

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 715 828**

51 Int. Cl.:

**G01N 33/487** (2006.01)

**G01N 35/08** (2006.01)

**G01N 1/28** (2006.01)

**A61J 1/05** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.04.2011 PCT/KR2011/002705**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.10.2011 WO11129651**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.04.2011 E 11769117 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.12.2018 EP 2560000**

54 Título: **Dispositivo microfluídico y métodos para aislar dianas**

30 Prioridad:

**15.04.2010 KR 20100035013**

**15.04.2010 KR 20100035012**

**15.04.2010 KR 20100035005**

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

**06.06.2019**

73 Titular/es:

**CYTOGEN CO., LTD. (100.0%)  
A-dong 804 Kumkang Penterium IT Tower, 333-7,  
Sangdaewon-dong, Jungwon-gu, Seongnam-si  
Gyeonggi-do 462-901, KR**

72 Inventor/es:

**JEON, BYUNG HEE**

74 Agente/Representante:

**CURELL SUÑOL, S.L.P.**

ES 2 715 828 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 microfluídico y métodos para aislar dianas.

### 5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a un dispositivo microfluídico y, más particularmente, a un dispositivo microfluídico para separar dianas de una muestra y a un método de separación de dianas que lo utiliza.

### 10 **Antecedentes de la invención**

En los últimos años, se ha reforzado la legislación aplicable a los ensayos biológicos y clínicos llevados a cabo para el tratamiento de enfermedades humanas. Como alternativa al ensayo biológico y al ensayo clínico, se ha realizado una gran cantidad de investigación y desarrollo sobre la recolección de células vivas procedentes de sangre humana. La recolección de células se lleva a cabo utilizando diferentes tipos de dispositivo recolector de células, tales como un dispositivo microfluídico, un chip CTC (células tumorales circulantes), un filtro y similares.

La publicación de patente US 2007/0259424 A1 da a conocer un dispositivo microfluídico. El dispositivo microfluídico dado a conocer en dicho documento de patente incluye una capa superior, una capa superior y una pluralidad de obstáculos. Las fracciones de unión, p.ej. anticuerpos, polímeros con carga o moléculas acopladas con células, se utilizan para recubrir las superficies de los obstáculos. Entre los obstáculos se incluyen micropostes que se extienden en el sentido de la altura desde la superficie de la capa superior o de la capa inferior. Se introduce una muestra, por ejemplo, de sangre, a través de un orificio de admisión en la capa superior para que fluya a lo largo de canales y después se descarga a través de un orificio de descarga en la capa superior. Las células contenidas en la sangre se capturan mediante fracciones de unión. El documento n° JP 2009 109232 A da a conocer un dispositivo microfluídico según el preámbulo de la reivindicación 1. Sin embargo, el dispositivo microfluídico según dicha publicación no resulta enteramente satisfactorio.

### 30 **Sumario de la invención**

#### Problemas técnicos

Sin embargo, el dispositivo microfluídico indicado anteriormente adolece del problema de que la tasa de captura de dianas es muy baja. Lo anterior se debe a que las dianas se capturan mediante la mera unión de las dianas a las fracciones de unión. Además, el dispositivo microfluídico recoge con dificultad las dianas capturadas por las fracciones de unión. El dispositivo microfluídico no resulta adecuado para la utilización en la separación de las dianas respecto de una gran cantidad de sangre y en el ensayo y análisis de las dianas separadas de esta manera.

En vista de los problemas indicados anteriormente, es un objetivo de la presente invención es proporcionar un dispositivo microfluídico capaz de separar eficientemente las dianas contenidas en una muestra.

Otro objetivo de la presente invención es proporcionar un dispositivo microfluídico capaz de capturar dianas de una muestra que contiene dianas y no dianas mediante la utilización de embudos, volcando los embudos para que se orienten en un sentido contrario al sentido de captura de las dianas y, en consecuencia, separando y recogiendo las dianas con facilidad.

#### Medios para resolver los problemas

50 Los objetivos anteriormente mencionados se consiguen con un dispositivo microfluídico según la reivindicación 1.

Según un aspecto de la presente invención, se proporciona un dispositivo microfluídico, que comprende una caja de filtro que incluye un orificio de admisión para introducir una muestra que contiene diferentes tipos de diana, un orificio de descarga para descargar la muestra y un canal que se extiende entre el orificio de admisión y el orificio de descarga; una primera disposición de captura dispuesta en una parte aguas arriba del canal, incluyendo la primera disposición de captura una pluralidad de primeros embudos directos dispuestos a lo largo de una dirección ortogonal a la dirección de flujo de la muestra, de manera que se capturan los diferentes tipos de diana, y una segunda disposición de captura dispuesta en una parte aguas abajo del canal, incluyendo la segunda disposición de captura una pluralidad de segundos embudos directos dispuestos a lo largo de la dirección ortogonal respecto a la dirección de flujo de la muestra de manera que se capturen los diferentes tipos de diana.

#### Efecto de la invención

65 El dispositivo microfluídico según la presente invención puede capturar y separar eficientemente dianas de una muestra. Además, el dispositivo microfluídico y el método de separación de dianas son capaces de capturar dianas de una muestra que contiene dianas y no dianas mediante la utilización de embudos, volcando los

embudos para que se orienten en un sentido contrario al sentido de captura de las dianas y, en consecuencia, separando y recogiendo las dianas con facilidad. De acuerdo con lo anterior, el dispositivo microfluídico y el método de separación de dianas resultan muy útiles en la separación y recogida de células de la sangre humana, y similares.

5

**Breve descripción de los dibujos**

La figura 1 es una vista en perspectiva que muestra la configuración de un dispositivo microfluídico según una primera forma de realización de la presente invención.

10

La figura 2 es una vista en perspectiva del dispositivo microfluídico según la primera forma de realización de la presente invención, que muestra una caja de filtro en estado de despiece.

15

La figura 3 es una vista de una sección que muestra la configuración del dispositivo microfluídico según la primera forma de realización de la presente invención.

20

La figura 4 es una vista en perspectiva que muestra una parte inferior de la caja de una caja de filtro utilizada en el dispositivo microfluídico según la primera forma de realización de la presente invención, omitiendo una parte superior de caja en aras de la claridad.

25

La figura 5 es una vista anterior que muestra la configuración de una unidad dispersora utilizada en el dispositivo microfluídico según la primera forma de realización de la presente invención.

30

La figura 6 es una vista anterior que muestra la configuración de la primera y segunda disposiciones de captura utilizadas en el dispositivo microfluídico según la primera forma de realización de la presente invención.

35

La figura 7 es una vista de una sección que muestra un ejemplo modificado de la primera y segunda disposiciones de captura utilizadas en el dispositivo microfluídico según la primera forma de realización de la presente invención.

40

La figura 8 es una vista en perspectiva para explicar cómo instalar una caja de filtro en un soporte en un estado volcado en el dispositivo microfluídico según la primera forma de realización de la presente invención.

45

La figura 9 es una vista de una sección que muestra la caja de filtro instalada en el soporte en un estado volcado en el dispositivo microfluídico según la primera forma de realización de la presente invención.

50

La figura 10 es una vista anterior para explicar cómo separar dianas de la primera y segunda disposiciones de captura en el dispositivo microfluídico según la primera forma de realización de la presente invención.

55

La figura 11 es una vista en perspectiva que muestra un dispositivo microfluídico según una segunda forma de realización de la presente invención.

60

La figura 12 es una vista en perspectiva que muestra una caja de filtro en un estado de despiece en el dispositivo microfluídico según la segunda forma de realización de la presente invención.

65

La figura 13 es una vista de una sección que muestra la configuración del dispositivo microfluídico según la segunda forma de realización de la presente invención.

70

La figura 14 es una vista en perspectiva que muestra una parte inferior de la caja de una caja de filtro utilizada en el dispositivo microfluídico según la segunda forma de realización de la presente invención, omitiendo una parte superior de caja en aras de la claridad.

75

La figura 15 es una vista anterior que muestra la configuración de las disposiciones de captura en el dispositivo microfluídico según la segunda forma de realización de la presente invención.

80

La figura 16 es una vista de una sección del dispositivo microfluídico según la segunda forma de realización de la presente invención, que muestra la caja de filtro unida al soporte en un estado rotado 180 grados.

85

La figura 17 es una vista anterior para explicar cómo separar dianas de las disposiciones de captura en el dispositivo microfluídico según la segunda forma de realización de la presente invención.

90

La figura 18 es una vista en perspectiva que muestra la configuración de un dispositivo microfluídico según una tercera forma de realización de la presente invención.

95

La figura 19 es una vista de una sección que muestra la configuración del dispositivo microfluídico según la

tercera forma de realización de la presente invención.

5 La figura 20 es una vista en perspectiva que muestra la configuración de las placas de separación en el dispositivo microfluídico según la tercera forma de realización de la presente invención, omitiendo una parte superior de caja en aras de la claridad.

La figura 21 es una vista en perspectiva que muestra la caja de filtro y las placas de separación en un estado de despiece en el dispositivo microfluídico según la tercera forma de realización de la presente invención.

10 La figura 22 es una vista anterior que muestra la configuración de la primera y segunda disposiciones de captura en el dispositivo microfluídico según la tercera forma de realización de la presente invención.

15 La figura 23 es una vista de una sección que muestra la caja de filtro instalada en un soporte en un estado girado 180 grados en el dispositivo microfluídico según la tercera forma de realización de la presente invención.

La figura 24 es una vista anterior para explicar cómo separar dianas de la primera y segunda disposiciones de captura en el dispositivo microfluídico según la tercera forma de realización de la presente invención.

20 La figura 25 es una vista en perspectiva que muestra la caja de filtro y las placas de separación en un estado de despiece en un dispositivo microfluídico según una cuarta forma de realización de la presente invención.

25 La figura 26 es una vista en perspectiva que muestra una de las placas de separación utilizadas en el dispositivo microfluídico según la cuarta forma de realización de la presente invención.

La figura 27 es una vista anterior que muestra las disposiciones de captura utilizadas en el dispositivo microfluídico según la cuarta forma de realización de la presente invención.

30 La figura 28 es una vista anterior para explicar cómo separar dianas de las disposiciones de captura en el dispositivo microfluídico según la cuarta forma de realización de la presente invención.

#### **Descripción detallada de las formas de realización preferidas**

35 Otros objetivos, ventajas específicas y nuevas características de la presente invención resultarán evidentes a partir de la descripción siguiente de formas de realización preferidas proporcionada junto con los dibujos adjuntos.

40 A continuación, se describen en detalle determinadas formas de realización preferidas de un dispositivo microfluídico según la presente invención haciendo referencia a los dibujos adjuntos.

45 Las figuras 1 a 10 muestran un dispositivo microfluídico según una primera forma de realización de la presente invención. En referencia a las figuras 1 a 4, el dispositivo microfluídico según la primera forma de realización de la presente invención incluye una caja de filtro 10 que forma una carcasa exterior. La caja de filtro 10 incluye una parte superior 10a de caja y una parte inferior 10b de caja acoplados reversiblemente con la superficie trasera de la parte superior 10a de caja. Un canal 12 a través del cual fluye una muestra 2 desde un extremo aguas arriba hacia un extremo aguas abajo se forma dentro de la caja de filtro 10. Un orificio de admisión 14 para introducir la muestra 2 se conecta con el extremo de aguas arriba del canal 12. Un orificio de descarga 16 para descargar la muestra 2 se conecta con el extremo de aguas abajo del canal 12. El orificio de admisión 14 se forma en una parte superior frontal de la parte superior 10a de la caja. El orificio de descarga 16 se forma en una parte inferior trasera de la parte inferior 10b de caja.

55 Tal como se muestra en las figuras 5 y 6, la muestra 2 contiene diferentes tipos de diana 4 (4a, 4b y 4c) que difieren de tamaño entre sí y una pluralidad de no dianas 6. Las dianas 4 incluyen dianas de primer tipo 4a, dianas de segundo tipo 4b y dianas de tercer tipo 4c. Las dianas de primer tipo 4a presentan un primer diámetro  $d_1$ . Las dianas de segundo tipo 4b presentan un segundo diámetro  $d_2$ . Las dianas de tercer tipo 4c presentan un tercer diámetro  $d_3$ . El primer diámetro  $d_1$  es superior al segundo diámetro  $d_2$ . El segundo diámetro  $d_2$  es superior al tercer diámetro  $d_3$ . Las no dianas 6 presentan un diámetro  $d$  inferior al tercer diámetro  $d_3$  de las dianas de tercer tipo 4c.

60 La muestra 2 puede ser un líquido fisiológico, tal como saliva, sudor u orina, la sangre o el suero de un ser humano o un animal. Además, el líquido que contiene dianas 6, tal como células o tejidos de un ser humano, un animal o una planta, y el líquido que contiene virus o bacterias puede seleccionarse como muestra 2. En el caso de que se seleccione sangre como muestra 2, las células de diferentes tamaños contenidos en la sangre pueden convertirse en las dianas 6. Entre los ejemplos de células contenidas en la sangre se incluyen glóbulos rojos y glóbulos blancos.

Haciendo referencia a las figuras 2, 4 y 5, el dispositivo microfluídico según la primera forma de realización de la presente invención incluye una pluralidad de unidades de dispersión 20 (20-1, 20-2 y 20-3) dispuestas en la parte aguas arriba del canal 12 para dispersar la muestra 2 que fluye a lo largo de la dirección de flujo de la muestra 2. Las unidades de dispersión 20 incluyen una primera unidad de dispersión 20-1, una segunda unidad de dispersión 20-2 y una tercera unidad de dispersión 20-3 dispuestas a lo largo de la dirección de flujo de la muestra 2 en múltiples etapas.

Cada una de las primera a tercera unidades de dispersión 20-1, 20-2 y 20-3 incluye disposiciones de postes 24 (24-1 y 24-2), presentando cada una, una pluralidad de postes 22 dispuestos en una relación espaciada a lo largo de la dirección de flujo de la muestra 2 y a lo largo de una dirección ortogonal a la dirección de flujo de la muestra 2. El intervalo entre los postes 22 se fija para permitir que las dianas 4 pasen entre los postes 22. En las disposiciones de postes 24 de cada una de las primera a tercera unidades de dispersión 20-1, 20-2 y 20-3, los postes 22 de las disposiciones impares de postes 24-1 y los postes 22 de las disposiciones pares de postes 24-2 cuentan desde el extremo de aguas arriba hacia el extremo de aguas abajo del canal 12 están organizados en un patrón de escalonado. Con esta organización de los postes 22, cuando las disposiciones impares de postes 24-1 se miran desde el orificio de admisión 14, los postes 22 de las disposiciones pares de postes 24-2 se ven entre los postes 22 de las disposiciones impares de postes 24-1.

Los postes 22 de la primera a tercera unidades de dispersión 20-1, 20-2 y 20-3 están dispuestos de manera que el diámetro de las mismas se reduce gradualmente a lo largo de la dirección de flujo de la muestra 2. Por ejemplo, los postes 22 de la primera unidad de dispersión 20-1 pueden formarse para presentar un diámetro de entre 300  $\mu\text{m}$  y 400  $\mu\text{m}$ . Los postes 22 de la segunda unidad de dispersión 20-2 pueden formarse para presentar un diámetro de entre 200  $\mu\text{m}$  y 300  $\mu\text{m}$ . Los postes 22 de la tercera unidad de dispersión 20-3 pueden formarse para presentar un diámetro de entre 100  $\mu\text{m}$  y 200  $\mu\text{m}$ . En la figura 5 se muestra a título de ejemplo que los postes 22 presentan una sección transversal circular. Sin embargo, la sección transversal de los postes 22 puede presentar muchas otras formas diferentes capaces de dispersar eficientemente el flujo de la muestra 2, por ejemplo, una forma elíptica, una forma triangular, una forma rectangular o una forma pentagonal.

Haciendo referencia a las figuras 2, 4, 6 y 7, el dispositivo microfluídico según la primera forma de realización de la presente invención incluye primeras disposiciones de captura 30-1 y segundas disposiciones de captura 30-2 que se organizan a lo largo de la dirección de flujo de la muestra 2 en el lado aguas abajo de las unidades de dispersión 20 de manera que capturan las dianas 4. Las primeras disposiciones de captura 30-1 se organizan contiguas al extremo de aguas abajo de las unidades de dispersión 20. Cada una de las primeras disposiciones de captura 30-1 incluye una pluralidad de primeros embudos directos 40-1 y una pluralidad de primeros embudos inversos 50-1 organizados alternadamente a lo largo de una dirección ortogonal a la dirección de flujo de la muestra 2. Las segundas disposiciones de captura 30-2 se organizan contiguas a los extremos de aguas abajo de las primeras disposiciones de captura 30-1. Cada una de las segundas disposiciones de captura 30-2 incluyen una pluralidad de segundos embudos directos 40-2 y una pluralidad de segundos embudos inversos 50-2 organizados alternadamente a lo largo de una dirección ortogonal a la dirección de flujo de la muestra 2. El primer y segundo embudos inversos 50-1 y 50-2 forman medios inductores de un flujo inverso que provoca que los diferentes tipos de diana 4 capturados en el primer y segundo embudos directos 40-1 y 40-2 fluyan en sentido opuesto al sentido de flujo de la muestra 2 al montar la caja de filtro 10 en estado volcado.

Cada uno de los primeros y segundos embudos directos 40-1 y 40-2 presenta una entrada 42 formada en el lado de aguas arriba del canal 12 a lo largo de la dirección de flujo de la muestra 2 y una salida 44 formada en el lado aguas abajo del canal 12. La superficie de la sección transversal de cada uno de los primeros y segundos embudos directos 40-1 y 40-2 se reduce gradualmente desde la entrada 42 hacia la salida 44. Cada uno de los primeros y segundos embudos inversos 50-1 y 50-2 presenta una entrada 52 formada en el lado aguas abajo del canal 12 a lo largo de la dirección de flujo de la muestra 2 y una salida 54 formada en el lado aguas arriba del canal 12. La superficie de la sección transversal de cada uno de los primeros y segundos embudos inversos 50-1 y 50-2 se reduce gradualmente desde la entrada 52 hacia la salida 54. La superficie de la sección transversal de la salida 44 de cada uno de los primeros embudos directos 40-1 es igual a la superficie de la sección transversal de la salida 54 de cada uno de los primeros embudos inversos 50-1. La superficie de la sección transversal de la salida 44 de cada uno de los segundos embudos directos 40-2 es igual a la superficie de la sección transversal de la salida 54 de cada uno de los segundos embudos inversos 50-2.

Cada uno de los primeros y segundos embudos directos 40-1 y 40-2 incluye una primera guía 46 y una segunda guía 48 que se proporcionan en parejas. La primera guía 46 incluye una primera superficie inclinada 46a y una segunda superficie inclinada 46b que se extienden oblicuamente en una relación mutua paralela. La primera guía 48 incluye una primera superficie inclinada 48a y una segunda superficie inclinada 48b que se extienden oblicuamente en una relación mutua paralela. La primera superficie inclinada 46a de la primera guía 46 y la primera superficie inclinada 48a de la segunda guía 48 se encuentran enfrentadas. La primera guía 46 incluye además una tercera superficie inclinada 46c formada en la parte superior de la misma que se extiende oblicuamente desde la segunda superficie inclinada 46b de la primera guía 46 hacia la entrada 42. La segunda guía 48 incluye además una tercera superficie inclinada 48c formada en la parte superior de la misma que se extiende oblicuamente desde la segunda superficie inclinada 48b de la segunda guía 48 hacia la entrada 42. La

5 primera guía 46 incluye además una cuarta superficie inclinada 46d formada en la parte inferior de la misma que se extiende oblicuamente desde la segunda superficie inclinada 46b de la primera guía 46 hacia la salida 44. La segunda guía 48 incluye además una cuarta superficie inclinada 48d formada en la parte inferior de la misma que se extiende oblicuamente desde la segunda superficie inclinada 48b de la segunda guía 48 hacia la salida 44. La primera guía 46 incluye además esquinas redondas 46e en donde la primera a cuarta superficies inclinadas, 46a, 46b, 46c y 46d, se reúnen. La segunda guía 48 incluye además esquinas redondas 48e en donde la primera a cuarta superficies inclinadas, 48a, 48b, 48c y 48d, se reúnen. Las esquinas redondas 46e y 48e sirven para garantizar un flujo fluido de las dianas 4 y para evitar que las dianas 4 resulten dañadas.

10 Cada uno de los primer y segundo embudos inversos 50-1 y 50-2 se organiza entre el primer y segundo embudos directos 40-1 y 40-2 contiguamente. Cada uno del primer y segundo embudos inversos 50-1 y 50-2 está formado de la primera guía 46 de cada uno del primer y segundo embudos directos 40-1 y 40-2 organizados en el lado derecho de la misma, y de la segunda guía 48 de cada uno del primer y segundo embudos directos 40-1 y 40-2 organizados en el lado izquierdo de la misma. Los primeros embudos directos 40-1 y los segundos embudos directos 40-2 están organizados en un patrón de escalonado de unos respecto a los otros. Los primeros embudos inversos 50-1 y los segundos embudos inversos 50-2 están organizados en un patrón de escalonado de unos respecto a los otros. En otras palabras, los segundos embudos directos 40-2 están organizados bajo los primeros embudos inversos 50-1. Los segundos embudos inversos 50-2 están dispuestos bajo los primeros embudos directos 40-1. Los primeros embudos directos 40-1 y los segundos embudos inversos 50-2 están dispuestos en un primer eje 60 paralelo a la dirección de flujo de la muestra 2. Los primeros embudos inversos 50-1 y los segundos embudos directos 40-2 están organizados en un segundo eje 62 paralelo a la dirección de flujo de la muestra 2.

25 Las primera y segunda disposiciones de captura 30-1 y 30-2 están organizadas en múltiples etapas a lo largo de la dirección de flujo de la muestra 2. La primera y segunda disposiciones de captura 30-1 y 30-2 están organizadas alternadamente a lo largo de la dirección de flujo de la muestra 2. En las figuras 4 y 6, la primera y segunda disposiciones de captura 30-1 y 30-2 están organizadas en ocho filas: cuatro filas para cada disposición, a título de ejemplo. En caso necesario, el número de cada una de las primera y segunda disposiciones de captura 30-1 y 30-2 puede modificarse apropiadamente. La primera y segunda disposiciones de captura 30-1 y 30-2 se organizan de manera que la superficie de la sección transversal de la salida 44 de cada uno de los primer y segundo embudos directos 40-1 y 40-2 se reduzca gradualmente hacia el lado aguas abajo a lo largo de la dirección de flujo de la muestra 2. La primera y segunda disposiciones de captura 30-1 y 30-2 se organizan de manera que la superficie de la sección transversal de la salida 44 de los primer y segundo embudos inversos 50-1 y 50-2 se reduzca gradualmente hacia el lado aguas arriba a lo largo del sentido opuesto al sentido de flujo de la muestra 2.

40 Se organizan primeros cuerpos de obstrucción 64 próximos a los extremos de aguas abajo de las salidas 44 del primer y segundo embudos directos 40-1 y 40-2. Los primeros cuerpos de obstrucción 64 obstruyen las dianas 4 que fluyen hacia el exterior de las salidas 44 y ayudan a los primer y segundo embudos directos 40-1 y 40-2 en la captura de las dianas 4. Los segundos cuerpos de obstrucción 66 están organizados próximos a los extremos de aguas arriba del primer y segundo embudos inversos 50-1 y 50-2 de manera que las dianas 4 pueden fluir en sentido contrario al sentido de captura en el que las dianas 4 son capturadas por el primer y segundo embudos directos 40-1 y 40-2 y puede fluir hacia el exterior de las salidas 54. Los segundos cuerpos de obstrucción 66 sirven de guías para guiar el flujo de las dianas 4 hacia el primer y segundo embudos directos 40-1 y 40-2. Tal como se muestra en la figura 7, los primeros cuerpos de obstrucción 64 y los segundos cuerpos de obstrucción 66 pueden omitirse. En ese caso, las dianas 4 se captura dentro del primer y segundo embudos directos 40-1 y 40-2.

50 Haciendo referencia a las figuras 1 a 3, el dispositivo microfluido según la primera forma de realización de la presente invención. Incluye un soporte 70 en el que puede colocarse oblicuamente la caja de filtro 10. El soporte 70 incluye una tabla inclinada 72 sobre la que puede colocarse oblicuamente la caja de filtro 10, y un elemento de sujeción 74 en el que puede encajar la caja de filtro 10. Se forma un espacio 76 para recibir la muestra 2 dentro del soporte 70. Un orificio de introducción 76a para introducir la muestra 2 descargada por la salida 16 de la caja de filtro 10 en el espacio 76 se forma sobre la superficie superior de la tabla inclinada 72. Un recipiente 78 para recibir la muestra 2 introducida en el espacio 76 del soporte 70 se posiciona inferiormente a la tabla inclinada 72. El orificio de introducción 76a se dispone en la parte superior del recipiente 78. El recipiente 78 puede deslizarse hacia el interior y exterior del espacio 76 a modo de cajón.

60 El dispositivo microfluido según la primera forma de realización de la presente invención incluye una jeringa 82 como unidad de alimentación de muestra 80 para almacenar la muestra 2 y suministrar la muestra 2 al interior del orificio de admisión 14 de la caja de filtro 10. La jeringa 82 incluye un cilindro 84 con un hueco 84a para almacenar la muestra 2, un orificio de admisión 84b para introducir la muestra 2 y un orificio de descarga 84c para descargar la muestra 2. La jeringa 82 incluye además un émbolo 86 insertado en el hueco 84a a través del orificio de admisión 84b. El émbolo 86 alterna a lo largo del hueco 84a, descargando la muestra 2 a través del orificio de descarga 84c. El orificio de descarga 84c está conectado al orificio de admisión 14 de la caja de filtro 10 mediante un manguito 88. La unidad de alimentación de muestra 80 puede estar formada de una bomba de

jeringa o bomba de émbolo para bombear una cantidad especificada de muestra 2 y suministrar la muestra 2 al canal 12 de la caja de filtro 10. En el caso de que se seleccione sangre humana como ejemplo de muestra 2, la unidad de alimentación de muestra 80 puede estar formada de un tubo de recolección de sangre, una bolsa o un paquete.

5

A continuación, se proporciona una descripción del dispositivo microfluídico según la primera forma de realización de la presente invención.

10

15

Haciendo referencia a las figuras 1 a 4, la caja de filtro 10 se coloca oblicuamente sobre la superficie superior de la tabla inclinada 72 al encajar la caja de filtro 10 en el elemento de sujeción 74. El orificio de admisión 14 de la caja de filtro 10 está expuesta en el lado superior de la tabla inclinada 72. El orificio de descarga 16 de la caja de filtro 10 está conectada al orificio de introducción 76a del soporte 70. El orificio de descarga 84c del cilindro 84 está conectado al orificio de admisión 14 de la caja de filtración 10 mediante el manguito 88. En el caso de que el émbolo 86 se desplace hacia adelante a lo largo del hueco 84a del cilindro 84, la muestra 2 se descarga por el orificio de descarga 84c del cilindro 84 y se introduce en la parte aguas arriba del canal 12 por el manguito 88 y el orificio de admisión 14 de la caja de filtro 10.

20

25

Tal como se muestra en la figura 5, la muestra 2 se dispersa en dirección ortogonal a la dirección de flujo de la muestra 2, pasando entre los postes 22 de la primera a tercera unidades de dispersión 20-1, 20-2 y 20-3. A lo largo del flujo de muestra 2, las dianas 4 y las no dianas 6 contenidas en la muestra 2 se dispersan uniformemente en la dirección transversal del canal 12. La sangre humana, a título de un ejemplo de la muestra 2, puede fluir por el canal 12 en un estado desviado según la viscosidad de la misma. El flujo de la sangre se dispersa mientras pasa secuencialmente por la primera a tercera unidades de dispersión 20-1, 20-2 y 20-3. Lo anterior ayuda a incrementar la tasa de captura de las dianas 6 capturadas por la primera y segunda disposiciones de captura 30-1 y 30-2.

30

35

Tal como se muestra en la figura 6, la muestra 2 fluye hacia abajo desde las entradas 42 de los primeros embudos directos 40-1 hacia las salidas 44 de los mismos. Si las salidas 44 de los primeros embudos directos 40-1 presentan una anchura de 15  $\mu\text{m}$  a 20  $\mu\text{m}$ , las dianas de primer tipo 4a con un tamaño de 15  $\mu\text{m}$  o superior no podrán pasar por las salidas 44. Las dianas de segundo tipo 4b, las dianas de tercer tipo 4c y las no dianas 6, la totalidad de las cuales presenta un tamaño inferior a 15  $\mu\text{m}$ , podrá pasar por las salidas 44. Los primeros cuerpos de obstrucción 64 obstruyen las dianas de primer tipo 4a que fluyen saliendo de las salidas 44 de los primeros embudos directos 40-1. De esta manera, las dianas de primer tipo 4a son capturadas por los primeros embudos directos 40-1.

40

45

50

55

A continuación, la muestra 2 se pasa por los primeros embudos directos 40-1, fluye hacia abajo desde las entradas 42 de los segundos embudos directos 40-2 hacia las salidas 44 de los mismos. Si las salidas 44 de los segundos embudos directos 40-2 presentan una anchura de 10  $\mu\text{m}$  a 15  $\mu\text{m}$ , las dianas de segundo tipo 4b con un tamaño de 10  $\mu\text{m}$  o superior no podrán pasar por las salidas 44. Las dianas de tercer tipo 4c y las no dianas 6, ambas con un tamaño inferior a 10  $\mu\text{m}$ , podrá pasar por las salidas 44. Los segundos cuerpos de obstrucción 66 organizados entre las primeras disposiciones de captura 30-1 y las segundas disposiciones de captura 30-2 guían el flujo de las dianas 4 hacia los segundos embudos directos 40-2.

El tercer tipo de dianas 4c es capturado por las primera y segunda disposiciones de captura 30-1 y 30-2 organizadas en el lado aguas abajo de las segundas disposiciones de captura 30-2 en múltiples etapas. Las no dianas 6 pueden pasar por la primera y segunda disposiciones de captura 30-1 y 30-2. Las salidas 44 pueden estar formadas para presentar una anchura mínima de 5  $\mu\text{m}$ . Las células normales, tales como los glóbulos rojos de la sangre humana, a título de ejemplo de no dianas 6, pueden pasar fácilmente por un orificio con un diámetro inferior al diámetro de los mismos debido a que el citoplasma circundante al núcleo celular es deformable. A título de ejemplo de las dianas 4, las células con baja tasa de formación del citoplasma prácticamente no pueden pasar por un orificio con un diámetro inferior al diámetro de las mismas. El citoplasma de cada una de las células normales se deforma al entrar en contacto con los primeros cuerpos de obstrucción 64 y puede pasar fácilmente entre las salidas 44 y los primeros cuerpos de obstrucción 64. Las no dianas 6 se introducen en el espacio 76 por el orificio de descarga 16 de la caja de filtro 10 y el orificio de introducción 76a del soporte 70 y son recibidas dentro del recipiente 78.

60

De esta manera, las dianas 4 se filtran y se separan a partir de su tamaño por la primera y segunda disposiciones de captura 30-1 y 30-2 organizadas en múltiples etapas. Por lo tanto, resulta posible recoger eficientemente, por ejemplo, glóbulos blancos con un diámetro de 12  $\mu\text{m}$  a 25  $\mu\text{m}$  de la sangre humana. En el caso de que se formen las salidas 44 para presentar una anchura de 5  $\mu\text{m}$ , los glóbulos rojos con un diámetro de 6  $\mu\text{m}$  a 8  $\mu\text{m}$  podrán pasar por las salidas 44 debido a que el citoplasma de los mismos es deformable.

65

Haciendo referencia a las figuras 8 a 10, el dispositivo microfluídico según la primera forma de realización de la presente invención incluye una unidad de alimentación de líquido portador 90 para alimentar un líquido portador, p.ej. una solución 8, con el fin de separar y recoger las dianas 4 capturadas por la primera y segunda disposiciones de captura 30-1 y 30-2. La unidad de alimentación de líquido portador 90 está formada de una

5 jeringa 92. La jeringa 92 incluye un cilindro 94, un émbolo 96 y un manguito 98. La configuración y funcionamiento de la jeringa 92 son los mismos que los de la jeringa 82 de la unidad de alimentación de muestra 80 y, por lo tanto, no se describirán en detalle. La unidad de alimentación de líquido portador 90 puede estar formada de una bomba de jeringa o una bomba de émbolo para el bombeo y alimentación de una cantidad especificada de solución 8.

10 Las dianas 4 capturadas por la primera y segunda disposiciones de captura 30-1 y 30-2 pueden separarse y recogerse mediante un método de separación de diana utilizando el dispositivo microfluidico según la primera forma de realización de la presente invención. Con el fin de recoger las dianas 4, la caja de filtro 10 se encaja en el elemento de sujeción 74 invirtiendo la caja de filtro 10 de manera que el orificio de admisión 14 pueda orientarse hacia abajo con el orificio de descarga 16 orientado hacia arriba. El orificio de admisión 14 de la caja de filtro 10 está conectado al orificio de introducción 76a del soporte 70. En el caso de que la caja de filtro 10 esté unida a la tabla inclinada 72 en un estado invertido, el primer y segundo embudos directos 40-1 y 40-2 estarán orientados en sentido opuesto al sentido de filtración, de manera que las entradas 42 podrán organizarse en el lado aguas abajo del canal 12 con las salidas 44 dispuestas en el lado aguas arriba del canal 12. El primer y segundo embudos inversos 50-1 y 50-2 están orientados de manera que las entradas 52 pueden organizarse en el lado aguas arriba del canal 12 con las salidas 54 dispuestas en el lado aguas abajo del canal 12.

20 En el caso de que el émbolo 96 se desplace hacia adelante dentro del cilindro 94 después de conectar el orificio de descarga 16 de la caja de filtro 10 al cilindro 94 mediante el manguito 98, la solución 8 se descarga del cilindro 94 y se introduce en el canal 12 por el manguito 98 y el orificio de descarga 16 de la caja de filtro 10. La solución 8 fluye hacia abajo desde las entradas 52 de los segundos embudos inversos 50-2 hacia las salidas 54 de los mismos. Simultáneamente, la solución 8 fluye hacia abajo desde las salidas 44 de los segundos embudos directos 40-2 hacia las entradas 42. Como resultado, las dianas 4 capturadas por los segundos embudos directos 40-2, por ejemplo, las dianas de segundo tipo 4b, fluyen hacia el exterior de las entradas 42 de los segundos embudos directos 40-2 y fluyen hacia las primeras disposiciones de captura 30-1 a lo largo del canal 12.

30 A continuación, se introducen las dianas 4 en los primeros embudos inversos 50-1 a través de las entradas 52 de los primeros embudos inversos 50-1. Después, las dianas 4 fluyen hacia abajo, hacia las salidas 54. Las dianas 4 que fluyen en sentido contrario al sentido de captura pueden pasar fácilmente entre las salidas 54 y segundos cuerpos de obstrucción 66. Las dianas de segundo tipo 4b que han pasado por las salidas 54 de los primeros embudos inversos 50-1 y las dianas de primer tipo 4a capturadas por los primeros embudos directos 40-1 fluyen, junto con la solución 8, a través de la tercera unidad de dispersión 20-3, la segunda unidad de dispersión 20-1, la primera unidad de dispersión 20-1, el orificio de admisión 14 de la caja de filtración 10 y el orificio de introducción 76a del soporte 70 en el orden indicado. A continuación, las dianas de segundo tipo 4b y las dianas de primer tipo 4a se introducen en el espacio 76. Las dianas 4 y la solución 8 introducidas en el espacio 76 son recibidas en el recipiente 78. A continuación, el recipiente 78 se abre y se recogen las dianas 4 recibidas en el recipiente 78.

40 Las figuras 11 a 17 muestran un dispositivo microfluidico según una segunda forma de realización de la presente invención. Los mismos componentes que los del dispositivo microfluidico según la primera forma de realización se designan con iguales números de referencia y no se describirán en detalle.

45 Haciendo referencia a las figuras 11 a 13, el dispositivo microfluidico según la segunda forma de realización incluye una caja de filtro 110 que constituye una carcasa exterior. La caja de filtro 110 incluye una parte superior 110a de caja y una parte inferior 110b de caja unidas en la superficie trasera de la parte superior 110a de caja definiendo una canal 112 entre la parte superior 110a de caja y la parte inferior 110b de caja. Una primera boquilla 114 que presenta un orificio de admisión 114a para la introducción de una muestra 2 se conecta con la parte aguas arriba del canal 112. Una segunda boquilla 116 que presenta un orificio de descarga 116a para la descarga de una muestra 2 se conecta con la parte aguas abajo del canal 112. La primera y segunda boquillas 114 y 116 sobresalen respecto de las partes superior e inferior de la superficie frontal de la caja de filtro 110.

55 Haciendo referencia a las figuras 12, 14 y 15, el dispositivo microfluidico según la segunda forma de realización incluye una pluralidad de disposiciones de captura 130 (130-1 a 130-n) organizadas en el lado aguas abajo de las unidades de dispersión 20 en relación espaciada a lo largo de la dirección de flujo de la muestra 2, de manera que capturan las dianas 4 contenidas en la muestra 2. Cada una de las disposiciones de captura 130 incluye una pluralidad de embudos 140 (140-1 a 140-n) organizados a lo largo de la dirección ortogonal a la dirección de flujo de la muestra 2. Cada uno de los embudos 140 presenta una entrada 142 dispuesta en el lado aguas arriba del canal 112 a lo largo de la dirección de flujo de la muestra 2 y una salida 144 en el lado aguas abajo del canal 112 a lo largo de la dirección de flujo de la muestra 2. El área de sección transversal de cada uno de los embudos 140 se reduce gradualmente desde la entrada 142 hacia la salida 144. Los embudos 140 se disponen de manera que las superficies de sección transversal de las salidas 144 de los embudos 140 se reduzcan gradualmente a lo largo de la dirección de flujo de la muestra 2.

65 Haciendo referencia a las figuras 15 y 17, se forma un trayecto de descarga 150 entre las disposiciones de captura 130. El trayecto de descarga 150 sirve como una guía de flujo inverso para guiar el flujo de diferentes



tipos de diana 4 capturados por los embudos 140 en sentido opuesto al sentido de flujo de la muestra 2. El trayecto de descarga 150 incluye una pluralidad de trayectos horizontales 152 formados entre las disposiciones de captura 130 y una pluralidad de trayectos verticales 154 formados entre los embudos 140 de manera que se interconectan los trayectos horizontales 152. Los trayectos verticales 154 están conectados a los trayectos horizontales 152 en un patrón de zigzag.

Haciendo referencia nuevamente a las figuras 11 a 13, el dispositivo microfluídico según la segunda forma de realización incluye un soporte 170. El soporte 170 incluye una tabla inclinada 172 sobre la que puede colocarse oblicuamente la caja de filtro 110, y un elemento de sujeción 174 en el que puede encajar la caja de filtro 110. Se forma un espacio 176 para recibir la muestra 2 dentro del soporte 170. Una boquilla 176b que presenta un orificio de introducción 176a para introducir la muestra 2 descargada por el orificio de descarga 116a de la caja de filtro 110 al espacio 176 se forma sobre la superficie superior del soporte 170. Se proporciona un recipiente 178 para recibir la muestra 2 introducida en el espacio 176 del soporte 170. El orificio de introducción 176a se dispone en la parte superior del recipiente 178. El recipiente 178 puede deslizarse hacia el interior y exterior del espacio 176 a modo de cajón.

La primera boquilla 114 de la caja de filtro 110 está conectada a la jeringa 82 de la unidad de alimentación de muestra 80 mediante un manguito 88. La segunda boquilla 116 de la caja de filtro 110 está conectada a la boquilla 176b del soporte 170 mediante un manguito 118. La muestra 2 se introduce a partir de la jeringa 82 al espacio 176 mediante el manguito 88, el orificio de admisión 114a, el canal 112, el orificio de descarga 116a, el manguito 118 y el orificio de introducción 176a. A continuación, la muestra 2 es recibida en el recipiente 178.

Tal como se muestra en la figura 16, en el caso de que la caja de filtro 110 se encaje en el elemento de sujeción 174 en un estado girado 180 grados de manera que la primera boquilla 114 de la caja de filtro 110 pueda encontrarse orientada hacia abajo con la segunda boquilla 116 orientada hacia arriba, la primera boquilla 114 se conecta con la boquilla 176b del soporte 170 mediante el manguito 118. La solución 8 alimentada a partir de la jeringa 92 de la unidad de alimentación de líquido portador 90 se introduce en el espacio 176 mediante el manguito 98, el orificio de descarga 116a, el canal 112, el orificio de admisión 114a, el manguito 118 y el orificio de introducción 176a. A continuación, la solución 8 es recibida en el recipiente 178.

Con la estructura en la que la primera boquilla 114 o la segunda boquilla 116 de la caja de filtro 110 está conectada al orificio de introducción 176a del soporte 170 mediante el manguito 118, resulta posible montar fácilmente la caja de filtro 110 en el elemento de sujeción 174 en un estado girado 180 grados. En caso necesario, la caja de filtro 110 y el soporte 170 del dispositivo microfluídico según la segunda forma de realización puede aplicarse a la caja de filtro 10 y el soporte 70 del dispositivo microfluídico según la primera forma de realización.

A continuación, se describe el funcionamiento del dispositivo microfluídico según la segunda forma de realización de la presente invención.

Haciendo referencia a las figuras 11 a 14, la muestra 2 se introdujo en la parte aguas arriba del canal 112 mediante el manguito 188 y el orificio de admisión 114a de la caja de filtro 110. Después, la muestra 2 se dispersó en dirección ortogonal a la dirección de flujo de la muestra 2, pasando entre los postes 22 de la primera a tercera unidades de dispersión 20-1, 20-2 y 20-3.

Tal como se muestra en la figura 15, la muestra 2 fluye hacia abajo desde las entradas 142 de los embudos 140 hacia las salidas 144 de los mismos. La muestra 2 pasa por los primeros embudos 140-1 de las primeras disposiciones de captura 130-1. Los primeros embudos 140-1 capturan las dianas de primer tipo 4a. Los segundos embudos 140-2 de las segundas disposiciones de captura 130-2 capturan las dianas de segundo tipo 4b. Los últimos embudos 140-n de las últimas disposiciones de captura 130-n capturan las dianas de tercer tipo 4c. Las no dianas 6 pasan a través de todas las disposiciones de captura 130. La muestra 2 y las no dianas 6 se introducen en el espacio 176 a través del orificio de descarga 116a de la caja de filtro 110 y el orificio de introducción 176a del soporte 170 y son recibidos en el recipiente 178.

Haciendo referencia a las figuras 16 y 17, las dianas 4 capturadas por las disposiciones de captura 130 pueden separarse y recogerse mediante un método de separación de dianas utilizando el dispositivo microfluídico según la segunda forma de realización de la presente invención. Con el fin de recoger las dianas 4, la caja de filtro 110 se encaja en el elemento de sujeción 174 mediante el giro de 180 grados de la caja de filtro 110 de manera que el orificio de admisión 114a puede estar orientado hacia abajo con el orificio de descarga 116a orientado hacia arriba. En el caso de que la caja de filtro 110 se encuentre unida a la tabla inclinada 172 en un estado girado 180 grados, las entradas 142 de los embudos 140 estarán dispuestas en el lado aguas abajo del canal 112 con las salidas 144 dispuestas en el lado aguas arriba del canal 112. De esta manera, los embudos 140 están orientados en sentido opuesto al sentido de filtración.

Al accionar la jeringa 92, se introduce la solución 8 en el canal 112. A continuación, la solución 8 fluye hacia abajo desde las salidas 144 de los embudos 140, hacia las entradas 142 de los mismos. Como consecuencia, las dianas 4 capturadas por los embudos 140 fluyen hacia el exterior de las entradas 142 y después fluyen hacia abajo, hacia

el orificio de admisión 114a de la caja de filtro 110. Las dianas 4 que fluyen en sentido opuesto al sentido de captura pueden pasar fluidamente por el trayecto de descarga 150 formado entre las disposiciones de captura 130. A lo largo del flujo de la solución 8, las dianas 4 pasan por las unidades de dispersión 20, el orificio de admisión 114a de la caja de filtro 110 y el orificio de introducción 176a del soporte 170 en el orden indicado y después fluyen hacia el interior del espacio 176. Las dianas 4 y la solución 8 que fluyen hacia el interior del espacio 176 son recibidas en el recipiente 178.

Las figuras 18 a 24 muestran un dispositivo microfluídico según una tercera forma de realización de la presente invención. En referencia a las figuras 18 y 19, el dispositivo microfluídico según la tercera forma de realización incluye una caja de filtro 110 y un soporte 170 que presentan la misma configuración que la caja de filtro 110 y el soporte 170 del dispositivo microfluídico según la segunda forma de realización. Por lo tanto, no se realizará ninguna descripción de la configuración y funcionamiento de la caja de filtro 110 y del soporte 170. Además, el dispositivo microfluídico según la tercera forma de realización incluye unidades de dispersión 20, primera y segunda disposiciones de captura 30-1 y 30-2, una unidad de alimentación de muestra 80 y una unidad de alimentación de líquido portador 90 que presentan la misma configuración que las unidades de dispersión 20, la primera y segunda disposiciones de captura 30-1 y 30-2, la unidad de alimentación de muestra 80 y la unidad de alimentación de líquido portador 90 del dispositivo microfluídico según la primera forma de realización. Por lo tanto, no se realizará ninguna descripción de la configuración y funcionamiento de los mismos.

Haciendo referencia a las figuras 18 a 21, el dispositivo microfluídico según la tercera forma de realización incluye una caja de filtro 110 que presenta una parte superior 110a de caja y una parte inferior 110b de caja y una pluralidad de placas de separación 200 (200-1 a 200-n) dispuestas entre la parte superior 110a de caja y la parte inferior 110b de caja. Las placas de separación 200 están apiladas entre la parte superior 110a de caja y la parte inferior 110b de caja de manera que dividen el canal 112 en una pluralidad de subcanales 202. Un primer trayecto 204a y un segundo trayecto 204b se forman en las partes superior e inferior de cada una de las placas de separación 200 de manera que interconectan los subcanales 202.

La parte superior 110a de caja está posicionada en el lado frontal de la primera placa de separación, 200-1, una de las placas de separación 200 dispuesta en la posición más frontal, de manera que cubre el subcanal 202 de la primera placa de separación 200-1. La parte inferior 110b de caja está posicionada en el lado trasero de la última placa de separación, 200-n, una de las placas de separación 200 dispuesta en la posición más trasera. La caja 110 y las placas de separación 200 están sujetas entre sí mediante una pluralidad de tornillos 206. Cada una de las partes inferiores 110b de caja y las placas de separación 200 incluye unidades de dispersión 20, primeras disposiciones de captura 30-1 y segundas disposiciones de captura 30-2 dispuestas sobre la superficie frontal de los mismos.

Haciendo referencia a las figuras 18, 19 y 22, la muestra 2 se introduce en la parte aguas arriba del subcanal 202 de la primera placa de separación 200-1 mediante el manguito 188 y el orificio de admisión 114a de la caja de filtro 110. La muestra 2 introducida en el subcanal 202 de la primera placa de separación 200-1 fluye hacia los subcanales 202 de las placas de separación 200 por los primeros trayectos 204a de las placas de separación 200.

Tal como se muestra en la figura 22, la muestra 2 se dispersa en dirección ortogonal a la dirección de flujo de la muestra 2, pasando entre los postes 22 de la primera a tercera unidades de dispersión 20-1, 20-2 y 20-3. La muestra 2 fluye hacia abajo desde las entradas 42 de los primeros embudos 40-1 hacia las salidas 44 de los mismos. Las dianas de primer tipo 4a son capturadas por los primeros embudos directos 140, 40-1. La muestra 2 que pasa por los primeros embudos 40-1 fluye hacia abajo desde las entradas 42 de los segundos embudos 40-2 hacia las salidas 44 de los mismos. Las dianas de segundo tipo 4b son capturadas por los segundos embudos 40-2. Las dianas de tercer tipo 4c son capturadas por las primeras disposiciones de captura 30-1 o las segundas disposiciones de captura 30-2 dispuestas en múltiples etapas. Las no dianas 6 pueden pasar por la primera y segunda disposiciones de captura 30-1 y 30-2.

Tras pasar por la primera y segunda disposiciones de captura 30-1 y 30-2, la muestra 2 y las no dianas 6 fluyen hacia el interior del subcanal 202 de la primera placa de separación 200-1 por los segundos trayectos 204b de las placas de separación 200. La muestra 2 y las no dianas 6 fluyen desde el subcanal 202 de la primera placa de separación 200-1 hacia el interior del espacio 176 por el orificio de descarga 116a y el orificio de introducción 176a del soporte 170. A continuación, la muestra 2 y las no dianas 6 son recibidas en el recipiente 178.

Con la estructura en la que se alimenta divisionalmente una gran cantidad de muestra 2 a los subcanales 202 de las placas de separación 200 y en la que son capturadas las dianas 4 por la primera y segunda disposiciones de captura 30-1 y 30-2, resulta posible acortar el tiempo necesario para tratar la muestra 2. Debido a que las dianas 4 se filtran y se separan según el tamaño mediante la primera y segunda disposiciones de captura 30-1 y 30-2 dispuestas en múltiples etapas, resulta posible recoger eficientemente, por ejemplo, glóbulos blancos de la sangre humana.

Haciendo referencia a las figuras 21 y 22, las dianas 4 pueden separarse y recogerse de la primera y segunda disposiciones de captura 30-1 y 30-2 mediante un método de separación de dianas utilizando el dispositivo

microfluídico según la tercera forma de realización de la presente invención. Con el fin de recoger las dianas 4, la caja de filtro 110 se encaja en el elemento de sujeción 174 mediante el giro de 180 grados de la caja de filtro 110 de manera que el orificio de admisión 114a puede estar orientado hacia abajo con el orificio de descarga 116a orientado hacia arriba. El orificio de admisión 114a se conecta mediante el orificio de introducción 176a del soporte 170.

El orificio de descarga 116a de la caja de filtro 110 se conecta al cilindro 94 mediante el manguito 98. Después, la jeringa 92 se hace funcionar de manera que la solución 8 pueda introducirse en el canal 112 mediante el manguito 98 y el orificio de descarga 116a. La solución 8 se alimenta divisionalmente a los subcanales 202 por los segundos trayectos 204b de las placas de separación 200.

Posteriormente, la solución 8 fluye hacia abajo desde las entradas 52 de los segundos embudos inversos 50-2 hacia las salidas 52 de los mismos. Además, la solución 8 fluye hacia abajo desde las salidas 44 de los segundos embudos directos 40-2 hacia las entradas 42 de los mismos. Como resultado, las dianas 4 capturadas por los segundos embudos directos 40-2, por ejemplo, las dianas de segundo tipo 4b, fluyen hacia el exterior de las entradas 42 de los segundos embudos directos 40-2 y fluyen hacia las primeras disposiciones de captura 30-1 a lo largo del canal 112.

Después, las dianas 4 fluyen hacia el interior de los primeros embudos inversos 50-1 a través de las entradas 52 de los primeros embudos inversos 50-1 y después fluyen hacia las salidas 54. Las dianas 4 que fluyen en sentido contrario al sentido de captura pueden pasar fácilmente entre las salidas 54 y segundos cuerpos de obstrucción 66. Las dianas de segundo tipo 4b que han pasado por las salidas 54 de los primeros embudos inversos 50-1 y las dianas de primer tipo 4a capturadas por los primeros embudos directos 40-1 fluyen, junto con la solución 8, a través de la tercera unidad de dispersión 20-3, la segunda unidad de dispersión 20-1, la primera unidad de dispersión 20-1, los primeros trayectos 204a, el orificio de admisión 114a y el orificio de introducción 176a en el orden indicado. A continuación, las dianas de segundo tipo 4b y las dianas de primer tipo 4a se introducen en el espacio 176. Las dianas 4 y la solución 8 introducidas en el espacio 176 son recibidas en el recipiente 178. A continuación, el recipiente 178 se abre y se recogen las dianas 4 recibidas en el recipiente 78.

Las figuras 25 a 28 muestran un dispositivo microfluídico según una cuarta forma de realización de la presente invención. En referencia a las figuras 25 a 28, el dispositivo microfluídico según la cuarta forma de realización incluye una caja de filtro 110 y una pluralidad de placas de separación 200 (201-1 a 201-n) que presentan la misma configuración que caja de filtro 110 y las placas de separación 200 (201-1 a 201-n) del dispositivo microfluídico según la tercera forma de realización. Por lo tanto, no se realizará ninguna descripción detallada de la configuración y funcionamiento de la caja de filtro 110 y de las placas de separación 200 (201-1 a 201-n). Además, el dispositivo microfluídico según la cuarta forma de realización incluye una pluralidad de unidades de dispersión 20 (20-1, 20-2 y 20-3), una pluralidad de disposiciones de captura 130 (130-1 a 130-n) y un trayecto de descarga 150 que presentan la misma configuración que las unidades de dispersión 20 (20-1, 20-2 y 20-3), las disposiciones de captura 130 (130-1 a 130-n) y el trayecto de descarga 150 del dispositivo microfluídico según la segunda forma de realización. Por lo tanto, no se realizará ninguna descripción detallada de la configuración y funcionamiento de las unidades de dispersión 20 (20-1, 20-2 y 20-3), de las disposiciones de captura 130 (130-1 a 130-n) y del trayecto de descarga 150.

En el dispositivo microfluídico según la cuarta forma de realización, cada una de las placas de separación 200 y la parte inferior 110b de caja incluye una pluralidad de unidades de dispersión 20 (20-1, 20-2 y 20-3), una pluralidad de disposiciones de captura 130 (130-1 a 130-n) y un trayecto de descarga 150 formado sobre la superficie frontal de las mismas. Al accionar la jeringa 82, se introduce la muestra 2 en el canal 112 y después se alimenta divisionalmente a los subcanales 202 por los primeros trayectos 204a de las placas de separación 200. La muestra 2 se dispersa en dirección ortogonal a la dirección de flujo de la muestra 2, pasando entre los postes 22 de la primera a tercera unidades de dispersión 20-1, 20-2 y 20-3. Las dianas 4 son capturadas por los embudos 140 de las disposiciones de captura 130. Las no dianas 6 pueden pasar por la totalidad de las disposiciones de captura 130.

Tal como se muestra en la figura 28, en el caso de que los embudos 140 se giren 180 grados para orientarse en sentido opuesto al sentido de captura de las dianas 4, la solución 8 fluiría hacia abajo desde las salidas 144 de los embudos 140 hacia las entradas 142. En consecuencia, las dianas 4 capturadas por los embudos 140 fluirían hacia afuera de las entradas 142 y fluirían a lo largo de los subcanales 202 y el trayecto de descarga 150. A continuación, las dianas 4 se descargarán hacia el exterior de la caja de filtro 110 por los primeros trayectos 204a y el orificio de admisión 114a. Las dianas 4 que fluyen en sentido opuesto al sentido de captura pueden pasar fluidamente por el trayecto de descarga 150 formado entre las disposiciones de captura 130.

Aunque se han descrito anteriormente determinadas formas de realización preferidas de la invención, el alcance de la presente invención no se encuentra limitado a estas formas de realización. Resultará evidente para el experto en la materia que pueden introducirse diversos cambios, modificaciones y sustituciones sin apartarse del alcance de la invención definido en las reivindicaciones. Tales cambios, modificaciones y sustituciones deberán interpretarse que se encuentran comprendidos dentro del alcance de la presente invención.

## REIVINDICACIONES

1. Dispositivo microfluídico, que comprende:

5 una caja de filtro (10; 110) que incluye un orificio de admisión (14) para introducir una muestra (2) que contiene diferentes tipos de dianas, un orificio de descarga (16) para descargar la muestra (2) y un canal (12) que se extiende entre el orificio de admisión (14) y el orificio de descarga (16);

10 una primera disposición de captura (30-1) dispuesta en una parte aguas arriba del canal (12), incluyendo la primera disposición de captura (30-1) una pluralidad de primeros embudos directos (40-1) dispuestos a lo largo de una dirección ortogonal a una dirección de flujo de la muestra (2) de manera que se capturan los diferentes tipos de dianas (4; 4a, 4b, 4c); y

15 una segunda disposición de captura (30-2) dispuesta en una parte aguas abajo del canal (12), incluyendo la segunda disposición de captura (30-2) una pluralidad de segundos embudos directos (40-2) dispuestos a lo largo de la dirección ortogonal a la dirección de flujo de la muestra (2) de manera que se capturan los diferentes tipos de dianas (4; 4a, 4b, 4c);

20 caracterizado por que presenta

unos medios de guiado de flujo inverso (50-1, 50-2) para provocar que los diferentes tipos de dianas (4; 4a, 4b, 4c) capturados en dicha pluralidad de primeros y segundos embudos directos (40-1, 40-2) fluyan hacia el orificio de admisión (14) en el sentido opuesto al sentido de flujo de la muestra (2) cuando se monta la caja de filtro (10; 110) en un estado invertido y

25 en el que los medios de guiado de flujo inverso (50-1, 50-2) incluyen: una pluralidad de primeros embudos inversos (50-1) dispuestos de manera alterna con respecto a los primeros embudos directos (40-1); y una pluralidad de segundos embudos inversos (50-1, 50-2) dispuestos de manera alterna con respecto a los segundos embudos directos (40-2).

30 2. Dispositivo microfluídico según la reivindicación 1, en el que:

a) los primeros embudos directos (40-1) y los segundos embudos directos (40-2) están dispuestos en un patrón de escalonado, o

35 b) los primeros embudos directos (40-1) y los segundos embudos inversos (50-2) están dispuestos en una relación coaxial entre sí y en el que los primeros embudos inversos (50-1) y los segundos embudos directos (40-2) están dispuestos en una relación coaxial entre sí.

40 3. Dispositivo microfluídico según la reivindicación 2, en el que cada uno de los primeros embudos directos (40-1), los segundos embudos directos (40-2), los primeros embudos inversos (50-1) y los segundos embudos inversos (50-2) presentan una entrada (42, 52) y una salida (44, 54), siendo la salida (44) de cada uno de los primeros embudos directos (40-1) igual en área de sección transversal a la salida (54) de cada uno de los primeros embudos inversos (50-1), siendo la salida (44) de cada uno de los segundos embudos directos (40-2) igual en área de sección transversal a la salida (54) de cada uno de los segundos embudos inversos (50-2).

4. Dispositivo microfluídico según la reivindicación 3, en el que:

50 a) la salida (44) de cada uno de los primeros embudos directos (40-1) es mayor en área de sección transversal a la salida (44) de cada uno de los segundos embudos directos (40-2) y en el que la salida (54) de cada uno de los primeros embudos inversos (50-1) es mayor en área de sección transversal a la salida (54) de cada uno de los segundos embudos inversos (50-2), o

55 b) unos primeros cuerpos de obstrucción (64) están dispuestos próximos a las salidas (44) de los primeros y segundos embudos directos (40-1, 40-2) de manera que obstruyan los diferentes tipos de dianas (4; 4a, 4b, 4c) que fluyen fuera de las salidas (44) de los primeros y segundos embudos directos (40-1, 40-2), o

60 c) unos segundos cuerpos de obstrucción (66) están dispuestos próximos a las salidas (54) de los segundos embudos inversos (50-2) de manera que los diferentes tipos de dianas (4; 4a, 4b, 4c) pueden fluir en un sentido opuesto al sentido de captura en la que los diferentes tipos de dianas (4; 4a, 4b, 4c) son capturados por los primeros y segundos embudos directos (40-1, 40-2) y pueden fluir fuera de las salidas (54) de los segundos embudos inversos (50-2), o

65 d) cada uno de los primeros y segundos embudos directos (40-1, 40-2) incluye una primera guía (46) y una segunda guía (48) previstas en pares, incluyendo la primera guía (46) una primera superficie inclinada (46a) y una segunda superficie inclinada (46b) que se extienden oblicuamente en una relación paralela

entre sí, incluyendo la segunda guía (48) una primera superficie inclinada (48a) y una segunda superficie inclinada (48b) que se extienden oblicuamente en una relación paralela entre sí; enfrentándose la primera superficie inclinada (46a) de la primera guía (46) y la primera superficie inclinada (48a) de la segunda guía (48), incluyendo además la primera guía (46) una tercera superficie inclinada (46c) formada en el extremo superior de la misma para extenderse oblicuamente desde la segunda superficie inclinada (46b) de la primera guía (46) hacia la entrada de cada una de los primeros y segundos embudos directos (40-1, 40-2), incluyendo además la segunda guía (48) una tercera superficie inclinada (48c) formada en un extremo superior de la misma para extenderse oblicuamente desde la segunda superficie inclinada de la segunda guía (48) hacia la entrada de cada uno de los primeros y segundos embudos directos (40-1, 40-2), incluyendo además la primera guía (46) una cuarta superficie inclinada (46d) formada en el extremo inferior de la misma para extenderse oblicuamente desde la segunda superficie inclinada (46b) de la primera guía (46) hacia la salida de cada uno de los primeros y segundos embudos directos (40-1, 40-2), incluyendo además la segunda guía (48) una cuarta superficie inclinada (48d) formada en el extremo inferior de la misma para extenderse oblicuamente desde la segunda superficie inclinada (48b) de la segunda guía (48) hacia la salida de cada uno de los primeros y segundos embudos directos (40-1, 40-2), incluyendo además la primera guía (46) unas esquinas redondas (46e) en las que la primera a cuarta superficies inclinadas (46a-46d) de la primera guía (46) se encuentran unas con otras, incluyendo además la segunda guía (48) unas esquinas redondas (48e) en las que la primera a cuarta superficies inclinadas (48a-48d) de la segunda guía (48) se encuentran unas con otras.

5. Dispositivo microfluídico según la reivindicación 1, en el que:

a) los medios de guiado de flujo inverso (50-1, 50-2) incluyen un trayecto de descarga (150) formado entre la primera disposición de captura (30-1) y la segunda disposición de captura (30-2) de manera que los diferentes tipos de dianas (4; 4a, 4b, 4c) capturados por los primeros y segundos embudos directos (40-1, 40-2) pueden fluir a través del trayecto de descarga (150) en el sentido opuesto al sentido de flujo de la muestra (2), o

b) la caja de filtro (110) incluye una parte de caja superior (110a) en la que se forman el orificio de admisión (14) y el orificio de descarga (16) y una parte de caja inferior (110b) acoplada a una superficie posterior de la parte de caja superior (110a) para formar el canal (12) entre la parte de caja superior y la parte de caja inferior, y que comprende además: una pluralidad de placas de separación (200) dispuestas en el canal (12) para dividir el canal (12) en una pluralidad de subcanales (202) a lo largo de la dirección de flujo de la muestra (2), incluyendo cada una de las placas de separación (200) un primer trayecto (204a) y un segundo trayecto (204b) formados en las partes superior e inferior de cada una de las placas de separación (200) de manera que interconectan los subcanales (202), estando la parte de caja inferior (110b) fijada a la última placa de separación (200) dispuesta en una posición más posterior de manera que interconecta el primer trayecto (204a) y el segundo trayecto (204b) de la última placa de separación (200), estando la primera disposición de captura (30-1), la segunda disposición de captura (30-2) y los medios de guiado de flujo inverso (50-1, 50-2) dispuestos sobre una superficie frontal de cada una de las placas de separación (200) y la parte de caja inferior (110b).

6. Dispositivo microfluídico según la reivindicación 1, que comprende además: una unidad de dispersión (20-1, 20-2, 20-3) dispuesta entre el orificio de admisión (14) y la primera disposición de captura (30-1) de manera que se dispersa el flujo de la muestra (2).

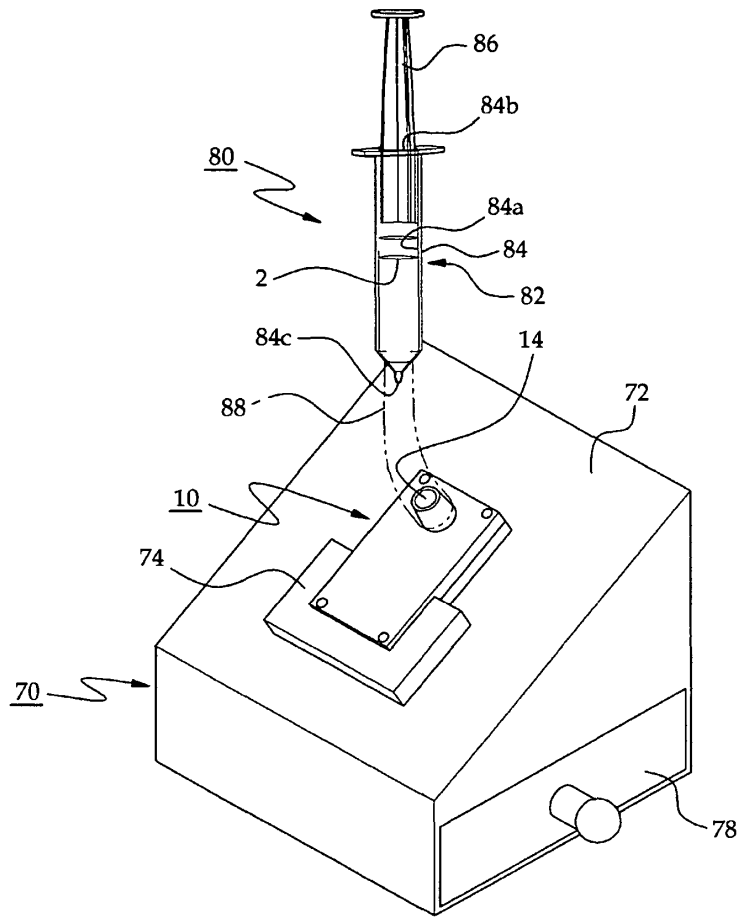
7. Dispositivo microfluídico según la reivindicación 6, en el que la unidad de dispersión (20-1, 20-2, 20-3) incluye una pluralidad de postes (22) dispuestos en una relación espaciada a lo largo de la dirección de flujo de la muestra (2) y a lo largo de la dirección ortogonal a la dirección de flujo de la muestra (2) de manera que los diferentes tipos de dianas (4; 4a, 4b, 4c) puedan pasar a través entre los postes (22).

8. Dispositivo microfluídico según la reivindicación 7, en el que los postes (22) incluyen unas disposiciones de postes en número impar (24-1) y unas disposiciones de postes en número par (24-2) dispuestos en un patrón de escalonado desde una parte aguas arriba del canal (12) hacia una parte aguas abajo del canal (12).

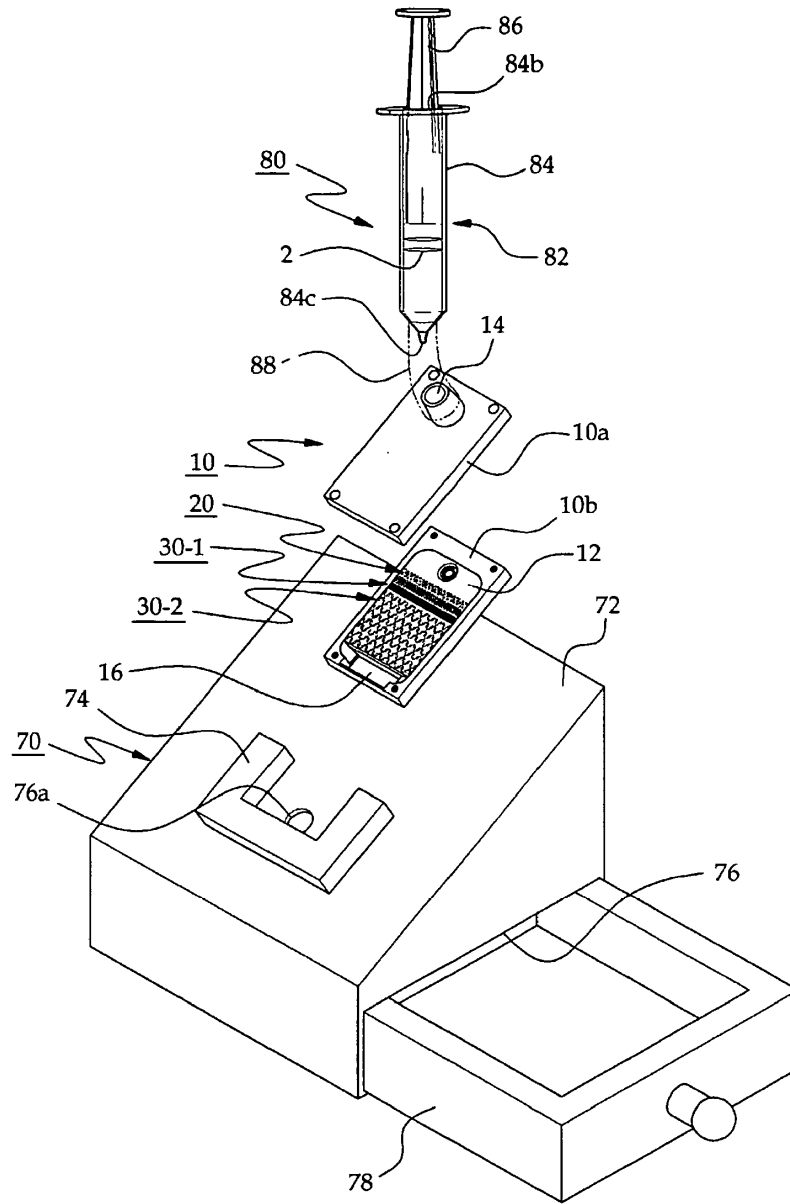
9. Dispositivo microfluídico según la reivindicación 8, en el que la unidad de dispersión (20-1, 20-2, 20-3) incluye una pluralidad de unidades de dispersión (20-1, 20-2, 20-3) dispuestas en múltiples etapas a lo largo de la dirección de flujo de la muestra (2), estando los postes (22) dispuestos de manera que el diámetro de los postes (22) se reduce gradualmente a lo largo de la dirección de flujo de la muestra (2).

10. Dispositivo microfluídico según la reivindicación 1, que comprende además: un soporte (70, 170) sobre el que puede colocarse oblicuamente la caja de filtro (10; 110); y una unidad de suministro de muestra (2) para almacenar la muestra y suministrar la muestra (2) al orificio de admisión (14).

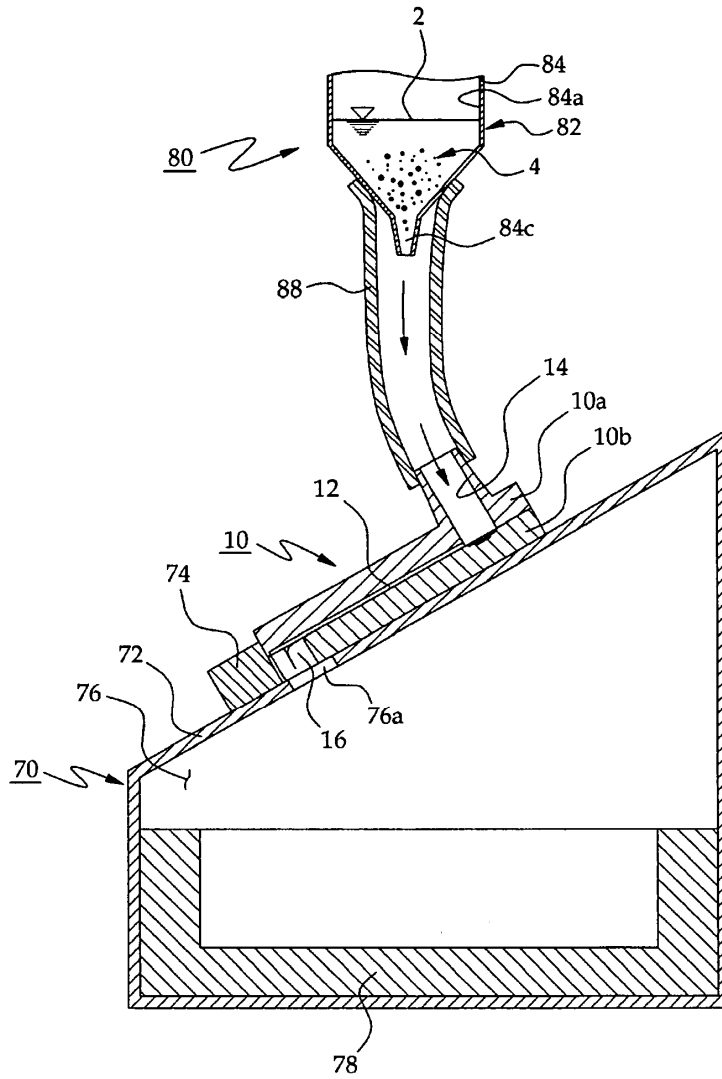
[Fig. 1]



[Fig. 2]

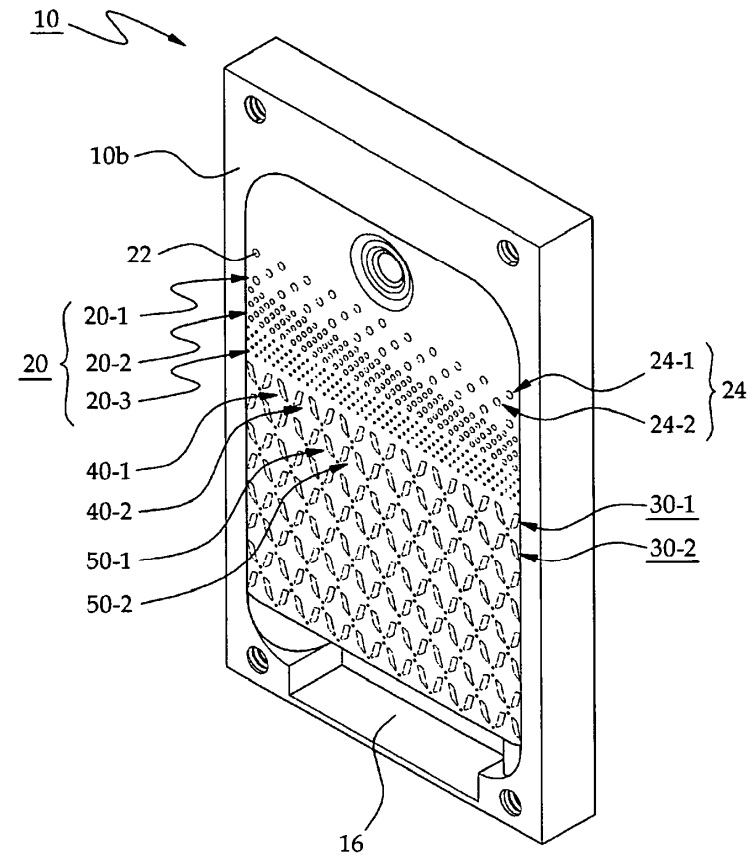


[Fig. 3]

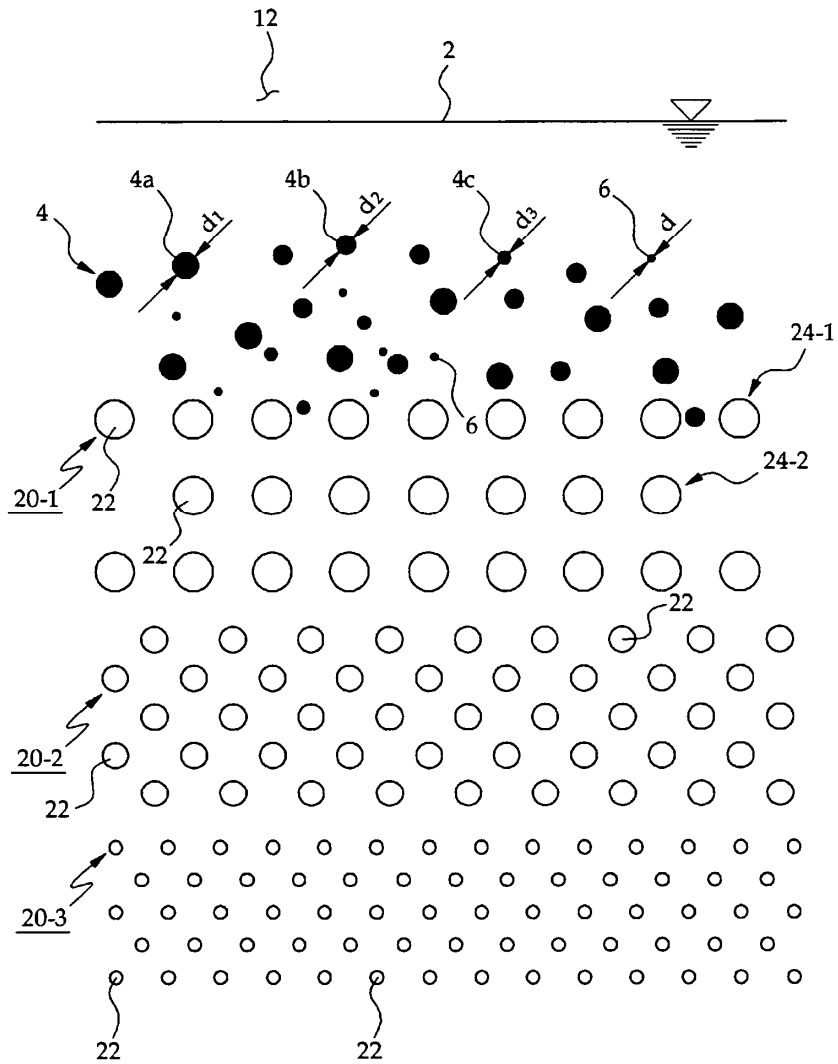




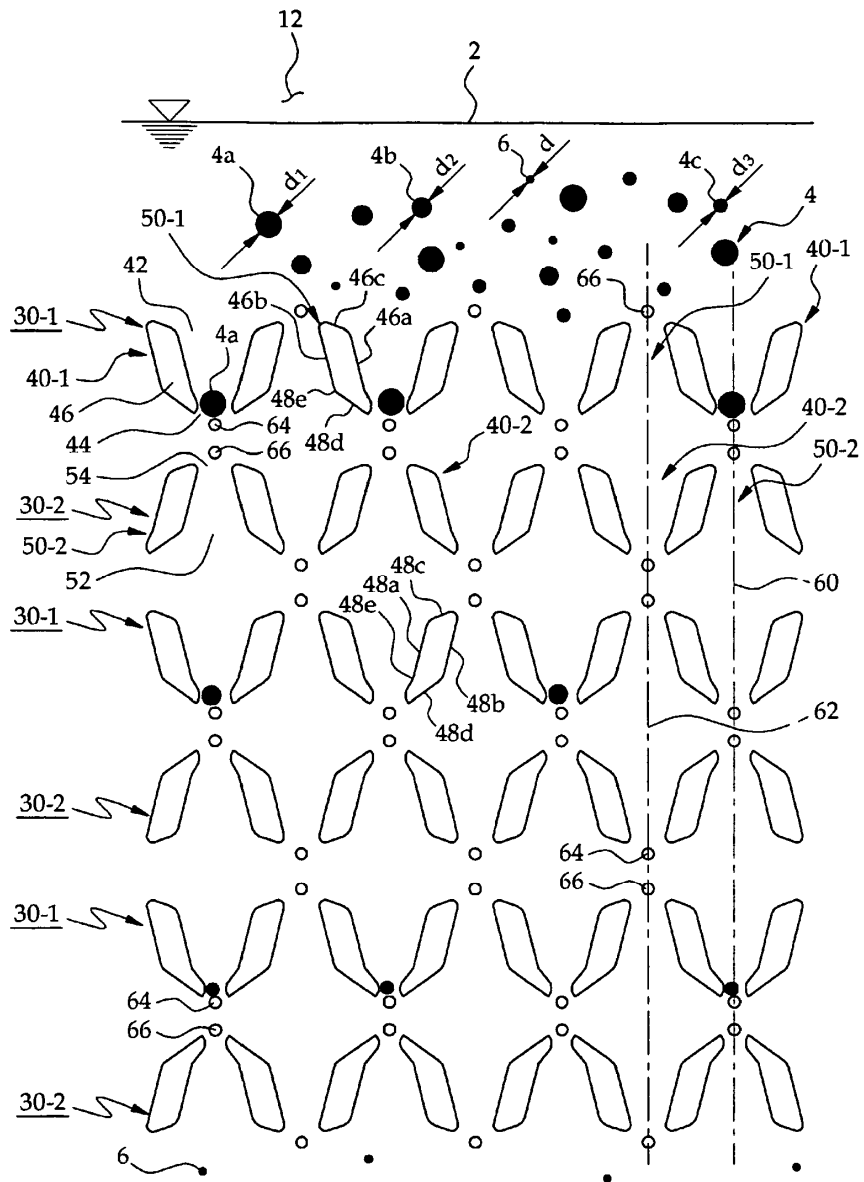
[Fig. 4]



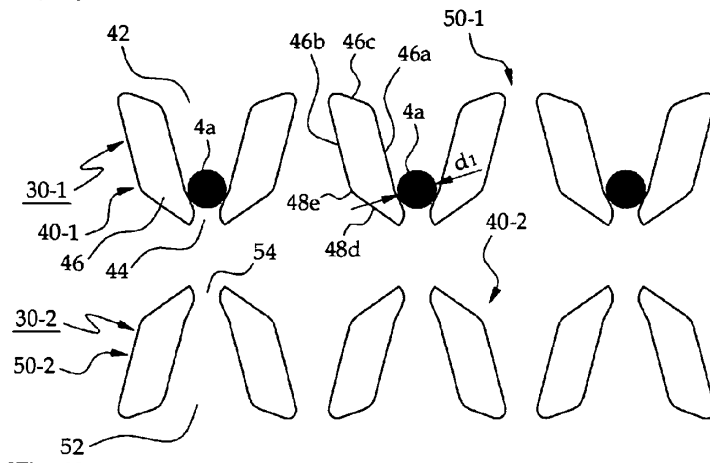
[Fig. 5]



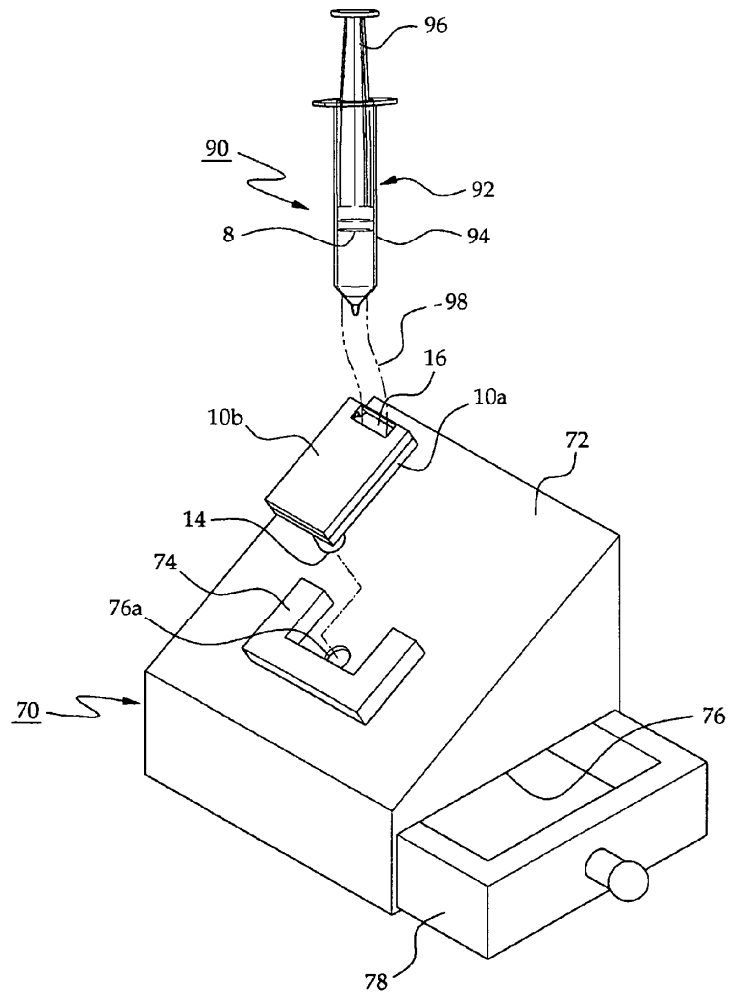
[Fig. 6]



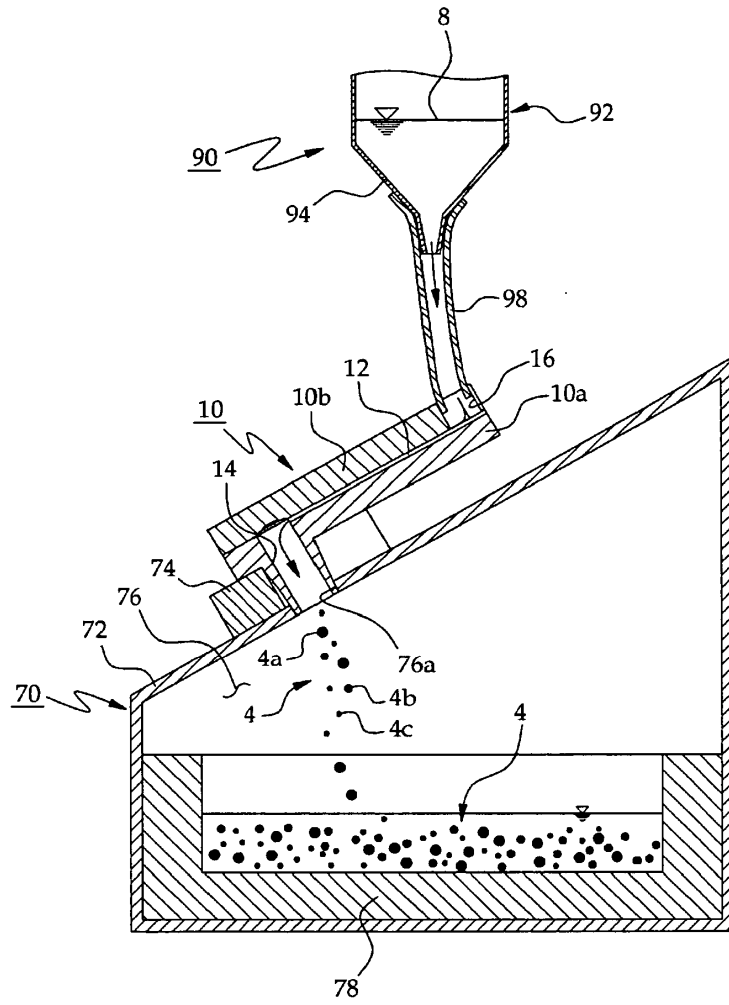
[Fig. 7]



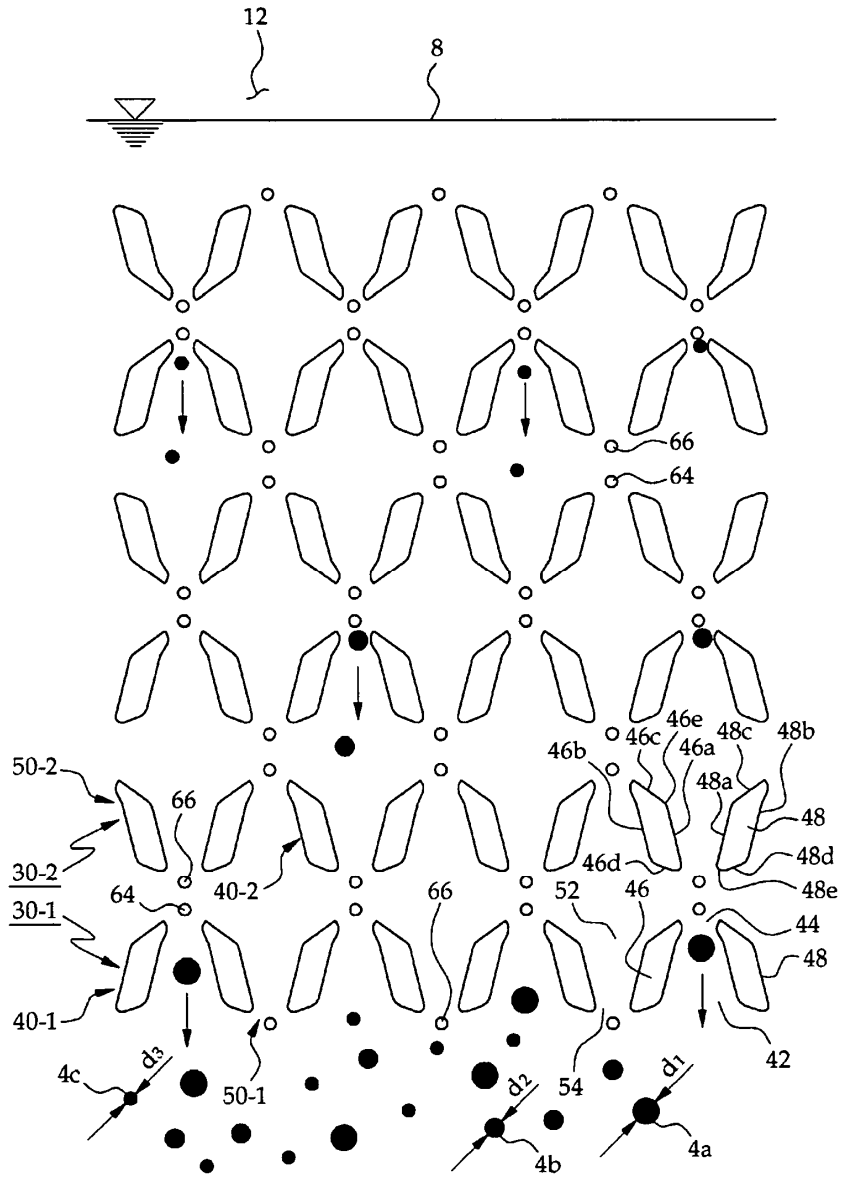
[Fig. 8]



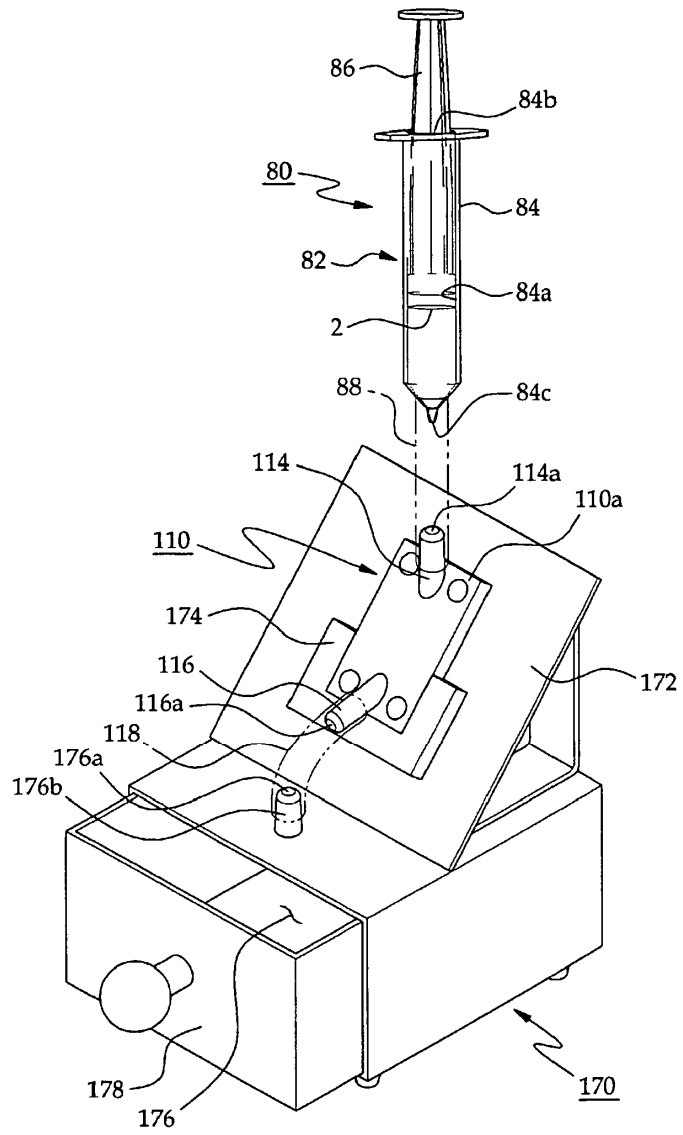
[Fig. 9]



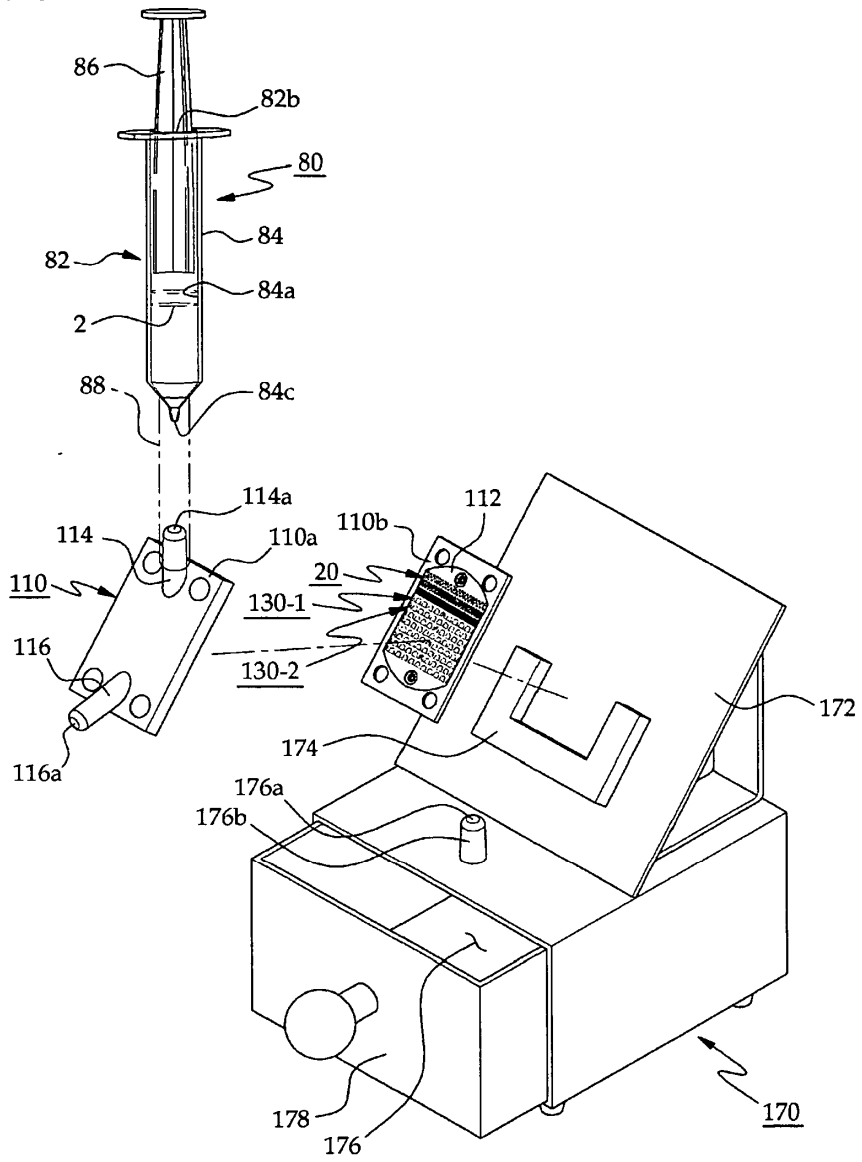
[Fig. 10]



[Fig. 11]

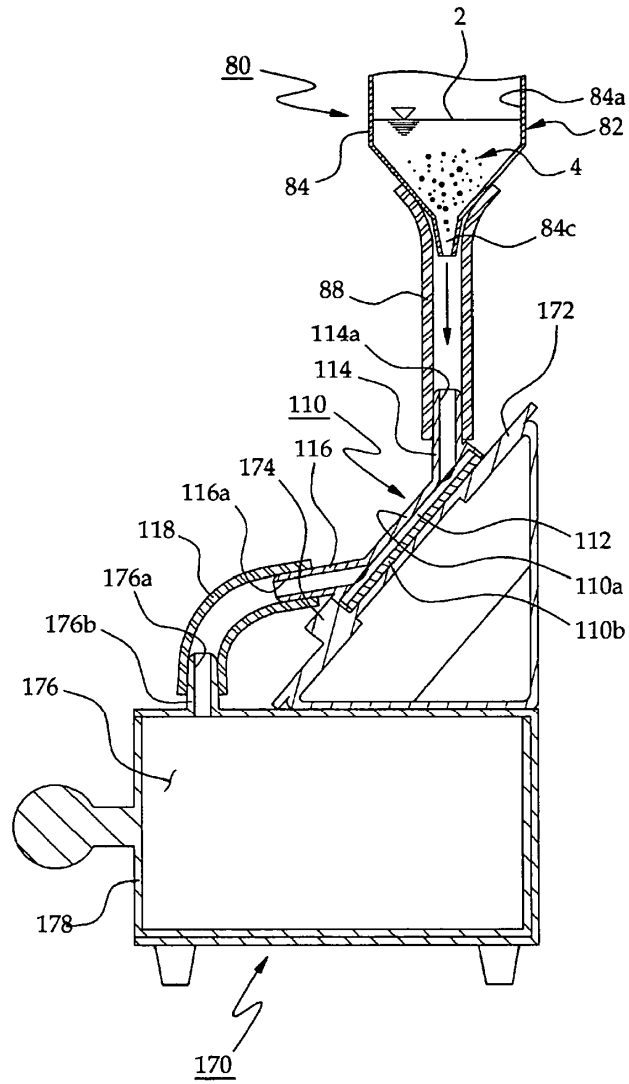


[Fig. 12]

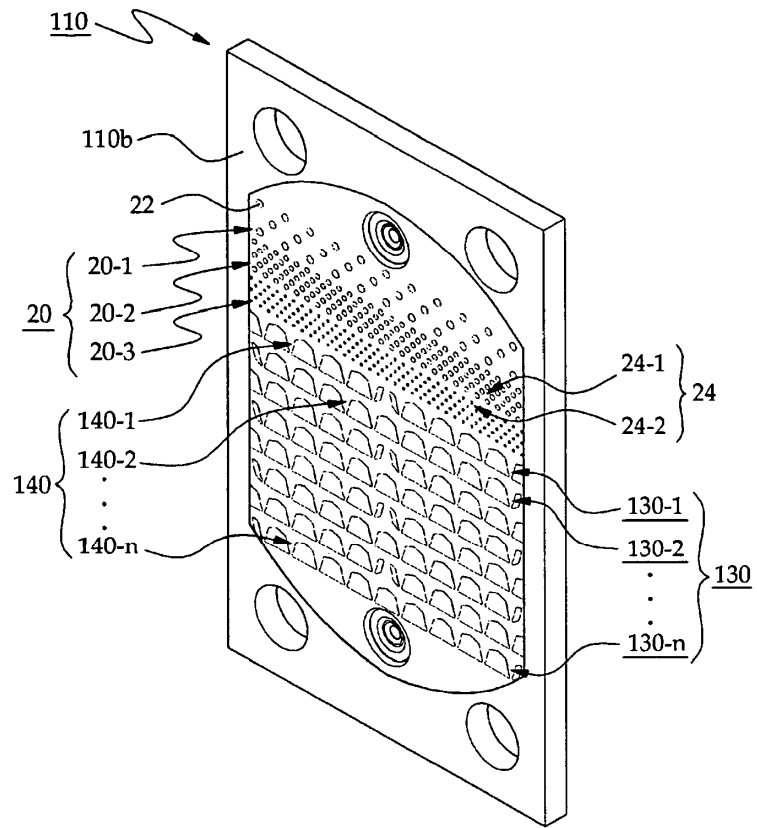




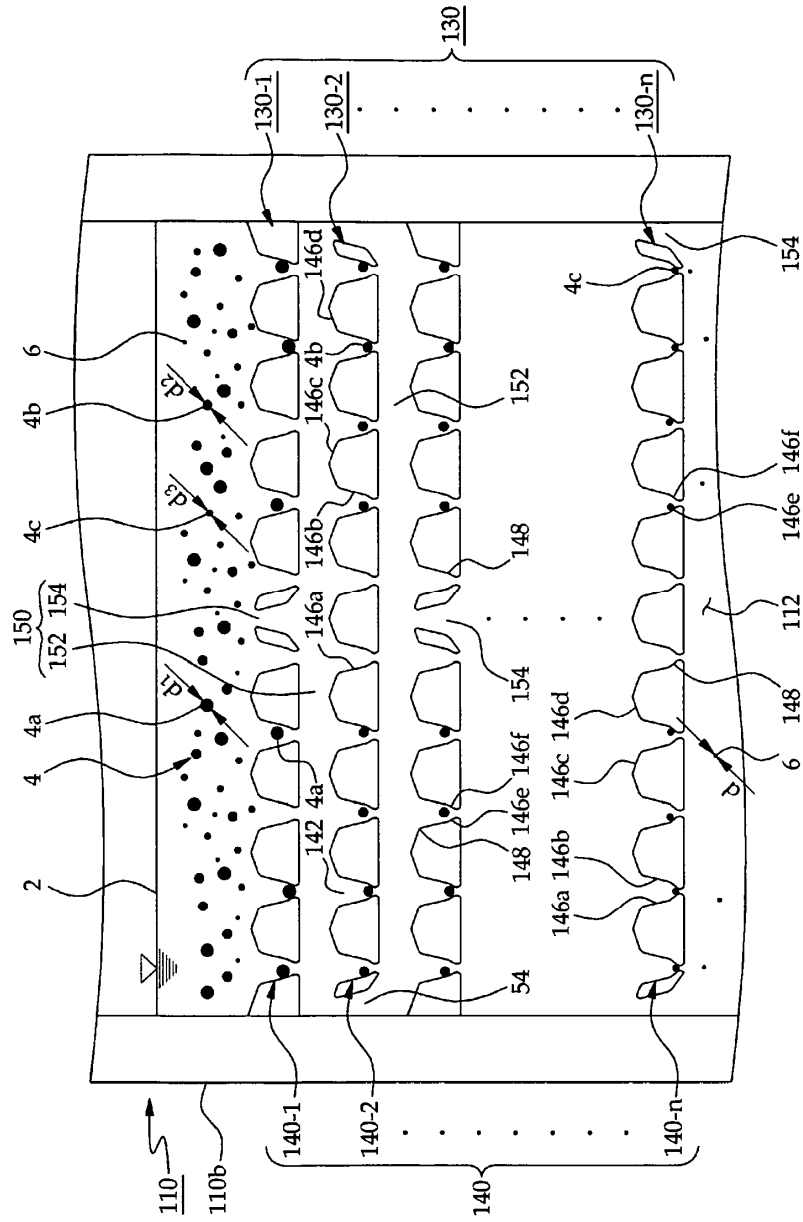
[Fig. 13]



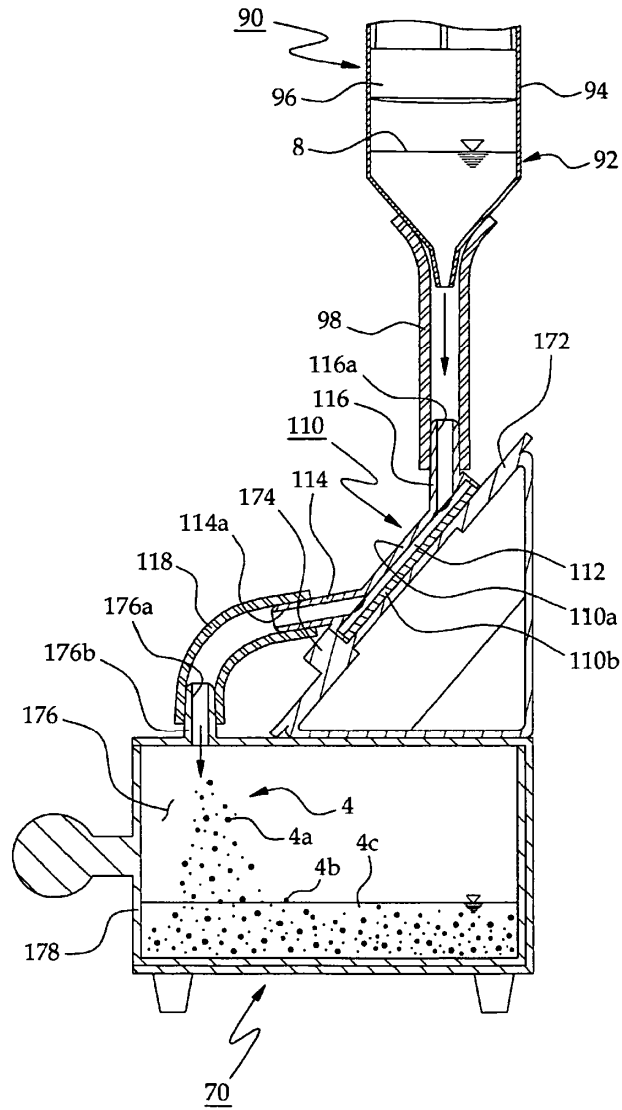
[Fig. 14]



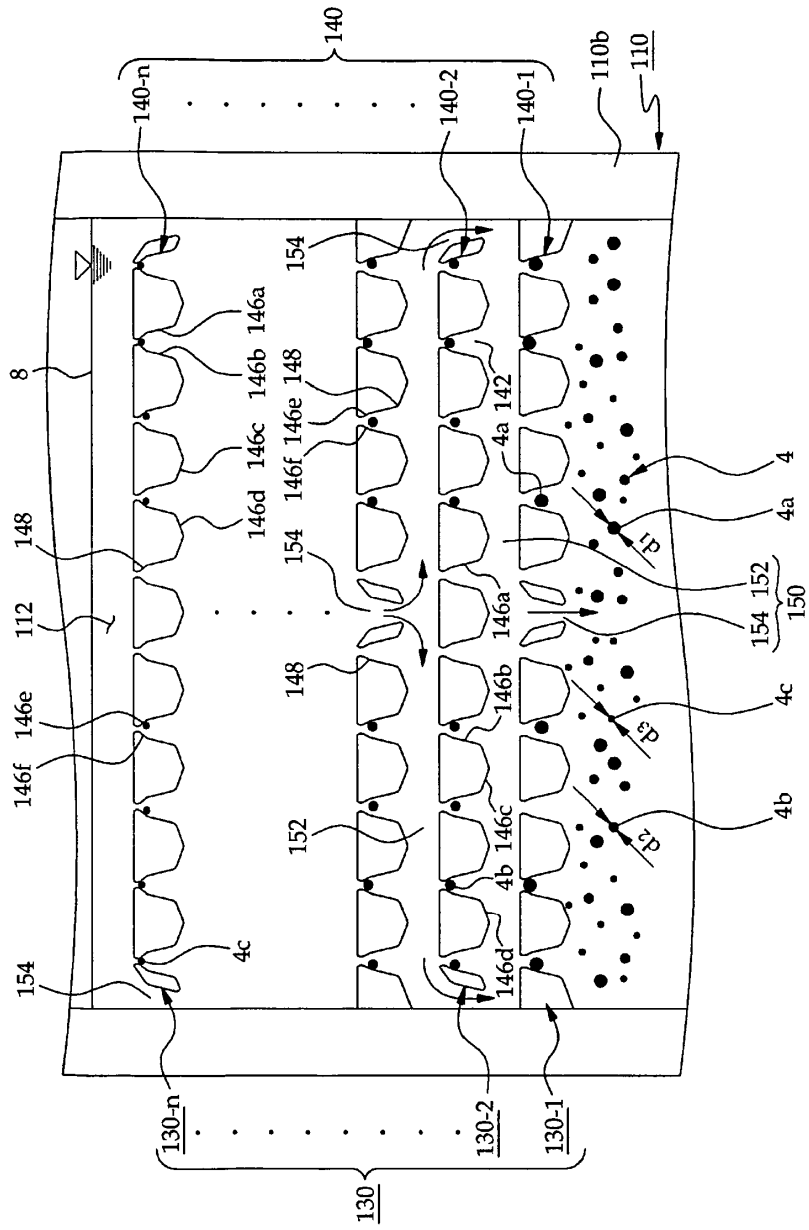
[Fig. 15]



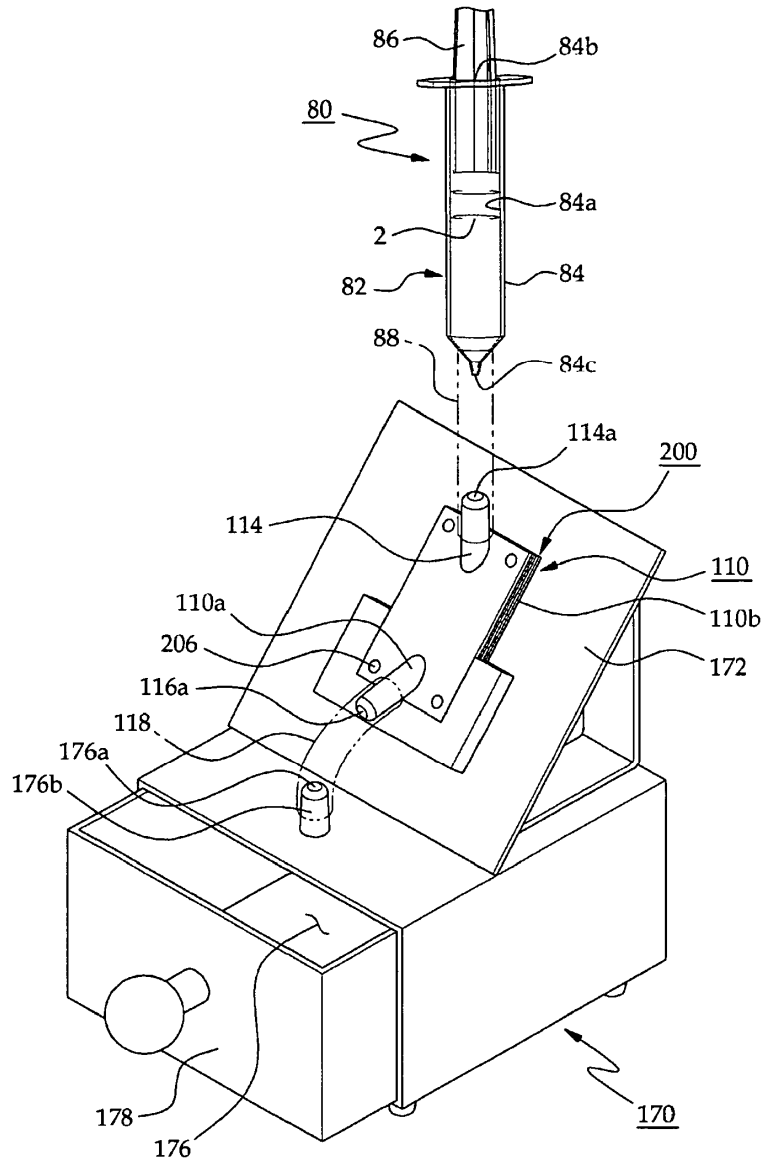
[Fig. 16]



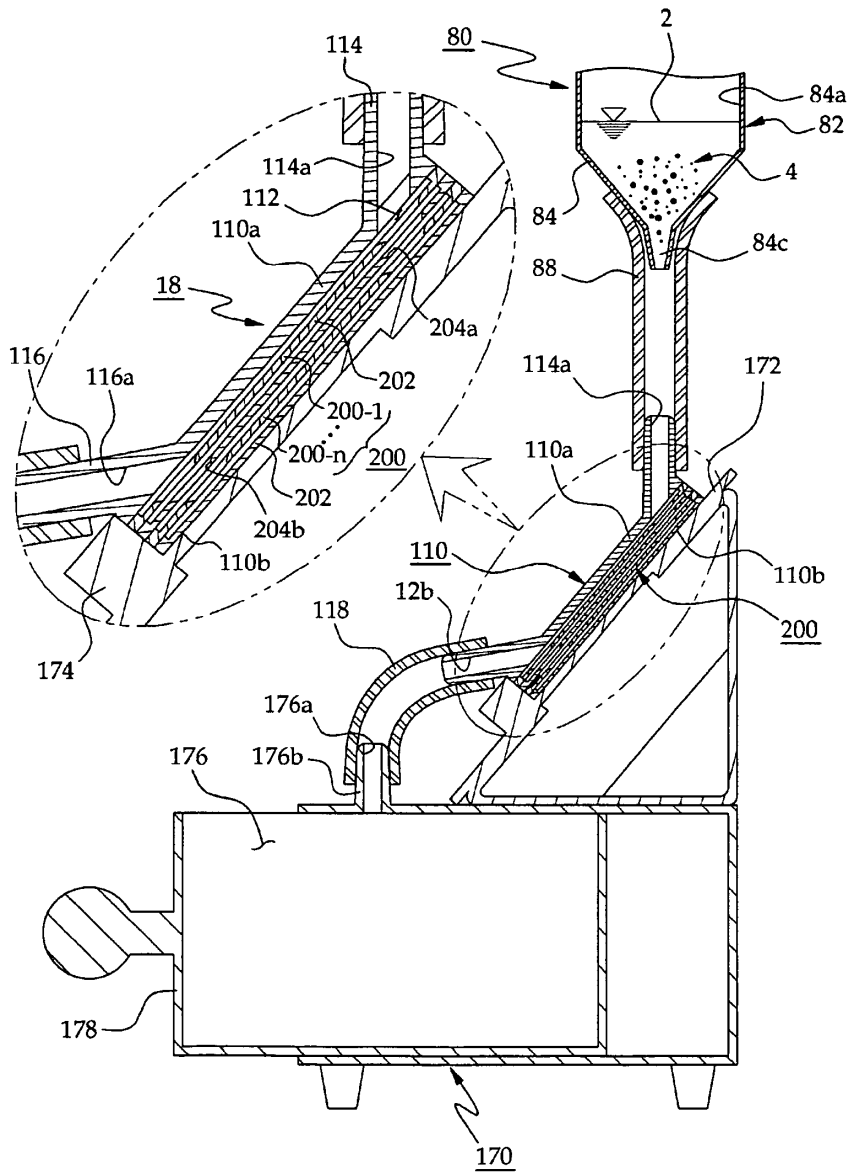
[Fig. 17]



[Fig. 18]



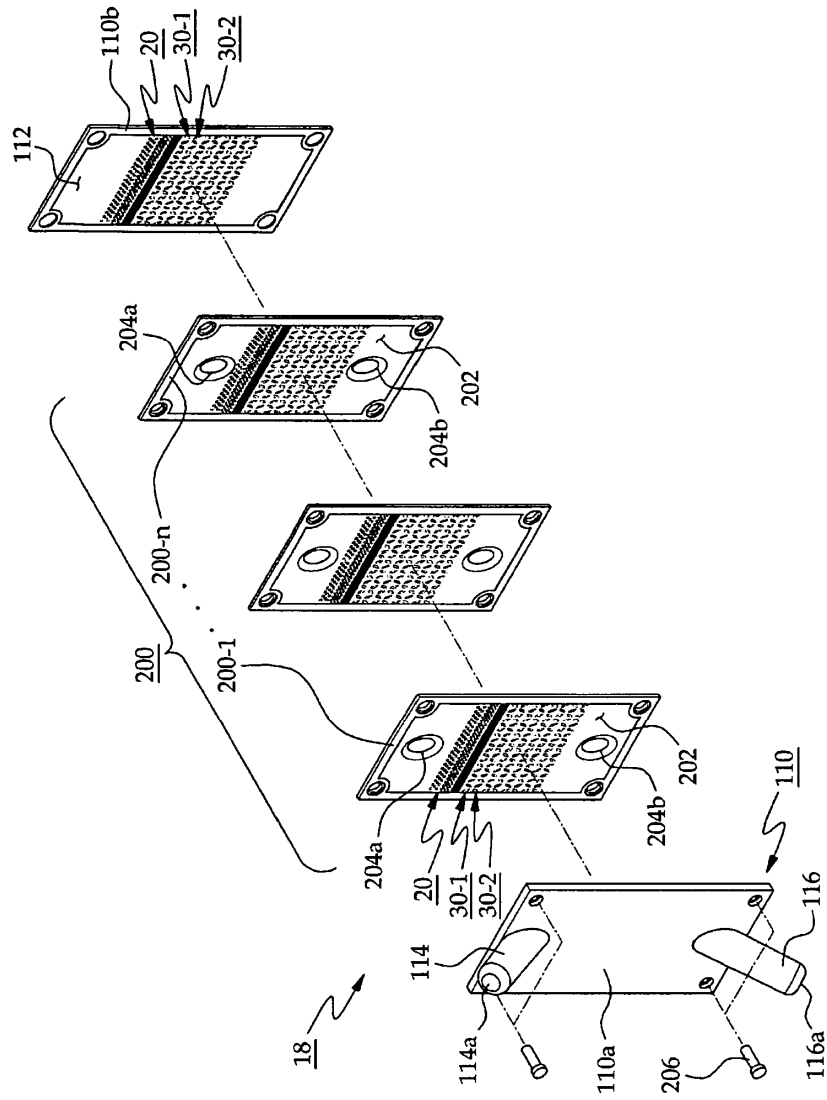
[Fig. 19]



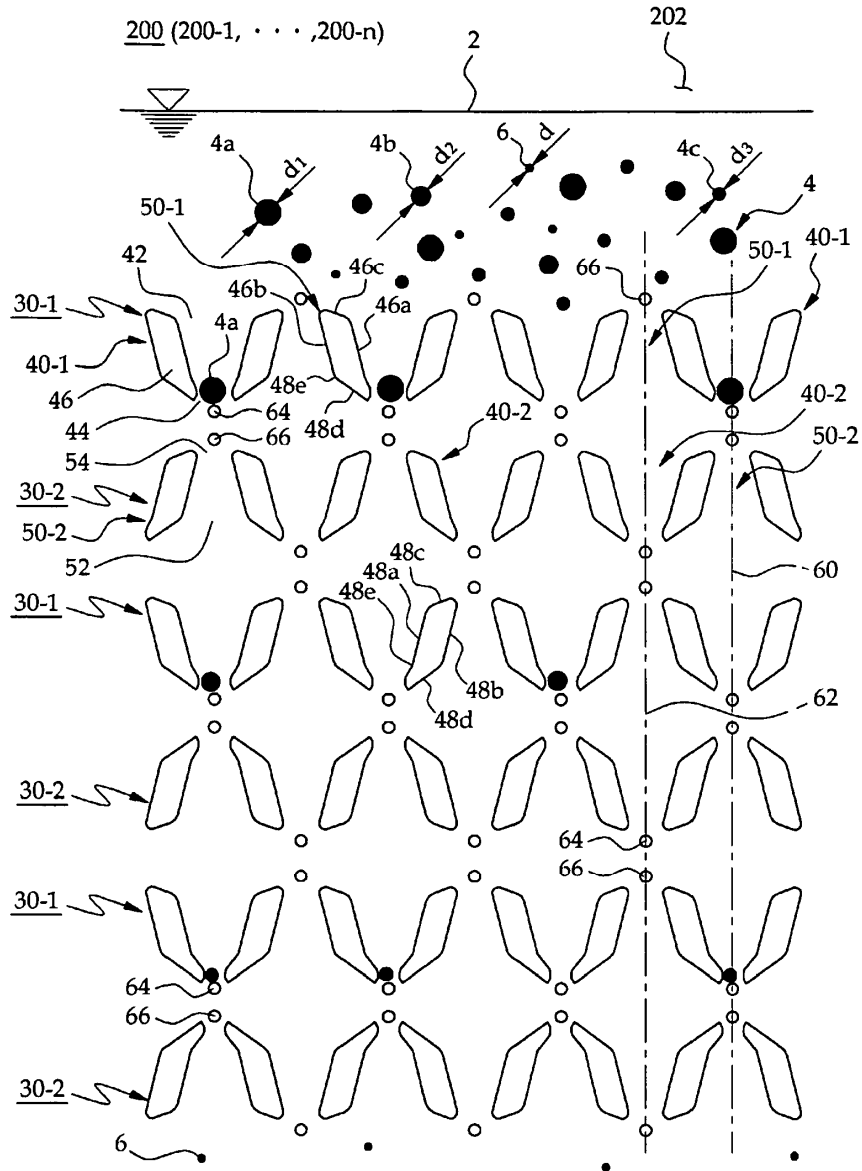




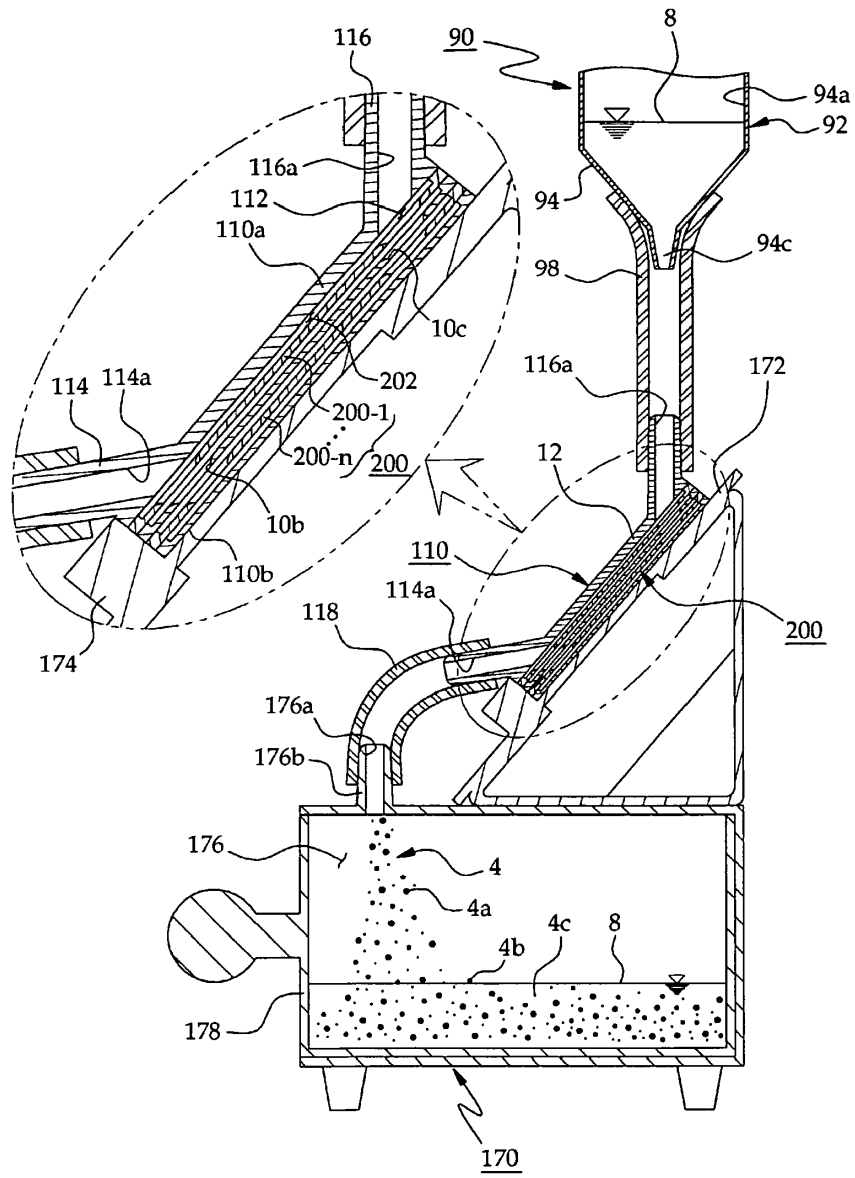
[Fig. 21]



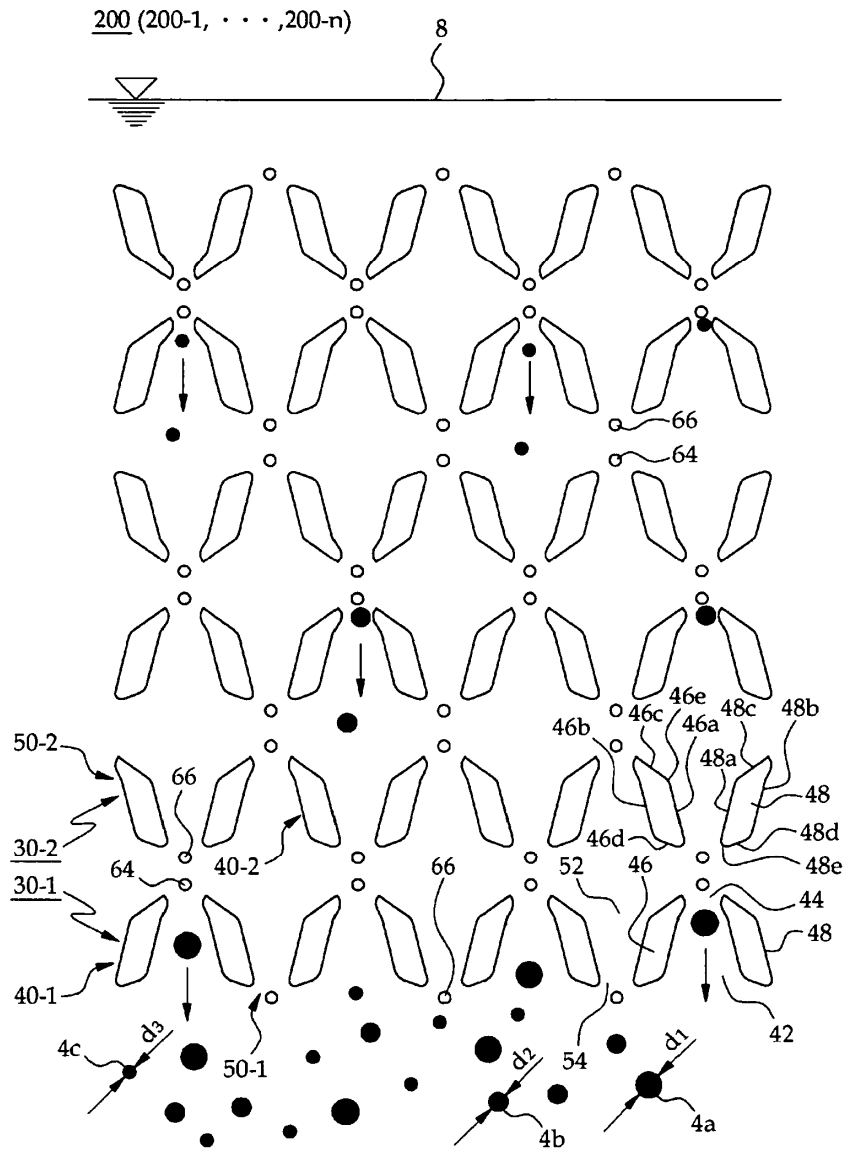
[Fig. 22]



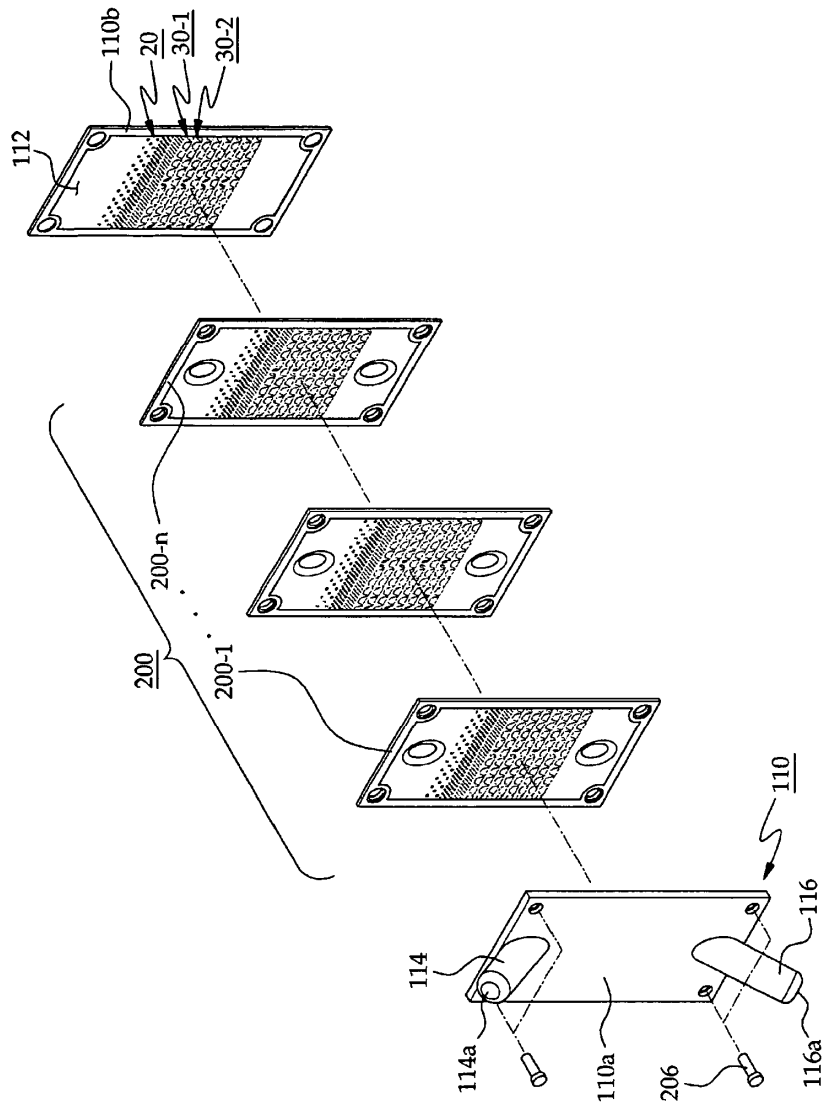
[Fig. 23]



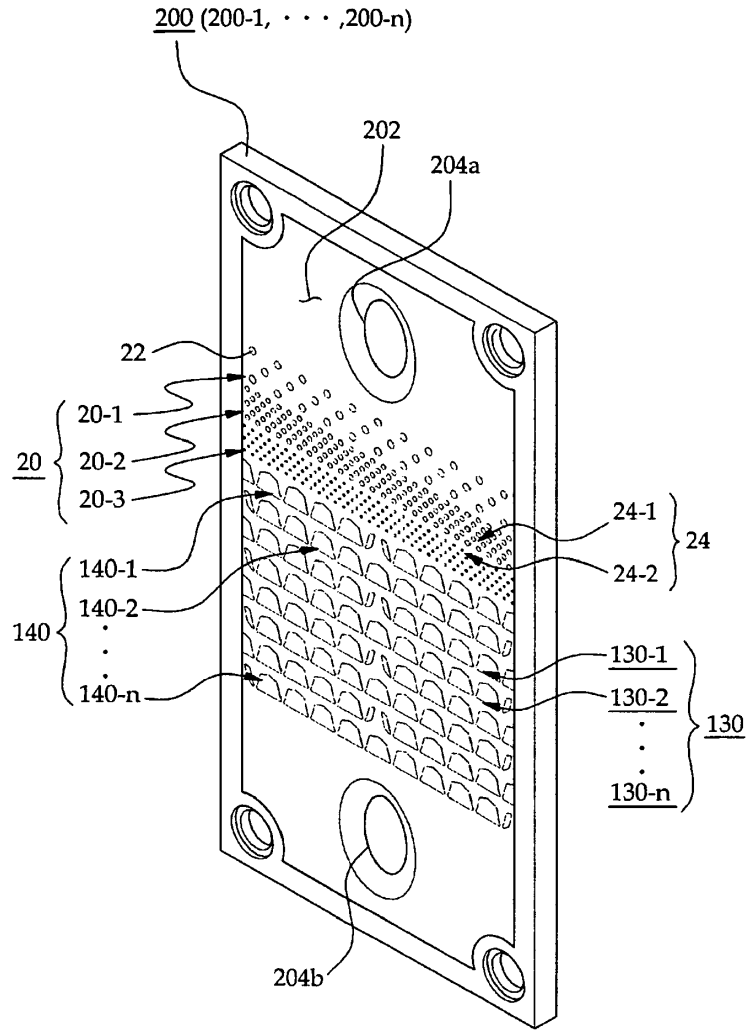
[Fig. 24]



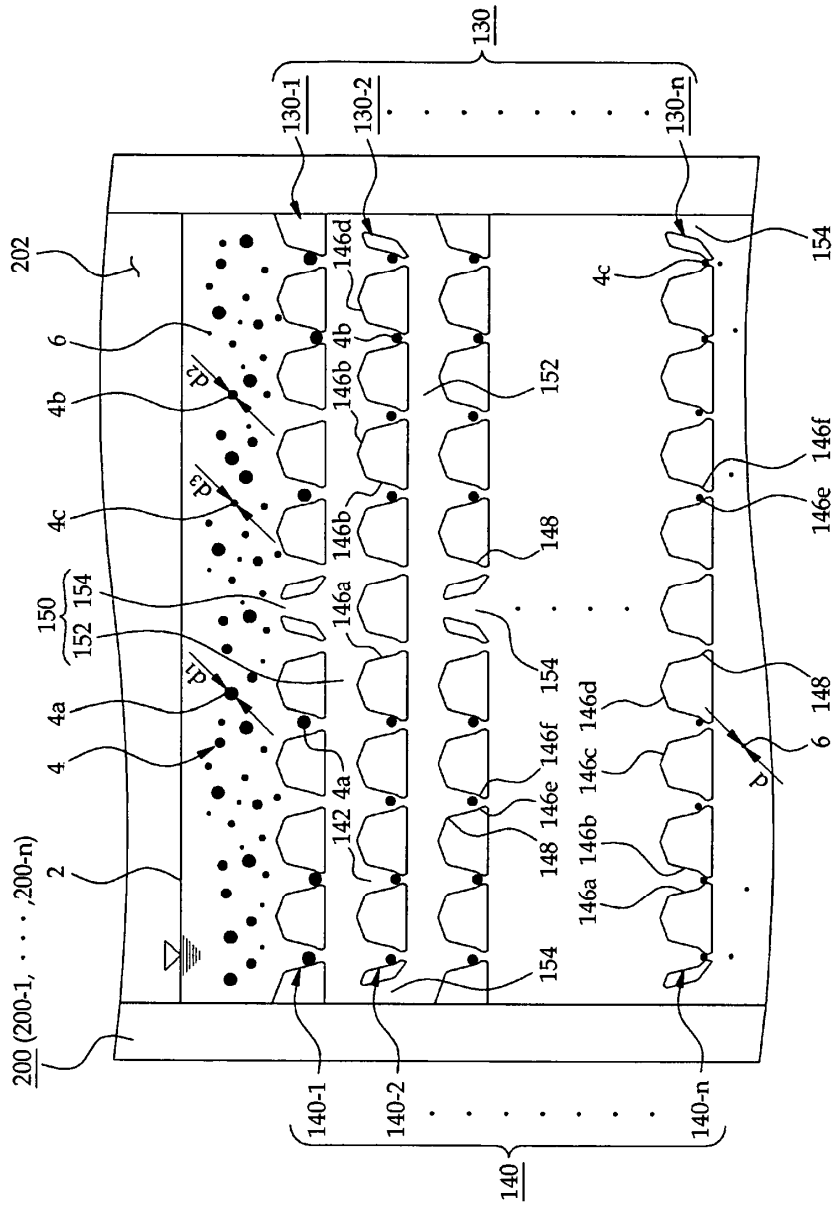
[Fig. 25]



[Fig. 26]



[Fig. 27]



[Fig. 28]

