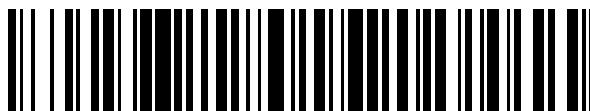


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 785 222**

51 Int. Cl.:

**C12M 1/26** (2006.01)

**G01N 15/10** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.09.2011** E 11183251 (5)

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.04.2020** EP 2574660

54 Título: **Método para recolectar material celular y conjunto para llevar a cabo dicho método**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**06.10.2020**

73 Titular/es:

**BD Kiestra B.V. (100.0%)  
Marconilaan 6  
9207 JC Drachten, NL**

72 Inventor/es:

**BOTMA, JETZE;  
KLEEFSTRA, MARTIJN;  
BERNTSEN, MARTIJN XANDER y  
VAN DER ZEE, TINO WALTER**

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

ES 2 785 222 T3

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

**DESCRIPCIÓN**

Método para recolectar material celular y conjunto para llevar a cabo dicho método

5 Antecedentes de la invención

La invención se refiere a un conjunto y método para recolectar material celular de la superficie de un medio de cultivo en una placa de cultivo.

10 Dicho método se conoce del documento JP-A-62273429. Este método conocido está relacionado con la obtención de una profundidad constante de la aguja al usar una aguja de trasplante como electrodo y detectar el contacto entre la aguja de trasplante y un medio de cultivo mediante una señal eléctrica. Se coloca un electrodo sobre el medio de cultivo y luego se baja la aguja de trasplante al medio de cultivo. Un suministro de energía y una resistencia variable están conectadas al electrodo y a la aguja de trasplante mediante un cable conductor. Dado que el medio de cultivo tiene un alto contenido de humedad, la presencia o ausencia de conducción puede detectarse mediante un detector y un umbral de detección puede cambiarse al ajustar la resistencia variable. Un problema que puede surgir al usar este método conocido es que, aunque se puede obtener una profundidad constante de la aguja, a veces parece que la aguja de trasplante ha recolectado una mezcla de material celular y de medio de cultivo debajo del material celular. Además, el suministro de energía conectado al electrodo y a la aguja de transferencia produce una corriente a través del medio de cultivo que puede ser perjudicial para el material celular en el medio de cultivo. Además, al cambiar a una placa de cultivo diferente, el electrodo debe reemplazarse o limpiarse a fondo para evitar la contaminación cruzada. El documento EP1502649 describe un aparato y un método de recolección de células en el que un programa informático de procesamiento de imágenes identifica las ubicaciones de las colonias de células animales a recolectar.

25 Resumen de la invención

Es un objetivo de la invención proporcionar un método para recolectar material celular de la superficie de un medio de cultivo en una placa de cultivo en la que el material celular puede recolectarse selectivamente.

30 Es un objetivo adicional de la invención proporcionar un método para recolectar material celular que no sea perjudicial para el material celular.

Es un objetivo adicional de la invención proporcionar un método para recolectar material celular usando la menor cantidad posible de partes del dispositivo.

35 La invención logra al menos uno de estos objetivos o al menos una parte de los mismos al proporcionar un conjunto de acuerdo con la reivindicación 1.

40 Las modalidades preferidas del conjunto de acuerdo con la invención se describen en las reivindicaciones dependientes del conjunto.

La invención también se refiere a un método para recolectar material celular de la superficie de un medio de cultivo en una placa de cultivo usando dicho conjunto de acuerdo con la reivindicación 6.

45 En una modalidad ventajosa de un método de acuerdo con la invención, el método comprende además las etapas de retirar la herramienta de recolección a una distancia predeterminada lejos de la posición de contacto hacia una posición de verificación y mantener dicha herramienta de recolección en dicha posición de verificación y mientras está en la posición de verificación, medir la frecuencia de oscilación. En algunos casos, el material celular a recolectar es muy pegajoso o viscoso. Cuando la herramienta de recolección después de hacer contacto con dicho material celular se retira del material celular, a veces queda un hilo delgado en contacto entre la herramienta de recolección y el material celular en la placa de cultivo. Este hilo delgado puede romperse y posiblemente contaminar el dispositivo de la herramienta de recolección. Al medir la frecuencia de oscilación en la posición de verificación, que por ejemplo, puede estar unos pocos milímetros por encima de la placa de cultivo, es posible detectar la presencia de dicho hilo para que se puedan tomar las medidas adecuadas. Preferentemente, el método comprende entonces la etapa de liberar la herramienta de recolección del soporte de la herramienta de recolección en caso de que la frecuencia de oscilación se desvíe de la frecuencia de inicio mientras está en la posición de verificación. Estas etapas pueden llevarse a cabo fácilmente de manera automatizada para que no sea necesaria una intervención humana que requiera mucho tiempo para descartar la placa de cultivo.

60 Preferentemente, el método comprende la etapa de usar una nueva herramienta de recolección cada vez que el material celular tiene que recolectarse de la superficie de un medio de cultivo en una placa de cultivo. De esta manera, se puede lograr una forma confiable, barata y rápida de recolectar material celular de una placa de cultivo.

65 Otros objetivos, aspectos, efectos y detalles de la invención se describen en la siguiente descripción detallada de una serie de modalidades ilustrativas, con referencia a los dibujos.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es una representación esquemática de un conjunto para llevar a cabo un método para recolectar material celular de la superficie de un medio de cultivo en una placa de cultivo de acuerdo con la invención.

Descripción detallada

La Figura 1 es una representación esquemática de un conjunto para llevar a cabo un método para recolectar material celular de la superficie de un medio de cultivo en una placa de cultivo de acuerdo con la invención.

El conjunto comprende un dispositivo de herramienta de recolección 1 que comprende un portaherramientas de recolección 2 de material eléctricamente conductor. El portaherramientas de recolección 2 está montado en el dispositivo de herramienta de recolección 1 de manera aislada eléctricamente. El portaherramientas de recolección 2 está adaptado para sujetar una herramienta de recolección 3 hecha de material eléctricamente conductor de una manera eléctricamente conductora. La herramienta de recolección 3 puede estar hecha de un metal pero también puede estar hecha de un material plástico eléctricamente conductor, por ejemplo, un plástico que comprende carbono.

Además, el conjunto de acuerdo con la invención comprende una placa de cultivo 4 hecha de material eléctricamente aislante, tal como vidrio o un plástico eléctricamente aislante. La placa de cultivo 4 contiene un medio de cultivo 11 en el que está presente el material celular 12 tal como una colonia de bacterias 12. La placa de cultivo 4 está soportado sobre un soporte 5 hecho de material conductor de electricidad. La placa de cultivo 4 puede estar soportada directamente en el soporte conductor de electricidad 5 o indirectamente al interponer un elemento o capa de material eléctricamente aislante entre la placa de cultivo 4 y el soporte 5. En la modalidad mostrada en la Figura 1, el soporte 5 es un elemento anular de material eléctricamente conductor, que rodea una capa 6 de material transparente eléctricamente aislante sobre el cual puede apoyarse la placa de cultivo 4. De esta manera, es posible proporcionar iluminación desde debajo de la placa de cultivo 4 para ayudar a determinar la posición del material celular en la placa de cultivo 4. Tenga en cuenta que la capa 6 también podría colocarse en una modalidad alternativa encima del soporte anular 5.

Un dispositivo de posicionamiento 7 está dispuesto para colocar la herramienta de recolección 3 (y el portaherramientas de recolección 2) en una posición inicial sobre la placa de cultivo 4. Este dispositivo de posicionamiento 7 puede bajar y subir la herramienta de recolección 3 hacia y lejos de la placa de cultivo, respectivamente, bajo el control de un controlador, tal como un microprocesador 8 o cualquier otro medio adecuado para controlar el funcionamiento del dispositivo de posicionamiento. Además, el dispositivo de posicionamiento 7 puede desplazar la herramienta de recolección 3 en un plano paralelo al plano de la placa de cultivo 4. Los desplazamientos se indican esquemáticamente en la Figura 1 por medio de las flechas de doble punta XY y Z. El microprocesador 8 está conectado al dispositivo de posicionamiento 7 por medio de una línea de señal 9 para controlar adecuadamente el dispositivo de posicionamiento 7.

El conjunto mostrado en la Figura 1 comprende además un dispositivo de medición 10 para detectar o medir cuando la herramienta de recolección 3 entra en contacto con el material celular 12 o el medio de cultivo 11. El dispositivo de medición 10 puede realizar mediciones capacitivas para determinar la capacidad eléctrica del sistema compuesto por la herramienta de recolección 3 y el soporte 5. En la modalidad mostrada en la Figura 1, el dispositivo de medición 10 está compuesto por un circuito oscilador 18, que también funciona como una fuente de tensión alterna, que está conectada con un cable eléctrico 14 al portaherramientas de recolección 2 y con otro cable eléctrico 15 al soporte anular 5. En la modalidad, el circuito oscilador 18 proporciona una tensión que tiene un valor entre aproximadamente 1,25 y aproximadamente 3,5 V, que tiene una frecuencia fija que puede elegirse en el intervalo entre 100 y 150 kHz. La tensión alterna V proporcionada es una tensión de diente de sierra como se muestra esquemáticamente en el gráfico de la Figura 1.

El circuito oscilador 18 puede comprender, por ejemplo, un oscilador multivibrador con amplificador operacional. La frecuencia de oscilación del circuito de oscilación depende del valor de la capacidad eléctrica del circuito de medición compuesto del cable eléctrico 14, el portaherramientas de recolección 2, la herramienta de recolección 3, el material celular y/o el medio de cultivo 11, la placa de cultivo 4, el elemento/capa aislante 6, el soporte anular y el cable eléctrico 15. En caso de que la herramienta de recolección 3 esté separada del material celular 12 (que se muestra en líneas continuas en la Figura 1), la capacidad eléctrica también está determinada por la columna de aire presente entre la herramienta de recolección 3 y el material celular 12 y/o el medio de cultivo 11. Esta columna de aire no está presente cuando la herramienta de recolección 3' está en contacto con el material celular 12 y/o el medio de cultivo 11, como se muestra con líneas discontinuas en la Figura 1. El circuito oscilador 18 está conectado al microprocesador 8 a través de una línea de medición 19. El microprocesador comprende en la modalidad mostrada una pantalla 20 para visualizar resultados de medición.

Así, el dispositivo de medición 10 puede determinar la capacidad eléctrica de inicio del sistema compuesto, entre otras cosas, por la herramienta de recolección 3 y el soporte 5 en la posición de inicio de la herramienta de recolección 3, cuya posición de inicio está muy por encima de la placa de cultivo 4 como se muestra en líneas continuas en la Figura 1. En esta posición inicial, el dispositivo de medición 10 proporcionó una señal que representa la capacidad eléctrica de inicio al microprocesador 8. En la presente modalidad, esta señal que representa la capacidad eléctrica de inicio es la frecuencia de oscilación del circuito oscilador 18, cuya frecuencia puede mostrarse en la pantalla.

Al bajar la herramienta de recolección 3 hacia la placa de cultivo 4, el dispositivo de medición 10 continúa determinando la capacidad eléctrica (es decir, la frecuencia de oscilación) y proporciona continuamente una señal que representa la frecuencia de oscilación al microprocesador 8. El microprocesador comprende un comparador 21 para realizar una comparación de la capacidad eléctrica (es decir, la frecuencia de oscilación) durante el descenso de la herramienta de recolección 3 con la capacidad eléctrica de inicio (es decir, la frecuencia de oscilación de inicio). En el momento en que la herramienta de recolección 3' entra en contacto con el material celular 12, la capacidad del sistema cambia, lo que tiene el resultado inmediato de que cambia la frecuencia de oscilación del circuito de oscilación. El comparador 21 del microprocesador 8 detecta este cambio y proporciona una señal de comparación indicativa de este cambio (o comparación), dicha señal de comparación es usada por el microprocesador para controlar el movimiento del dispositivo de posicionamiento 7. En caso de que la frecuencia de oscilación (es decir, la capacidad) medida durante el descenso de la herramienta de recolección 3 se desvíe de la frecuencia de oscilación de inicio, por ejemplo, cuando la herramienta de recolección 3 entra en contacto con el material celular, el controlador detiene inmediatamente el descenso de la herramienta de recolección 3 basándose en la señal de comparación proporcionada por el comparador 21. De esta manera, se garantiza que la herramienta de recolección no penetre en el material celular y solo el material celular esté en contacto con la herramienta de recolección.

En caso de que la herramienta de recolección 3' entre en contacto con el material celular 12, la corriente que fluye a través del circuito de medición, y por lo tanto también a través del material celular, es inferior a 0,1 mA, lo que no es perjudicial para el crecimiento del material celular. La corriente que fluye a través del circuito de medición se indica esquemáticamente en la Figura 1 por la letra A.

Después de que la herramienta de recolección 3 ha entrado en contacto con el material celular 12 y el microprocesador ha controlado el dispositivo de posicionamiento 7 para detener el movimiento de la herramienta de recolección en la dirección de la placa de cultivo, el microprocesador 8 controla el dispositivo de posicionamiento para invertir el movimiento de la herramienta de recolección 3, es decir, para retirar la herramienta de recolección 3 del material celular 12.

Aunque la herramienta de recolección 3 con el material celular transportado por ella puede transferirse directamente para un procesamiento adicional como se conoce en la técnica, en la modalidad actualmente más preferida de la invención, el microprocesador 8 controla el movimiento inverso del dispositivo de posicionamiento 7 de manera que la herramienta de recolección 3 se retira primero a una distancia predeterminada desde la posición de contacto hacia una posición de verificación (intermedia la posición de inicio y la posición de contacto) y se mantiene en dicha posición de verificación. En esta posición de verificación, se mide la frecuencia de oscilación (es decir, la capacidad eléctrica) del circuito de medición que contiene la herramienta de recolección 3 y el soporte anular 5. En el caso de que en esta posición de verificación la frecuencia de oscilación determinada se desvíe de la frecuencia de oscilación inicial (según lo determinado por el comparador 21), el microprocesador 8 proporciona una señal de advertencia que indica que podría haber un hilo de material celular que todavía conecta la herramienta de recolección 3 y el material celular 12 en el medio de cultivo. Esta señal de advertencia puede proporcionarse a un operador que puede tomar las medidas adecuadas.

Sin embargo, dado que se desea automatizar la recolección y transferencia de material celular tanto como sea posible en la modalidad actualmente más preferida, se usa un portaherramientas de recolección 2 que está adaptado para sujetar de manera desmontable la herramienta de recolección 3. Así, el portaherramientas de recolección 2 está adaptado para agarrar y liberar la herramienta de recolección 3, por ejemplo, por medio de dedos desplazables o cualquier otro medio adecuado. De esta manera, la señal de advertencia se puede utilizar para liberar la herramienta de recolección 3 del soporte de la herramienta de recolección 2 en caso de que la frecuencia de oscilación (es decir, la capacidad eléctrica) medida en la posición de verificación difiera de la frecuencia de oscilación de inicio (es decir, la capacidad eléctrica de inicio) de manera que la herramienta de recolección 3 caiga en la placa de cultivo 4. La placa de cultivo 4 con la herramienta de recolección 3 que se ha dejado caer en ella se pueden desechar por cualquier medio automatizado adecuado conocido. Además, cuando el portaherramientas de recolección está adaptado para sujetar de manera removible la herramienta de recolección, se puede usar una nueva herramienta de recolección cada vez que se debe recolectar material celular de la superficie de un medio de cultivo en una placa de cultivo.

El dispositivo de medición descrito anteriormente es uno de los muchos dispositivos de medición que se pueden usar para medir el cambio de capacidad cuando, durante el movimiento de la posición inicial hacia la placa de cultivo, la herramienta de recolección entra en contacto con el material celular. La presente invención no está restringida a un dispositivo específico, pero cualquier dispositivo de medición conocido por el experto en la técnica puede usarse dentro de la invención. Además, el dispositivo de posicionamiento no se describe en detalle ya que también para este dispositivo de posicionamiento se puede usar cualquier dispositivo conocido adecuado para desplazar la herramienta de recolección en al menos la dimensión vertical dentro de la invención.

En consecuencia, el conjunto como se describió anteriormente lleva a cabo generalmente un método para recolectar material celular de la superficie de un medio de cultivo en una placa de cultivo, el método posteriormente comprende las etapas de desplazar una herramienta de recolección hacia el material celular, determinar el contacto entre la herramienta de recolección y el material celular, y retirar la herramienta de recolección del material celular, recolectando así el material celular, en donde la etapa de determinar el contacto entre la herramienta de recolección y el material celular se realiza llevando a cabo mediciones capacitivas. El descenso de la herramienta de recolección se detiene en una posición de

5 contacto cuando la capacidad medida se desvía de la capacidad eléctrica de inicio. En caso de que se mida la posición de contacto de la herramienta de recolección, el microprocesador también puede utilizar esta posición determinada para controlar el funcionamiento del dispositivo de posicionamiento para mover la herramienta de recolección. Por ejemplo, la herramienta de recolección se puede desplazar a diferentes velocidades, por ejemplo, una mayor velocidad a partir de la posición inicial y una velocidad reducida cuando la herramienta de recolección se acerca a la posición de contacto de un ciclo anterior. Esto es posible ya que se puede suponer que, en general, la superficie del medio de cultivo está nivelada.

**REIVINDICACIONES**

1. Conjunto para recolectar material celular (12) de la superficie de un medio de cultivo (11) en una placa de cultivo (4), dicho conjunto comprende:
  - 5 - un dispositivo de herramienta de recolección (1) que comprende un portaherramientas de recolección (2) de material conductor de electricidad, dicho portaherramientas de recolección (2) está montado en el dispositivo de herramienta de recolección (1) de manera aislada eléctricamente, dicho portaherramientas de recolección (2) sostiene una herramienta de recolección (3) hecha de material conductor de electricidad, dicha herramienta de recolección (3) es sostenida por el soporte de la herramienta de recolección (2) de manera eléctricamente conductora, dicho portaherramientas de recolección (2) está conectado eléctricamente a un primer cable eléctrico (14);
  - 10 - una placa de cultivo (4) hecha de material eléctricamente aislante;
  - un soporte (5) para soportar la placa de cultivo (4) que tiene un elemento anular hecho de material eléctricamente conductor que rodea una porción de soporte de la placa de cultivo de material eléctricamente aislante, el elemento anular está conectado eléctricamente a un segundo cable eléctrico (15);
  - 15 - un dispositivo de posicionamiento (7) para colocar la herramienta de recolección (3) en una posición inicial sobre la placa de cultivo (4) y para bajar y subir la herramienta de recolección (3) hacia y lejos de la placa de cultivo (4), respectivamente;
  - 20 - un controlador (8) para controlar el movimiento del dispositivo de posicionamiento (7);
  - un circuito oscilador (18) conectado con los cables eléctricos primero (14) y segundo (15) y configurado para proporcionar una señal que representa una frecuencia de oscilación caracterizada por una capacidad eléctrica de un circuito de medición que comprende el primer cable eléctrico, el portaherramientas de recolección (2), la herramienta de recolección (3), el segundo cable eléctrico (15), el soporte (5) y la placa de cultivo (4);
  - 25 - un comparador (21) para realizar una comparación de la frecuencia de oscilación durante el descenso de la herramienta de recolección (3) con una frecuencia de inicio de oscilación y para proporcionar una señal de comparación indicativa de dicha comparación, dicho controlador (8) controla el movimiento del dispositivo de posicionamiento (7) al menos basado en la señal de comparación.
2. Conjunto como se reivindicó en la reivindicación 1, en donde el controlador (8) está adaptado para detener el descenso de la herramienta de recolección (3) cuando cambia la frecuencia de oscilación del circuito de oscilación (18).
3. Conjunto como se reivindicó en la reivindicación 1 o 2, en donde el circuito oscilador (18) es un oscilador multivibrador con amplificador operacional.
- 35 4. Conjunto como se reivindicó en la reivindicación 1, 2 o 3, en donde el soporte de la placa de cultivo (5) de material eléctricamente aislante es transparente y/o un elemento o capa (6) de material transparente eléctricamente aislante se interpone entre el soporte (5) y la placa de cultivo (4).
- 40 5. Conjunto como se reivindicó en la reivindicación 1, 2, 3 o 4, en donde la herramienta de recolección (3) está hecha de un material plástico eléctricamente conductor.
6. Método para recolectar material celular (12) de la superficie de un medio de cultivo (11) en una placa de cultivo (4) usando el conjunto de la reivindicación 1, dicho método comprende las etapas de:
  - 45 - colocar una placa de cultivo (4) sobre un soporte (5) que tiene un elemento anular de material eléctricamente conductor que rodea una capa de material eléctricamente aislante;
  - proporcionar una señal generada por un circuito oscilador (18) a un microprocesador (8), la señal caracterizada por una frecuencia de oscilación que representa una capacidad eléctrica de un circuito de medición, el circuito de medición caracterizado por un primer cable eléctrico (14) conectado eléctricamente a un portaherramientas de recolección eléctricamente conductor (2) que sostiene una herramienta de recolección eléctricamente conductora (3) y un segundo cable eléctrico (15) conectado eléctricamente al elemento anular del soporte (5), el circuito de medición está conectado eléctricamente al circuito del oscilador (18) a través de los cables eléctricos primero (14) y segundo (15);
  - 50 - desplazar la herramienta de recolección (3) hacia el material celular (12) dispuesto en la placa de cultivo (4) en el soporte (5);
  - 55 - continuar proporcionando la señal al microprocesador (8) a medida que la herramienta de recolección (3) se desplaza hacia la placa de cultivo (4);
  - detectar un cambio en la frecuencia de oscilación que indica el contacto de la herramienta de recolección (3) con el material celular (12);
  - 60 - detener el desplazamiento de la herramienta de recolección (3) cuando se detecta el cambio en la frecuencia de oscilación;
  - retirar la herramienta de recolección (3) del material celular (12) recolectando así el material celular (12).
- 65 7. Método como se reivindicó en la reivindicación 6, en donde el método comprende además las etapas de:
  - proporcionar una señal de comparación al microprocesador (8) indicativa del cambio en la frecuencia de oscilación; y

- usar la señal de comparación para controlar el movimiento de un dispositivo de posicionamiento (7).

- 5
8. Método como se reivindicó en la reivindicación 6 o 7, en donde el circuito oscilador (18) proporciona una tensión alterna caracterizada por una tensión de diente de sierra.
9. Método como se reivindicó en la reivindicación 8, en donde la tensión alterna tiene una frecuencia fija entre aproximadamente 100 y 150 kHz.
- 10
10. Método como se reivindicó en la reivindicación 9, en donde el método comprende además las etapas de:
- retirar la herramienta de recolección (3) a una distancia predeterminada de la posición de contacto hacia una posición de verificación,
  - mantener dicha herramienta de recolección (3) en dicha posición de verificación, y
  - mientras está en la posición de verificación, medir la frecuencia de oscilación.
- 15
11. Método como se reivindicó en la reivindicación 10, en donde el método comprende además la etapa de proporcionar una señal de advertencia cuando la frecuencia de oscilación se desvía de una frecuencia de oscilación de inicio mientras está en la posición de verificación.
- 20
12. Método como se reivindicó en las reivindicaciones 10 y 11, en donde el método comprende la etapa de liberar la herramienta de recolección (3) del soporte de la herramienta de recolección (2) en caso de que la frecuencia de oscilación se desvíe de la frecuencia de inicio mientras está en la posición de verificación.
- 25
13. Método como se reivindicó en cualquiera de las reivindicaciones 6 a 12, en donde el método comprende la etapa de interponer un elemento o capa (6) de material transparente eléctricamente aislante entre el soporte (5) y la placa de cultivo (4).
- 30
14. Método como se reivindicó en cualquiera de las reivindicaciones 6 a 13, en donde la detección del cambio en la frecuencia de oscilación se lleva a cabo mediante un comparador (21) que compara una frecuencia de oscilación de inicio durante el desplazamiento de la herramienta de recolección (3).
15. Método como se reivindicó en cualquiera de las reivindicaciones 6 a 14, en donde el método comprende la etapa de usar una nueva herramienta de recolección (3) cada vez que el material celular (12) tiene que recolectarse de la superficie de un medio de cultivo (11) en una placa de cultivo (4).

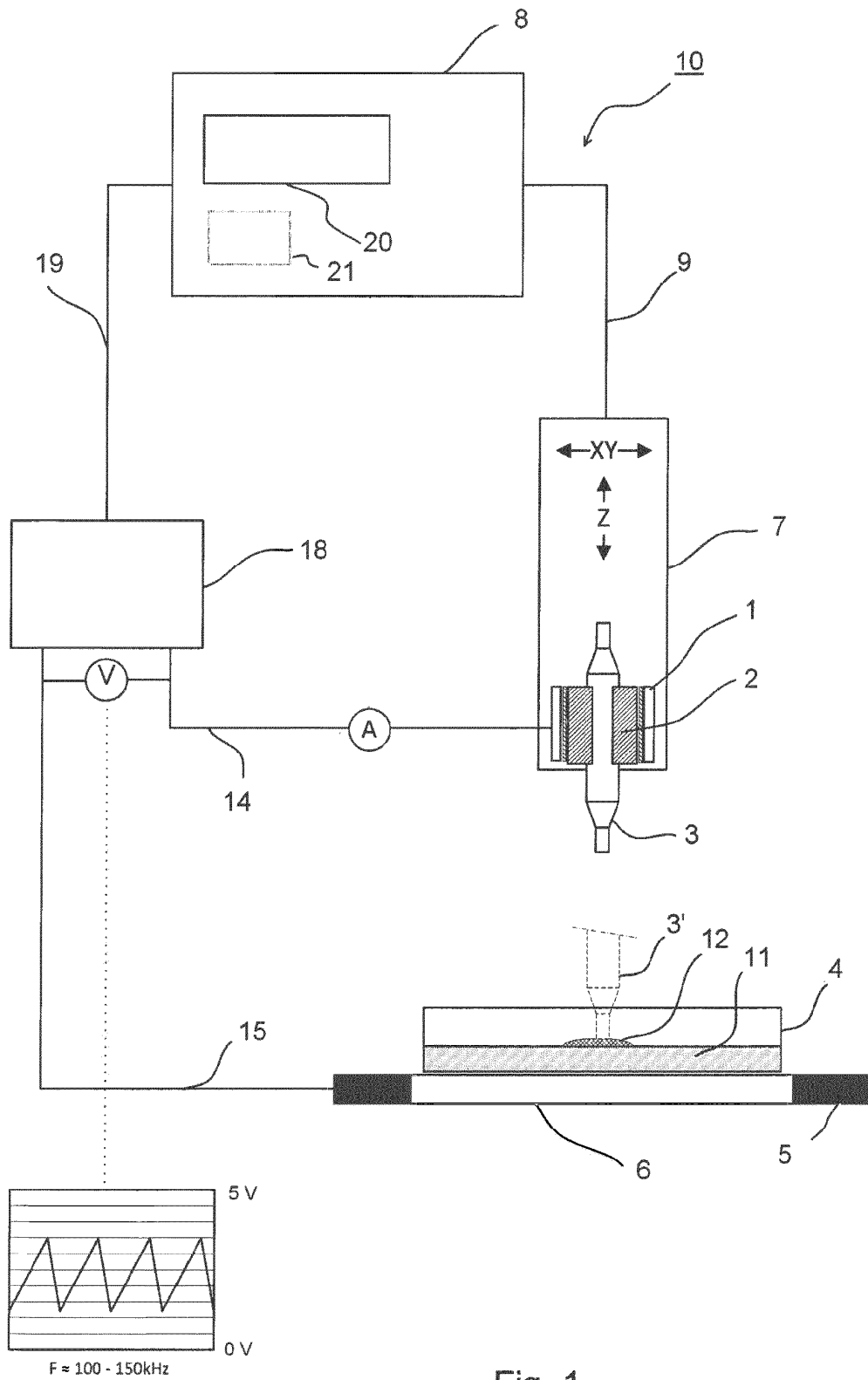


Fig. 1