



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA LOTTA ALLA CONTRAFFAZIONE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

DOMANDA DI INVENZIONE NUMERO	102018000006083
Data Deposito	06/06/2018
Data Pubblicazione	06/12/2019

Classifiche IPC

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
G	01	N	1	40

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
C	12	Q	1	18

Titolo

DISPOSITIVO MICROFLUIDICO PER LA CONCENTRAZIONE DI PARTICELLE TRAMITE CENTRIFUGAZIONE, E RELATIVO DISPOSITIVO DI CENTRIFUGAZIONE E/O RILEVAZIONE

Descrizione dell'invenzione industriale dal titolo:

“Dispositivo microfluidico per la concentrazione di particelle tramite centrifugazione, e relativo dispositivo di centrifugazione e/o rilevazione”,

di Eltek S.p.A., di nazionalità italiana, con sede in Casale Monferrato (AL), Strada Valenza 5A.

Inventori designati: Marco PIZZI, Giovanni MELIOLI, Valentina GALLO, Massimo ZANIN

Depositata il: 6 giugno 2018

TESTO DELLA DESCRIZIONE

Campo dell'invenzione

La presente invenzione si riferisce in generale alle tecniche per la rilevazione o la stima della quantità di particelle presenti in un campione di fluido, particolarmente particelle in basse concentrazioni ed in piccoli volumi.

L'invenzione è stata sviluppata con particolare riferimento a supporti di centrifugazione ed a disposizioni o dispositivi microfluidici atti ad essere sottoposti a centrifugazione, nonché a dispositivi e metodi per esami o analisi di campioni di fluido contenenti batteri o microrganismi, ad esempio per l'esecuzione rapida di antibiogrammi. L'invenzione è comunque suscettibile di applicazione anche per la rilevazione di altri tipi di particelle eventualmente presenti in un campione fluido, non necessariamente fluidi o particelle organiche o biologiche.

Stato della tecnica

Sono note varie tecniche per il conteggio di particelle, ad esempio cellule, presenti in un campione di un fluido, ad esempio un fluido biologico. I sistemi più comunemente impiegati sono di tipo ottico (con o senza fluorescenza), di tipo impedenziometrico o di tipo statico mediante riconoscimento d'immagine. Questi sistemi noti richiedono in generale quantitativi di campione relativamente elevati e non consentono una efficiente parallelizzazione della misura, ovvero presuppongono un quantitativo importante di campione di partenza per poter effettuare molte misure in parallelo e/o contemporaneamente. I sistemi noti basati su tecniche di riconoscimento d'immagine possono essere impiegati per l'analisi di piccoli campioni di fluido, ma essi non consentono la parallelizzazione di più campioni, con conseguente aumento dei

tempi di misura, a meno di investimenti spesso antieconomici.

Scopo e sintesi dell'invenzione

Nei suoi termini generali, la presente invenzione si propone di indicare dispositivi e metodi che consentano di effettuare, in modo semplice, rapido ed economico, la separazione e/o l'accumulo e/o la quantificazione e/o l'identificazione di particelle presenti in bassa concentrazione e/o in piccoli volumi in campioni di fluido, consentendo in modo altrettanto semplice ed economico la parallelizzazione tra più campioni, con vantaggi in termini di tempi e costi, nonché di efficienza in termini di sensibilità e riproducibilità.

Un ulteriore scopo dell'invenzione è quello di indicare metodologie che consentano l'effettuazione di antibiogrammi (quando l'oggetto della misura siano dei microrganismi), ovvero l'ottenimento di profili di suscettibilità di un microbo o un batterio ad antibiotici, in tempi relativamente rapidi, indicativamente di alcune ore; uno scopo ausiliario dell'invenzione è quello di indicare metodologie che consentano l'effettuazione contemporanea di una pluralità di antibiogrammi.

Tali scopi sono raggiunti, secondo la presente invenzione, da un dispositivo microfluidico per la concentrazione di particelle tramite centrifugazione, e da relativi supporti e metodi, aventi le caratteristiche indicate nelle rivendicazioni allegate.

In particolare, l'invenzione riguarda un dispositivo microfluidico centrifugabile, che include un substrato sul quale è predisposta almeno una disposizione microfluidica finalizzata alla concentrazione delle particelle presenti in un campione di fluido, ai fini della valutazione o rilevazione della loro quantità. La disposizione microfluidica comprende almeno un micro-canale, preferibilmente una pluralità di micro-canali sostanzialmente allineati o affiancati in una direzione radiale, che è suscettibile di ricevere il fluido del campione ed è conformato in modo da consentire - per effetto della centrifugazione del substrato - un accumulo delle particelle in una porzione precisa e limitata dello stesso micro-canale. Le particelle accumulate nella suddetta porzione del micro-canale possono poi essere sottoposte a rilevazione, ovvero sia ad una loro quantificazione diretta o indiretta e/o identificazione, ad esempio impiegando mezzi di rilevazione di tipo ottico e/o mezzi di rilevazione di tipo elettrico. Di preferenza, a seguito della centrifugazione, almeno una parte prevalente del campione di fluido

rimane nel micro-canale, o almeno nella sua porzione di accumulo, con le particelle accumulate che quindi rimangono immerse nel liquido.

L'invenzione riguarda altresì dispositivi di centrifugazione e/o di rilevazione, utilizzabili in abbinamento al suddetto dispositivo microfluidico, nonché metodologie di analisi basate sull'impiego di un tale dispositivo.

Come risulterà chiaro in seguito, l'invenzione consente di effettuare in modo semplice e rapido efficaci rilevazioni di quantità di particelle in campioni di volume relativamente modesto del fluido di interesse.

Breve descrizione dei disegni

Ulteriori scopi, caratteristiche e vantaggi dell'invenzione risulteranno chiari dalla descrizione particolareggiata che segue, effettuata con riferimento ai disegni annessi, forniti a puro titolo di esempio non limitativo, nei quali:

- la figura 1 è una vista prospettica schematica di un dispositivo di centrifugazione e di un dispositivo microfluidico secondo possibili forme di attuazione dell'invenzione;

- la figura 2 è una vista prospettica schematica di un dispositivo microfluidico secondo possibili forme di attuazione dell'invenzione;

- le figure 3 e 4 sono viste prospettiche schematiche di dispositivi microfluidici secondo possibili forme di attuazione dell'invenzione;

- la figura 5 è una vista schematica in elevazione frontale di una disposizione microfluidica secondo possibili forme di attuazione dell'invenzione;

- la figura 6 è una vista prospettica schematica di una porzione di estremità una disposizione microfluidica secondo possibili forme di attuazione dell'invenzione;

- la figura 7 è una vista schematica in elevazione frontale di una porzione centrale di una disposizione microfluidica secondo possibili forme di attuazione dell'invenzione;

- la figura 8 è una rappresentazione schematica in elevazione frontale di una disposizione microfluidica secondo possibili forme di attuazione dell'invenzione;

- le figure 9 e 10 sono viste prospettiche schematiche volte ad esemplificare una fase di caricamento di un campione di fluido in disposizioni microfluidiche secondo possibili forme di attuazione dell'invenzione;

- la figura 11 è una macrofotografia volta ad illustrare il possibile risultato dell'impiego di un dispositivo microfluidico secondo possibili forme di attuazione dell'invenzione;

- le figure 12, 13, 14 e 15 sono viste simili a quelle delle figure 3, 4, 5 e 6, rispettivamente, relative ad ulteriori dispositivi e disposizioni microfluidiche secondo possibili forme di attuazione dell'invenzione;

- la figura 16 è una vista prospettica schematica di una porzione di una disposizione microfluidica secondo possibili forme di attuazione dell'invenzione;

- le figure 17 e 18 sono una vista schematica in elevazione frontale, ed un relativo dettaglio in maggior scala, rispettivamente, di una disposizione microfluidica secondo possibili forme di attuazione dell'invenzione;

- le figure 19 e 20 sono una vista schematica in elevazione frontale, ed un relativo dettaglio in maggiore scala, rispettivamente, di una disposizione microfluidica secondo possibili forme di attuazione dell'invenzione;

- le figure 21 e 22 sono una vista schematica in elevazione frontale, ed un relativo dettaglio in maggiore scala, rispettivamente, di una disposizione microfluidica secondo possibili forme di attuazione dell'invenzione;

- la figura 23 è una vista prospettica schematica di un dispositivo microfluidico secondo possibili forme di attuazione dell'invenzione;

- la figura 24 è una vista schematica in esploso del dispositivo di figura 23;

- la figura 25 è una vista prospettica sezionata di una porzione di un dispositivo del tipo mostrato in figura 23; e

- le figure 26 e 27 sono viste prospettiche schematiche di dispositivi di centrifugazione e/o di rilevazione secondo possibili forme di attuazione dell'invenzione.

Descrizione dettagliata di forme di attuazione

Il riferimento ad una forma di attuazione all'interno di questa descrizione sta ad indicare che una particolare configurazione, struttura, o caratteristica descritta in relazione alla forma di attuazione è compresa in almeno una forma di attuazione. Quindi, frasi come "in una forma di attuazione", "in varie forme di attuazione" e simili, eventualmente presenti in diversi luoghi di questa descrizione, non sono necessariamente riferite alla stessa forma di attuazione. Inoltre, particolari

conformazioni, strutture o caratteristiche definite all'interno di questa descrizione possono essere combinate in ogni modo adeguato in una o più forme di attuazione, anche differenti da quelle raffigurate. I riferimenti numerici e spaziali (quali "superiore", "inferiore", "alto", "basso", eccetera) qui utilizzati sono soltanto per comodità e non definiscono dunque l'ambito di tutela o la portata delle forme di attuazione. Nelle figure sono utilizzati medesimi numeri di riferimento per indicare elementi analoghi o tra loro tecnicamente equivalenti.

Riferendosi inizialmente alla figura 1, con 1 è indicato nel suo complesso un dispositivo di centrifugazione, avente una struttura 2 che definisce una camera di trattamento o centrifugazione 3. In varie forme di attuazione, il dispositivo 1 include un coperchio o sportello 4, preferibilmente incernierato alla struttura 2, per chiudere la camera 3. Il dispositivo 1 ha un sistema di azionamento o movimentazione 5, che include un organo rotante 5a nell'ambito della camera 3, destinato a porre in rotazione un supporto di centrifugazione, ovvero un dispositivo centrifugabile. Eventualmente, al coperchio 4 può essere associata una relativa parte 4a di un sistema posizionamento e/o guida del suddetto supporto di centrifugazione. Il suddetto sistema di attuazione 5 comprende di preferenza un motore elettrico, eventualmente provvisto di un motoriduttore e/o di un circuito di controllo elettronico. Le velocità di centrifugazione possono essere indicativamente superiori a 5000 rpm, nel caso in cui le particelle oggetto di rilevazione siano batteri o microrganismi di piccole dimensioni, ed indicativamente superiori a 1200 rpm nel caso le particelle da rilevare siano cellule del sangue o somatiche.

In varie forme di attuazione il dispositivo 1 comprende un sistema di controllo della temperatura e/o dell'umidità nell'ambito della camera 3. In varie forme di attuazione tale sistema è configurato per il mantenimento di una temperatura superiore ai 25°C, preferibilmente compresa tra 36 e 38°C, e/o di un'umidità che preferibilmente superiore al 95%. In varie forme di attuazione preferite il dispositivo 1 comprende un sistema di aspirazione e/o regolazione della pressione, predisposto per mantenere la zona di centrifugazione, o la camera 3, ad una pressione inferiore alla pressione ambiente e/o per forzare un flusso di aria in uscita da tale zona o camera in un sistema filtrante configurato per impedire la diffusione nell'ambiente di aerosol potenzialmente

contaminati.

In varie forme di attuazione il dispositivo 1 include un pannello comandi 6, sul quale si trovano idonei elementi di comando 6a per avviare e/o arrestare un processo di centrifugazione e/o di climatizzazione e/o di regolazione della pressione e/o di rilevazione, ed eventualmente per impostare parametri di tale processo (ad esempio velocità e/o durata della centrifugazione e/o temperatura e/o umidità e/o pressione nella camera 3). I suddetti elementi di comando possono essere di qualsiasi tipo idoneo (pulsanti, manopole, cursori, un visualizzatore tattile, eccetera).

In figura 1, con 10 è indicato un dispositivo centrifugabile secondo possibili forme di attuazione dell'invenzione. In varie forme di attuazione preferenziali, il dispositivo 10 è configurato per integrare o alloggiare una disposizione atta a concentrare, tramite centrifugazione, particelle contenute in un campione di una sostanza fluida, ed include a tale scopo un substrato 11 provvisto di almeno una disposizione microfluidica 12: per tale ragione, nel seguito, il dispositivo 10 verrà identificato come "dispositivo microfluidico".

Il substrato 11 del dispositivo 10 è configurato per essere posto in rotazione anche ad alta velocità rispetto ad un centro di rotazione, che qui si assuma essere identificato dall'organo 5a del dispositivo 1. A tale scopo, in varie forme di attuazione preferenziali, il dispositivo 10 ha forma di disco ed include di preferenza mezzi 11a per l'accoppiamento al sistema di attuazione di un relativo dispositivo di centrifugazione, ad esempio per l'accoppiamento all'organo 5a del dispositivo 1 di figura 1. Nel caso esemplificato, i suddetti mezzi di accoppiamento 11a comprendono un passaggio o foro centrale del substrato a disco 11. Come si vedrà, peraltro, la forma a disco del substrato 11 non costituisce caratteristica essenziale, fermo restando il fatto che il medesimo è destinato ad essere posto in rotazione rispetto ad un centro di rotazione.

In varie forme di attuazione il substrato 11 ha uno spessore relativamente sottile, ad esempio compreso tra 0,5 e 4 mm. Il substrato può essere ad esempio formato con vetro o plastica (ad esempio policarbonato o polietilene o copolimeri ciclo-olefine o COC) ed avere un diametro indicativamente compreso tra 10 e 30 centimetri, potendo quindi essere simile ad un classico Compact Disc. I materiali impiegati sono di preferenza materiali elettricamente isolanti, molto preferibilmente materiali almeno in

parte trasparenti.

Riferendosi anche alla figura 2, il substrato 11 ha una superficie 11b – qui definita convenzionalmente superficie superiore – in cui è definita la suddetta almeno una disposizione microfluidica 12. In varie forme di attuazione preferenziali, in corrispondenza della superficie 11b sono definite una pluralità di disposizioni microfluidiche 12, preferibilmente ma non necessariamente uguali tra loro. In varie forme di attuazione, più disposizioni microfluidiche sono sostanzialmente allineate tra loro in direzione radiale, come ad esempio le disposizioni indicate con 12₁ e 12₂ in figura 2, e/o più disposizioni microfluidiche sono disposte sostanzialmente secondo una circonferenza o ad una stessa distanza rispetto al centro di rotazione 11a o 5a, come ad esempio le disposizioni indicate con 12₁ e 12₃ o le disposizioni indicate con 12₂ e 12₄ in figura 2.

L'almeno una disposizione microfluidica 12, o ciascuna disposizione microfluidica 12, si estende di preferenza secondo un piano identificato dal substrato 11, ed a tale scopo può essere definita sulla superficie 11b tramite idonea tecnica, ad esempio tramite microincisione, o stampaggio, o polimerizzazione di resine mediante UV. Non è esclusa dall'ambito dell'invenzione una realizzazione dei micro-canali tramite deposizione di materiale sul substrato 11.

L'almeno una disposizione microfluidica 12 comprende almeno un micro-canale 13 avente due estremità opposte, predisposto per ricevere un fluido campione. Di preferenza, ma non necessariamente, la disposizione 12 comprende anche almeno una camera 14a o 14b (che può anche essere in forma di condotto o canale) alla quale è collegata in comunicazione di fluido una delle due suddette estremità dell'almeno un micro-canale 13. In varie forme di attuazione preferenziali sono previste due camere 14a e 14b, a ciascuna delle quali è collegata in comunicazione di fluido una rispettiva estremità dell'almeno un micro-canale 13.

In varie forme di attuazione preferite, ciascuna disposizione 12 comprende una pluralità di micro-canali 13, che hanno di preferenza, ma non necessariamente, una tra le rispettive prima estremità e seconda estremità collegate in comunicazione di fluido con una detta camera, ad esempio una tra la prima camera 14a e la seconda camera 14b. Nel seguito verrà fatto riferimento a forme di attuazione comprendenti una detta

pluralità di micro-canali 13.

In varie forme di attuazione, le prime o le seconde estremità di una pluralità di micro-canali 13 sono collegate in comunicazione di fluido con una stessa camera, ad esempio la camera 14a o la camera 14b. Preferibilmente, le prime estremità dei micro-canali 13 della pluralità sono collegate in parallelo ad una prima camera, ad esempio la camera 14a, e le seconde estremità dei micro-canali 13 della pluralità sono collegate in parallelo ad una seconda camera, ad esempio la camera 14b: ciò non costituisce comunque caratteristica essenziale dell'invenzione, per le ragioni appresso spiegate. In varie forme di attuazione le camere 14a e 14b sono in posizioni generalmente contrapposte tra loro, di modo che i micro-canali 13 si estendano almeno in parte in una posizione intermedia rispetto ad esse.

I micro-canali di una suddetta pluralità sono preferibilmente almeno in parte uguali tra loro e/o si estendono almeno in parte sostanzialmente paralleli o equidistanti, preferibilmente paralleli o equidistanti in una direzione radiale del substrato. In varie forme di attuazione, sono previsti micro-canali sostanzialmente uguali tra loro in termini di forme e dimensioni, mentre in altre forme di attuazione sono previsti micro-canali aventi sostanzialmente un medesimo andamento (*pattern*), ma aventi lunghezze diverse tra loro.

In varie forme di attuazione, la disposizione microfluidica 12, o ciascuna disposizione microfluidica, comprende un elemento di copertura 12a, che copre almeno in parte i relativi micro-canali 13. Di preferenza, l'elemento di copertura 12a è formato almeno in parte con un materiale trasparente, ad esempio vetro o un materiale plastico, onde consentire la visione dei sottostanti micro-canali 13, a fini di rilevazione ottica.

Un tale elemento di copertura 12a è ben visibile ad esempio in figura 3, nella quale su di un medesimo dispositivo 10 sono previste tre disposizioni microfluidiche 12 allineate in direzione radiale (rispetto ad un centro di rotazione del substrato 11). Ciascuna disposizione 12 comprende un relativo elemento di copertura 12a, che sovrasta i relativi micro-canali 13, lasciando invece esposta almeno una delle camere laterali 14a, 14b, preferibilmente entrambe tali camere. I micro-canali 13 sono visibili in figura 4, dove la rappresentazione degli elementi di copertura 12a è stata omessa.

Il materiale di cui è costituito l'elemento di copertura 12a, o ciascun elemento di

copertura 12a, è preferibilmente idrofilico, per facilitare l'ingresso del fluido per capillarità in ciascun micro-canale 13. Il materiale di cui sono composti i micro-canali 13, ovvero il materiale del substrato 11, può essere in tal caso anche di materiale idrofobico. E' anche preferibile che almeno una superficie del micro-canale 13 che si estende per tutta la lunghezza dello stesso sia di materiale idrofilico: ad esempio, in un micro-canale 13 a sezione rettangolare o trapezoidale, almeno una delle quattro pareti definenti la sezione del micro-canale sarà preferibilmente di materiale idrofilico, ad esempio l'elemento di copertura 12a.

Anche il substrato 11 può essere formato almeno in parte con un materiale trasparente, per consentire la visione dei micro-canali (ad esempio nel caso in cui l'elemento 12a sia opaco), e/o per consentire una retro-illuminazione dei micro-canali (ad esempio nel caso in cui l'elemento 12a sia trasparente). Quindi, sia il substrato 11 che gli elementi di copertura 12a potrebbero essere trasparenti.

In varie forme di attuazione ciascun micro-canale presenta, lungo tutta la sua estensione, almeno una porzione continua di superficie interna avente caratteristiche idrofiliche. La continuità di una porzione idrofilica lungo una parete interna del micro-canale è utile nella fase di riempimento, che prevede ad esempio il deposito di una goccia del liquido campione in una delle due camere 14, ad esempio la camera 14a. Il contatto con la porzione idrofilica provoca il riempimento dei micro-canali per capillarità. Una volta riempito interamente, ciascun micro-canale non è più soggetto a flusso di liquido al suo interno, a patto che al fondo (cioè arrivato alla camera 14b), il fluido incontri superfici idrofobiche: in questo modo, anche se micro-canali contigui dovessero riempirsi con il liquido campione con velocità diverse, il micro-canale che viene riempito per primo arresterebbe comunque la corsa del liquido una volta che lo stesso fosse arrivato al fondo, impedendo al liquido di inserirsi nel o nei micro-canali adiacenti prima del loro completo riempimento (cosa da evitare, in quanto tapperebbe il micro-canale ancora non completamente pieno intrappolando bolle d'aria). Un modo per ottenere questo effetto è ad esempio quello di realizzare la parete di fondo e le pareti laterali dei micro-canali 13, e le camere 14, con un unico materiale idrofobico e di realizzare le pareti superiori dei micro-canali (ad esempio realizzate dall'elemento di copertura 12a) con materiale idrofilico, ad esempio vetro, avendo cura di far terminare

tali pareti superiori (ad esempio un elemento di copertura 12a di vetro) leggermente prima della camera di arrivo, ad esempio la camera 14b, lasciando almeno qualche micrometro di pareti laterali dei micro-canali senza copertura. Se, viceversa, una parete superiore (ad esempio l'elemento di copertura 12a) terminasse sovrapponendosi in parte alla camera di arrivo 14b, il micro-canale che per capillarità si è riempito per primo troverebbe un percorso idrofilico per penetrare nel canale adiacente: se quest'ultimo non fosse ancora pieno di liquido, il flusso verrebbe arrestato e il riempimento risulterebbe incompleto.

Come in precedenza accennato, il substrato 11 di un dispositivo 10 non deve avere necessariamente forma a disco. Un tale caso è appunto esemplificato nelle figure 3 e 4, dove il substrato indicato con 11 ha forma sostanzialmente a parallelepipedo, preferibilmente planare (per maggior chiarezza, la rappresentazione degli elementi 12a è stata omessa in figura 4). Substrati di questo tipo, ovvero non a disco, possono essere vantaggiosamente predisposti per essere alloggiati o fissati – ad esempio tramite idonei elementi adattatori – su di un supporto intermedio o in un cestello di un dispositivo di centrifugazione di tipo commerciale, oppure su di un generico supporto a disco destinato ad essere accoppiato all'organo rotante 5a del dispositivo 1 di figura 1.

Le figure 3 e 4 possono comunque essere intese rappresentare delle porzioni di un dispositivo 10 più grande, ad esempio porzioni rettangolari di un supporto a disco del tipo mostrato in figura 2.

In figura 5 una disposizione microfluidica 12 è rappresentata schematicamente in vista frontale, senza il relativo elemento di copertura 12a, dove con 13a e 13b sono indicate le estremità di alcuni micro-canali 13, che si aprono in corrispondenza delle camere laterali 14a e 14b, rispettivamente. Tale caratteristica è apprezzabile anche dalla figura 6, che illustra una camera 14a, dando per scontato che la camera 14b è preferibilmente di analoga costruzione. Dalla figura 6 è quindi possibile notare come, in varie forme di attuazione preferenziali, sia le camere laterali 14a (e 14b), sia i micro-canali 13 siano realizzati da cavità o incisioni superficiali del substrato 11, i micro-canali 13 essendo in particolare in forma di micro-scanalature.

In termini generali, ciascun micro-canale 13 può avere una larghezza compresa tra 5 e 200 micron, preferibilmente compresa tra 15 e 50 micron, e/o una profondità o

altezza compresa tra 2 e 100 micron, preferibilmente compresa tra 5 e 40 micron. La lunghezza di ciascun micro-canale 13 - intesa come distanza tra le sue due estremità 13a, 13b - può essere indicativamente compresa tra 5 e 50 millimetri. E' preferibile che i micro-canali abbiano una sezione di passaggio costante, per omogeneità di analisi.

La figura 7 mostra un dettaglio di una regione intermedia di una disposizione microfluidica 12, ed in particolare una regione centrale dei micro-canali 13, definiti o separati da pareti o porzioni in rilievo 11d del substrato 11.

In varie forme di attuazione preferenziali, ciascun micro-canale 13 comprende almeno due rami di micro-canale generalmente convergenti tra loro, indicati in figura 7 con 13c e 13d, rispettivamente. Tale caratteristica preferenziale è rilevabile anche dall'esempio schematico di una disposizione 13 illustrato in figura 8 dove, per esigenze di maggior chiarezza, la lunghezza dei micro-canali 12 è stata grandemente ridotta. Nell'esempio, i due rami di micro-canale 13c e 13d sono inclinati in versi opposti, con una disposizione sostanzialmente speculare.

Ancora con riferimento alla figura 8, e conformemente ad un aspetto dell'invenzione, l'almeno un micro-canale 13, o ciascun micro-canale, comprende, in una regione intermedia alle sue estremità 13a e 13b, almeno una zona di accumulo - indicata con 15 - che si trova ad una distanza R1 - in direzione radiale rispetto al centro di rotazione del substrato 11 - che è maggiore rispetto alle distanze R2 - sempre in direzione radiale rispetto al medesimo centro di rotazione - alle quali si trovano le due estremità 13a e 13b del micro-canale. Nello schema esemplificativo di figura 8, il centro di rotazione è indicato con 5a, assumendo che il medesimo sia realizzato dall'organo 5a di figura 1; il verso di rotazione del substrato è indicato con "r", mentre la direzione radiale è schematizzata dalla freccia "R".

Preferibilmente, la distanza tra la zona di accumulo 15 e la prima estremità 13a è uguale o sostanzialmente uguale alla distanza tra la zona di accumulo 15 e la seconda estremità 13b, ovvero la zona 15 è in una zona sostanzialmente centrale del micro-canale 13.

Di preferenza, le due estremità 13a e 13b dell'almeno un micro-canale 13, o di ciascun micro-canale, si trovano sostanzialmente ad una medesima seconda distanza in direzione radiale rispetto al centro di rotazione 5a del substrato 11, sebbene ciò non

costituisca caratteristica essenziale. Ad esempio, dalla figura 8 si nota come le estremità 13a e 13b di ciascun micro-canale 13 possano trovarsi sostanzialmente alla medesima distanza R2 in direzione radiale rispetto al centro di rotazione 5a. Le estremità 13a e 13b sono di preferenza sostanzialmente ad una medesima distanza radiale R2 dal centro di rotazione 5a, particolarmente al fine di evitare che un fluido presente all'interno dei micro-canali 13 possa fuoriuscire dagli stessi in corso di centrifugazione del dispositivo 10. E' preferibile che i micro-canali 13 siano aperti solo alle loro estremità.

Grazie alla disposizione citata, le particelle eventualmente contenute in un volume del fluido che penetra all'interno di un micro-canale 13, tendono a concentrarsi nella zona di accumulo 15, per effetto della forza centrifuga determinata da una rotazione del substrato 11 attorno al centro di rotazione 5a. Per semplicità, l'effetto della forza centrifuga può intendersi rappresentato in figura 8 dalla stessa freccia R che indica la direzione radiale.

E' preferibile che le zone di accumulo 15 dei micro-canali 13 siano prive di vie di uscita per il liquido, di modo che, a seguito della centrifugazione, le particelle si concentrino comunque nel liquido presente in corrispondenza delle suddette zone 15.

In varie forme di attuazione preferite, i micro-canali 13 di una stessa disposizione microfluidica 12 sono disposti almeno in parte sostanzialmente allineati o affiancati tra loro nella direzione radiale R del substrato 11, preferibilmente vicini l'uno all'altro. Indicativamente, le pareti o porzioni in rilievo 11d che separano tra loro i canali possono avere una larghezza compresa tra 5 e 200 micron, preferibilmente compresa tra 15 e 100 micron.

In varie forme di attuazione preferenziali la camera 14a e/o 14b ha una profondità uguale o prossima a quella dei micro-canali 13, ad esempio una profondità o altezza compresa tra 2 e 100 micron, preferibilmente compresa tra 5 e 40 micron.

In forme di attuazione preferite, i micro-canali 13 di una stessa disposizione microfluidica 12 collegano le due camere di estremità 14a e 14b, preferibilmente con queste ultime che si trovano sostanzialmente ad una medesima distanza, in direzione radiale, rispetto al centro di rotazione 5a del substrato 11, particolarmente con un collegamento in parallelo: in tal caso, i micro-canali si estendono sostanzialmente in posizione intermedia alle due camere, con queste ultime che sono sostanzialmente

parallele tra loro. Di preferenza, le due camere 14a, 14b sono collegate tra loro unicamente tramite i micro-canali 13.

In varie forme di attuazione preferenziali, nella suddetta una zona di accumulo 15 il relativo micro-canale 13 ha forma a sostanzialmente a V o a U, ovvero comprende due tratti di micro-canale generalmente convergenti tra loro, particolarmente due tratti di micro-canale atti a formare tra loro un angolo o eventualmente raccordati da un tratto curvo: nel caso sinora esemplificato, la zona 15 è definita nella zona di unione tra i due rami 13c e 13d.

Le figure 9 e 10 illustrano, in forma schematica una possibile modalità di immissione di un campione di fluido in un dispositivo microfluidico secondo possibili forme di attuazione dell'invenzione. Nel caso esemplificato, tramite un idoneo utensile T (quale una pipetta atta a dispensare una quantità controllata di fluido, indicativamente dell'ordine dei microlitri o delle decine di microlitri) un campione FS del fluido che deve essere sottoposto ad esame viene depositato in almeno una delle camere laterali 14a o 14b della disposizione microfluidica, preferibilmente una sola. Il campione FS può essere una semplice goccia del fluido, come nel caso esemplificato, o anche comprendere un volume maggiore.

La camera laterale utilizzata agevola l'immissione del campione di fluido nella disposizione microfluidica 12. Inoltre, quando tale disposizione 12 include una pluralità di micro-canali 13, come nel caso esemplificato, la camera laterale utilizzata funge sostanzialmente da collettore per l'immissione in parallelo del fluido in più micro-canali. Detto in altri termini, la previsione di almeno una camera laterale 14a e/o 14b alla quale sono collegate in parallelo le estremità omologhe di più micro-canali 13 ha il vantaggio di evitare di dover immettere singolarmente rispettive frazioni del campione nei singoli micro-canali. Si noti che, come in precedenza menzionato, la camera 14a, o ciascuna camera 14a e 14b, potrebbe essere realizzata da un condotto o una canalizzazione, tramite la quale il campione di fluido viene adotto all'estremità di ingresso del micro-canale, o di ciascun micro-canale.

La possibilità di collegare più micro-canali ad uno stesso ingresso – sia esso una camera o un condotto – consente di aumentare la base statistica della rilevazione, ovvero disporre di più ripetizioni delle stesse condizioni nominali.

Il numero di micro-canali da utilizzare nelle stesse condizioni nominali dipenderà dal tipo di utilizzo del dispositivo e dal volume di ciascun micro-canale: se ad esempio i due rami opposti 13c e 13d di un micro-canale 13 fossero lunghi 1 cm ciascuno, con una larghezza di 50 micrometri e una profondità di 5 micrometri, il volume totale sarebbe di $5 \cdot 10^6$ micrometri cubi. Con una concentrazione di 10^5 batteri / ml, si avrebbero 10^{-7} batteri per micron cubo. Questo significa che in ogni micro-canale si avrebbero in media 0,5 batteri. Questo significa anche che nei micro-canali che contengono almeno un batterio il segnale potrebbe raddoppiare dopo pochissimo tempo (circa 20-40 minuti) nei casi di proliferazione e rimanere costante in quelli in cui non si ha proliferazione.

Questo tipo di utilizzo può essere battezzato “antibiogramma digitale”. Essendo i micro-canali molto piccoli e potendo essere definiti in posizioni molto prossime tra loro, con un simile andamento, è possibile avere su di un’area molto limitata (quale quella di singolo vetrino da microscopio) una moltitudine di canali, ad esempio compresa tra 250 e 500 micro-canali.

A concentrazioni come quelle poco sopra indicate sarebbe opportuno dedicare a ciascun n-uplicato (gruppo di n micro-canali utilizzati nelle stesse condizioni nominali) a concentrazione nominale uguale un numero di micro-canali compreso tra 100 e 200, al fine di avere una base statistica sufficiente. Su un singolo dispositivo centrifugabile, ad esempio conformato a disco, sarebbe quindi possibile testare una moltitudine (varie decine) di condizioni diverse, ciascuna n-uplicata con n compreso tra 100 e 200. Per concentrazioni maggiori sarà invece possibile raggruppare in un numero inferiore di canali le condizioni nominalmente uguali. Ad esempio nel caso di concentrazioni dell’ordine di 1 milione di batteri per ml si potranno utilizzare n-uple di 10-20 micro-canali per ogni condizione nominalmente identica.

E’ preferibile che entrambe le estremità 13a e 13b di ciascun micro-canale 13 siano aperte, particolarmente quando ai micro-canali 13 è sovrapposto un elemento di copertura del tipo indicato in precedenza con 12a (il fluido può così penetrare da un’estremità del micro-canale e l’aria contenuta in quest’ultimo progressivamente sfiatare dall’altra estremità). In varie forme di attuazione, ciascun micro-canale 13 viene riempito per capillarità o sfruttando l’idrofilicità di almeno una delle pareti o superfici

che delimitano il micro-canale stesso. Peraltro, in altre forme di attuazione non rappresentate, il campione fluido potrebbe essere forzato nei micro-canali tramite una pressione positiva o negativa, ad esempio utilizzando una sovrappressione in ingresso o una depressione in uscita (sempre rispetto alla pressione ambiente).

Come già accennato, a seguito della rotazione del dispositivo 10, e per effetto della forza centrifuga, le particelle presenti nel volume di liquido che occupa un micro-canale 13 tenderanno ad accumularsi in corrispondenza della rispettiva zona di accumulo 15, che è priva di vie di uscita per il liquido. Il concetto è ben visibile nella macro-fotografia di figura 11, dalla quale è possibile notare come, in corrispondenza di almeno alcune delle zone di accumulo 15 risultino concentrate rispettive masse di particelle P, nell'ambito del liquido contenuto nei relativi micro-canali 13.

Naturalmente le dimensioni dei micro-canali 13 devono essere sufficienti da permettere l'ingresso delle particelle P di interesse all'interno degli stessi. In termini generali sono preferibili micro-canali relativamente "bassi", ovverosia aventi un'altezza o profondità nell'ordine delle dimensioni delle particelle di interesse o di poco superiore: ciò a motivo del fatto che - a parità di numero e dimensioni di particelle - nella zona 15 di un micro-canale 13 "basso" la quantità di particelle accumulate l'una di fianco all'altra formerà un'immagine nel piano di area maggiore rispetto ad un micro-canale più "alto" (ovvero più profondo), in cui le particelle potrebbero sovrapporsi e quindi falsare in una certa misura la rilevazione di quantità e/o tipologia delle particelle. L'impiego di micro-canali "bassi", preferibilmente con sezione approssimativamente rettangolare, quindi agevola e migliora la qualità di lettura di quantità e/o tipologia mediante sistemi ottici.

Ad esempio, se un dispositivo 10 deve essere impiegato per la separazione di diversi tipi di cellule in sangue intero, è preferibile avere un'altezza (profondità) dei micro-canali 13 compresa tra 10 e 40 micrometri, preferibilmente compresa tra 10 e 20 micrometri. Se l'oggetto di analisi sono invece batteri, i micro-canali potranno avere un'altezza (profondità) compresa tra 3 e 10 micrometri, preferibilmente compresa tra 4 e 8 micrometri. Ancora, nel caso in cui debbano essere misurati dei lieviti, l'altezza dei micro-canali sarà preferibilmente compresa tra 5 e 20 micrometri, preferibilmente compresa tra 8 e 12 micrometri.

La rilevazione o lettura può avvenire quantificando in modo ottico la dimensione della massa di particelle che, per effetto della centrifugazione, risulta formata in corrispondenza di ciascuna zona di accumulo 15. E' anche possibile effettuare una tale rilevazione di quantità e/o tipologia misurando l'intensità di fluorescenza, nel caso in cui le particelle siano state preventivamente marcate con fluorocromi.

Le figure 12 e 13 illustrano, con viste simili a quelle delle figure 3 e 4, possibili varianti di attuazione di un supporto di centrifugazione quadrangolare 10 (o di una porzione quadrangolare di un supporto di centrifugazione 10 a disco o di differente forma). In forme di attuazione di questo tipo, ciascuna disposizione microfluidica 12 comprende più gruppi di micro-canali 13, leggermente distanziati tra loro nella direzione radiale, i quali sono collegati a rispettive camere laterali 14a e 14b; nell'esempio illustrato, e come ben visibile anche nelle figure 14 e 15, per ciascuna disposizione microfluidica 12 sono previsti tre gruppi di micro-canali 13, e quindi tre camere laterali 14a e tre camere laterali 14b. Il principio di funzionamento del dispositivo microfluidico è analogo a quello appena descritto.

Il fatto che, in forme di attuazione di questo tipo, ciascuna disposizione microfluidica 12 preveda una pluralità di gruppi di micro-canali 13 separati tra loro, preferibilmente con ciascuna pluralità associata ad almeno una rispettiva camera laterale 14a e/o 14b, può risultare utile a fini di analisi, particolarmente sia per disporre di condizioni diverse di rilevazione in contemporanea (e quindi parallelizzazione), sia per aumentare la base statistica se si sceglie di utilizzare più gruppi nelle stesse condizioni nominali.

In varie forme di attuazione i micro-canali delle disposizioni 12 sono utilizzati unicamente per la rilevazione di particelle di interesse contenute nel campione di fluido, mentre in altre forme di attuazione i micro-canali possono essere sfruttati anche come pozzetti di coltura, particolarmente nel caso in cui le particelle che si vogliono rilevare siano microorganismi in grado di riprodursi. Alternativamente, possono essere "caricati" micro-canali con materiali biologici (ad esempio batteri) che all'esterno siano stati indotti a proliferare o siano stati inibiti da antibiotici.

In figura 16 è rappresentata in forma schematica una porzione intermedia di una disposizione microfluidica 12, in corrispondenza delle zone di accumulo 15 dei micro-

canali 13. Come si nota, in varie forme di attuazione, tale zona 15, preferibilmente in corrispondenza dell'intersezione tra i rami di micro-canale 13c e 13d, può essere conformata in modo da definire almeno un incavo o cavità, che realizza sostanzialmente un pozzetto 16, il quale può essere utilizzato come un pozzetto di coltura. La possibilità di impiegare almeno parte dei micro-canali 13 anche come pozzetti di coltura risulta particolarmente vantaggiosa quando il fluido oggetto di analisi è un brodo di coltura o la disposizione 12 contiene un terreno di coltura. In tale ottica, i dispositivi microfluidici in accordo all'invenzione risultano particolarmente vantaggiosi ai fini dell'effettuazione di antibiogrammi, particolarmente antibiogrammi rapidi, come anche spiegato in seguito.

In varie forme di attuazione, l'almeno un micro-canale 13, o ciascun micro-canale, di una disposizione microfluidica 12 può includere almeno un sifone. Una forma di attuazione di questo tipo è esemplificata nelle figure 17 e 18.

In varie forme di attuazione di questo tipo, in corrispondenza della zona 15, i due rami di micro-canale 13c e 13d possono essere raccordati tra loro mediante due sifoni opposti 13e e 13f (ovvero un sifone doppio), che realizzano in sostanza due sotto-zone di accumulo, una per ciascun ramo 13c e 13d, rispettivamente. La presenza di queste due sotto-zone può risultare utile per verificare possibili differenze di concentrazione di particelle tra i due rami 13c e 13d, dovuti a differenti componenti della forza centrifuga (ad esempio nel caso di micro-canali con rami a V sostanzialmente speculari raccordati tramite un sifone doppio) e/o alla incidenza di differenti forme o lunghezze dei due rami convergenti del micro-canale (ad esempio uno verticale e l'altro inclinato), in cui potrebbero influire gli attriti e/o l'adesione tra le particelle e le pareti del micro-canale.

Con particolare riferimento a quest'ultimo caso, le figure 19-20 esemplificano forme di attuazione in cui ciascun micro-canale 13 comprende rispettive porzioni di estremità 13a₁ e 13b₁ che si estendono sostanzialmente perpendicolari alla direzione radiale R, e dalle quali si dipartono i rami 13c, 13d generalmente convergenti che definiscono tra loro le zone di accumulo 15. Nell'esempio, il ramo 13d si estende sostanzialmente nella direzione radiale R, ed il ramo obliquo 13c è collegato al punto più basso del ramo 13d mediante due sifoni contrapposti 13e e 13f (o un doppio sifone),

dove preferibilmente il sifone 13e ha la funzione di bloccare le particelle che provengono dalla porzione obliqua 13c ed il sifone 13f opera da zona di accumulo.

Questo accorgimento è preferibile nel caso di particelle che tendono ad aderire alle pareti del micro-canale 13. Il ramo verticale 13d minimizza questo effetto in quanto, durante la centrifugazione, le particelle subiscono una accelerazione sostanzialmente parallela alle pareti di tale ramo 13d. Per contro, le particelle che si trovano nel fluido contenuto nel ramo obliquo 13c avranno una componente dell'accelerazione tendente a spingerle verso una parete del ramo 13c. L'adesione di particelle alle pareti del micro-canale causa la perdita di almeno alcune di queste particelle nel conteggio: il sifone 13e impedisce che quella parte di particelle che non aderisce alle pareti del ramo obliquo 13c arrivi nella zona di lettura a fini del conteggio - qui rappresentata dal sifone 13f - e possa inficiare la lettura con quantitativi variabili.

In varie forme di attuazione, pertanto, ed a prescindere dalla eventuale presenza di uno o più sifoni, almeno una parte di un ramo di micro-canale che adduce ad una rispettiva zona di accumulo si estende sostanzialmente nella direzione radiale, particolarmente al fine di minimizzare i rischi di adesione di particelle.

Nelle figure 21 e 22 sono esemplificate forme di attuazione in cui ciascun micro-canale 13 definisce due distinte zone di accumulo 15 in posizioni distanziate o remote tra loro. Anche in questo caso ciascun micro-canale 13 comprende rispettive porzioni di estremità 13a₁ e 13b₁ che si estendono sostanzialmente perpendicolari alla direzione radiale R, e dalle quali si dipartono i rami 13c, 13d che qui sono disposti sostanzialmente nella direzione radiale R. Come detto, una tale disposizione minimizza i rischi di adesione di particelle a pareti del micro-canale, e quindi massimizza la concentrazione di particelle nelle zone di accumulo.

Nei punti più bassi dei rami 13c e 13d sono previsti i due sifoni contrapposti 13e e 13f, rispettivamente, che realizzano rispettive zone di accumulo del micro-canale 13 considerato. I due sifoni 13e e 13f, ovvero le due zone 15, si trovano sostanzialmente alla medesima distanza radiale rispetto al centro di rotazione del dispositivo microfluidico e sono collegati tra loro mediante un tratto intermedio 13g del micro-canale, qui generalmente ricurvo (concavo) in direzione radiale.

La presenza delle due zone di accumulo 15 realizzate dai sifoni 13e e 13f

consente di disporre di due distinte zone di rilevazione, ad esempio per aumentare (raddoppiare) la base statistica a parità di numero di micro-canali 13 utilizzati.

In varie forme di attuazione ad almeno un micro-canale, o a ciascun micro-canale, possono essere associati almeno due elettrodi, particolarmente almeno in corrispondenza di una rispettiva zona di accumulo 15, o in una posizione del micro-canale che è compresa tra una sua estremità ed una sua zona di accumulo. Tali elettrodi possono essere elettrodi di rilevazione oppure elettrodi di manipolazione delle particelle.

Ad esempio, in varie forme di attuazione, almeno una coppia di elettrodi in corrispondenza di una zona di accumulo 15 possono essere impiegati per effettuare una lettura di quantità di particelle, tramite la rilevazione di un'impedenza elettrica. E' anche possibile effettuare letture differenziali, posizionando altre coppie di elettrodi in porzioni del micro-canale comprese tra una relativa estremità 13a, 13b ed una zona 15, onde consentire di distinguere il contributo all'impedenza elettrica dato dalle particelle rispetto al contributo dato dal fluido del campione. Nei casi in cui il campione fluido è un terreno di coltura o una soluzione fisiologica, la conducibilità elettrica è relativamente elevata a causa degli ioni disciolti nel fluido.

Coppie di elettrodi nella parte alta dei micro-canali (ovvero in posizione più prossima alle relative estremità che non ad una zona di accumulo) consentono anche di verificare se il micro-canale sia riempito correttamente con il fluido contenente le particelle da contare (tale verifica è relativamente agevole, considerato che il fluido ha in genere una conducibilità molto maggiore rispetto all'aria, che è isolante).

Le figure 23-25 illustrano in forma schematica un dispositivo quadrangolare 10 (o una porzione quadrangolare di un dispositivo 10 a disco o di differente forma) con micro-canali 13 provvisti di elettrodi 17 in corrispondenza di rispettive zone di accumulo.

Come si nota in figura 24, in varie forme di attuazione, il dispositivo 10, ovvero il substrato 11, può essere formato da più strati sovrapposti, Nell'esempio, è previsto uno strato inferiore 11₁, ad esempio formato con uno dei materiali elettricamente isolanti in precedenza indicati per il substrato, in cui è definita almeno una disposizione microfluidica 12, ovvero i corrispondenti micro-canali 13 con le relative camere 14a e/o

14b. E' poi previsto uno strato superiore 11₂, formato con materiale elettricamente isolante, preferibilmente trasparente, ad esempio un polimero, il quale è provvisto di finestre o aperture 18 in posizioni corrispondenti alle camere 14a e 14b dello strato 11₁, nonché di una serie di micro-aperture o micro-finestre 19 in corrispondenza delle zone di accumulo 15 dei vari micro-canali 13 dello strato 11₁. Sullo strato elettricamente isolante 11₂ sono disposte le coppie di elettrodi 17, qui in posizione intermedia alle due finestre 18, con tali elettrodi 17 che sono conformati in modo da avere rispettive estremità di rilevazione in corrispondenza delle zone di accumulo 15 dei micro-canali 13.

Il concetto è visibile ad esempio nella figura 25, dove con 19 sono indicate alcune delle suddette micro-aperture e con 17a sono indicate le estremità di rilevazione dei vari elettrodi 17. Come si nota, sostanzialmente in corrispondenza di ciascuna zona di accumulo, sullo strato 11₂ sono definite due micro-aperture 19 generalmente parallele, a ciascuna delle quali risulta sovrapposta l'estremità di rilevazione 17a di un corrispondente elettrodo 17: in tal modo, una parte di tali estremità di rilevazione 17a risulta affacciata verso l'interno del micro-canale 13, per la necessaria rilevazione di tipo elettrico (impedenza, o resistività, o conducibilità, eccetera).

Tornando alle figure 23-24, in varie forme di attuazione gli elettrodi 17 sono almeno in parte protetti superiormente da un relativo elemento di copertura 12a, anch'esso formato con materiale elettricamente isolante e preferibilmente trasparente. In varie forme di attuazione almeno una porzione degli elettrodi 17 risulta comunque esposta, come ad esempio visibile in figura 23, a fini di collegamento elettrico ad un sistema che gestisce l'impiego degli elettrodi 17. In varie forme di attuazione, tale collegamento elettrico è ottenuto tramite contatti striscianti previsti sul dispositivo di centrifugazione e/o rilevazione 1, configurati per contattare la suddetta parte esposta degli elettrodi 17. Nel caso in cui la misurazione avvenga in condizioni statiche, ad esempio all'inizio e alla fine della centrifugazione, i contatti possono essere ad esempio costituiti da contatti a molla o altri tipi di connessioni a contatto.

Preferibilmente anche gli elettrodi 17 sono realizzati almeno in parte con un materiale elettricamente conduttivo trasparente.

Atteso che il dispositivo 10 in accordo all'invenzione può essere impiegato per

accumulare cellule in una posizione precisa (ovvero in corrispondenza delle zone 15), elettrodi del tipo indicato possono anche essere impiegati anche per effettuare manipolazioni sulle cellule stesse, ad esempio elettroporazione, oppure per mantenerle in posizione, ad esempio mediante dielettroforesi.

Come in precedenza accennato, in varie forme di attuazione la rilevazione delle particelle che si accumulano in una zona 15 di un micro-canale 13 è effettuata in modo ottico.

A tale scopo, in varie forme di attuazione, lo stesso dispositivo di centrifugazione 1 può integrare mezzi sensori ottici di rilevazione. I mezzi sensori possono includere un singolo sensore, che si muove tra vari punti da rilevare, oppure una schiera di sensori (ad esempio come in uno scanner ottico). In generale, quindi, un medesimo dispositivo 1 può integrare funzioni di centrifugazione e funzioni di rilevazione o lettura, particolarmente sfruttando la rotazione del dispositivo 10 sia per tale centrifugazione sia per tale lettura mediante i mezzi sensori.

Ad esempio, la figura 26 esemplifica un dispositivo di centrifugazione 1 avente un gruppo di rilevazione o lettura 20 – qui associato al coperchio 4 – che include un singolo sensore ottico 21 (che peraltro può essere esso stesso costituito da una matrice di sensori ottici). Il sensore 21 è montato mobile, ad esempio tramite un proprio attuatore non indicato, su di una relativa guida 21a che può essere di materiale trasparente, o che è comunque conformata in modo da non costituire intralcio all'acquisizione di immagini. Nel caso esemplificato, il gruppo di ripresa rappresentato dal sensore 21 risulta spostabile nella direzione radiale relativamente al dispositivo 10, in modo da effettuare le necessarie rilevazioni ottiche su più disposizioni microfluidiche 12 allineate sul dispositivo 10 in tale direzione radiale. Naturalmente, atteso che il dispositivo 10 è suscettibile di essere posto in rotazione dal dispositivo 1, tramite il sensore 21 risulta possibile effettuare rilevazioni ottiche anche su più disposizioni microfluidiche 12 disposte affiancate, ovvero disposte sul dispositivo 10 secondo una circonferenza.

Il sistema di controllo del dispositivo 1 può essere predisposto per controllare la posizione in direzione radiale del sensore 21 in funzione delle rilevazioni ottiche da effettuare di volta in volta. Tale sistema di controllo può essere anche predisposto in

modo da eseguire le rilevazioni ottiche dopo la fine della fase di centrifugazione, azionando e fermando di volta in volta il dispositivo 10 nelle varie posizioni angolari di lettura, oppure in modo che le rilevazioni ottiche vengano effettuate con il dispositivo 10 in movimento, preferibilmente a bassa velocità, quale una velocità in fase di rilevazione o lettura minore della velocità di centrifugazione, ovverosia sincronizzando una rotazione con la lettura.

In varie forme di attuazione dell'invenzione, i mezzi sensori ottici 21 di un dispositivo di centrifugazione e/o rilevazione del tipo indicato sono configurati per acquisire un segnale ottico cumulativo o un'immagine cumulativa di una pluralità di regioni di accumulo del dispositivo micro-fluidico, ovvero un segnale o immagine relativo a tutte le zone di accumulo 15 dei micro-canali 13 di una corrispondente disposizione microfluidica 12. Il dispositivo di centrifugazione e/o rilevazione è poi predisposto, ad esempio tramite idoneo software, per elaborare, sulla base del suddetto segnale ottico o immagine, informazione rappresentativa di una quantità di particelle accumulate in ciascuna delle singole zone di accumulo 15 dei vari micro-canali di una stessa disposizione microfluidica, particolarmente con un'elaborazione che consente di stimare il numero di particelle per ciascun singolo micro-canale 13.

In altre forme di attuazione, ad esempio quando il sensore ottico 21 include una schiera di sensori, ad esempio come in uno scanner ottico, il sensore stesso può essere configurato per acquisire un segnale ottico individuale o un'immagine individuale della zona di accumulo 15 di ogni singolo micro-canale 13 di una corrispondente disposizione microfluidica 12. Anche in tal caso il dispositivo di centrifugazione e/o rilevazione è predisposto per elaborare, sulla base del suddetto segnale ottico o immagine, informazione rappresentativa di una quantità di particelle accumulate in ciascuna delle singole regioni di accumulo 15 dei vari micro-canali della disposizione microfluidica.

Naturalmente un dispositivo 1 può anche essere realizzato onde poter impiegare entrambe le due tecniche di rilevazione ottica citate (collettiva e individuale).

La figura 27 illustra il caso di un dispositivo 1 il cui gruppo di rilevazione o lettura 20 include due sensori ottici stazionari 21, ad esempio ciascuno formato da una schiera o matrice di sensori ottici, i quali sono disposti in modo tale per cui, nel corso di

un movimento di rotazione del dispositivo 10, almeno le zone di accumulo 15 delle relative disposizione micro-fluidiche 12 si trovino ciclicamente al di sotto dei sensori stessi, per le necessarie rilevazioni ottiche. Essendo il substrato del dispositivo 10 formato preferibilmente di materiale trasparente, saranno possibili configurazioni ottiche che operano sia in trasmissione sia in riflessione, o che misurano lo scattering delle particelle in direzioni diverse.

Come già accennato, un dispositivo microfluidico 10 in accordo all'invenzione può essere impiegato ai fini di semplice conteggio e/o rilevazione della tipologia delle particelle contenute nel campione di fluido, o anche per più complesse funzioni di analisi, ad esempio per l'esecuzione di antibiogrammi (nel qual caso i micro-canali potrebbero anche essere pretrattati, ad esempio immettendo nei medesimi degli antibiotici).

I supporti o dispositivi microfluidici ed i dispositivi di centrifugazione e/o rilevazione in accordo all'invenzione sono utilizzabili con vantaggio ai fini della valutazione delle capacità proliferative di batteri e microbi e, in subordine, ai fini di determinarne un profilo di suscettibilità agli antibiotici (antibiogramma) in tempi rapidi e con volumi ridotti del fluido campione.

Le metodologie note a tale scopo si basano sulla valutazione della capacità di un microbo o di un batterio di formare colonie in un terreno adatto alla sua crescita, o sull'intorbidamento di un brodo di coltura a seguito della proliferazione del microbo. La valutazione della capacità di un antibiotico di inibire la proliferazione di un microbo o di un batterio viene valutata classicamente con il conteggio delle relative colonie o sul livello di torbidità del relativo brodo di coltura, che variano in funzione della suscettibilità del microbo o batterio all'antibiotico.

La suscettibilità è legata alla capacità che l'antibiotico ha di inibire la proliferazione efficiente di un ceppo batterico, ed è evidente che i tempi legati a questo tipo di analisi tempi dipendono dalla velocità alla quale il microbo o batterio prolifera. L'approccio seguito secondo la tecnica nota si basa essenzialmente sul fatto che uno strato "bidimensionale" di batteri o microbi (una colonia) può crescere fino ad essere visibile ad occhio nudo, o che la loro proliferazione in un liquido può essere tale da modificare, in maniera statisticamente significativa, la torbidità del liquido stesso, tale

torbidità essendo misurabile mediante fotometria nel range della torbidità (lettura effettuata tipicamente a lunghezza d'onda compresa tra 500 e 600 nm).

Le tecniche qui proposte, che sfruttano i dispositivi microfluidici in precedenza descritti, si basano al contrario su alcuni parametri che non considerano né la crescita bidimensionale dello strato di batteri o microbi, né quella in liquido, letta come aumento della torbidità.

Più in particolare, le metodologie qui proposte prevedono di:

i) realizzare una coltura a breve termine del materiale biologico (per esempio, urine direttamente raccolte dal paziente), con o senza l'aggiunta di fattori di crescita (per esempio brodo di coltura batterica, quale BH);

ii) immettere la suddetta coltura nei micro-canali 13, seminati con la stessa concentrazione di materiale biologico e/o terreno di coltura (a tale scopo può risultare particolarmente vantaggiosa la previsione, nei micro-canali 13, di pozzetti del tipo di quelli indicati con 16 in figura 16);

iii) misurare la proliferazione dei batteri nei micro-canali 13;

iv) identificare uno o più micro-canali 13 “negativi”, in cui sarà aggiunto solo il terreno di coltura (per esempio, al 50% con tampone PBS o soluzione fisiologica);

v) identificare uno o più micro-canali 13 “positivi”, in grado di verificare le capacità proliferative del ceppo batterico o microbico presente nel sistema di micro-canali 13;

vi) identificare una serie di micro-canali 13, contenenti l'antibiotico, in maniera da verificare la resistenza o la suscettibilità agli antibiotici del ceppo batterico o microbico presente nel materiale biologico seminato.

La misura della suscettibilità agli antibiotici potrà essere effettuata con differenti strategie, partendo dalla sedimentazione dei batteri o microbi dopo la proliferazione nelle zone di accumulo 15 dei micro-canali 13, ottenibile come detto tramite centrifugazione di un dispositivo 10. Questo approccio consente vantaggiosamente di effettuare le necessarie comparazioni tra:

- le quantità di batteri o microbi presenti nel materiale di partenza,
- le quantità di batteri o microbi presenti alla fine dell'incubazione, e
- le quantità di batteri o microbi presenti nei micro-canali 13 trattati con

antibiotici; l'utilizzo di opportuni fluorocromi può consentire l'individuazione selettiva di batteri vivi e batteri morti.

Per analisi di questo tipo possono risultare particolarmente vantaggiosi dispositivi 10 provvisti di disposizioni microfluidiche comprensive di più serie di micro-canali 13, come ad esempio i dispositivi delle figure 12-15. Queste tecniche in microfluidica hanno una sensibilità superiore ad altre tecniche (per esempio torbidità), visto che la centrifugazione "concentra" i micro-organismi in un piccolo spazio e li rende quindi visibili sia in campo chiaro con luce visibile, sia in trasmissione sia in riflessione, oppure in fluorescenza su cellule marcate. Con la tecnica di concentrazione proposta ed una opportuna analisi dell'immagine, sia mediante array lineari di sensori che mediante matrici di sensori rettangolari (ad esempio camere CCD o CMOS o qualsivoglia altra tecnica utilizzata per acquisire immagini) una modificazione del +/- 20% del numero delle cellule è sicuramente misurata con accuratezza. Variazioni di questa entità, rilevabili con la metodologia proposta ed invece non rilevabili mediante tecniche di torbidità classiche, possono essere determinate da brevi tempi di coltura, ad esempio compresi tra 20 e 40 minuti. La quantificazione o stima può avvenire, come detto, tramite rilevazioni ottiche almeno in corrispondenza delle zone di accumulo 15 dei vari micro-canali 13 di interesse.

In aggiunta o in alternativa, il conteggio dei corpi batterici può essere effettuato con elettrodi posti nelle zone di accumulo 15, onde rilevare la modificazione dell'impedenza di un campo elettrico che contiene una popolazione "proliferante" di batteri o microbi: tale modificazione può essere impiegata come segnale della suscettibilità (o della resistenza) del ceppo batterico in esame. Anche in questo caso, i tempi di rilevamento possono essere estremamente brevi.

Le metodologie sopra descritte possono essere proficuamente utilizzate in situazioni estremamente differenti da un punto di vista clinico.

Ad esempio, è possibile procedere alla misura del numero "assoluto" di batteri o microbi in un campione di materiale biologico relativamente comune (per esempio, urine per urinocoltura). Se, ad esempio un conteggio > 100.000 batteri/mL è indicativo di infezione delle vie urinarie, la semplice documentazione "numerica" della carica batterica indica la situazione patologica con grande accuratezza.

Anche in assenza dell'identificazione del microbo o batterio (che comunque potrà essere effettuata con tecniche standard, se necessario) il profilo di suscettibilità/resistenza ad un pannello di antibiotici potrà essere facilmente valutato, offrendo al paziente l'opportunità di un trattamento "non empirico", ma basato sullo studio della suscettibilità antibiotica reale. In questo caso, è importante ricordare che la maggior parte delle urinocolture positive sono caratterizzate da un singolo microbo isolato, mentre un polimicrobismo è più frequente in pazienti ospedalizzati o, per cause pre-analitiche, in pazienti complessi per motivi legati alla tecnica di prelievo.

In una situazione più complessa (per esempio in pazienti ospedalizzati), l'identificazione del batterio comporta un miglioramento delle strategie di trattamento non solo del paziente, ma anche delle infezioni nosocomiali che ad esso possono essere associate. Peraltro, come già detto, per materiali meno "nobili", come le urine, l'identificazione del patogeno può seguire vie differenti, mentre il profilo di suscettibilità agli antibiotici in tempi non rapidissimi potrebbe comportare un ritardo nell'instaurare una terapia antibiotica salvavita. Per questo motivo, il dispositivo 10 (particolarmente con micro-pozzetti del tipo di quelli indicati con 16 in figura 16) potrebbe essere caricato con una singola colonia (per esempio, isolata da un'emocoltura) di cui non si conosce ancora l'identificazione, ma per la quale diventa necessario un approccio terapeutico immediato. In questo secondo caso, potranno essere seminati batteri isolati da materiali complessi e l'antibiogramma potrebbe essere disponibile entro poche decine di minuti.

Dalla descrizione effettuata risultano chiare le caratteristiche della presente invenzione, così come chiari risultano i suoi vantaggi.

I dispositivi e le metodologie proposte consentono di operare con volumi di campione di partenza relativamente piccoli, ad esempio compresi tra 0,05 e 1 ml. Ad esempio in pediatria, in ricerca su piccoli animali ed in qualsiasi caso sia utile ridurre la quantità di materiale (biologico e reagenti), anche per motivi economici, risulta vantaggioso poter utilizzare volumi relativamente piccoli. La misura di una componente corpuscolata termina quando sono contate un numero di particelle tali da rendere il problema della riproducibilità virtualmente assente: in genere si contano 16000 particelle per avere una stima accurata di sottopopolazioni che sono rappresentate da 1 a

5% del totale. Quindi, se si suppone ad esempio di partire da una concentrazione di centomila particelle per ml, in accordo all'invenzione sarà sufficiente un quantitativo di campione di partenza compreso tra 0,2 e 0,4 ml, mentre per concentrazioni superiori, ad esempio di 1 milione di particelle per ml, si potrà scendere a quantitativi di campione compresi ad esempio tra 0,02 e 0,06 ml.

I dispositivi in accordo all'invenzione risultano particolarmente vantaggiosi per l'effettuazione di antibiogrammi.

In termini generali, a tale scopo, una coltura di batteri può essere inoculata nei micro-canali 13 di almeno una disposizione 12 di un dispositivo 10. Il dispositivo 10 viene poi sottoposto a centrifugazione (ad esempio mediante uno dei dispositivi 1 descritti) ed in seguito viene quantificato o stimato il numero di batteri accumulati nelle zone 15 dei micro-canali 13. In applicazioni di questo tipo il dispositivo microfluidico 10 può essere utilizzato esclusivamente per la quantificazione dei microorganismi, ad esempio dei batteri, in quanto la proliferazione in condizioni diverse da confrontare può avvenire in precedenza, utilizzando attrezzature e dispositivi di laboratorio ordinari.

In altre applicazioni un antibiogramma può essere effettuato a partire da una coltura bidimensionale dei batteri su supporto solido. In tal caso, la metodologia può prevedere questi passi:

- i) prelievo di una colonia di batteri da una piastra di coltura solida;
- ii) inoculo della colonia o di una sua parte in un mezzo liquido, ad esempio un brodo di coltura, preferibilmente formando una dispersione omogenea;
- iii) caricamento del mezzo liquido contenente i batteri nei micro-canali 13 di almeno una disposizione 12 di un dispositivo 10, con almeno alcuni di tali micro-canali che sono stati in precedenza provvisti di antibiotici, preferibilmente antibiotici liofilizzati di tipi diversi e/o in concentrazioni diverse, ed altri micro-canali che non sono stati provvisti di antibiotico;
- iv) incubazione per un periodo di tempo variabile da 10 minuti a 6 ore, preferibilmente compreso tra 1 e 2 ore;
- v) centrifugazione del dispositivo 10, e
- vi) quantificazione dei batteri accumulati nelle zone 15 dei micro-canali 13, particolarmente una quantificazione relativa tra i micro-canali 13 pretrattati con

antibiotico e quelli non pre-trattati, onde ricavare un profilo di suscettibilità dei batteri in questione all'antibiotico o agli antibiotici usati.

In altre applicazioni ancora, i dispositivi in accordo all'invenzione sono utilizzabili con vantaggio per l'effettuazione di un antibiogramma a partire da un campione primario, ovvero sia un campione prelevato direttamente da un soggetto o organismo ospite (umano o animale). In tal caso, la metodologia può prevedere questi passi:

i) ottenimento di un concentrato o una massa (o pellet) di batteri dal campione primario, ad esempio urine; a tale scopo, ad esempio, il campione primario può essere sottoposto a centrifugazione, utilizzando attrezzature e dispositivi di laboratorio ordinari, onde separare la suddetta massa di batteri dal surnatante; la centrifugazione avviene preferibilmente in due fasi, una prima fase a bassa velocità per eliminare le cellule ed una seconda fase ad alta velocità per concentrare i batteri; alternativamente, la prima fase di centrifugazione può essere sostituita con una filtrazione per eliminare le cellule;

ii) inoculo della massa di batteri ottenuta o di una sua parte in un mezzo liquido, ad esempio un brodo di coltura, preferibilmente formando una dispersione omogenea;

iii) caricamento del mezzo liquido contenente i batteri nei micro-canali 13 di almeno una disposizione 12 di un dispositivo 10, con almeno alcuni di tali micro-canali che sono stati in precedenza provvisti di antibiotici, preferibilmente antibiotici liofilizzati di tipi diversi e/o in concentrazioni diverse, ed altri micro-canali che non sono stati provvisti di antibiotico;

iv) incubazione per un periodo di tempo variabile da 10 minuti a 6 ore, preferibilmente compreso tra 1 e 2 ore;

v) centrifugazione del dispositivo 10, e

vi) quantificazione dei batteri accumulati nelle zone 15 dei micro-canali 13, particolarmente una quantificazione relativa tra i micro-canali 13 pretrattati con antibiotico e quelli non pre-trattati, onde ricavare un profilo di suscettibilità dei batteri in questione all'antibiotico o agli antibiotici usati.

E' chiaro che numerose varianti sono possibili per la persona esperta del ramo ai supporti, ai dispositivi ed ai metodi descritti come esempio, senza per questo uscire

dall'ambito dell'invenzione. Appare altresì evidente alla persona esperta del ramo che singole caratteristiche descritte in relazione ad una forma di attuazione sono utilizzabili in altre forme di attuazione qui descritte, anche differenti dagli esempi precedenti.

L'applicazione dell'invenzione non è limitata al settore medicale o veterinario, essendo i supporti e dispositivi descritti utilizzabili per la concentrazione e/o la quantificazione di particelle presenti in fluidi di qualsiasi tipo, ad esempio anche nei campi dell'industria o dell'agricoltura.

RIVENDICAZIONI

1. Un dispositivo microfluidico per concentrare particelle contenute in un campione di fluido (FS), comprendente un substrato (11) configurato per essere posto in rotazione rispetto ad un centro di rotazione (5a), il substrato (11) avendo una superficie (11b) in corrispondenza della quale è definita almeno una disposizione microfluidica (12) che si estende sostanzialmente secondo un piano identificato dal substrato (11), in cui l' almeno una disposizione microfluidica (12) comprende almeno un micro-canale (13) avente una prima estremità (13a) ed una seconda estremità (13b), in cui:

- l' almeno un micro-canale (13) comprende, in una sua regione intermedia alle sue prima estremità (13a) e seconda estremità (13a), almeno una zona di accumulo (15) che si trova ad una prima distanza (R1) in direzione radiale (R) rispetto al centro di rotazione (5a) del substrato (11),

- la prima estremità (13a) e la seconda estremità (13b) dell' almeno un micro-canale (13) si trovano a seconde distanze (R2) in direzione radiale (R) rispetto al centro di rotazione (5a) del substrato (11), dette seconde distanze (R2) essendo preferibilmente uguali tra loro, e

- la prima distanza (R1) in direzione radiale (R) è maggiore rispetto alle seconde distanze (R2) in direzione radiale (R),

in modo tale per cui particelle (P) eventualmente contenute in un volume di fluido del campione di fluido (FS) che penetra all' interno dell' almeno un micro-canale (13) tendano a concentrarsi nell' almeno una zona di accumulo (15) per effetto della forza centrifuga determinata da una rotazione del substrato (11) attorno al centro di rotazione (5a).

2. Il dispositivo microfluidico secondo la rivendicazione 1, in cui l' almeno un micro-canale (13) comprende una pluralità di micro-canali (13), ciascun micro-canale (13) della pluralità avendo almeno una detta zona di accumulo (15) ad una rispettiva detta prima distanza (R1) ed avendo la prima estremità (13a) e la seconda estremità (13b) a rispettive dette seconde distanze (R2), i micro-canali (13) della pluralità essendo preferibilmente disposti sostanzialmente affiancati tra loro nella direzione radiale (R).

3. Il dispositivo microfluidico secondo la rivendicazione 1 o la rivendicazione 2, in cui

- l'almeno una disposizione microfluidica (12) comprende almeno un condotto o camera (14a, 14b) predisposta per ricevere il campione di fluido (FS), e

- l'almeno un micro-canale (13), o ciascun micro-canale (13), ha una tra le rispettive prima estremità (13a) e seconda estremità (13b) collegata in comunicazione di fluido con l'almeno un condotto o camera (14a, 14b),

l'almeno una disposizione microfluidica (12) comprendendo preferibilmente un primo condotto o camera (14a) ed un secondo condotto o camera (14b) alle quali sono collegate la prima estremità (13a) e la seconda estremità (13b) dell'almeno un micro-canale (13), o di ciascun micro-canale (13), rispettivamente.

4. Il dispositivo microfluidico secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-3, in cui in detta almeno una zona di accumulo (15), l'almeno un micro-canale (13), o ciascun micro-canale (13), ha forma a sostanzialmente a V o a U, ovvero comprende due rami di micro-canale (13c, 13d) sostanzialmente convergenti tra loro, eventualmente raccordati da una porzione curva di micro-canale.

5. Il dispositivo microfluidico secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-4, in cui l'almeno un micro-canale (13), o ciascun micro-canale (13), è conformato in corrispondenza della rispettiva almeno una zona di accumulo (15) per definire almeno uno tra:

- almeno un sifone (13f, 13g),
- almeno un pozzetto (16).

6. Il dispositivo microfluidico secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-5, in cui l'almeno un micro-canale (13), o ciascun micro-canale (13), comprende almeno un ramo di micro-canale (13c, 13d) che si estende in direzione sostanzialmente radiale (R) e che adduce ad una rispettiva detta zona di accumulo (15).

7. Il dispositivo microfluidico secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-6, in cui l'almeno un micro-canale (13), o ciascun micro-canale (13), ha associati almeno due elettrodi (17), particolarmente almeno due elettrodi di rilevazione oppure almeno due elettrodi di manipolazione, gli almeno due elettrodi (17) essendo preferibilmente in corrispondenza di una detta zona di accumulo (15) e/o in una posizione che è compresa tra una detta zona di accumulo (15) ed una tra la prima estremità (13a) e la seconda estremità (13b) del corrispondente micro-canale (13).

8. Il dispositivo microfluidico secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-7, in cui l' almeno un micro-canale (13), o ciascun micro-canale (13):

- ha una larghezza compresa tra 5 e 200 micron, preferibilmente compresa tra 15 e 50 micron, e/o

- ha una profondità o altezza compresa tra 2 e 100 micron, preferibilmente compresa tra 5 e 40 micron, e/o

- ha una lunghezza compresa tra 5 e 50 millimetri, e/o

- ha sezione di passaggio sostanzialmente costante.

9. Il dispositivo microfluidico secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-8, in cui:

- l' almeno un micro-canale (13), o ciascun micro-canale (13), ha almeno una porzione di superficie definita da almeno uno tra un materiale idrofilico ed un materiale idrofobico, il materiale idrofilico e/o il materiale idrofobico preferibilmente appartenendo ad almeno uno tra il substrato (11) ed un elemento di copertura (12a) del dispositivo (10) che si estende almeno parzialmente sopra il micro-canale (13) o ciascun micro-canale (13), e/o

- il dispositivo (10) è formato almeno in parte con materiale trasparente, il materiale trasparente appartenendo ad uno tra il substrato (11) ed un elemento di copertura (12a) che si estende almeno parzialmente sopra il micro-canale (13) o ciascun micro-canale (13).

10. Il dispositivo microfluidico secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-9, in cui il substrato (11):

- è configurato per il montaggio su di un organo rotante (5a) di un dispositivo di centrifugazione (1), particolarmente per il tramite di un adattatore, e/o

- ha forma sostanzialmente a disco.

11. Il dispositivo microfluidico secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-10, in cui in detta superficie (11b) del substrato (11) sono definite una pluralità di dette disposizioni microfluidiche (12) disposte sostanzialmente allineate tra loro in direzione radiale e/o disposte sostanzialmente secondo una circonferenza.

12. Un dispositivo microfluidico per concentrare particelle contenute in un campione di fluido (FS), comprendente un supporto o substrato (10, 11) configurato per

essere posto in rotazione rispetto ad un centro di rotazione (5a), il supporto o substrato (10, 11) avendo una superficie (11b) provvista di almeno una disposizione microfluidica (12) che si estende sostanzialmente secondo un piano identificato dal supporto o substrato (10, 11), in cui l' almeno una disposizione microfluidica (12) comprende almeno un micro-canale (13) avente una prima estremità (13a), una seconda estremità (13b) ed una zona intermedia di accumulo (15), in cui la zona intermedia di accumulo (15) si trova ad una prima distanza (R1), in una direzione radiale (R) rispetto al centro di rotazione (5a), che è maggiore rispetto ad una seconda distanza (R2), in una direzione radiale (R) rispetto al centro di rotazione (5a), della prima estremità (13a) e/o della seconda estremità (13b).

13. Un dispositivo di centrifugazione, comprendente un organo rotante (5a) configurato per porre in rotazione un dispositivo microfluidico (10) secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-12.

14. Un dispositivo di rilevazione, comprendente un organo rotante (5a) configurato per sottoporre ad un movimento angolare un dispositivo micro-fluidico (10), particolarmente un dispositivo micro-fluidico (10) secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-12, e mezzi sensori ottici (21) configurati per effettuare rilevazioni ottiche sul dispositivo micro-fluidico (10) e/o per rilevare particelle (P) accumulate in almeno una zona di accumulo (15) del dispositivo micro-fluidico (10),

in cui i mezzi sensori ottici (21) sono configurati per acquisire un segnale ottico o un'immagine di una o più zone di accumulo (15) del dispositivo micro-fluidico (10),

dove preferibilmente:

- il dispositivo di rilevazione (1) è predisposto per elaborare, sulla base di un segnale ottico o immagine acquisita tramite i mezzi sensori ottici (21), informazione rappresentativa di una quantità di particelle accumulate in una zona accumulo (15) o in più zone di accumulo (15), e/o

- i mezzi sensori ottici (21) sono montati in posizione fissa oppure in modo spostabile su di una struttura del dispositivo di rilevazione (1).

15. Un metodo per la rilevazione di particelle (P) eventualmente presenti in un campione di fluido (FS), comprendente i passi di:

- provvedere un dispositivo microfluidico (10) secondo una qualsiasi delle

rivendicazioni 1-12;

- immettere un volume del campione di fluido (FS) in un micro-canale (13), o in ciascun micro-canale (13), di almeno una disposizione microfluidica (12) del dispositivo microfluidico (10);

- causare una rotazione del dispositivo microfluidico (10) rispetto ad un relativo centro di rotazione (5a) ad una velocità di centrifugazione, particolarmente tramite un dispositivo di centrifugazione secondo la rivendicazione 13 o un dispositivo di rilevazione secondo la rivendicazione 14, e

- rilevare le particelle (P) eventualmente accumulate in una zona di accumulo (15) del micro-canale (13), o di ciascun micro-canale (13), particolarmente in modo ottico e/o elettrico.

16. Un metodo per l'esecuzione di un antibiogramma, comprendente:

- provvedere un dispositivo microfluidico (10) secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-12;

- provvedere un mezzo liquido contenente microrganismi o microbi o batteri di almeno un ceppo batterico;

- immettere un volume del mezzo liquido in una pluralità di primi micro-canali (13) di almeno una prima disposizione microfluidica (12) del dispositivo microfluidico (10),

- causare un movimento angolare del dispositivo microfluidico (10) rispetto ad un relativo centro di rotazione (5a) ad una velocità di centrifugazione, particolarmente tramite un dispositivo di centrifugazione secondo la rivendicazione 13 o un dispositivo di rilevazione secondo la rivendicazione 14, e

- quantificare il numero di microrganismi o microbi o batteri accumulati nelle zone di accumulo (15) di ciascun micro-canale (13).

17. Il metodo secondo la rivendicazione 16, comprendente:

- i) pretrattare detti primi micro-canali (13) con almeno un primo antibiotico, preferibilmente con antibiotici liofilizzati di tipi diversi e/o in concentrazioni diverse;

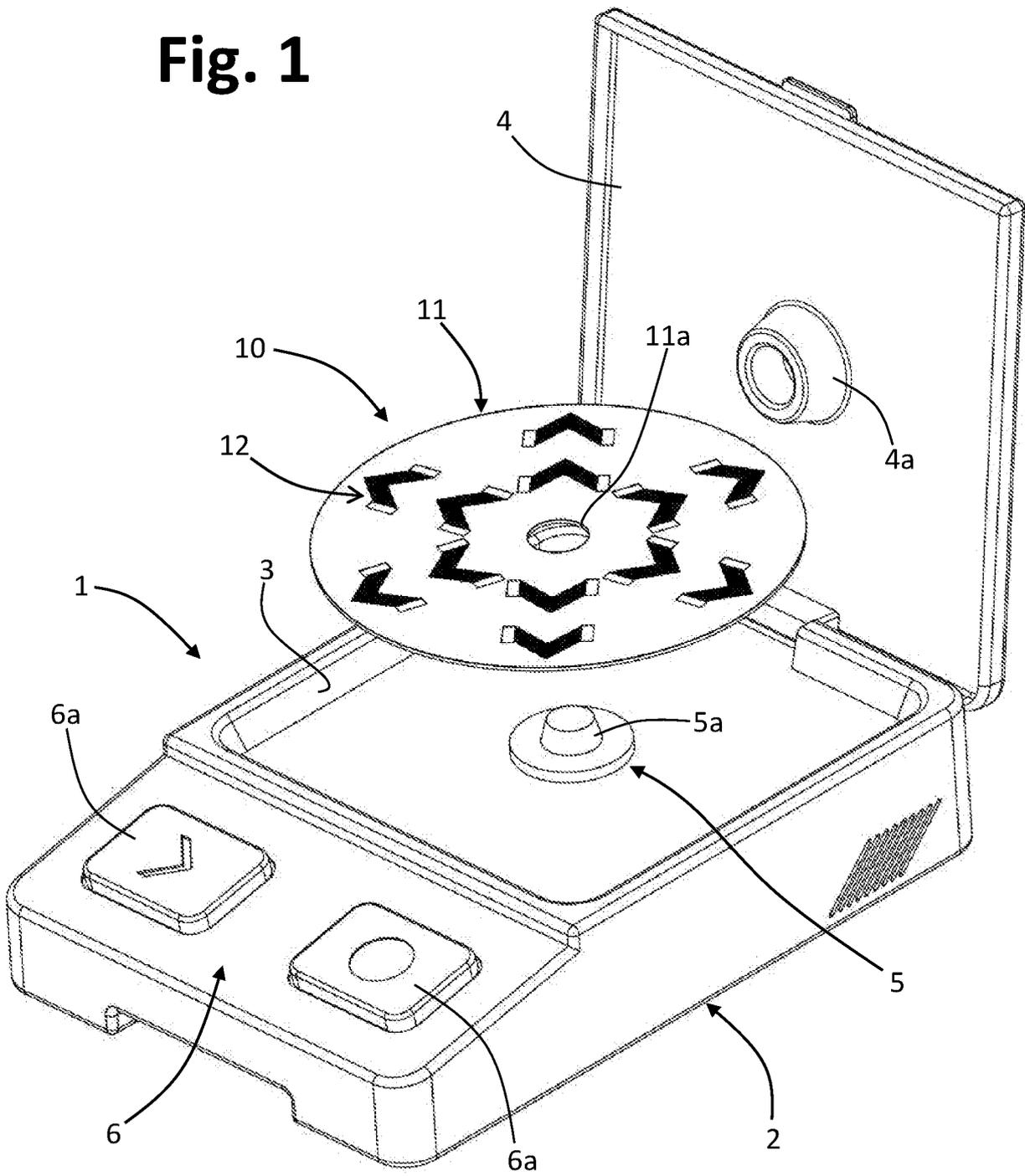
- ii) ottenere una massa di microrganismi o microbi o batteri;

- iii) inoculare almeno una parte di detta massa nel mezzo liquido, preferibilmente formando una dispersione omogenea;

- iv) immettere un volume del mezzo liquido in detti primi micro-canali (13);
- iv) attendere un periodo di tempo compreso da 10 minuti e 6 ore, preferibilmente compreso tra 1 e 2 ore;
- v) sottoporre a centrifugazione il dispositivo microfluidico (10); e
- vi) quantificare il numero di microrganismi o microbi o batteri accumulati nelle zone di accumulo (15) di detti primi micro-canali (13), particolarmente effettuando una quantificazione relativa tra detti primi micro-canali (13) e secondi micro-canali (13) del dispositivo microfluidico (10) che non sono stati pretrattati con l' almeno un primo antibiotico, onde ricavare un profilo di suscettibilità di detti microrganismi o microbi o batteri all' almeno un primo antibiotico.

18. Il metodo secondo la rivendicazione 17, in cui detta massa di cui al passo ii) è prelevata da una piastra di coltura oppure è ottenuta da un campione prelevato da un organismo ospite, particolarmente ottenuta tramite centrifugazione o tramite filtraggio e centrifugazione del campione.

Fig. 1



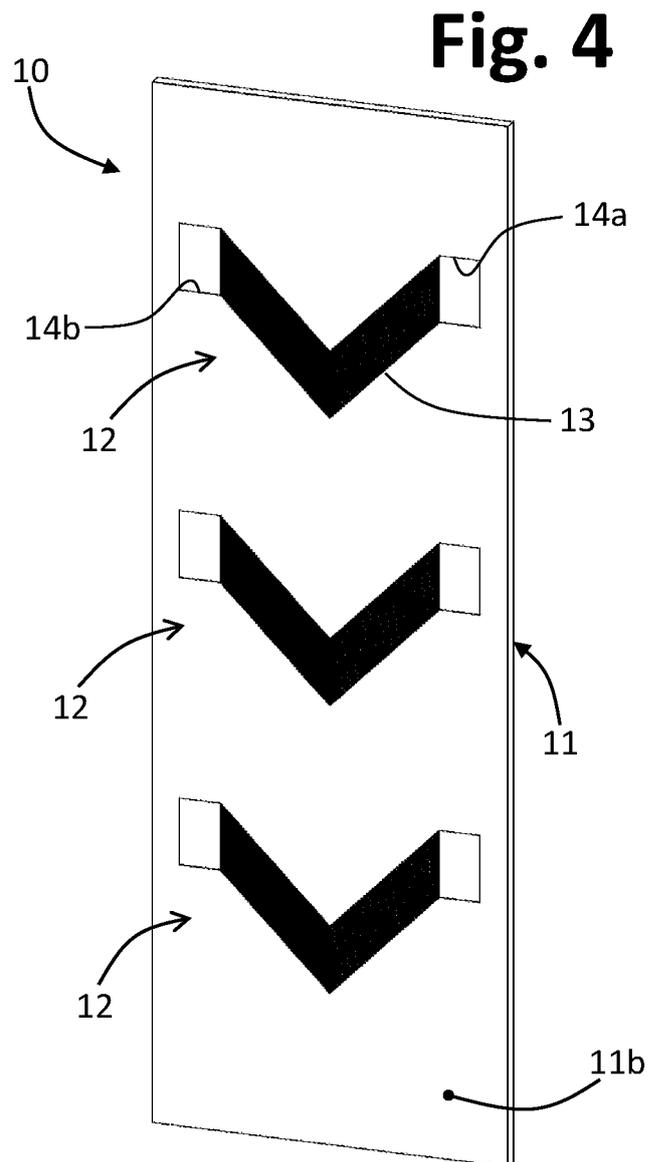
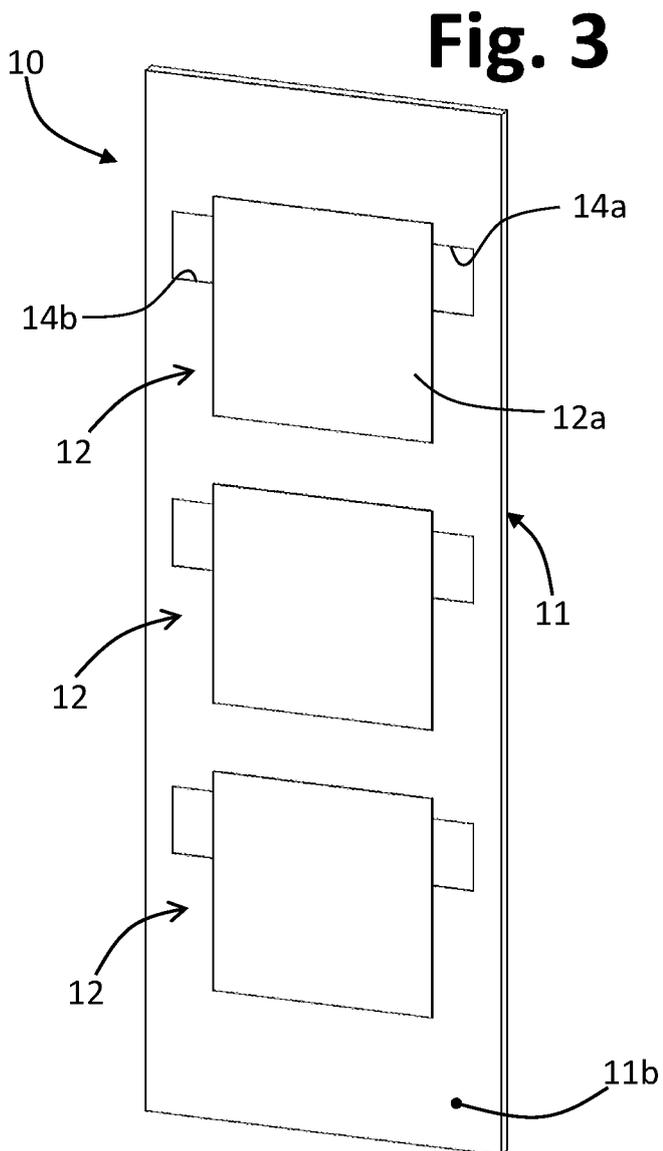
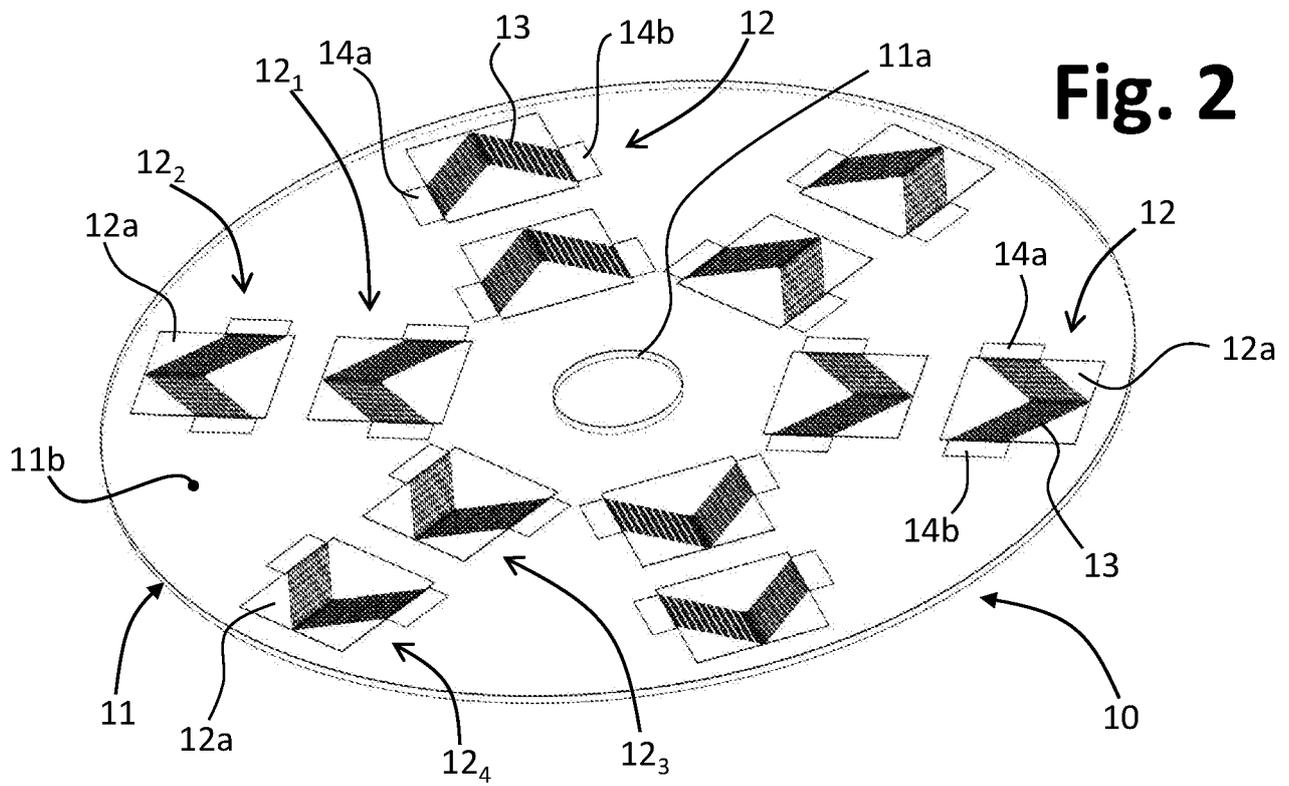


Fig. 5

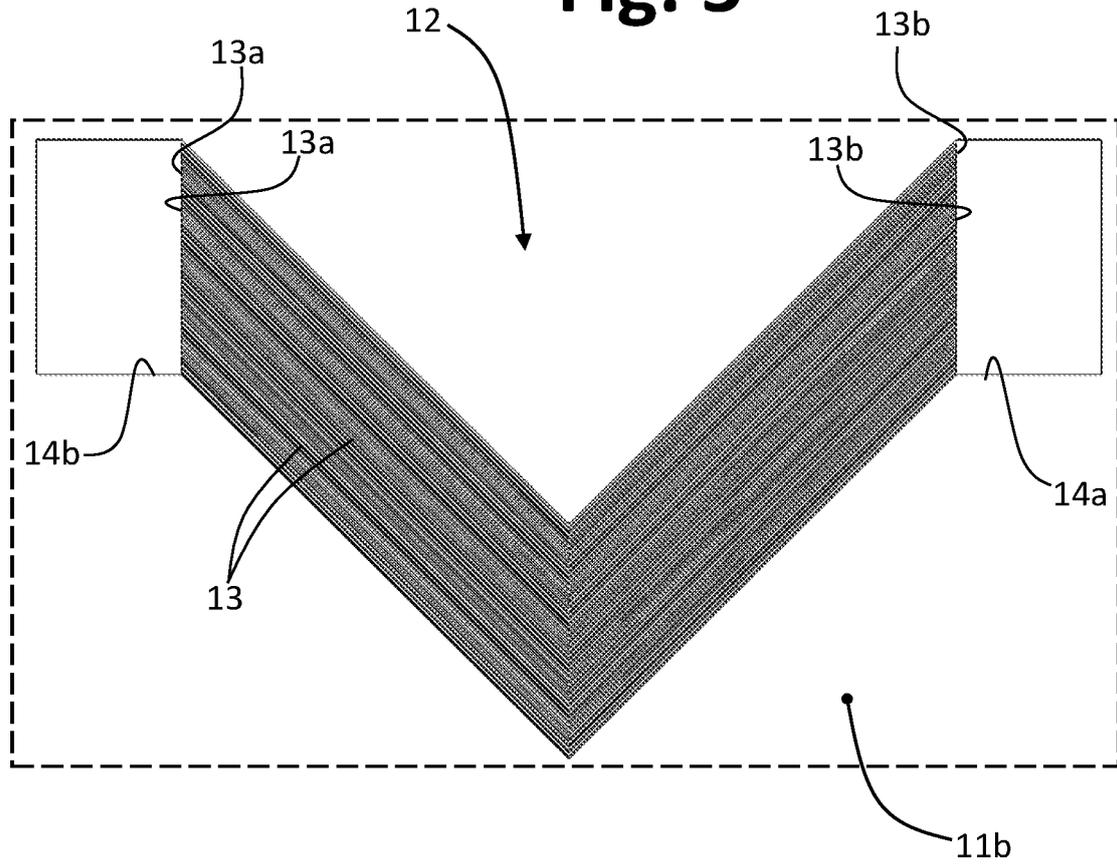
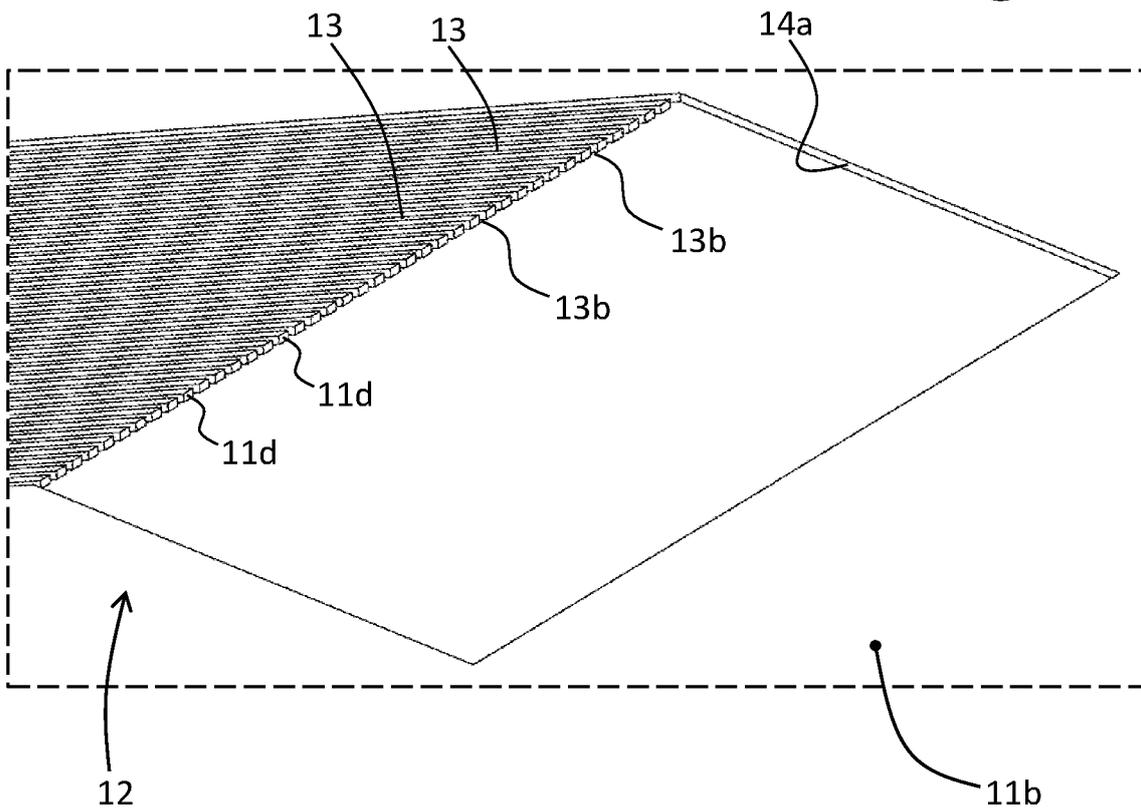


Fig. 6



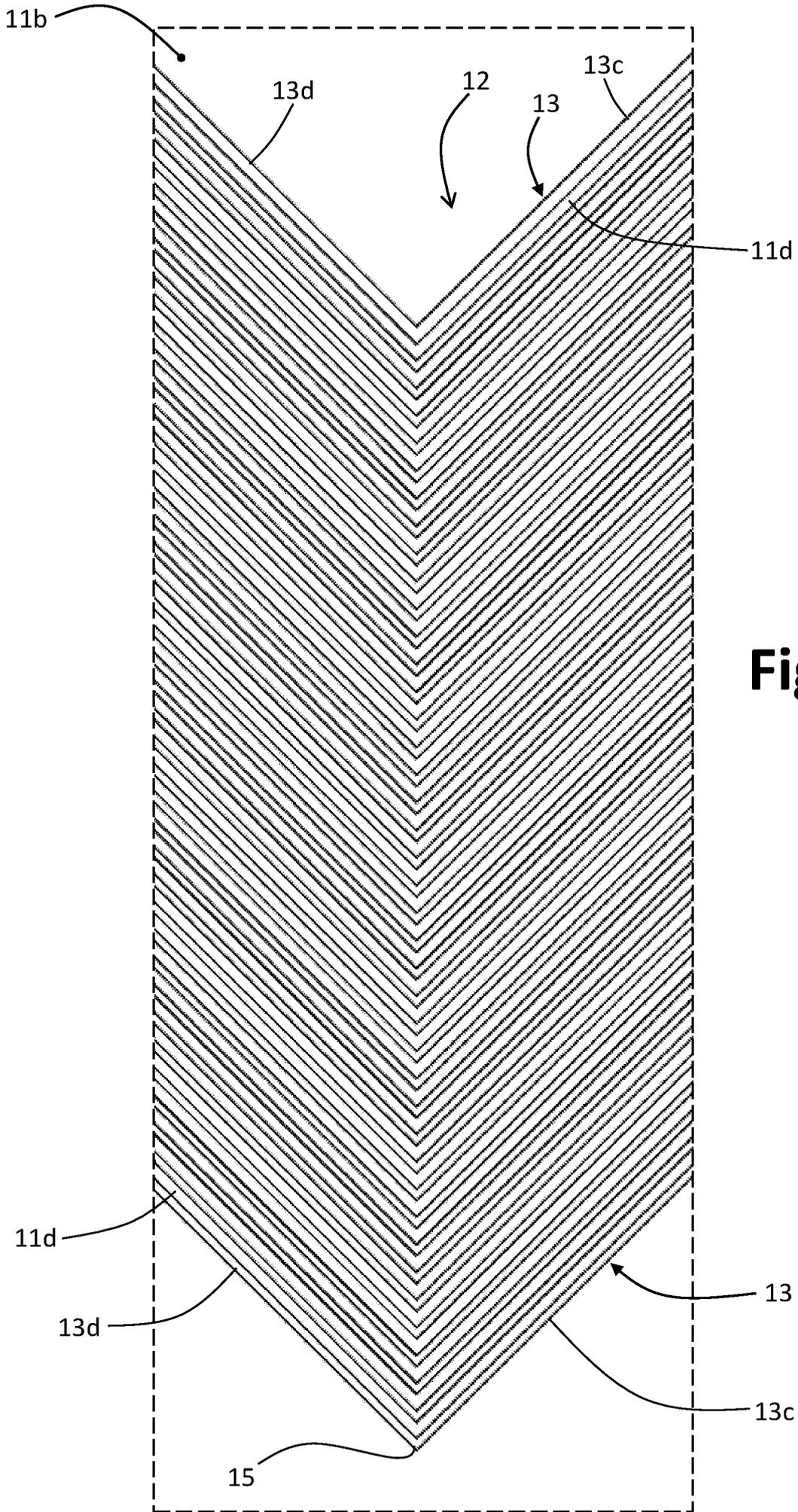


Fig. 7

Fig. 8

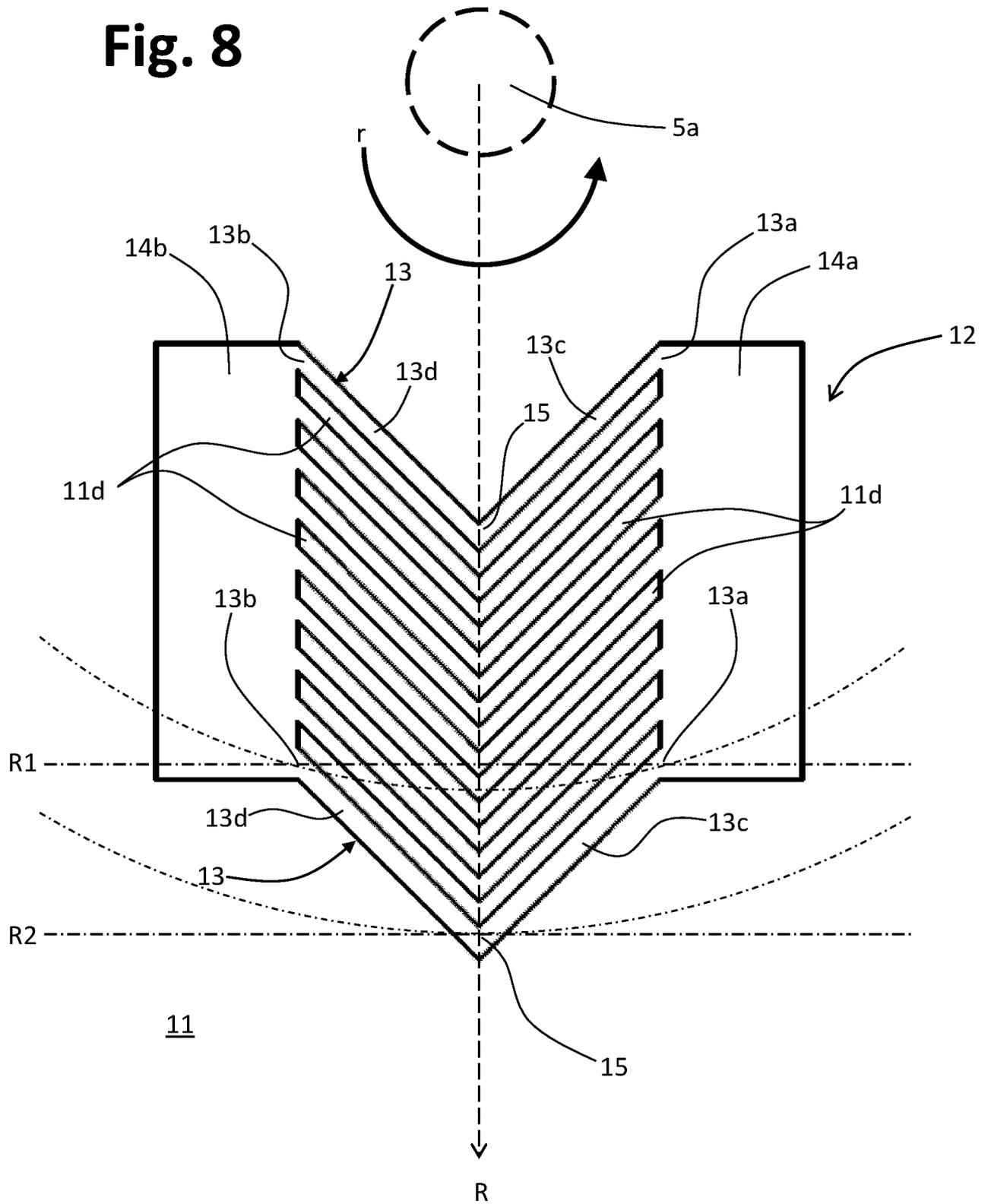


Fig. 9

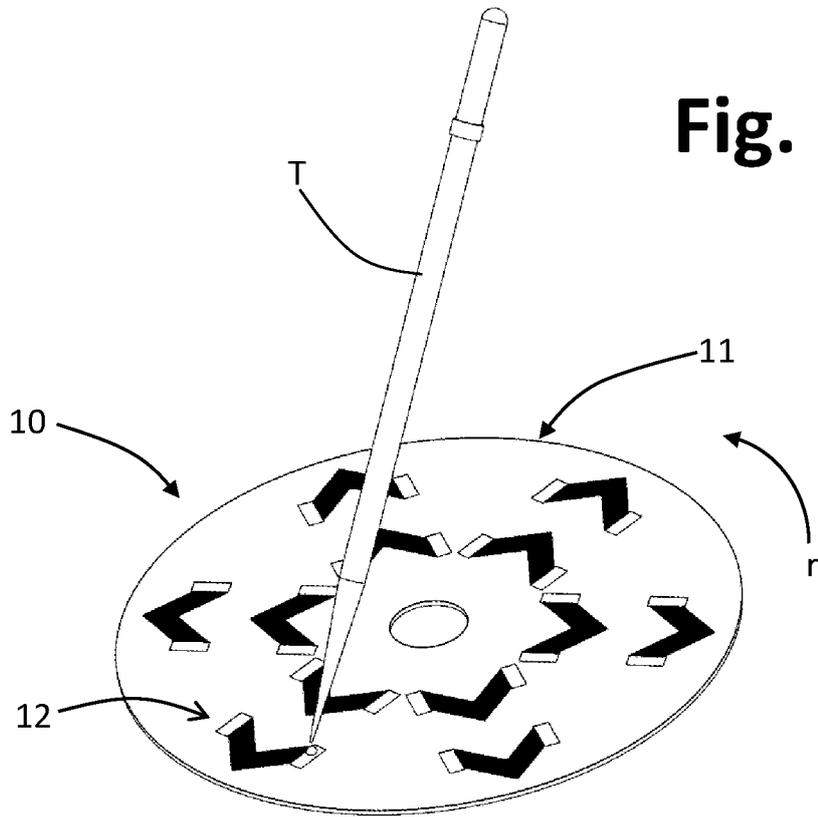


Fig. 10

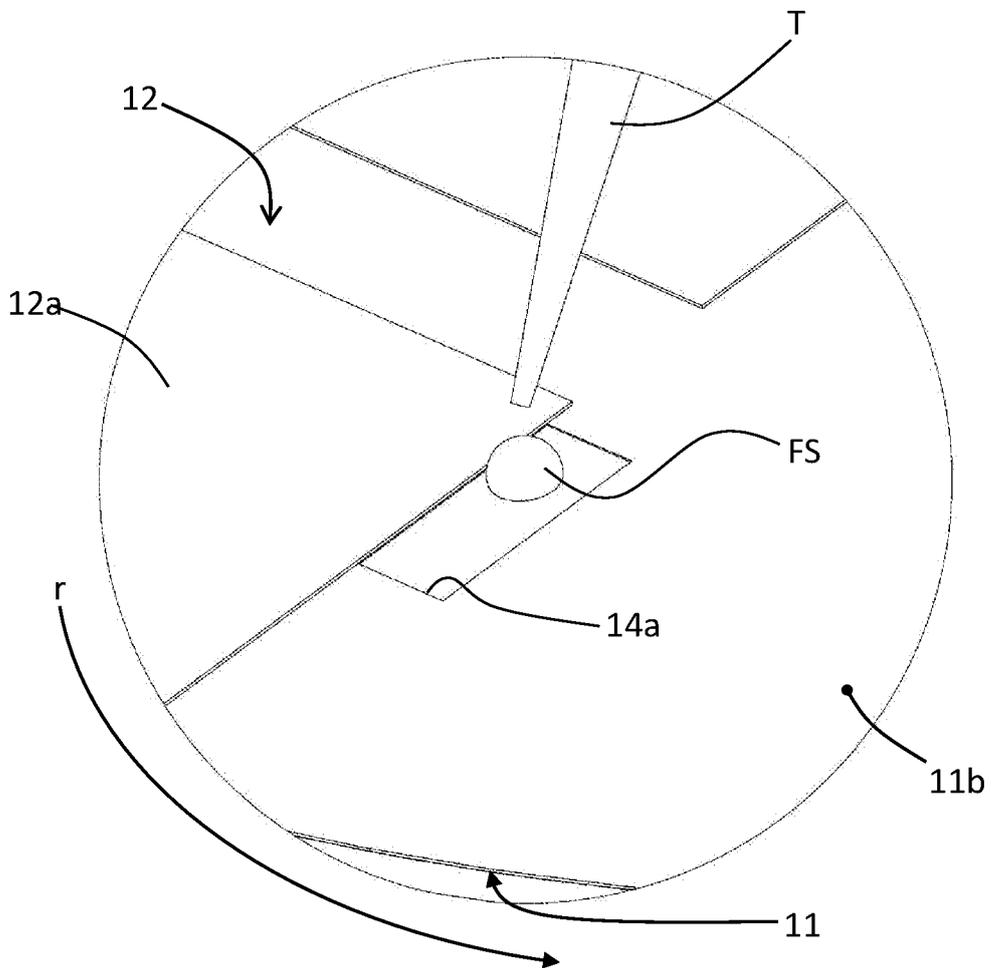


Fig. 11

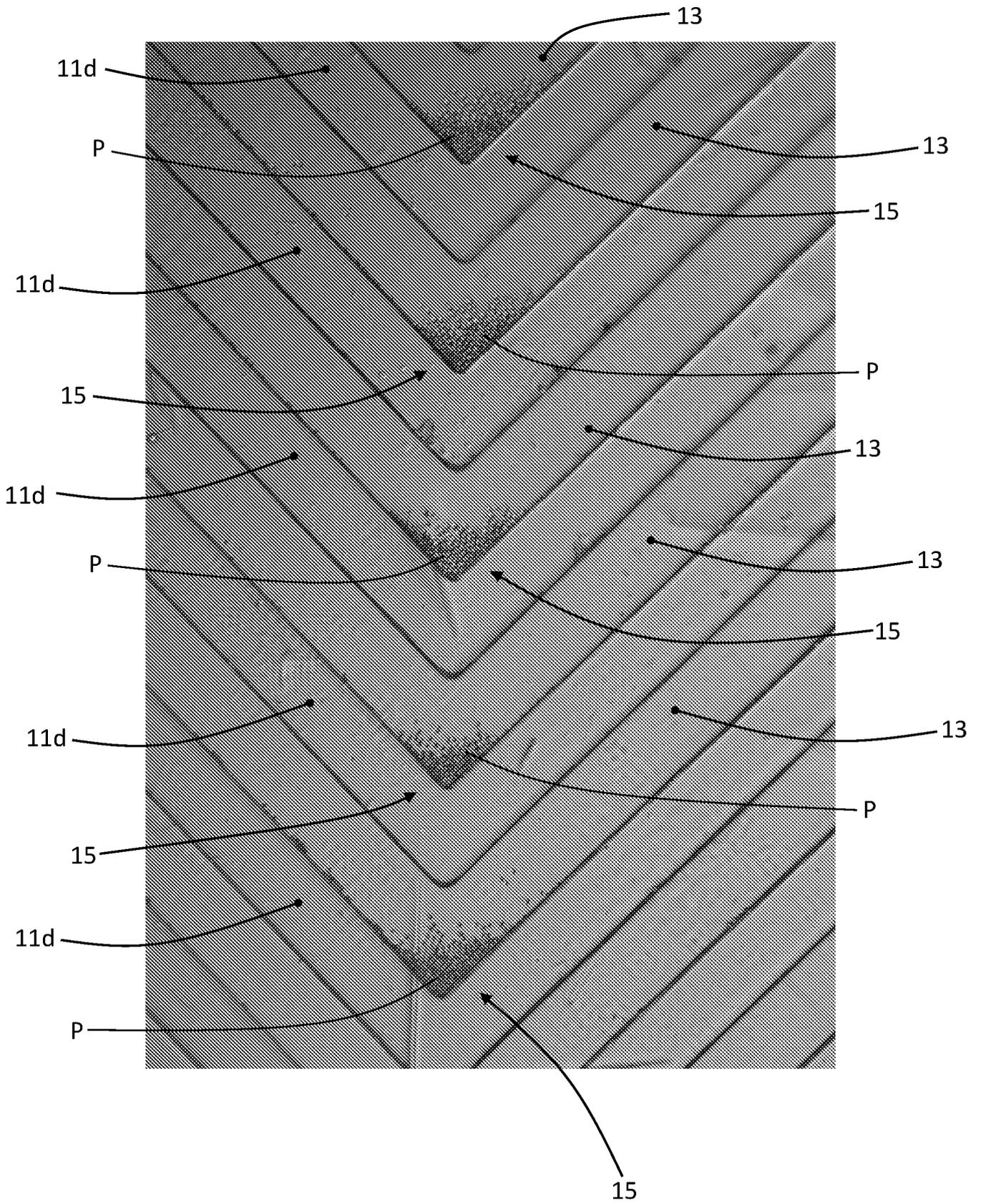


Fig. 12

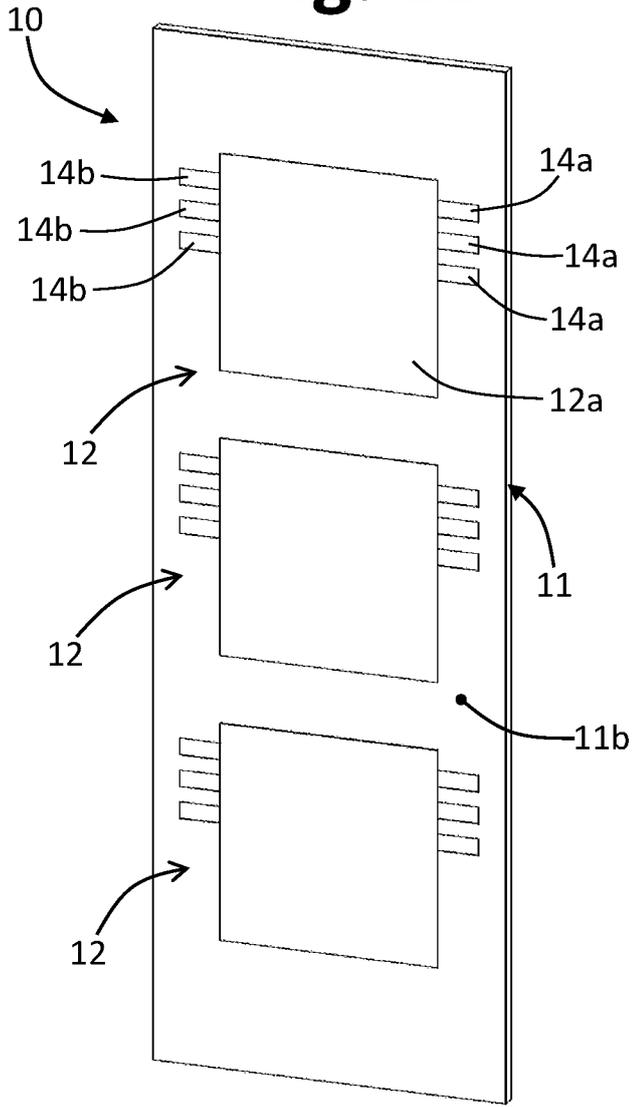


Fig. 13

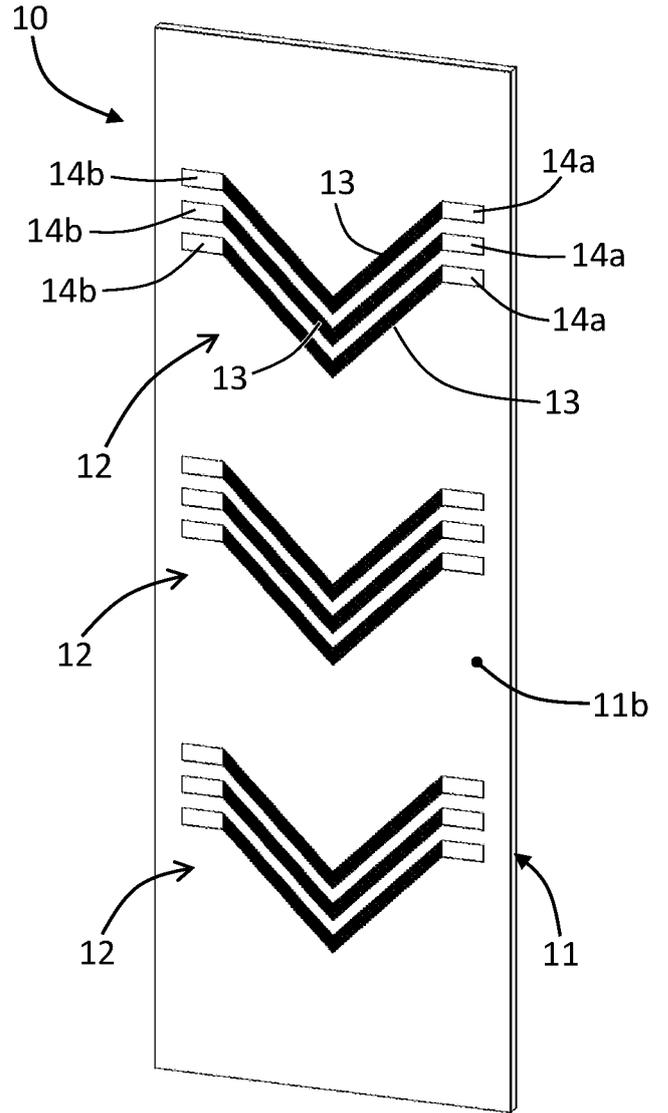


Fig. 14

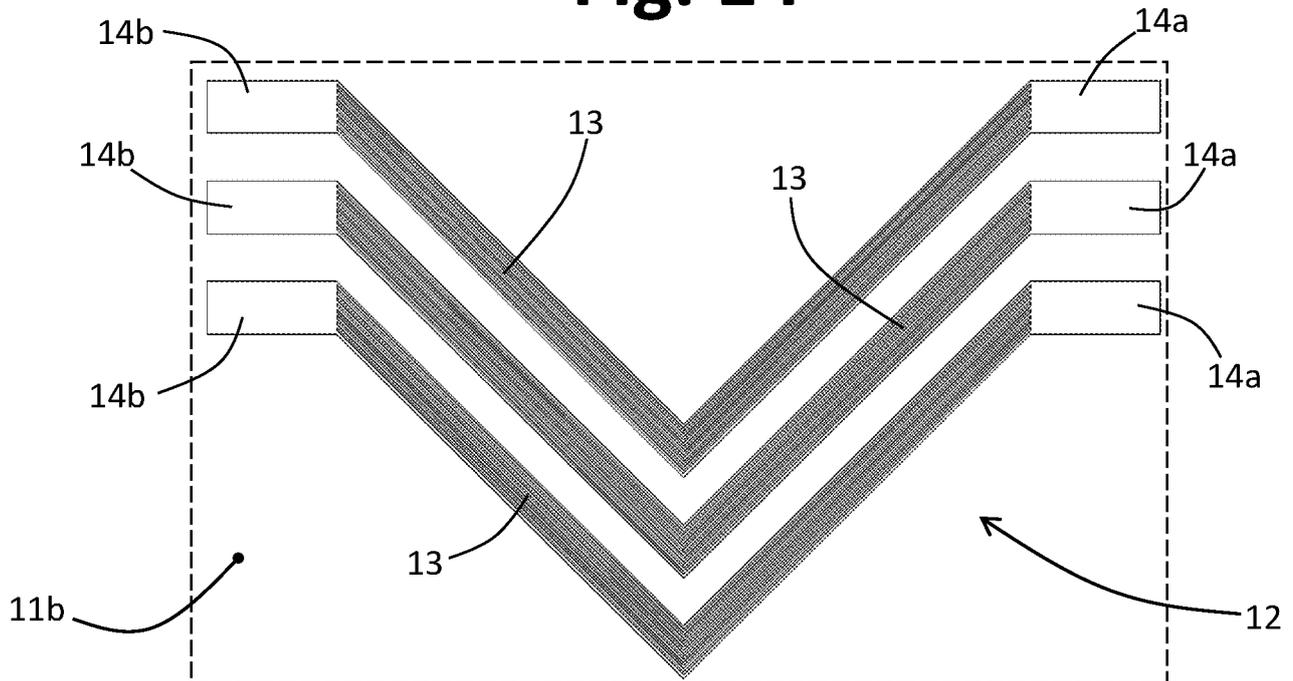


Fig. 15

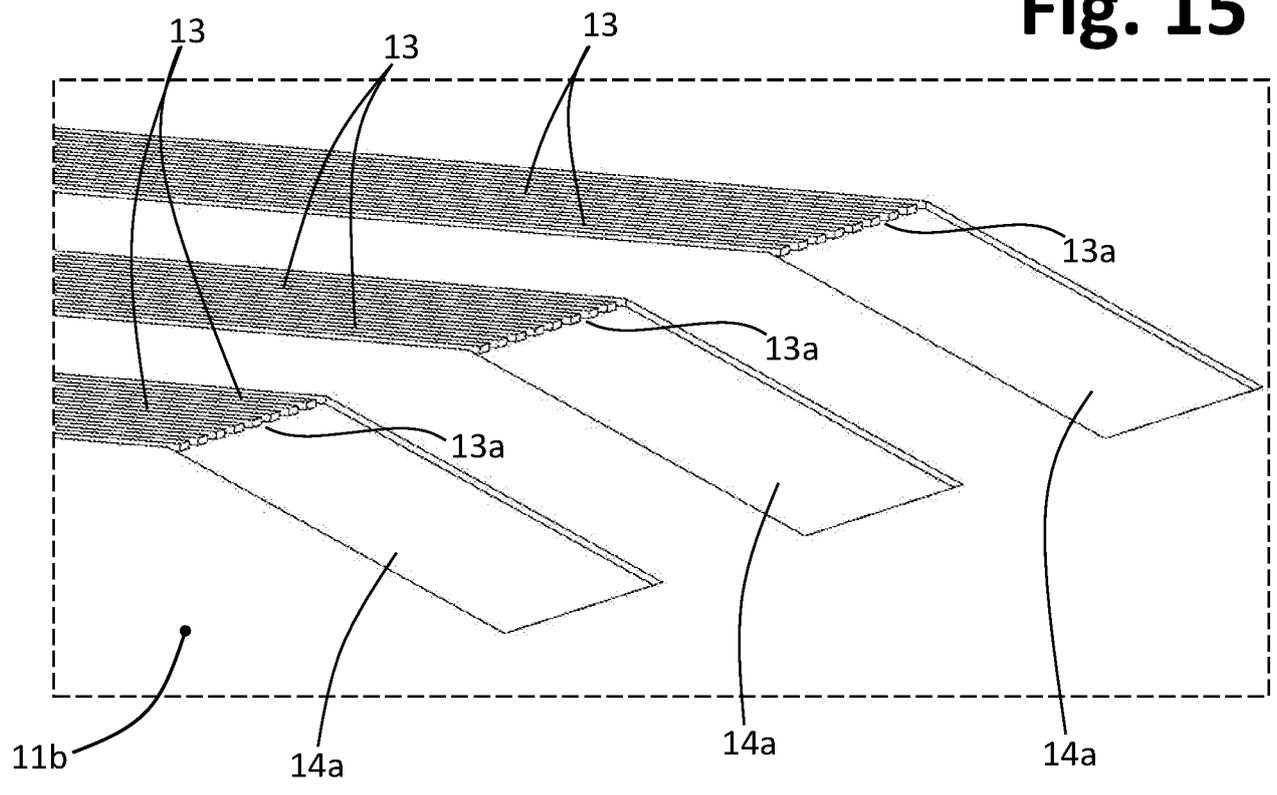


Fig. 16

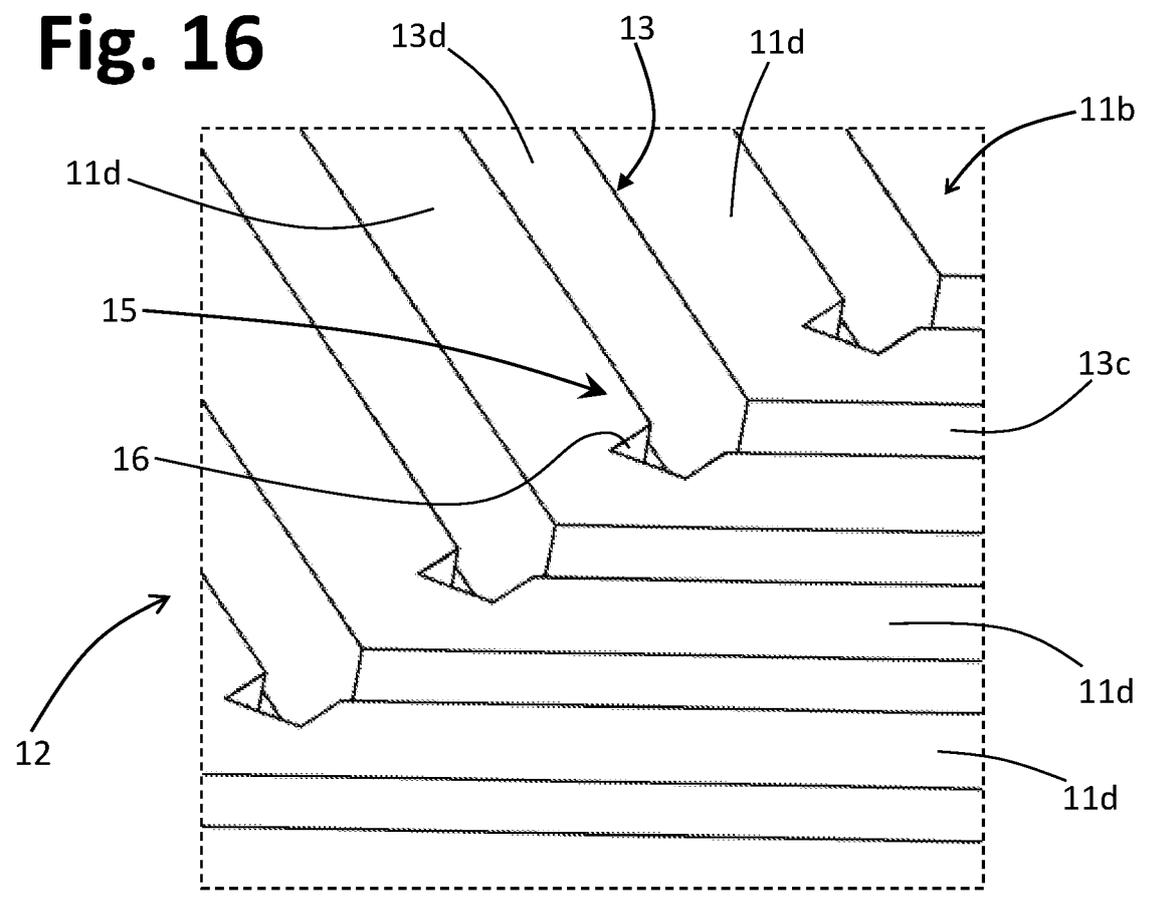


Fig. 17

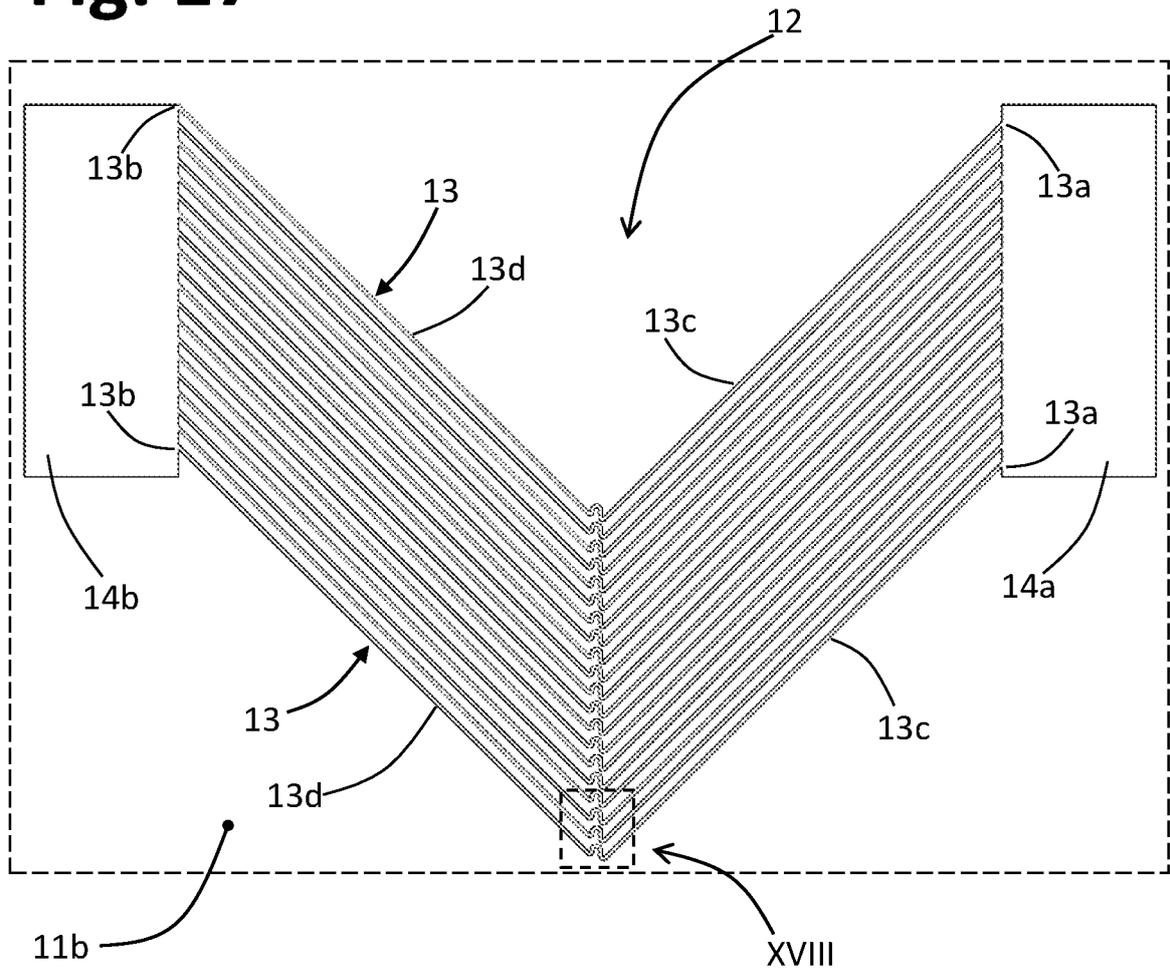


Fig. 18

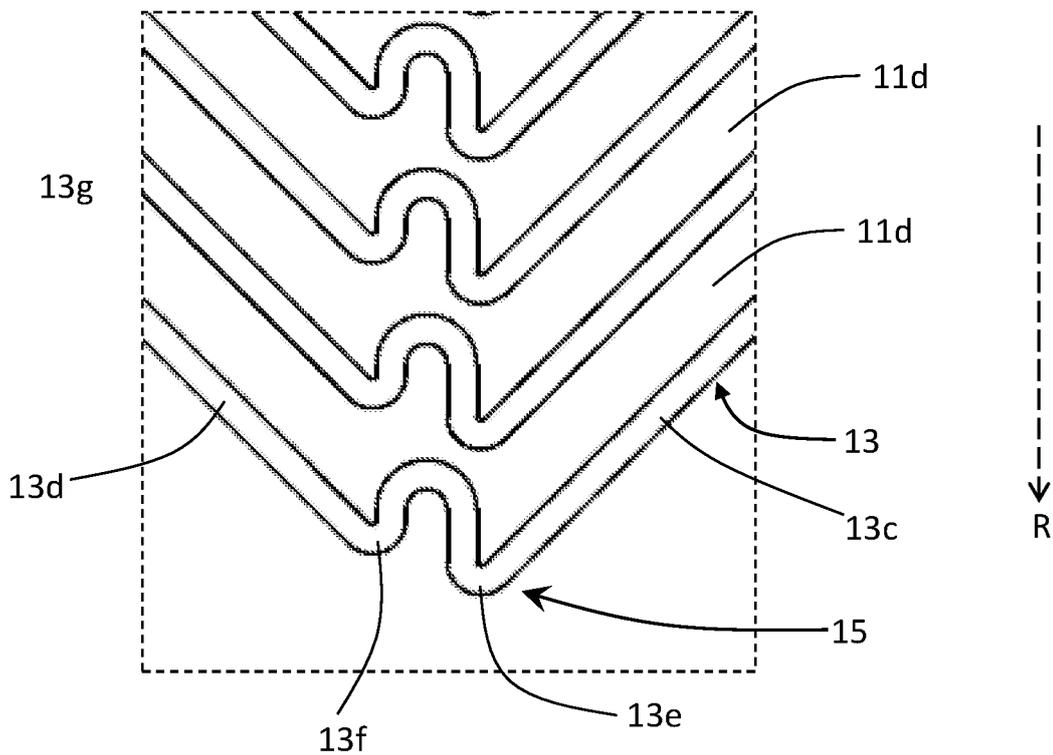


Fig. 19

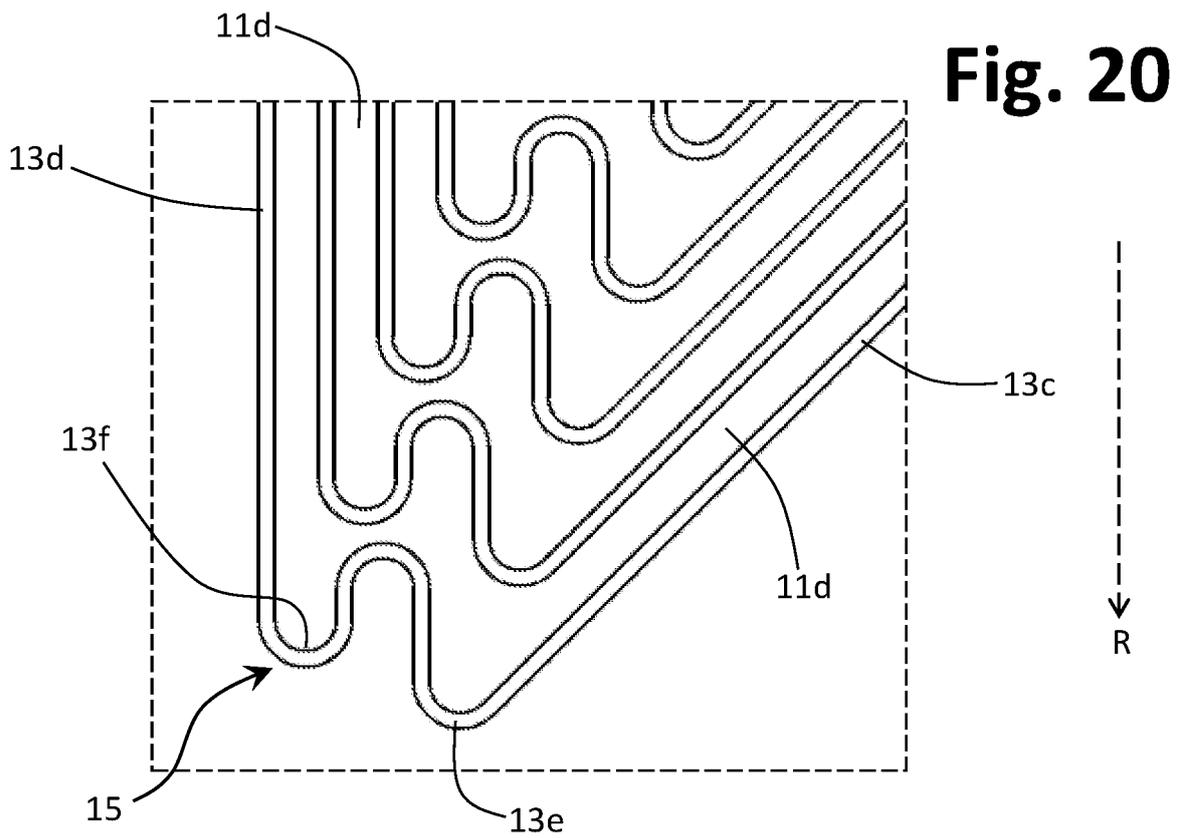
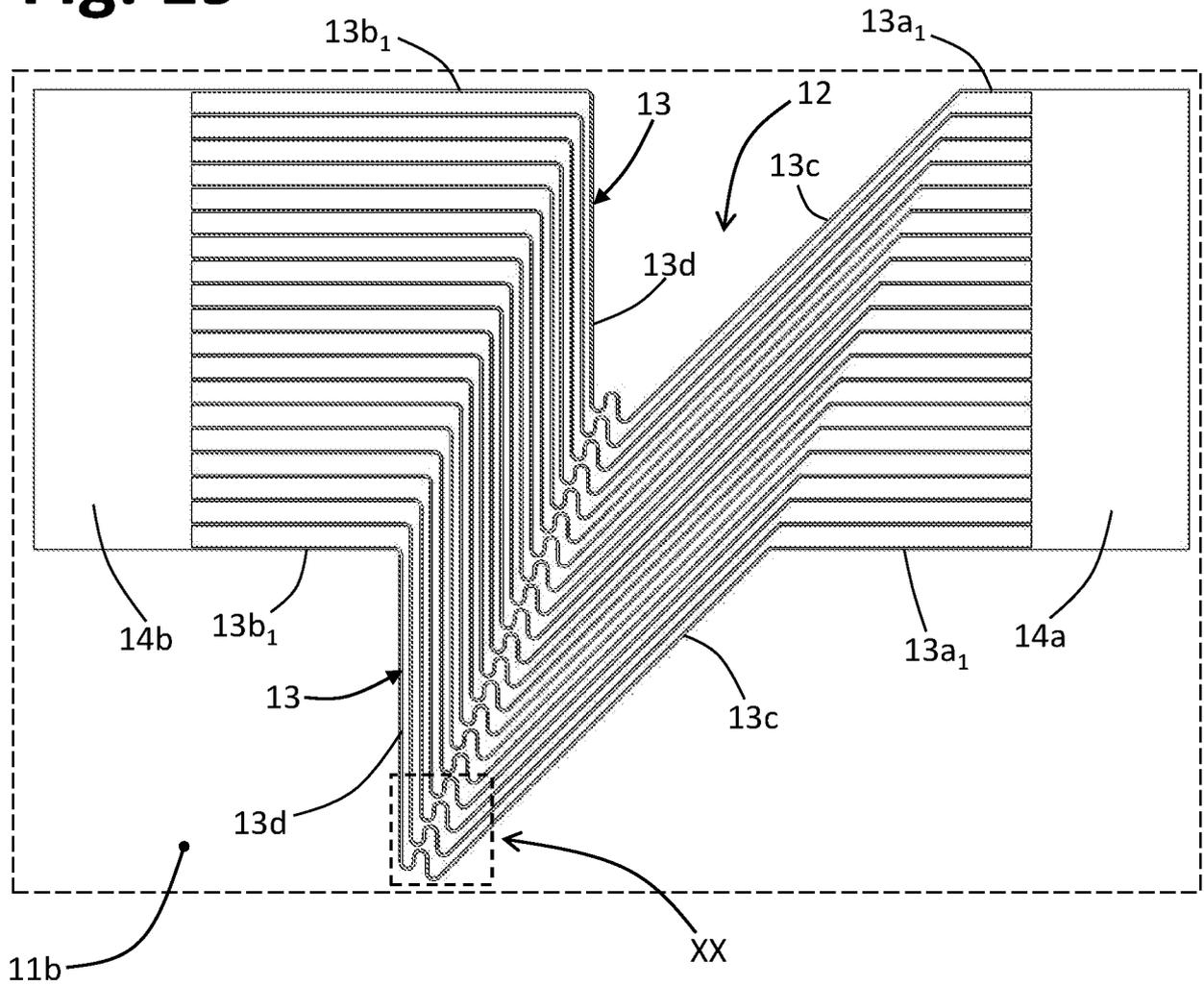


Fig. 21

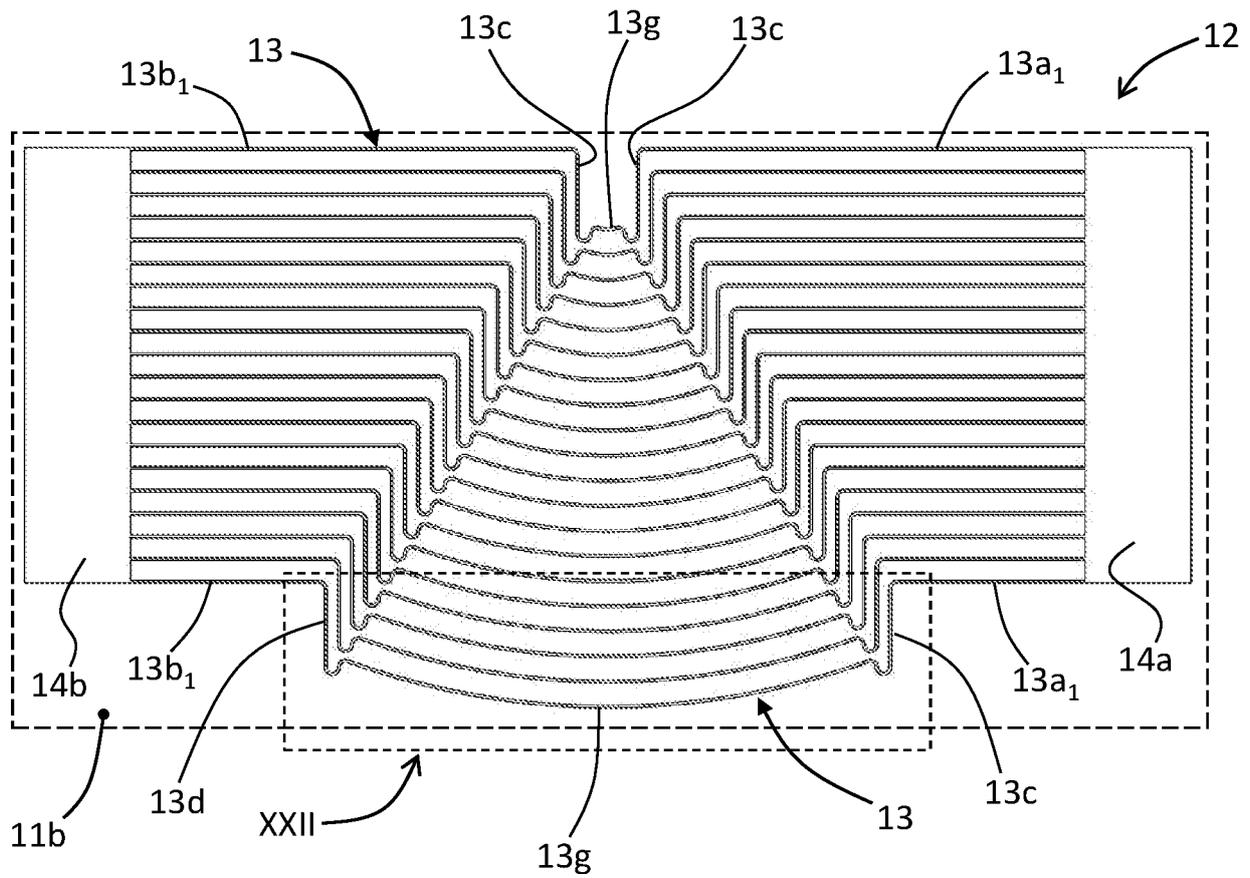


Fig. 22

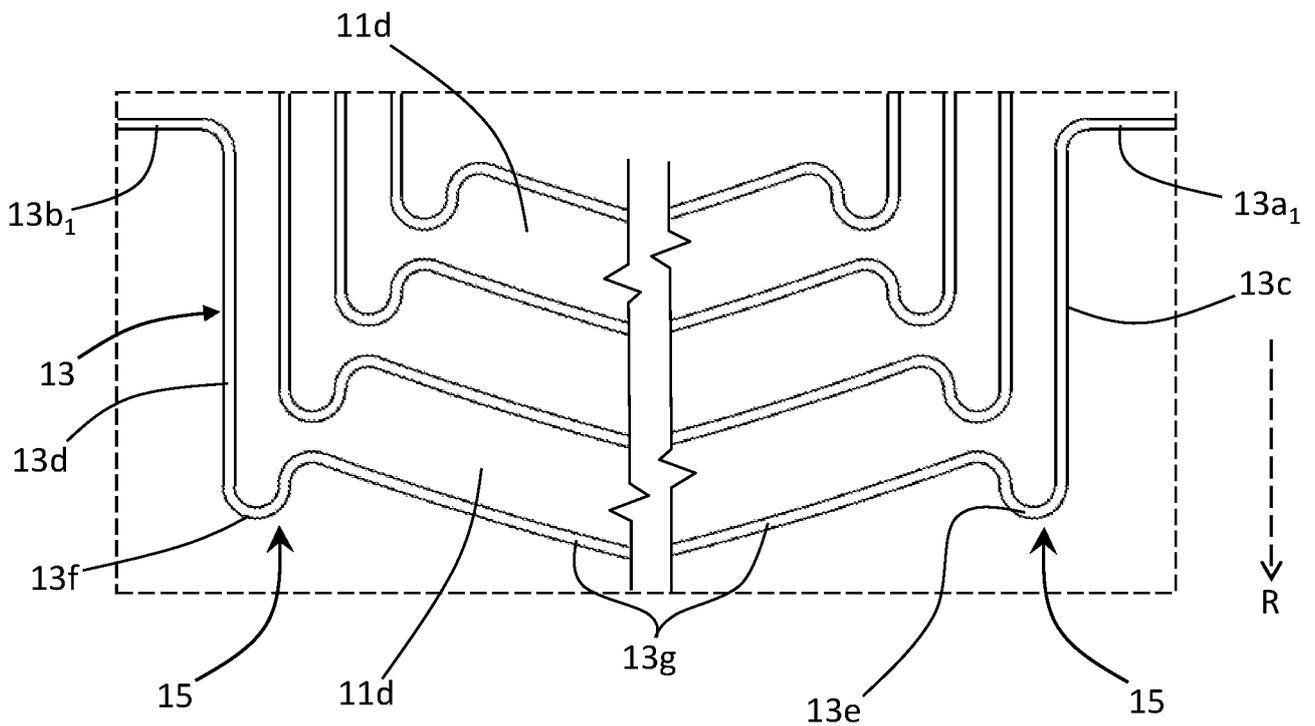


Fig. 23

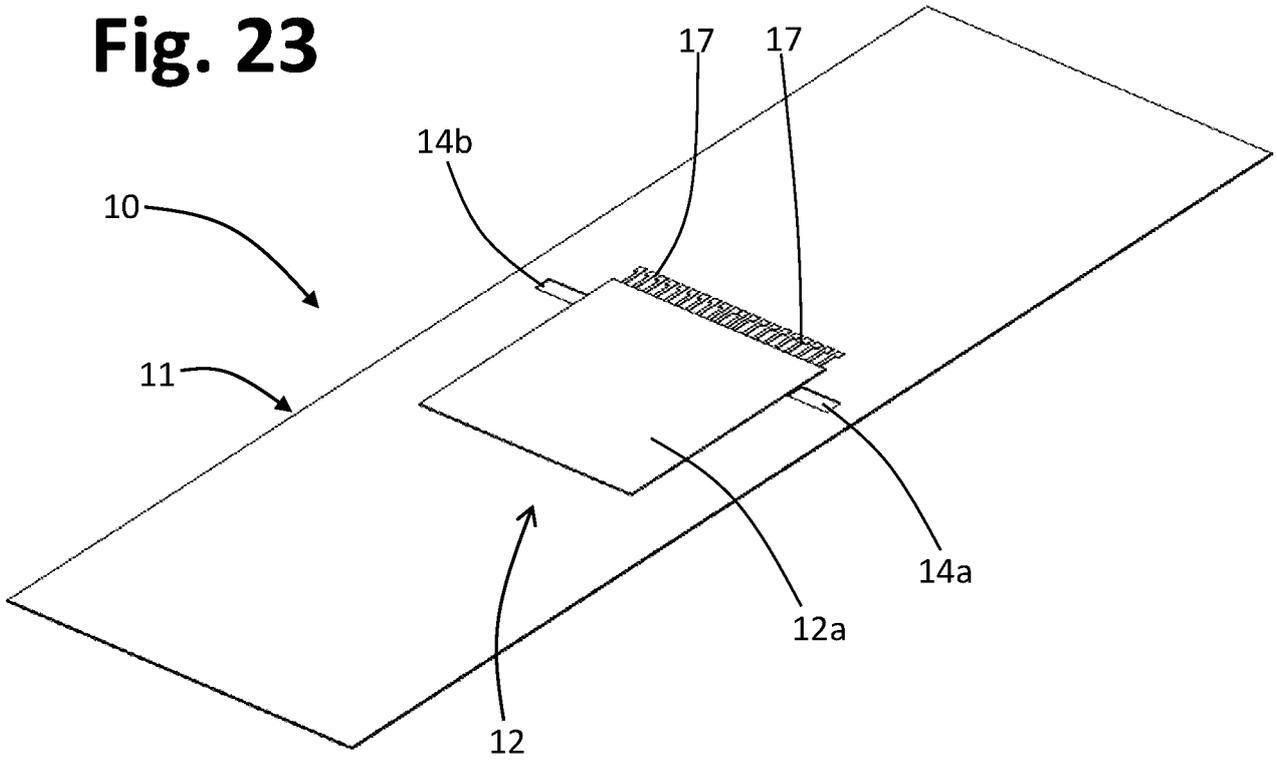


Fig. 24

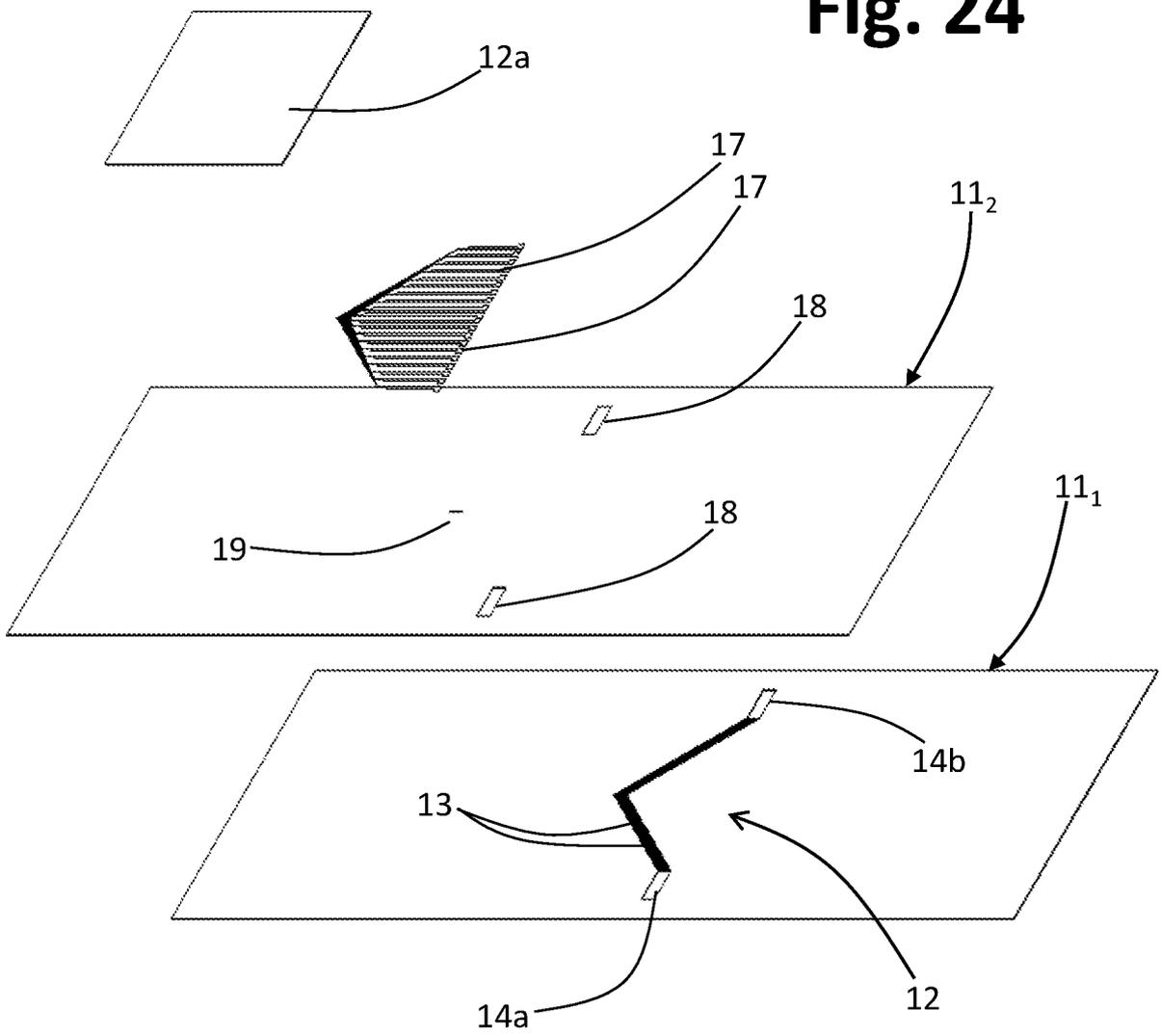


Fig. 25

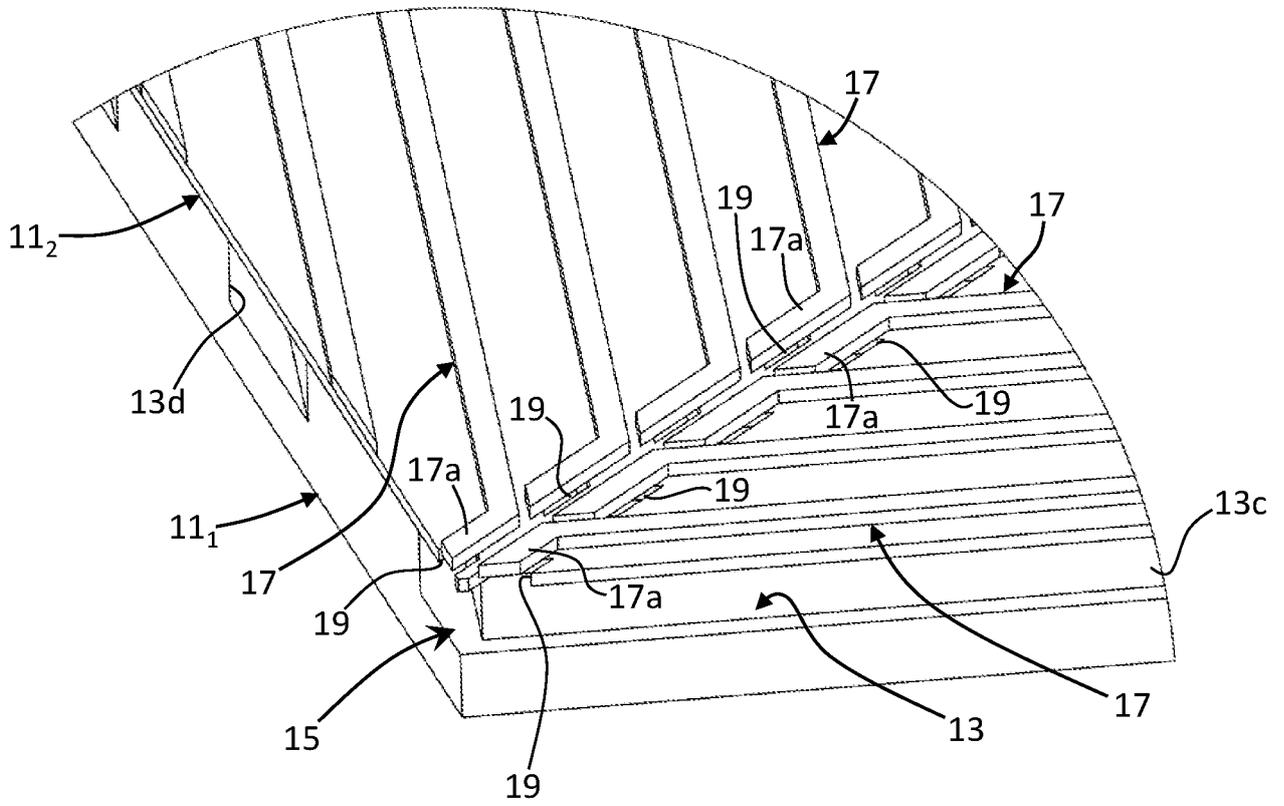


Fig. 27

