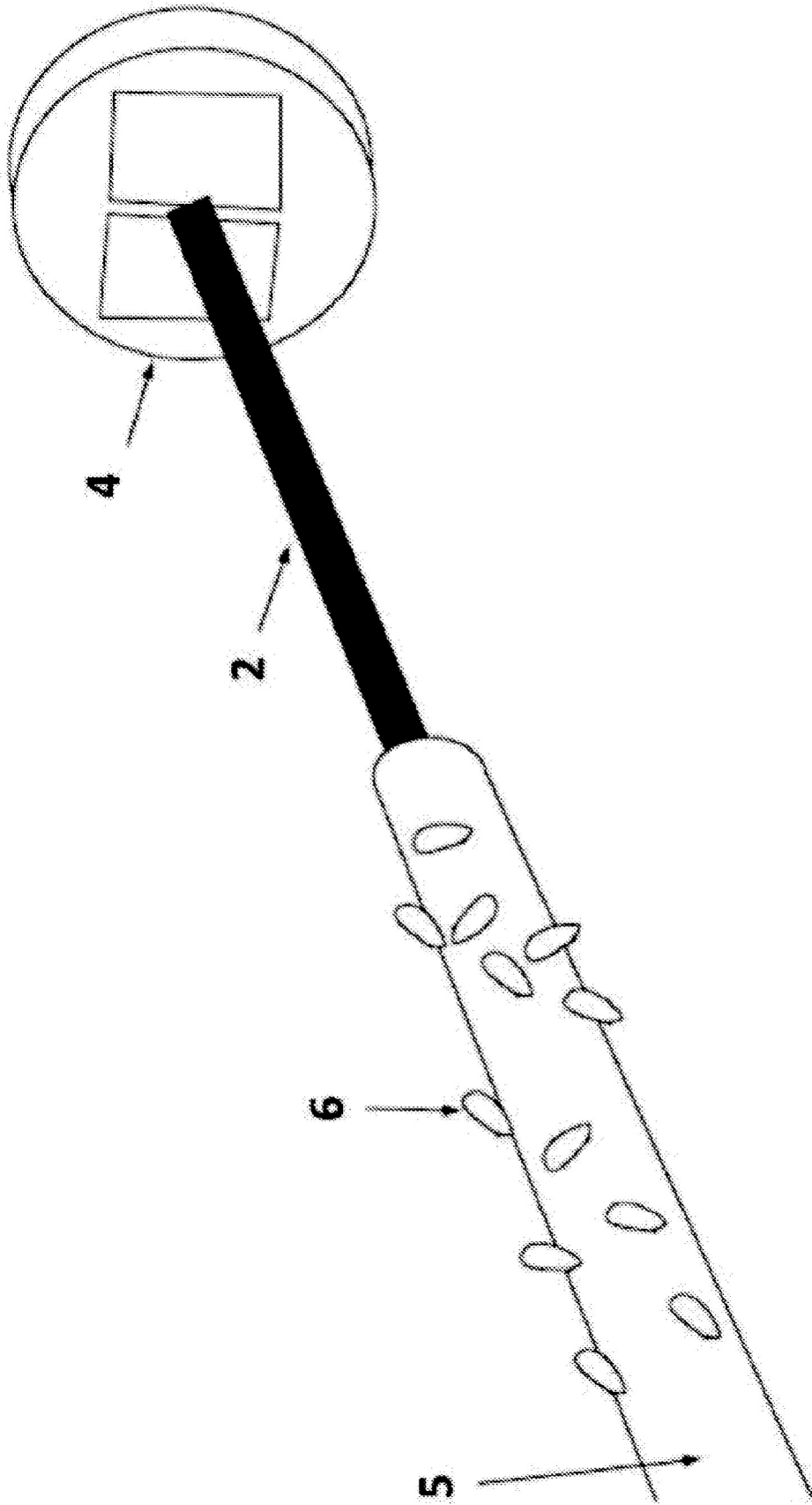


Figura 2

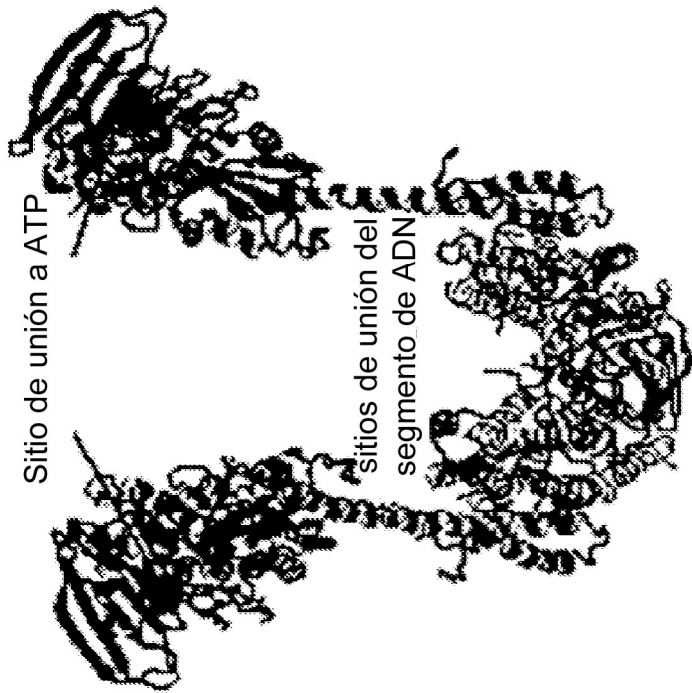
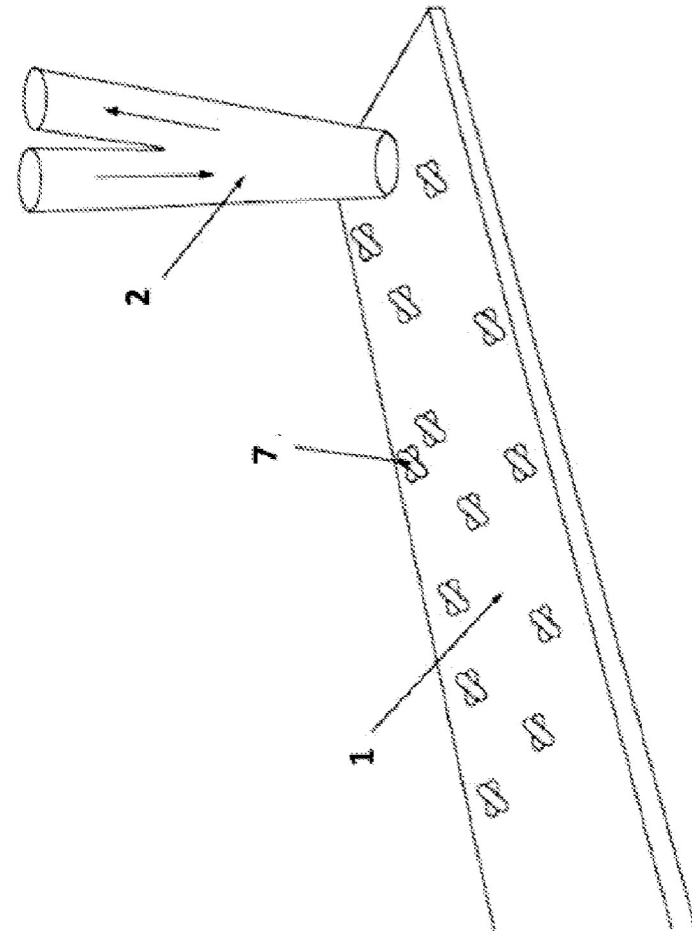


Figura 3

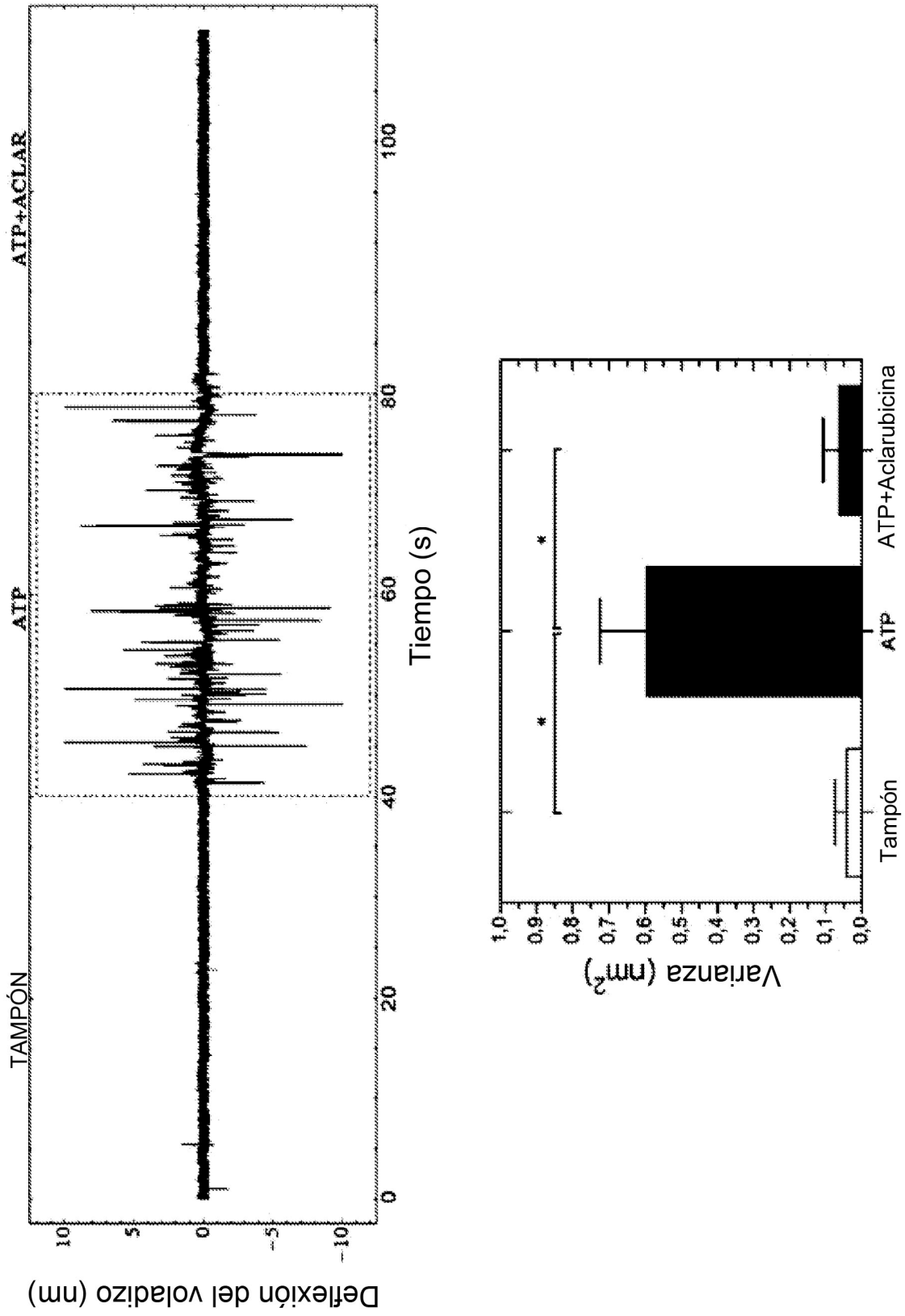


Figura 4

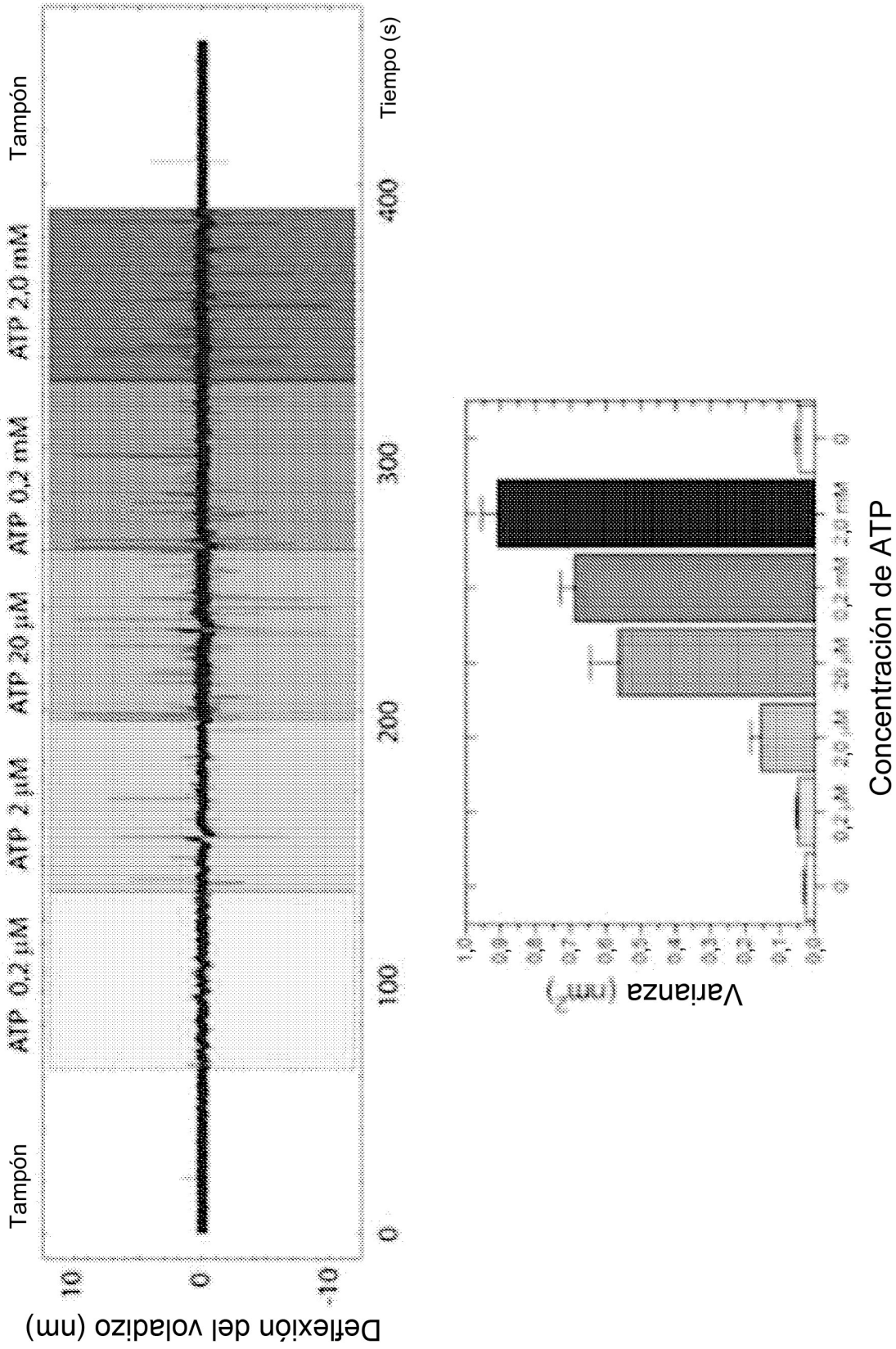


Figura 5

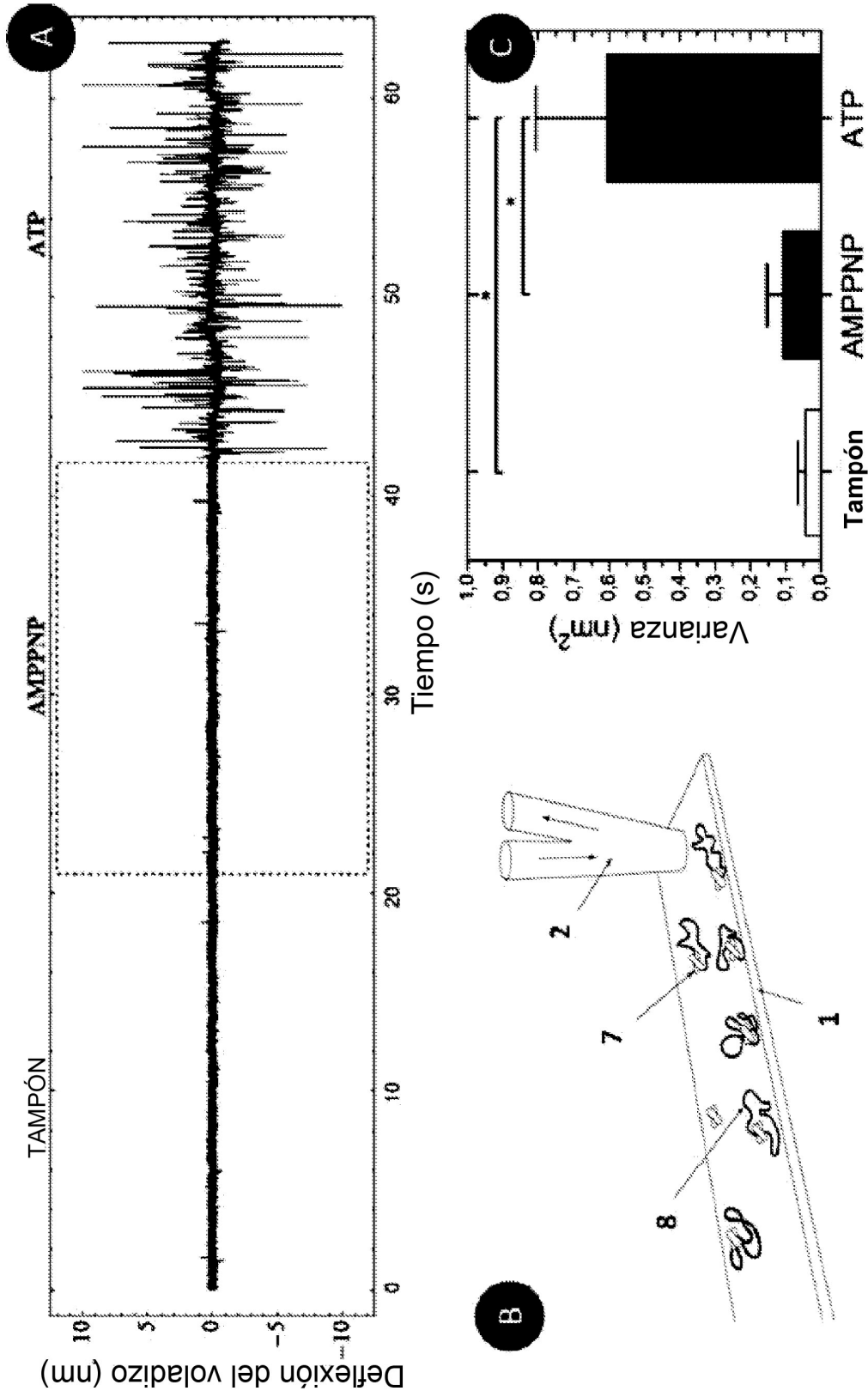


Figura 6

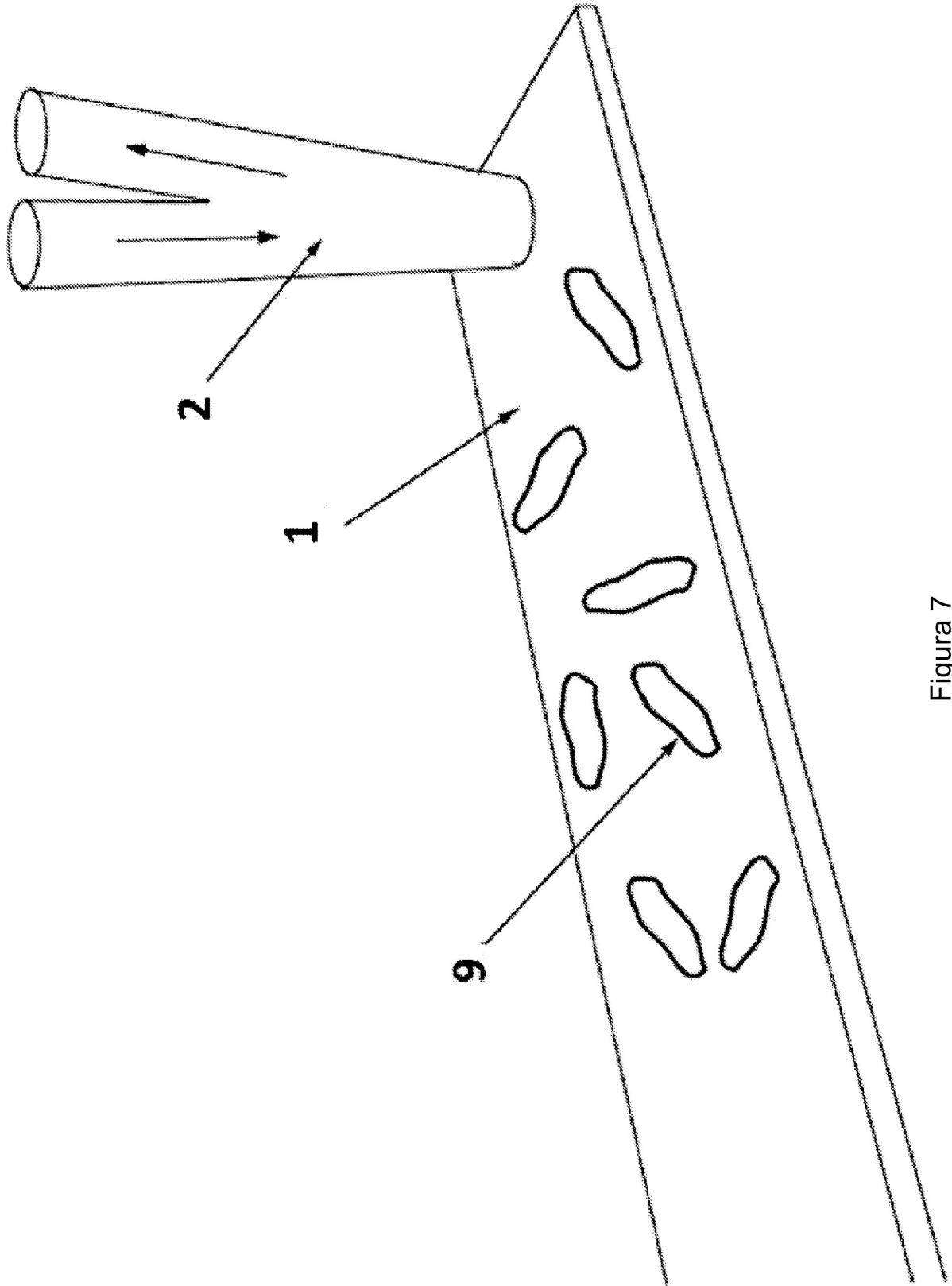


Figura 7

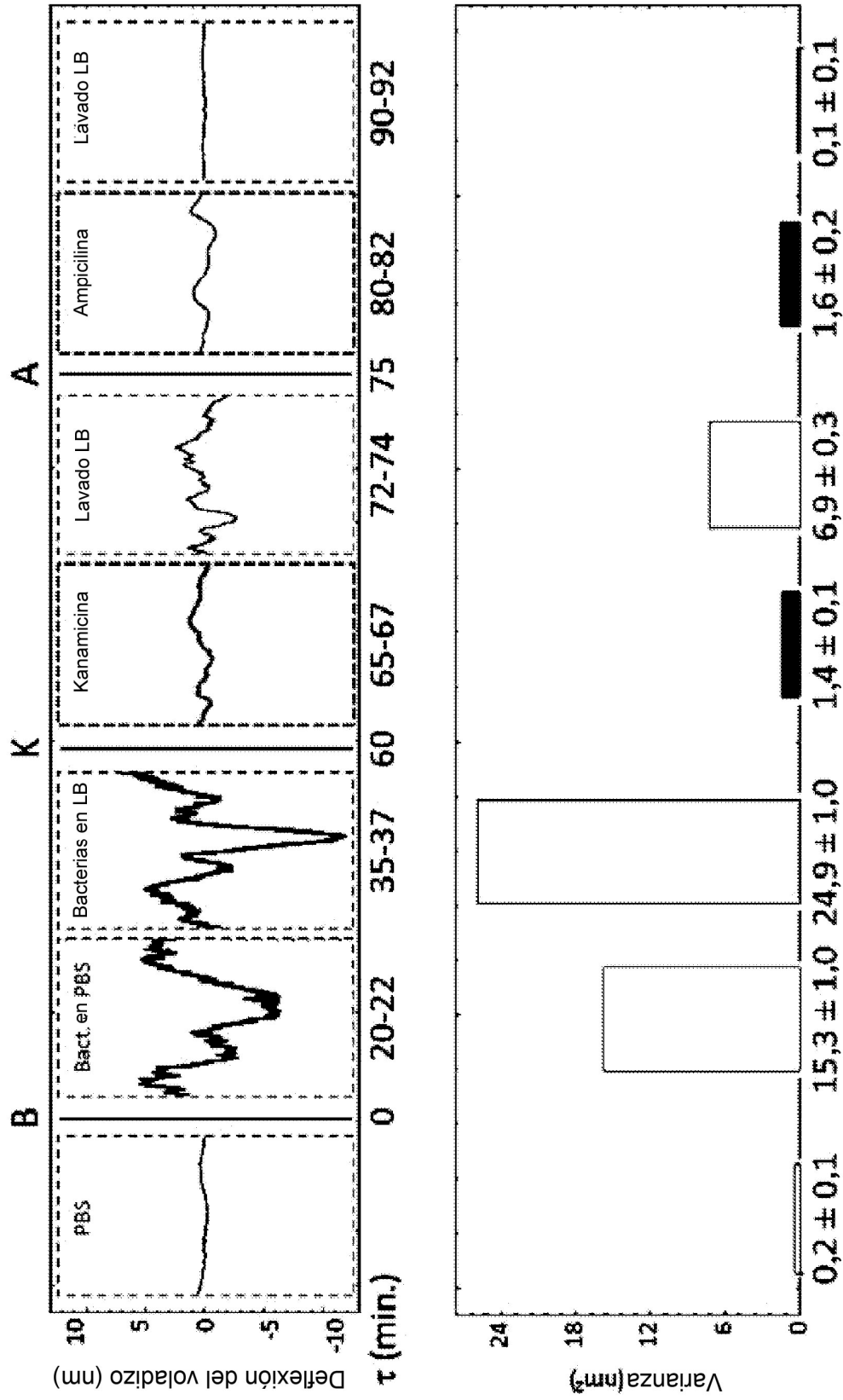


Figura 8

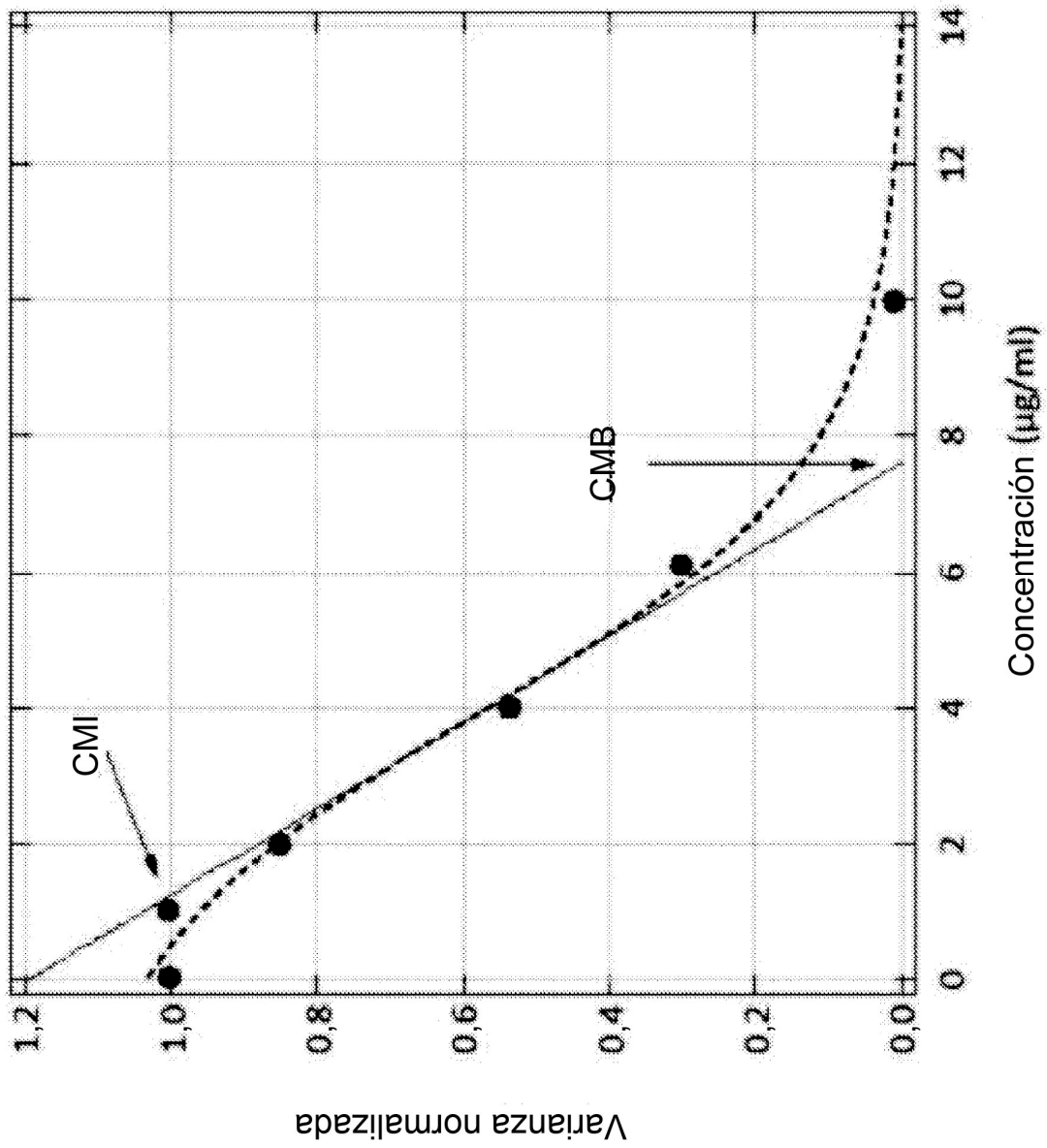


Figura 9

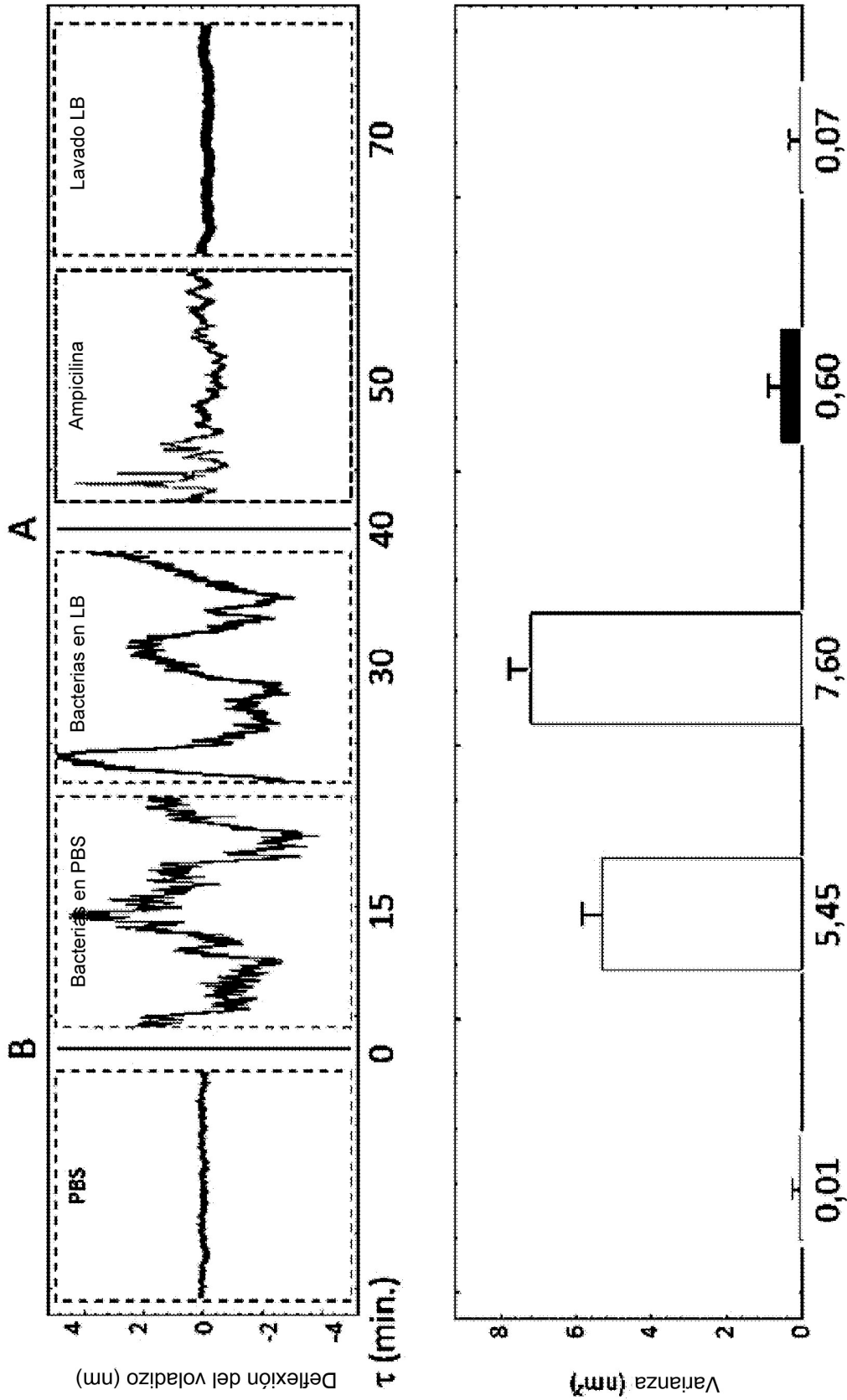


Figura 10