



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 761 294**

⑮ Int. Cl.:

B04B 1/02 (2006.01)
B04B 7/08 (2006.01)
B04B 11/04 (2006.01)
B04B 5/04 (2006.01)
A61M 1/36 (2006.01)
B01D 21/24 (2006.01)
B01D 21/26 (2006.01)
B01D 21/34 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑥ Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.11.2011 PCT/US2011/001922**

⑦ Fecha y número de publicación internacional: **24.05.2012 WO12067658**

⑨ Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.11.2011 E 11820877 (6)**

⑩ Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.10.2019 EP 2640524**

⑮ Título: **Centrifugadora**

⑩ Prioridad:

19.11.2010 US 949781
12.08.2011 US 201113209226

⑮ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.05.2020

⑮ Titular/es:

DSM IP ASSETS B.V. (100.0%)
Het Overloon 1
6411 TE Heerlen, NL

⑮ Inventor/es:

NASH, JOHN E.;
FISHER, WILLIAM T.;
SAURO, DENNIS M. y
O'NEIL, TIM

⑮ Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 761 294 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

Centrifugadora

Campo técnico

La presente invención se refiere a centrifugadoras.

5 **Técnica antecedente**

Los fluidos, tales como sangre entera o diversos fluidos biológicos adicionales, son suspensiones y pueden separarse en sus partes o fracciones componentes. Por ejemplo, la sangre entera comprende cuatro fracciones principales, glóbulos rojos, glóbulos blancos, plaquetas y plasma, que pueden separarse en base a sus diferentes densidades en un dispositivo tal como una centrifugadora. Una muestra de sangre entera anticoagulada puede colocarse en un tubo de ensayo, u otro dispositivo similar, que a continuación se hace girar en una centrifugadora a una velocidad especificada. La fuerza centrífuga generada separa la sangre en las diferentes fracciones en base a sus densidades relativas. Los glóbulos rojos, más densos, están en la parte inferior, el plasma, más ligero, está en la parte superior, con los glóbulos blancos y las plaquetas de densidad intermedia (denominados conjuntamente capa leucocitaria) en la parte intermedia entre las otras dos fracciones. Pueden separar también diversos otros fluidos biológicos. Por ejemplo, pueden separarse y extraerse células nucleadas desde la médula ósea o muestras de tejidos derivadas de tejido adiposo.

Es deseable aislar las diferentes fracciones de sangre entera para diferentes propósitos medicinales. Las plaquetas pueden obtenerse en preparaciones de plasma rico en plaquetas (PRP) o concentrados de plaquetas (PC). Las plaquetas contienen factores de crecimiento (por ejemplo, PDGF, TGF- β , y otros), que pueden iniciar, ayudar a o acelerar diversas funciones corporales, incluyendo, pero sin limitarse a, angiogénesis, cicatrización de heridas y osteogénesis. La administración de plaquetas autólogas a un sitio de lesión puede mejorar la respuesta de curación mediante el uso de plaquetas propias de un paciente sin el riesgo de infección del uso de productos sanguíneos de otra fuente donante. De manera alternativa, el plasma pobre en plaquetas (PPP) puede ser deseable para su uso en diversos procedimientos. El PPP puede prepararse aislando la fracción de plasma de los concentrados de plaquetas, y conservando la fracción de plasma aislada.

Existen varios sistemas para la producción de PRP/PC. Algunos usan tubos de ensayo especializados, patentes US Nº 7.179.391 y 7.520.402, que puede incluir flotadores, tubos y/o materiales de gel de densidades específicas. Otros sistemas usan jeringas dobles especializadas, por ejemplo, las que se encuentran en las patentes US Nº 6.716.187 y 7.195.606. Estos tubos de ensayo y jeringas deben ser centrifugados en una centrifugadora de gran tamaño especializada durante un tiempo especificado, típicamente 10 - 30 minutos, y a continuación, mediante delicados procedimientos de manipulación y extracción o decantación, se produce el PRP/PC deseado. La consistencia de estas preparaciones puede variar dependiendo del nivel de habilidad del operador. Otros sistemas, por ejemplo, la patente US Nº 6.982.038, contienen cámaras de centrifugadora especializadas y complicados sistemas de control para producir el PRP/PC en aproximadamente 30 minutos. Todos estos sistemas proporcionan PRP/PC de diferentes concentraciones de plaquetas dependiendo del método usado. Un gran inconveniente de estos métodos es la necesidad de una costosa pieza de bien de equipo que limita la utilidad a aquellas instalaciones que tienen los fondos y el espacio disponibles. Estos métodos requieren también considerables conocimientos por parte de los operadores para realizar los procedimientos necesarios para obtener el PRP/PC.

40 El documento US4.944.883 describe un sistema para separar de manera continua la materia de densidad más ligera e intermedia, tal como plasma rico en plaquetas a partir de sangre entera, que desplaza la sangre a través de un espacio de centrifugación divergente entre las paredes interior y exterior de un rotor que gira alrededor de un eje central en el interior de una carcasa exterior. El plasma rico en plaquetas puede extraerse a través de puertos de concentrado de plaquetas adyacentes en la pared interior del rotor.

45 El documento US3.780.936 describe una unidad mezcladora-separadora para su uso en sistemas de química analítica automatizados en la que dos fases líquidas se ponen en contacto íntimo y a continuación se separan. El fluido puede ser extraído del recipiente usando grifos, que en una realización adoptan la forma de válvulas giratorias de dos posiciones.

50 La capacidad de producir PRP/PC a partir de la sangre del propio paciente en el punto de atención sin la necesidad de equipos complejos y caros y procedimientos difíciles facilitaría la utilidad clínica del PRP/PC. Por lo tanto, los objetos de la presente invención incluyen, entre otras cosas, proporcionar un aparato y un método para el procesamiento de la sangre del propio paciente en el punto de atención en un corto período de tiempo que sea autónomo, funcione con baterías, sea pequeño y o portátil, de bajo coste, fácil de usar, reproducible, capaz de separar muchas poblaciones celulares, y sea desecharable sin la necesidad de equipos de centrifugación adicionales.

Divulgación de la invención

Según la invención, una unidad de separación por centrifugación de un solo uso, estéril, autónoma, compacta, fácil de usar permite obtener una concentración de plaquetas rápida y fiable a partir de sangre entera. El PRP/PC resultante puede ser usado inmediatamente para su aplicación al paciente. La unidad es adecuada para oficinas, quirófanos, uso

5 en emergencias o uso militar en hospitales de campaña. Según la invención, una centrifugadora para concentrar de manera selectiva componentes separables mediante centrifugadora de una mezcla líquida, mediante la retirada de componentes seleccionados desde la cámara de centrifugadora tras la separación, dicha centrifugadora comprende:

a) una cámara de separación de sangre dispuesta para contener un líquido sanguíneo, en la que dicha cámara de separación de sangre comprende

10 (i) un cilindro (606) tubular cónico que comprende un interior con un diámetro interior más grande y un diámetro interior más pequeño y un eje (XX) longitudinal, y que comprende además al menos un canal que se extiende desde el interior del cilindro (606) tubular cónico a al menos a un orificio (639),

(ii) medios para añadir dicho líquido sanguíneo a dicha cámara (602) de separación de sangre;

15 (iii) medios para descargar los componentes de dicho líquido sanguíneo tras la separación de dicho líquido sanguíneo, comprendiendo dichos medios de descarga dicho al menos un orificio (639), en el que dicho al menos un orificio (639) está posicionado en un radio deseado desde dicho eje longitudinal y situado en dicho canal, y un segundo orificio (610) posicionado en un segundo radio deseado desde dicho eje (XX) longitudinal y que permite la descarga de un segundo componente descargado, en el que dicho segundo componente descargado tiene una gravedad específica menor que la de dicho primer componente descargado, y además en el que la cámara de separación de sangre comprende además una cuña (609) troncocónica que se extiende hacia el interior desde el lado más grande del cilindro (606) tubular cónico, y dicho cilindro (606) tubular cónico y dicha cuña (609) troncocónica definen los lados del canal; y

20 b) unos medios para hacer girar la cámara de separación de sangre alrededor de dicho eje (XX) longitudinal, tras lo cual dichos componentes de dicha mezcla líquida se separan como una función de la distancia radial desde dicho eje (XX) longitudinal; comprendiendo dichos medios para hacer girar la cámara de separación de sangre un componente (601) de accionamiento, en el que dicho componente (601) de accionamiento y dicha cámara de separación de sangre están asegurados entre sí, de manera liberable, en el que dicho componente (601) de accionamiento, mientras está en una posición asegurada, acciona la rotación de la cámara de separación de sangre para causar que el producto sanguíneo se separe por densidad,

25 30 caracterizado porque

- dicha cuña (609) troncocónica define un rebaje troncocónico inverso interior,

- dicho segundo orificio (610) está situado en el rebaje troncocónico inverso interior en una base de dicha cuña (609),

35 - dicho canal está dimensionado para reducir una velocidad de los componentes descargados en el punto de entrada al canal con relación a la velocidad de descarga a través de dicho al menos un orificio (639), y dicha centrifugadora comprende, además

40 c) medios de válvula para abrir y cerrar dicho al menos un orificio (639), en el que la apertura de dicho al menos un orificio (639) durante la rotación de dicho cilindro (606) tubular cónico expulsa al menos un primer componente de la mezcla que está presente en dicho al menos un orificio (639), siendo dicha expulsión a través de dicho al menos un orificio (639).

El separador de PRP autónomo desechable está equipado con un motor con un eje de accionamiento, siendo el eje de accionamiento coaxial con el eje central o longitudinal del conjunto de cámara de separación de sangre (BSC). El motor puede tener la capacidad de hacer girar la BSC a velocidades comprendidas en el intervalo de 10.000 a 25.000 RPM durante varios minutos. Puede suministrarse energía al motor a través de una batería u otro paquete de energía. La energía puede conectarse a través de un comutador e incluso las baterías pequeñas de celda seca tendrán capacidad suficiente para completar el proceso de separación. La BSC y el motor/batería están completamente encerrados en un contenedor externo que incluye un puerto de acceso a la BSC al cual puede conectarse una jeringa estándar. De manera alternativa, la BSC puede hacerse girar mediante medios no eléctricos, tales como una turbina accionada por aire o un accionamiento por muelle. Podría incluir también un acoplamiento magnético o mecánico a un motor de accionamiento externo, o cualquier fuente de energía que pueda estar disponible en el sitio quirúrgico, por ejemplo, en el quirófano o en la ubicación durante un procedimiento de trauma, tal como en un compuesto "MASH".

En una primera realización, el conjunto BSC está equipado con un cilindro que puede ser cilíndrico o cónico, una tapa de extremo que incorpora puertos y una extensión tubular y, en algunas realizaciones, un pistón o vejiga, que entre los mismos definen la BSC. Un manguito que se desliza sobre el diámetro exterior de la tapa de extremo actúa como la parte móvil de dos conjuntos de válvula, estando equipada cada válvula con un rebaje en la superficie exterior de la

5 tapa de extremo y una junta tórica en el rebaje. Unos conductos en el interior de la tapa de extremo conducen desde la BSC a los centros de los rebajes, y dos puertos en el manguito se alinean con los centros de los rebajes en una secuencia de 3 posiciones. Los dos puertos en el manguito están posicionados de manera que no se alineen con los dos centros de los rebajes en la tapa de extremo al mismo tiempo. En secuencia, el manguito selecciona un primer puerto abierto, a continuación, ambos puertos cerrados y, a continuación, un segundo puerto abierto. Los puertos se 10 abren en un movimiento gradual, pero podrían abrirse proporcionalmente. El manguito es operado por una perilla conectada a un collar deslizable a través de un conjunto de cojinete de manera que la perilla no gire durante el funcionamiento del motor.

15 Se inyecta sangre anticoagulada a través de la extensión tubular con el fin de llenar la BSC. El manguito está en una primera posición en la que ambos puertos en el manguito no se alinean con ninguno de los rebajes en la tapa de extremo. El motor se acciona y la BSC gira para crear una fuerza centrífuga sobre la sangre, separándola de esta manera en sus componentes con los glóbulos rojos más cerca de la pared interior de la BSC, revistiendo los glóbulos blancos la capa de glóbulos rojos hacia el centro, seguido por las plaquetas y, a continuación, plasma que llena el centro. En otras palabras, la centrifugación proporciona componentes estratificados de la mezcla, definiendo los 20 componentes estratificados adyacentes una interfaz de mezcla. Después de un período de centrifugación de aproximadamente 1 minuto o menos, el manguito es movido a una segunda posición en la que el primer puerto en el manguito se alinea con el rebaje en la pared exterior de la cámara. Este puerto se comunica con la capa de glóbulos rojos contra la pared interior. Los glóbulos rojos saldrán de la cámara a través de este puerto debido a la presión generada por la fuerza centrífuga. A medida que los glóbulos rojos salen del separador, el volumen se reemplaza con el aire que entra a través de la extensión tubular en la tapa de extremo. El aire forma una columna en el centro de la 25 cámara que aumenta a medida que se reemplaza más volumen. Se prevé también que, sin un respiradero de entrada de aire, la rotación y la evacuación continua de los glóbulos rojos resulte en la formación de un núcleo vacío, ya que la sangre está desgasificada y posiblemente se extrae vapor desde el líquido debido a la presión reducida en el centro de rotación. Después de que se descarga un volumen prescrito de glóbulos rojos desde el volumen del separador de sangre, el manguito es movido a una tercera posición para cerrar el primer puerto y abrir el segundo puerto. Esto se 30 realiza antes de que la capa de plaquetas en el volumen pueda salir del primer puerto. El conducto al segundo rebaje en la tapa de extremo del dispositivo se posiciona con precisión lejos del eje central para retirar un volumen prescrito de plasma de la BSC sin alterar la capa de plaquetas. A medida que el plasma sale de la cámara, el aire reemplaza el volumen a través de la extensión tubular y la columna de aire en el centro de la BSC continúa aumentando su diámetro. 35 Cuando el diámetro de la columna de aire abarca la entrada del segundo conducto, ya no puede salir más plasma de la cámara y el proceso de concentración se termina de esta manera automáticamente. En el caso en el que se crea un núcleo vacío, el proceso de concentración se terminaría automáticamente de manera similar, ya que el núcleo vacío encuentra la entrada del segundo conducto. El dispositivo se apaga y el concentrado de plaquetas está listo para su uso.

40 Otra realización usa una vejiga flexible que reviste el interior de la BSC. El extremo sólido de la BSC incluye un orificio para que entre aire alrededor del exterior de la vejiga flexible. La extensión tubular del eje de la tapa de extremo incluye una válvula hermética al aire. Esta realización funciona de la misma manera, excepto que no introduce aire deliberadamente en contacto con la muestra de sangre. Durante el ciclo de centrifugación, mientras los glóbulos rojos y a continuación el plasma salen de la cámara, el aire entra al lado opuesto de la cámara, colapsando de esta manera la vejiga flexible. Debido a la presión generada en el líquido por la fuerza centrífuga, el saco se colapsa en una forma de "W" con los extremos abiertos de la "W" orientados hacia el extremo de la cámara opuesto al extremo con el orificio de purga de aire. A medida que sale más plasma de la cámara, el centro de la "W" alcanza el segundo conducto en la tapa de extremo y cierra el conducto, terminando de esta manera automáticamente el ciclo.

Otra realización reemplaza la vejiga flexible con un pistón y un muelle: a medida que los glóbulos rojos (GRs) salen de los puertos de la válvula, el pistón se mueve hacia la tapa de extremo empujado por el muelle.

50 Se divulga además que el sistema de la presente invención puede incorporar un mecanismo de cierre automático para sellar el puerto o los puertos en base a ciertas condiciones. Por ejemplo, un mecanismo de este tipo puede incorporar una ayuda de separación fluida en forma de un gel de una densidad intermedia seleccionada de manera que esté entre un elemento no deseado, por ejemplo, glóbulos rojos, y un elemento terapéutico deseado, por ejemplo, plaquetas. La viscosidad del gel separador está diseñada de manera que no pase a través del pequeño puerto de salida a la velocidad de centrifugadora empleada en la centrifugadora de separación de sangre. Tras la activación de la centrifugadora, el gel separador crearía una capa y barrera clara entre la capa externa de glóbulos rojos, situada cerca de la periferia del eje de rotación, y la capa pobre en plaquetas que estaría situada más cerca del eje de rotación central de la centrifugadora. El gel separador tapona automáticamente el primer puerto cuando han salido todos los 55

glóbulos rojos. Como un ejemplo adicional, el cierre automático del primer puerto puede conseguirse con un amortiguador sólido, o una aleta de ventilación, construidos también en un material con una densidad intermedia específicamente seleccionada. En la operación inicial, el amortiguador se abriría y se separaría del orificio de ventilación en base a su densidad e intentaría posicionarse en una ubicación entre los glóbulos rojos y las plaquetas.

- 5 Como en el ejemplo anterior, una vez que los glóbulos rojos han salido completamente del sistema, el amortiguador sellará el orificio de ventilación y prevendrá de manera eficaz que el fluido rico en plaquetas salga del sistema. Como todavía otro ejemplo de un auxiliar de separación, perlas de plástico, tales como microesferas con la densidad intermedia deseada, podrían situarse previamente también en el interior de la cámara de la centrifugadora. Las perlas estarían dimensionadas de manera apropiada para taponar el puerto de salida después de que el elemento no deseado, por ejemplo, glóbulos rojos, ha salido del sistema.

10 En otra realización, la BSC, o al menos una parte de la misma, puede estar realizada en un material transparente de manera que el progreso de la eliminación de glóbulos rojos pueda observarse a través de una ventana transparente en la carcasa exterior. Esto puede permitir una sincronización precisa para cerrar el primer puerto para terminar la salida de los glóbulos rojos.

- 15 Otra realización consigue la concentración mediante una sincronización precisa de la secuencia de apertura/cierre de la válvula y el arranque y la parada del motor.

20 En otra realización, el sistema puede estar equipado con un componente de accionamiento reutilizable con un motor que está dispuesto para ser acoplado a un componente de centrifugadora desecharable, en el que los productos sanguíneos se centrifugan, se separan y se contienen completamente en el interior de la unidad desecharable, de manera que el componente de accionamiento no sea expuesto al producto sanguíneo y pueda reutilizarse sin temor a una contaminación.

25 En otra realización, la unidad desecharable puede incluir materiales absorbentes de sangre o cámaras receptoras de fluido para capturar los productos sanguíneos evacuados.

30 En otra realización, la cámara giratoria está dispuesta para minimizar la interrupción de las interfaces entre los productos sanguíneos separados, mientras los glóbulos rojos y los componentes de plasma son evacuados desde la cámara giratoria.

Breves descripciones de los dibujos

Fig. 1a y 1b: Principio de funcionamiento.

30 Fig. 2: Centrifugadora con pistón cargado con muelle en la cámara cónica, posición de carga, válvula de GR abierta, válvula de plasma cerrada (sección de la parte longitudinal).

Las Figs. 3a, 3b, 3c y 3d muestran secciones transversales de la centrifugadora con pistón cargado con muelle en la cámara cónica (secciones transversales de la Fig. 2) y detalles ampliados de los componentes de la válvula de GR usados en todos los dispositivos mostrados en las Figs. 2, 4., 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17 y 18.

35 Fig.4: Centrifugadora con pistón cargado con muelle en cámara cónica, centrifugado, glóbulos rojos separados del plasma, ambas válvulas cerradas (sección de la parte longitudinal).

Fig.5: Centrifugadora con pistón cargado con muelle en cámara cónica, posición media, válvula de GR abierta y descargando GRs, válvula de plasma cerrada (sección de la parte longitudinal).

Fig. 6: Centrifugadora con pistón cargado con muelle en la cámara cónica, posición final, válvula de GR cerrada, válvula de plasma abierta y la mayor parte del plasma descargado (sección de la parte longitudinal).

40 Fig. 7: Centrifugadora con cámara de vejiga, posición de carga, válvula de GR abierta, válvula de plasma cerrada (sección de la parte longitudinal).

Fig. 8: Centrifugadora con cámara de vejiga, posición de carga (sección transversal de la Fig. 7).

Fig. 9: Centrifugadora con cámara de vejiga, centrifugado, glóbulos rojos separados del plasma, ambas válvulas cerradas (sección de la parte longitudinal).

45 Fig. 10: Centrifugadora con cámara de vejiga, posición de descarga de GRs, válvula de GR abierta, válvula de plasma cerrada (sección de la parte longitudinal).

Fig. 11: Centrifugadora con cámara de vejiga, válvula de plasma abierta, válvula de GR cerrada, plasma descargándose (sección de la parte longitudinal).

- Fig. 12: Centrifugadora con núcleo de aire, posición de carga inicial, ambas válvulas cerradas. (sección de parte longitudinal).
- Fig. 13: Centrifugadora con núcleo de aire (sección transversal de la Fig. 12).
- Fig. 14: Centrifugadora con núcleo de aire, centrifugada y separada, descargando GRs, válvula de GR abierta, válvula de plasma cerrada (sección de la parte longitudinal).
- 5 Fig. 15: Centrifugadora con núcleo de aire, válvula de GR cerrada, válvula de plasma abierta, GRs residuales y plasma residual restantes (sección de la parte longitudinal).
- Fig. 16: Centrifugadora con núcleo de aire, retirada de PRP al final, ambas válvulas cerradas (sección de la parte longitudinal).
- 10 Fig. 17: Centrifugadora con un recinto típico (sección de la parte longitudinal, que muestra los medios de captura de GR y plasma y los medios de prevención de aerosoles).
- Fig. 18a y 18b: Centrifugadora con recinto típico (sección transversal de la Fig. 17).
- Fig. 19. Sección transversal longitudinal simplificada de la centrifugadora con los componentes desechables y reutilizables mostrados separados. Se muestra con las válvulas de glóbulos rojos y de plasma cerradas.
- 15 Fig. 20a. Esquema simplificado de la cámara de centrifugadora que tiene una cámara impelente en el extremo del canal de glóbulos rojos y fluidos separados.
- Fig. 20b. Vista de proyección del puerto de plasma de la Fig. 20a con el patrón de flujo de fluido de plasma representado por las flechas.
- 20 Fig. 21. Centrifugadora ensamblada en posición de funcionamiento, válvula de GR abierta y descarga de GR completada.
- Fig. 22. Sección transversal simplificada de la Fig. 21 en AA.
- Fig. 23. Sección transversal simplificada de la Fig. 21 a través de la válvula de plasma en BB que muestra la construcción de la válvula.
- 25 Fig. 24. Centrifugadora ensamblada en posición de funcionamiento, válvula de GR cerrada, válvula de plasma abierta y descarga de plasma completada.
- Fig. 25. Centrifugadora con medios para recoger plasma pobre en plaquetas (PPP) en un receptor separado, mostrada en la fase de funcionamiento de recogida de plasma.
- Fig. 26. Centrifugadora con arandelas absorbentes para capturar productos sanguíneos, mostrada al final de la fase de descarga de GRs.
- 30 Fig. 27a. Esquema simplificado de la cámara de centrifugadora que tiene cámaras impelentes en el extremo del canal de glóbulos rojos y en la salida de plasma, y fluidos separados.
- Fig. 27b. Vista de proyección del puerto de plasma de la Fig. 27A, con un patrón de flujo de fluido representado por las flechas.
- 35 Fig. 28. Vistas en sección transversal del receptor de GR-plasma alternativo con válvula de indexación, representada en la posición cerrada.
- Fig. 29. Vista en sección transversal del receptor de GR-plasma alternativo con válvula de indexación que muestra la válvula en posición abierta.
- Fig. 30. Vista isométrica en sección transversal del receptor de GR-plasma alternativo con válvula de indexación.
- Fig. 31. Vista isométrica del receptor de GR-plasma alternativo desensamblado con válvula de indexación.

40 **Modos para realizar la invención**

La Fig. 1a proporciona una ilustración para la descripción del principio de funcionamiento de los dispositivos cubiertos en la presente invención. Una cámara de forma 1 esencialmente troncocónica, contiene una mezcla de varios líquidos de diferentes densidades y gira alrededor del eje XX longitudinal. Los líquidos 2, 3 y 4 se separan en capas radialmente distintas, tal como se muestra en la sección AA. La conicidad es beneficiosa en varias maneras, primero, permite que

un pequeño volumen de líquido ofrezca una gran profundidad radial (tal como se muestra en 11) en comparación con la profundidad radial que tendría el mismo volumen si estuviese distribuido a lo largo de toda la longitud del cilindro circular derecho de dimensiones similares, véase la Fig. 1b en 14. Segundo, la conicidad proporciona un componente de fuerza de aceleración radial que ayuda a conducir el componente líquido externo hacia un puerto 9 colocado en el 5 diámetro de cono más grande. Tercero, el cono permite también la visualización de los límites de los componentes como ubicaciones axiales, tales como 5 y 6, en lugar de ubicaciones radiales, tales como 7 y 8 en algunas de las 10 realizaciones. En varias realizaciones, la pared 12 de la Fig. 1 se mueve hacia el diámetro más grande y el volumen troncocónico se reduce a medida que uno o más componentes son transportados desde los puertos, por ejemplo, en 9 y 10, dejando el componente 3 central en su volumen original. En otras realizaciones, la pared 12 permanece en su lugar y se introduce aire en la línea central en 13 para permitir el transporte de los componentes 2 y 4 en 9 y 10 a medida que el núcleo de aire se expande para reemplazar los componentes descargados.

La Fig. 2 es una sección principalmente longitudinal de un dispositivo esencialmente circular, no mostrándose la carcasa externa. En la Fig. 2, se forma un volumen variable hermético a los líquidos, la BSC, a partir de un cilindro 206 cónico, un pistón 210, un sello 211 de pistón y una tapa 215 de extremo. El pistón 210 y el sello 211 son empujados 15 hacia el extremo más grande de la BSC por el muelle 209. El extremo más grande del cilindro 206 está cerrado por la tapa 215 de extremo. En el caso en el que este dispositivo se usa para enriquecer plasma de sangre completa, la tapa 215 de extremo tiene conductos 216 y 217 perforados en la misma para permitir el paso de glóbulos rojos desde el 20 conducto 217 y plasma desde el conducto 216. El conducto 217 se muestra pasando a través del faldón exterior de la tapa de extremo que está en línea con la pared exterior del cilindro 206 cónico. Un conducto perforado a 90° con respecto al mostrado en 217; a través de la cara interior de la tapa 215 de extremo en la posición de ID máxima sería 25 funcionalmente equivalente al mostrado en 217 y tendría una forma similar al conducto 216. Los conductos 217 y 216 se conectan con válvulas formadas por juntas 218 tóricas comprimidas en los rebajes 226 que funcionan de manera concertada con los puertos 228 y 227, respectivamente, en el manguito 213. Estos componentes de válvula se muestran ampliados en las Figs. 3b y 3d. El manguito 213 se ajusta de manera deslizante en la tapa 215 de extremo para permitir que los orificios 228 y 227 de puerto se conecten con los conductos 216 y 217 en los puntos apropiados en el funcionamiento. El manguito 213 está enchavetado en la tapa 215 de extremo para permitir la transmisión del movimiento giratorio entre estos componentes (chaveta no mostrada). El inserto 219 está sujeto a la tapa 215 de extremo para proporcionar un eje para el cojinete 220 de bolas que soporta el extremo izquierdo del conjunto giratorio. Debido a que el manguito 213 está girando con la cámara, se proporciona un cojinete 221 de bolas para conectar el 30 manguito a una perilla 223 no giratoria a través del collar 225 y las varillas 222. La perilla y el manguito pueden colocarse en 3 posiciones: primera posición, puerto 228 abierto y puerto 227 cerrado; segunda posición, ambos puertos 227 y 228 cerrados; tercera posición, puerto 228 cerrado y puerto 227 abierto. El cilindro 206 se fija al eje 205 del motor 201 eléctrico usando un tornillo 207. No se proporcionan cojinetes adicionales en el extremo del motor, siendo 35 suficientes los cojinetes del motor para soportar el cilindro. El conjunto completo está soportado por un bastidor 208, estando situados el cojinete 220 de inserción y el motor 201 en este mismo bastidor. Todos los componentes giratorios giran alrededor del eje XX.

Para usar el dispositivo para preparar PRP, una jeringa 233 con una aguja 234, llena de sangre completa anticoagulada, se inserta en el dispositivo a través del sello 214 elastomérico para cargar la cámara con sangre 229 completa. La perilla 223 se coloca en la primera posición para permitir que el aire se descargue desde el puerto 228 a medida que la cámara se llena de sangre. La sangre 229 completa carga completamente la cámara empujando el pistón 210 y el sello 211 hacia el extremo derecho, comprimiendo el muelle 209.

La Fig. 3a, una sección transversal en AA en la Fig. 2, aclara la construcción de la perilla 223 y los componentes 222 de varilla. La Fig. 3b es una sección transversal en BB en la Fig. 2 que muestra detalles para los componentes de la 40 válvula, que son el rebaje 226 en la tapa 215 de extremo, la junta 218 tórica y el puerto 228 en el manguito 213 (la construcción de la válvula para el puerto 227 es la misma). La Fig. 3c muestra la sección en CC de la Fig. 2.

Una vez cargada la cámara con sangre completa, la perilla y el manguito se colocan en la segunda posición con ambas válvulas cerradas, la jeringa 233 se retira y se arranca el motor. A continuación, el motor funciona durante 15 y 90 segundos, dependiendo de la velocidad usada. Se han usado velocidades de 10.000 rpm a 25.000 rpm, desarrollando aceleraciones centrífugas en el exterior de la cámara giratoria de 1.000 g a 6.000 g.

50 La Fig. 4 muestra el dispositivo de la Fig. 2 en funcionamiento girando a velocidad. El puerto 228 GR y el puerto 227 de plasma están ambos cerrados. El límite entre los GRs y el plasma se muestra en 237. El pistón 210 todavía está en la posición cargada y el muelle 209 está completamente comprimido. El muelle tiene dos funciones, mueve el pistón hacia la izquierda a medida que los glóbulos rojos se descargan de la cámara a través del puerto 228, y el muelle crea una presión mínima significativa en el líquido giratorio: esto previene que el núcleo del líquido giratorio alcance la presión de vapor de los líquidos y puede suprimir el daño celular en algunas circunstancias.

Una vez separados los glóbulos rojos y el plasma, con el dispositivo todavía en rotación, la perilla y el manguito se colocan en la primera posición y los glóbulos rojos se descargan desde el puerto 228 a la carcasa (la carcasa no se

muestra, pero véanse las Fig. 17 y 18) rodeando el dispositivo. La Fig. 5 muestra la situación en el punto medio de la descarga de la GR 231 cuando el pistón 210 está en la posición media. Una vez descargada la mayoría de los glóbulos rojos, la válvula se coloca en la tercera posición y el plasma 230 se elimina desde el puerto 227. La Fig. 6 muestra la situación al final del proceso de enriquecimiento: el puerto 227 de plasma todavía está abierto y el pistón está cerca de

5 la posición más a la izquierda: las plaquetas que tienen una densidad entre la del plasma y la de los GRs están atrapadas en el límite 237 GR-plasma; el puerto de plasma está a punto de cerrarse y el motor está parado.

Los volúmenes típicos para la cámara son de 20-100 ml, y la cantidad de plasma enriquecido que se retirada al final del procedimiento es de aproximadamente una cuarta parte a una octava parte del volumen original, dependiendo del grado de enriquecimiento deseado.

10 Con el fin de retener todas las plaquetas y otros factores que se acumulan en el límite GR-plasma, es esencial cerrar el puerto 228 antes de que se retiren todos los glóbulos rojos, de lo contrario existe el peligro de que estos componentes fluyan hacia fuera con los últimos GRs. Para garantizar que esto no ocurra, el valor de hematocrito de la muestra de sangre se usa para juzgar el volumen residual de la cámara cuando debe cerrarse el puerto de GR. Este volumen es observable como una posición axial del pistón, y la válvula es movida desde la posición uno a la posición tres a medida

15 que el pistón alcanza esta posición predeterminada.

El dispositivo descrito en las Figs. 2 a 6 usa un pistón y un sello que se desplazan en un tubo cónico, pero un cilindro circular recto puede funcionar adecuadamente para mezclas de líquidos distintos de la sangre y en los que el volumen residual del primer líquido descargado no sea demasiado crítico. El tubo cónico tiene las ventajas mencionadas en la descripción de la Fig. 1. La posición del pistón puede ser evaluada visualmente por el operador con relación a las graduaciones en el cilindro (no mostrado), o puede usarse un detector óptico y un sistema de operación de válvula automática (no mostrado).

20 Debido a que el plasma enriquecido residual se inyecta de nuevo al paciente, los materiales usados para este dispositivo deben ser materiales de grado médico, al menos para aquellos componentes que contactan con la sangre.

25 El policarbonato o el PTE son adecuados para el cilindro 206, la tapa 215 de extremo, el manguito 213, el bastidor 208, la perilla 223 y el collar 225. El inserto 219 es de un grado adecuado de acero inoxidable pasivado, tal como 416 o 420.

20 Los cojinetes de bolas deben trabajar a ciclos de alta velocidad, pero funcionan durante tiempos muy cortos, por lo que los cojinetes de acero inoxidable de grado ABMA 1-3 son adecuados. Las juntas 218 tóricas y el sello 211 son de caucho de silicona. Debido a que el motor no contacta con la sangre, los motores industriales (por ejemplo, los fabricados por Mabucci) son adecuados.

30 La Fig. 7 muestra una realización con una vejiga 312 flexible que inicialmente se adapta al orificio del cilindro 306, proporcionando la vejiga una cámara de volumen variable gracias a su capacidad de inversión, tal como se muestra en las Figs. 10 y 11. Esta realización puede servir para reducir el efecto de las burbujas de aire atrapadas.

35 En la Fig. 7, se forma una cámara (BSC) de centrifugadora de volumen variable, hermética a los líquidos, a partir de un cilindro 306 cónico que contiene una vejiga 312 moldeada y una tapa 315 de extremo. La vejiga es capturada en un pliegue 339 de retorno entre una proyección 338 de cilindro y la tapa 315 de extremo. El extremo más grande del cilindro 306 está cerrado por la tapa 315 de extremo. En el caso en el que este dispositivo se usa para enriquecer

40 plasma de sangre completa, la tapa 315 de extremo tiene conductos 316 y 317 perforados en su interior para permitir el paso de glóbulos rojos desde el conducto 317 y plasma desde el conducto 316. Los conductos 317 y 316 se conectan con válvulas formadas por juntas 318 tóricas comprimidas en rebajes 326 que funcionan de manera concertada con los

45 puertos 328 y 327, respectivamente, en el manguito 313. El manguito 313 se ajusta de manera deslizante en la tapa 315 de extremo para permitir que los puertos 328 y 327 se conecten con los conductos 316 y 317 en los puntos apropiados del funcionamiento. La perilla 323 y el manguito 313 pueden colocarse en 3 posiciones: primera posición, puerto 328 abierto y puerto 327 cerrado: segunda posición, ambos puertos 327 y 328 cerrados: tercera posición, puerto 328 cerrado y puerto 327 abierto. El manguito 313 está enclavetado en la tapa 315 de extremo para permitir la

50 transmisión del movimiento giratorio entre estos componentes (chaveta no mostrada). El inserto 319 está sujeto a la tapa 315 de extremo para proporcionar un eje para el cojinete 320 de bolas que soporta el extremo izquierdo del conjunto giratorio. Debido a que el manguito 313 está girando con la cámara, se proporciona un cojinete 321 de bolas para conectar el manguito a una perilla 323 no giratoria a través del collar 325 y las varillas 322. El cilindro 306 se fija al eje 305 del motor 301 eléctrico usando un tornillo 307. No se proporcionan cojinetes adicionales en el extremo del

55 motor, siendo los cojinetes del motor suficientes para soportar el cilindro. El conjunto completo está soportado por un bastidor 308, estando situados el cojinete 320 de inserción y el motor 301 en este bastidor. Todos los componentes giratorios giran alrededor del eje XX. En esta ilustración, el manguito está en la primera posición para mantener el puerto 328 abierto para transportar el aire a medida que la cámara se carga de sangre, y el puerto 327 de plasma está cerrado. La sangre 329 completa carga completamente la cámara. Un sello 314 elastomérico permite la introducción de

una aguja 334 para el paso de sangre completa al interior de la cámara antes del inicio de la rotación, y la eliminación de plasma enriquecido cuando cesa la acción.

La Fig. 8 es una sección transversal del dispositivo mostrado en la Fig. 7 en la sección AA. La sangre 329 completa llena la BSC y la vejiga 312 que está completamente en contacto con el cilindro 306. El bastidor 308 se extiende debajo del conjunto giratorio.

5 La Fig. 9 muestra el dispositivo de la Fig. 7 en funcionamiento, girando a velocidad. El manguito 313 está en la posición dos, con ambos puertos 327 y 328 cerrados. El límite entre los GRs 331 y el plasma 330 se muestra en 337. La vejiga todavía está contra el cilindro, ahora bajo la influencia de la presión desarrollada por la mezcla líquida en rotación.

10 La Fig. 10 representa la situación después de girar durante 60 segundos, más o menos. El manguito 313 se coloca en la posición uno, el puerto 328 está abierto y los GRs 331 se están descargando a través del puerto 328. El puerto 327 de plasma está cerrado. La vejiga se ha movido hacia la izquierda para compensar el volumen de los GRs que se han descargado. La forma adoptada por la vejiga es un equilibrio entre las fuerzas desarrolladas por la presión del líquido que empuja la vejiga hacia la derecha y empujando la presión atmosférica (a través del respiradero 332) la vejiga hacia la izquierda. Debido a que la presión en el centro del líquido en rotación es casi el cero absoluto, la presión atmosférica excede la presión en la izquierda que se ha desarrollado hasta cierto radio, de ahí la forma reentrante de la vejiga. El volumen de plasma 330 se ha mantenido igual que cuando se introdujo. El límite entre los GRs y el plasma se muestra en 337. En esta vista, la descarga de GRs está a punto de detenerse, ya que el volumen 331 residual de GRs es suficientemente bajo.

15 La Fig. 11 ilustra la posición final de la vejiga 312 mientras la rotación continúa, pero justo antes de detenerse. El manguito 313 está en la posición tres, el puerto 328 GR está cerrado y el puerto 327 de plasma todavía está abierto. El plasma se ha descargado a través del puerto 327 y está a punto de ser cortado por la vejiga que rueda sobre la tapa 315 de extremo y corta el conducto 316. Esto ilustra el volumen mínimo de plasma 330 enriquecido. En este punto, el manguito 313 es movido a la posición dos, con ambos puertos cerrados y, a continuación, la rotación se detiene; el líquido residual se retira usando una jeringa de manera similar a la carga descrita en la Fig. 7.

20 Los materiales para el dispositivo de las Figs. 7 a 11 son similares a los del dispositivo de las Figs. 2 a 6: la vejiga puede estar realizada, por ejemplo, en caucho de silicona, poliuretano o cloruro de polivinilo.

25 Para el dispositivo 200 anterior, la posición del pistón proporcionaba la señal para el cierre del puerto 328 GR. En el caso de la vejiga, la vejiga invertida rueda a lo largo del orificio del cilindro cónico, proporcionando la posición axial del borde inverso (etiquetada 312 en la Fig. 11) el volumen y la señal para el cierre del puerto. El corte de la descarga de plasma es automático a medida que la vejiga rueda sobre el conducto 316 de puerto.

30 El dispositivo descrito en las Figs. 12 a 16 utiliza un núcleo de aire y no usa vejiga o pistón.

35 El dispositivo de la Fig. 12 tiene una construcción muy similar a la de las dos realizaciones anteriores, con una BSC formada a partir de un cilindro 406 y una tapa 415 de extremo. En esta ilustración, la sangre 429 completa desde la jeringa 433 llena la cámara centrifugadora a través de la aguja 434 con ambos puertos 428 y 427 cerrados. El aire desplazado por la sangre se escapa a través del espacio libre entre la aguja 434 y el orificio del inserto 419 a medida que se inyecta la sangre. La Fig. 13 muestra la naturaleza de la sección circular de la Fig. 12. Una vez retirada la jeringa de carga, el motor se arranca y la cámara se hace girar a entre 10.000 y 20.000 rpm durante aproximadamente un minuto. En este punto, el manguito 413 es movido a la segunda posición, y los GRs se descargan a través del puerto 428 hasta el punto mostrado en la Fig. 14, donde permanecen los GRs 431 mínimos. Mientras, el plasma adopta la región 430, y se forma un límite 440 en la interfaz radial plasma-aire, habiendo entrado el núcleo 438 de aire a través del orificio del inserto 419 (a través de un filtro en la carcasa no mostrada, pero véanse las Fig. 17 y 18). En 40 este momento, el manguito se mueve a la tercera posición, el puerto 428 cerrado y el puerto 427 abierto. Con este dispositivo preferido no hay vejiga o pistón a observar, de manera que el operador observa la interfaz 436 axial entre los GRs 431 y el plasma 430 de la mezcla para determinar cuándo cerrar manualmente el puerto 428 de GRs y abrir el puerto 427 de plasma. Con sangre, esta interfaz de mezcla es fácil de observar y puede automatizarse con un detector óptico. La diferencia en la resistividad eléctrica entre los glóbulos rojos y el plasma puede usarse también para activar 45 un indicador o una válvula automatizada. Una manera alternativa para determinar el punto en el que cerrar el puerto de GR es usar el tiempo. Después de un minuto en funcionamiento para separar los componentes de la sangre, el puerto de GR se abre y se inicia un temporizador. Debido a que la presión generada en la centrifugadora es una función predecible de la densidad del líquido y la velocidad de funcionamiento, y debido a que el puerto de GR es un orificio calibrado con precisión, el caudal que se está descargando y, por lo tanto, el tiempo, pueden calcularse para un valor 50 de hematocrito determinado.

55 Con el motor todavía en funcionamiento, el plasma se descarga a través del puerto 427 hasta que alcanza la situación en la Fig. 15 donde los GRs residuales están en 431 y el plasma residual en 430. A continuación, el manguito es movido a la segunda posición para cerrar ambos puertos. En el caso del plasma, el conducto 416 se coloca en una ubicación radial precisa para proporcionar un volumen final preciso, ya que no se producirá más flujo de plasma una vez que el núcleo 438 de aire ha crecido hasta esa ubicación radial del conducto. A continuación, el motor se detiene y

el dispositivo se coloca en el extremo, con el motor hacia abajo, de manera que el eje de rotación sea vertical, tal como se muestra en la Fig. 16. El plasma enriquecido restante con algunos GRs se retira con una jeringa y una aguja, tal como se ilustra.

- 5 Un recinto adecuado para diversas realizaciones descritas en esta solicitud se describe en las Figs. 17 y 18; sin embargo, estas dos figuras muestran el recinto aplicado específicamente a la realización de núcleo de aire de las Figs. 12 a 16. El bastidor 508 está montado en un bloque 503 de alimentación con baterías que actúa como base para el recinto. Una carcasa 500 externa rodea la centrifugadora y está fijada al bloque 503 de alimentación con baterías, siendo la junta hermética a los líquidos y al aire. Una perilla 545 selectora de válvula, integral con la excéntrica 546 y el pasador 547, está montada en la carcasa de manera que la perilla 545 selectora pueda ser girada por el operador para accionar la perilla 523 interior a través del pasador 547 en la ranura 548 y, por lo tanto, el collarín 525 y manguito 513 de válvula. En la Fig. 17, el motor 501 que acciona la cámara BSC es controlado manualmente mediante el conmutador 504 conectado al bloque 503 de alimentación con baterías mediante cables 550. Un casquillo 543 montado en el extremo izquierdo del recinto 500 proporciona alineación para la entrada de la aguja de la jeringa (433 de la Fig. 12) cuando se carga la cámara con sangre completa o cuando se extrae el plasma enriquecido. Inmediatamente adyacente 10 al casquillo 543, hay un filtro 544 poroso flexible y perforable. Este filtro tiene dos funciones: filtra el aire que entra al núcleo de la centrifugadora cuando está funcionando, y previene la salida de cualquier aerosol a la atmósfera de fragmentos de sangre generados a medida que la centrifugadora descarga GRs o plasma al interior de la carcasa. Una pequeña hendidura en el filtro permite que la aguja de la jeringa de carga entre sin dañar la eficacia del filtro. Cubriendo 15 la mayoría de las paredes interiores de la carcasa 500, hay un revestimiento 542 altamente absorbente para absorber los RBCS y el plasma descargado al interior de la carcasa a medida que el núcleo 538 de aire se agranda y el proceso de enriquecimiento continúa. Una lente y una máscara 549 colocadas en la pared de la carcasa 500 permiten al operador observar la interfaz 536 axial de los GRs y el plasma a medida que avanza el proceso de enriquecimiento. La máscara y la lente se eligen para mejorar el contraste de la imagen observada de la interfaz 536 de separación de líquidos.
- 20 25 Puede colocarse un fotodetector (no mostrado) en la ubicación de la lente para proporcionar una señal eléctrica del progreso de las interfaces de separación de líquidos, y un actuador de tipo electroimán puede accionar la perilla 545 selectora de válvula. Estos elementos eléctricos, junto con un conmutador manual, pueden usarse para controlar todo el proceso una vez que el motor ha arrancado.
- 30 35 De los ensayos realizados hasta la fecha, en algunas aplicaciones parecería factible usar un programa de temporizador simple para programar los movimientos del manguito. Por ejemplo, la siguiente secuencia puede detener un temporizador una vez que la cámara está cargada de sangre, a) arranque el motor, funcionamiento durante 60 segundos b) apertura del puerto de GR y descarga de los GRs durante 30 segundos, c) cierre del puerto de GR y apertura del puerto de plasma y funcionamiento durante 30 segundos, d) cierre ambos puertos y parada del motor. Dicho dispositivo podría requerir la adición de unos medios para introducir manualmente el número de hematocrito del paciente para permitir proporciones variables de GRs a plasma.

La Tabla 1 proporciona datos típicos obtenidos para el dispositivo de núcleo de aire de las Figs. 12 a 16 usando sangre porcina. Los datos se obtuvieron con funcionamientos de un minuto para la separación inicial y aproximadamente un minuto más para descargar los GRs y el plasma.

Tabla 1

Muestra	Recuento de plaquetas ($\times 10^3$ / microlitro)	Factor de concentración de plaquetas	% de recuperación de plaquetas	% de glóbulos rojos retirados
Referencia	229	NA	NA	NA
Funcionamiento 1	1.656	7,2	100	93
Funcionamiento 2	1.457	6,4	88	92
Funcionamiento 3	1.446	6,3	87	93
Funcionamiento 4	1.685	7,3	100	94

40

Para las tres realizaciones discutidas, pistón, vejiga y núcleo de aire, el tamaño y la posición de los puertos y de los conductos son muy importantes. A medida que la centrifugadora gira, la presión desarrollada en el interior de la cámara

varía según el cuadrado de la velocidad y el cuadrado del radio de rotación. Para obtener un control manual sobre la descarga de los componentes, la descarga debe tener lugar durante un tiempo controlable. El puerto de GR, por ejemplo, debe estar dimensionado para permitir el paso de los GRs durante un período de aproximadamente 30 segundos. Deben seleccionarse las condiciones para permitir que el puerto de GR funcione sin bloqueos cuando los

5 GRs intentan agruparse, y el flujo debe mantenerse lo suficientemente bajo para evitar que las plaquetas se arremolinan en el vórtice de salida. Para las centrifugadoras que usan muestras de sangre completa de aproximadamente 30 ml, se ha encontrado que los puertos GR del orden de 0,2032 mm (0,008 pulgadas) de diámetro funcionan bien si las velocidades están comprendidas en la región de 15.000 a 20.000 rpm y los cilindros de cámara son de aproximadamente 25 a 31,8 mm (1,0 a 1,25 pulgadas) de diámetro en el punto más grande. Los puertos de plasma pueden ser mayores, ya que el riesgo de perder plaquetas es menor: los valores de aproximadamente 0,254 mm (0,010 pulgadas) de diámetro son adecuados. La colocación de los puertos de plasma con relación al eje central de rotación tiene un efecto directo sobre el factor de concentración alcanzable. Cuanto más cerca del centro, se extrae menos plasma y se consigue menos concentración. Además, en diversas realizaciones de la invención discutida, se observará que se crea un pequeño anillo 241, 341, 441, 541 en el extremo de gran diámetro de la cámara. Este anillo crea un área localizada de mayor profundidad radial, pero de pequeño volumen, para los GRs antes de su entrada a los conductos 217, 317, 417 de GR. Este aumento de profundidad reduce la tendencia a que las plaquetas y otros factores deseados salgan con los GRs que están siendo descargados a través del puerto 228, 328, 428 de GR bajo la influencia del vórtice de salida creado localmente cerca de los mismos puertos (no mostrado).

10 En todas las realizaciones discutidas, la precisión del punto de cierre del puerto de GR puede mejorarse empleando un auxiliar de separación, tal como un gel separador fluido de una densidad intermedia entre los glóbulos rojos y las plaquetas. El gel separador se extiende sobre la capa de glóbulos rojos moviendo las otras capas más hacia el eje central. El gel separador tapa automáticamente el primer puerto cuando todos los glóbulos rojos han salido. La viscosidad del gel separador está diseñada de manera que no pase a través del pequeño puerto de salida a la velocidad de centrifugadora empleada en la BSC. El cierre automático del primer puerto puede conseguirse también 15 con una ayuda de separación en forma de un material sólido de densidad intermedia que está diseñado para entrar y cerrar el puerto cuando los glóbulos rojos han salido por completo. Un ejemplo serían perlas de plástico, tales como microesferas con la densidad intermedia deseada, que son lo suficientemente grandes como para tapar el puerto cuando se aglomeran a medida que fluyen hacia el puerto.

20 Para las realizaciones de vejiga y de núcleo de aire, la visualización de los límites axiales GR plasma puede mejorarse incorporando retroiluminación, tal como en forma de un LED montado en el interior de la BSV adyacente a la línea central del motor. Bobinados adicionales en el motor podrían proporcionar la baja potencia necesaria para alimentar la lámpara.

25 Con ajustes en el tamaño y las ubicaciones del puerto y las dimensiones del conducto, la presente invención tiene también la capacidad de separar y concentrar una amplia diversidad de células terapéuticamente beneficiosas y otros componentes biológicos. Muchos de estos componentes biológicos tienen el potencial para una terapia regenerativa y 30 pueden caracterizarse como agentes regenerativos. Estos agentes regenerativos pueden ayudar a la regeneración, restauración o reparación de una estructura o ayudar a la función de un órgano, tejido o unidad o sistema fisiológico para proporcionar un beneficio terapéutico a un ser vivo. Los ejemplos de agentes regenerativos incluyen, por ejemplo: células madre, células grasas, células progenitoras, médula ósea, líquido sinovial, sangre, células endoteliales, 35 macrófagos, fibroblastos, pericitos, células musculares lisas, células progenitoras y precursoras unipotentes y multipotentes, linfocitos, etc. La invención tiene también el potencial de procesar tejidos blandos o líquidos o componentes tisulares o mezclas de tejidos que incluyen, pero que no se limitan a, tejido adiposo, piel, músculo, etc., para proporcionar un agente regenerativo terapéutico. Los productos separados o concentrados resultantes de las 40 diversas realizaciones descritas en la presente memoria pueden usarse como se conoce en la técnica. Los procedimientos de tratamiento médico pueden requerir que el producto concentrado se aplique directamente a un sitio de tratamiento, o se incorpore a un dispositivo de tratamiento (por ejemplo, se administre a un material de implante absorbente antes, simultáneamente o después de la implantación), o incluso se combine con otro material como 45 método de tratamiento, por ejemplo, combinándolo con un material en partículas para formar una pasta (por ejemplo, combinado con una matriz extracelular que se ha formulado como un polvo).

50 El recipiente de la centrifugadora de sangre puede también incorporar un puerto ajustable, por ejemplo, un tubo con un extremo abierto que se extiende radialmente al interior de la BSC y articulado en la periferia exterior de manera que el tubo puede girarse en un arco para que el extremo abierto escanee un intervalo de radios (no mostrado). La ubicación del extremo abierto del tubo puede ajustarse antes o durante la operación de manera que esté situado en la posición deseada con respecto al eje de rotación. Por ejemplo, el puerto de entrada podría situarse hacia la periferia del recipiente de la centrifugadora para ventilar inicialmente las células no deseadas, y puede ajustarse posteriormente hacia el centro del recipiente para ventilar el plasma pobre en plaquetas. De manera alternativa, si lo que se desea es retirar la fracción de plasma, el puerto puede posicionarse de manera que esencialmente solo se extraiga plasma 55 desde la mezcla estratificada.

El aparato puede configurarse también para apagarse, o al menos para dejar de girar, una vez que se ha extraído una cantidad predeterminada de uno o más componentes, tales como plasma. Específicamente, un puerto puede posicionarse de manera que, tras la estratificación, el componente de plasma esté adyacente al puerto. Cuando la válvula para ese puerto se abre, el plasma se envía a través del puerto. El puerto también puede configurarse con un

5 sensor que detecta la presencia o ausencia de plasma. De esta manera, el aparato puede configurarse de manera que el cilindro continúe girando mientras se detecte plasma en el puerto, pero cuando ya no se detecta plasma, el sensor proporciona una señal al motor para que se detenga (deteniendo de esta manera la rotación del cilindro) o señalizando la apertura de un grifo. A medida que continúa retirándose plasma desde el cilindro a través del puerto, eventualmente el suministro de plasma en el radio del puerto se agota, causando de esta manera que se envíe una señal desde dicho 10 sensor, y el cilindro deja de girar. Por supuesto, cada una de estas señales puede generarse con la detección de cualquier capa estratificada, no solo plasma.

Puede ser deseable recoger una o más de las fracciones desecharadas de la muestra líquida, además de la fracción concentrada. Esto puede conseguirse mediante uno de entre diversos métodos. Puede conectarse una bolsa o cámara de recogida a un puerto de salida en el manguito. Esta bolsa o cámara girará con el cilindro, de manera que deben 15 tomarse precauciones para equilibrarla alrededor del eje de rotación. Otro método sería tener un embudo circunferencial opuesto al puerto de salida deseado que recogería la fracción que está siendo descargada y que guiaría el fluido a un punto de recogida por flujo por gravedad. Esto se ilustra adicionalmente más adelante con referencia a la Figura 25.

Otras realizaciones se muestran en las Figs. 19 a 26. Estas figuras describen un dispositivo que usa el principio de 20 núcleo de aire cubierto en las Figs. 12 a 17 pero que incorpora mejoras diseñadas para maximizar el enriquecimiento que puede obtenerse cuando se prepara PRP. La Fig. 19 muestra los dos componentes principales de una centrifugadora diseñada para ser usada en dos componentes, una unidad 601 de accionamiento reutilizable y una parte 600 desecharable. La separación de la centrifugadora en dos componentes permite que el componente desecharable sea más rentable.

25 La Fig. 20a es un esquema que representa una sección de medio espejo de una cámara giratoria definida por las letras 'defg' de límite. Las dimensiones significativas se indican mediante las referencias de longitud L1 a L8, y los radios se identifican como D1 a D8. Tal como puede verse en la Fig. 20a, D1 corresponde a la longitud del radio medido desde el eje XX de rotación hasta el extremo exterior del canal 640, tal como se muestra en esta realización que tiene una cámara opcional en el extremo del canal, donde los GRs 641 salientes entran al conducto 639 de GRs. De manera 30 similar, D2 y D3 identifican los diámetros interiores para los lados derecho e izquierdo, respectivamente, de la cámara en el extremo del canal 640 más alejado del eje XX. D4 y D7 marcan los diámetros exterior e interior, respectivamente, de la parte plana situada en el extremo derecho de la cuña 609. D5 identifica el diámetro en la interfaz entre los glóbulos 641 rojos y la capa 642 leucocitaria. D6 identifica el diámetro en la interfaz entre la capa 642 leucocitaria y el plasma 643. D8 identifica el diámetro interior del conducto 610 de plasma y corresponde a la interfaz de la interfaz de 35 plasma 643 con el núcleo 646 de aire. Las mediciones de longitud L1 a L8 se basan en una distancia medida desde la línea de referencia correspondiente al lado derecho del conducto 610 de plasma. L1 y L2 se miden a los lados izquierdo y derecho, respectivamente, de la cámara en el extremo del canal 640. L3 identifica la longitud a la parte plana en el lado derecho de la cuña 609, medido desde la línea de referencia. L4 y L5 identifican la ubicación de los 40 marcadores 644 izquierdo y derecho. L6 corresponde a la longitud hasta el borde de la cámara giratoria medida en el diámetro correspondiente a la interfaz D6 de capa leucocitaria/plasma. L7 corresponde a la longitud hasta el borde de la cámara giratoria medida en el diámetro correspondiente al diámetro interior de la parte plana situada en el borde derecho de la cuña 609. L8 corresponde a la longitud hasta el borde de la cámara giratoria medida en el diámetro 45 correspondiente al diámetro interior de la entrada al conducto 610 de plasma.

El eje XX de rotación pasa a través del límite 'dg'. El área principal sombreada representa la cámara cónica, teniendo la 45 pared exterior un medio ángulo 'a'. Insertada en el rebaje cónico de la cámara, hay una cuña '609' que tiene una parte troncocónica externa de medio ángulo 'b' que define el canal 640 de GR y un rebaje troncocónico inverso interior que define el medio ángulo 'c' que define el límite del plasma 643. Cabe señalar que no es necesario que el medio ángulo 'b' sea el mismo que el medio ángulo 'a', en otras palabras, el canal 640 puede ser cónico, no paralelo.

A medida que el fluido sale del puerto de salida de GR, el fluido que sale a través del conducto 639 de GR experimenta 50 fuerzas de cizallamiento elevadas, y el canal 640 de GR sirve para garantizar que el puerto de entrada del conducto 639 de GR esté en el extremo del canal 640 y a una distancia alejada de la interfaz GR-BC, con el canal dimensionado para permitir velocidades de flujo locales significativamente más lentas a la entrada de GR al canal 640, con relación a la elevada velocidad de salida que experimentan los GRs cuando salen a través del conducto 639 de GR.

55 Por ejemplo, en una realización, los GRs se recogen en el borde exterior de la cámara giratoria y se descargan a través de uno o más conductos 639 de GRs alimentados desde una ranura o cámara circunferencial, que, a su vez, es alimentada desde un canal 640 circunferencial delgado o, de manera alternativa, secciones circunferenciales que forman múltiples canales 640, que se originan adyacentes a las áreas de recogida de capa leucocitaria. El canal 640

circunferencial tiene una circunferencia muchas veces mayor que la profundidad radial del canal. Para un dispositivo que proporciona una centrifugadora de 60 ml y que tiene un canal con una circunferencia de 114,3 (4,5 pulgadas) por una profundidad radial de 0,508 mm (0,020 pulgadas), el diámetro del orificio para el conducto 639 de GR sería del orden de 0,254 (0,010 pulgadas). Esta combinación girando a aproximadamente 17.000 RPM resultaría en velocidades

5 de 2.000-3.000 cm/seg desde el orificio en el conducto 639 de GR, y solo 1,5 cm/seg a lo largo del canal 640. De esta manera, el canal 640 ralentiza el flujo adyacente a la capa de separación en un factor de más de 1.000 a 1. En otra realización (no mostrada) que no tiene una cámara impelente, los conductos de GR pueden ser alimentados directamente desde el canal circunferencial delgado, comenzando adyacente al área de recogida de la capa leucocitaria. Se esperaría un rendimiento similar, en la consecución de una reducción del caudal en la capa de separación, en comparación con la salida del orificio, que el descrito con referencia a la realización que tiene una cámara impelente.

10 Se ha observado que puede ser beneficioso evacuar los GRs bajo una velocidad de rotación reducida de la cámara giratoria. Esta reducción de la velocidad de rotación debe conseguirse de manera que no interrumpa la estratificación de los componentes separados; la velocidad de rotación reducida no debe reducirse hasta el punto de permitir una degradación significativa de la estratificación establecida de los componentes. Por ejemplo, tras conseguir una estratificación satisfactoria mediante el funcionamiento del dispositivo a una primera velocidad adecuada para la separación, una disminución gradual de la velocidad de rotación mantendrá la estratificación y, una vez que se alcanza una segunda velocidad de rotación, las células GR pueden ser expulsadas a través del conducto 639 de GR, a una velocidad correspondientemente reducida como consecuencia de las menores fuerzas creadas por la velocidad de rotación reducida de la cámara giratoria. Para el ejemplo descrito anteriormente, que tiene una velocidad de rotación de aproximadamente 17.000 RPM para la separación, la reducción gradual puede ocurrir de manera controlada durante un período de tiempo determinado, hasta que se asiente a una velocidad de rotación más baja objetivo, en este nuevo ejemplo girando a aproximadamente 13.000 RPM, para permitir la evacuación de los GRs mientras todavía se conserva la integridad de la interfaz GR/BC. También se reconoce que pequeños ajustes en la sincronización de estas etapas, con propósitos prácticos, pueden conseguir resultados similares, tales como la apertura de la válvula de GR mientras la velocidad todavía está disminuyendo, pero cerca de la tasa de evacuación objetivo.

15 Pueden emplearse modificaciones de las dimensiones o de las velocidades de rotación para asegurar que se pueda realizar una reducción en los caudales localizados, cuando se mide en el conducto 639 de GR y en comparación con la entrada de GR en el canal 640, para conseguir diferentes tasas de reducción, tal como una reducción superior a aproximadamente 500:1 o 100:1, en lugar de la reducción 1.000:1 descrita anteriormente. Tal como puede verse en la realización de la Fig. 20a, el canal 640 está dispuesto en un ángulo a radialmente poco profundo, y se muestra que tiene una cámara impelente en el extremo del canal, desde la cual el conducto 639 de GR proporciona la descarga de los GRs. En otra realización (no mostrada), el dispositivo puede no proporcionar una cámara impelente en el extremo del canal, pero, por el contrario, el extremo del canal puede incluir la salida para el conducto GR, o el canal puede 20 reducir su dimensión (conicidad) y canalizarse directamente hacia la salida para el conducto GR. Tal como se ha descrito anteriormente, los dispositivos de la presente invención tienen como objetivo reducir el efecto de los GRs que salen sobre los componentes de la capa leucocitaria, tal como puede conseguirse proporcionando una separación espacial entre la salida de GRs y la interfaz de GR/capa leucocitaria. Es esta separación espacial, con o sin cámara impelente en el canal, la que reduce la tendencia de las plaquetas y otros factores deseados a salir con los GRs que 25 están siendo descargados a través del conducto 639 de GR bajo la influencia del vórtice de salida creado localmente cerca del puerto. Al hacer funcionar el dispositivo de una manera que previene que los componentes de plasma o de la capa leucocitaria entren al canal 640, el efecto de las elevadas fuerzas de cizallamiento se limitará solo al componente GR, y no podrán interrumpir la interfaz entre GR y la BC.

30 De manera similar, al colocar el conducto de plasma 610 en una ubicación alejada del componente de la capa leucocitaria (y opcionalmente situado en el interior de una cámara impelente tal como se representa en la Fig. 27a), y con la interfaz capa leucocitaria/plasma que no se extiende hacia el interior más allá de D7, la capa leucocitaria puede estar contenida en el interior de la cámara, tal como con el ángulo c poco profundo, las elevadas fuerzas de cizallamiento en el conducto 610 de plasma no causarán la interrupción de la interfaz BC-plasma. De esta manera, hay una reducción en la tendencia de las plaquetas y de otros factores deseados a salir con el plasma descargado a través 35 del conducto 610 de plasma bajo la influencia del vórtice de salida creado localmente cerca del puerto. Aunque se representa en la Fig. 20a como situado en la base de la cuña 609, el conducto de plasma puede estar situado en otro lugar, siempre que la abertura tenga un radio adecuado que sea menor que el radio de la interfaz de capa leucocitaria-plasma, tal como en una ubicación correspondiente a L8 en la Fig. 20a. A través de estas características, las 40 realizaciones descritas ayudan a conservar sustancialmente todo el componente de la capa leucocitaria en el interior de la cámara y a mejorar la concentración o la eficiencia de enriquecimiento del producto terminado.

45 Además, con referencia a la Fig. 27a, se representa una realización idéntica a la mostrada en la Fig. 20a, excepto que se incluye una cámara 655 de plasma en forma de ranura circunferencial (o partes de una ranura circunferencial) que aloja el orificio o los orificios que conducen al conducto 610 de plasma. En esta realización, el plasma que sale fluirá a

lo largo del canal cónico definido por los límites de la cuña 609 y la interfaz del núcleo de aire con el plasma. Mientras la cámara está girando y se abre la válvula de plasma, el plasma fluirá hacia los conductos de plasma (representados aquí situados en la base de la cuña 609), y se derramará sobre la base de la cuña y al interior de una cámara 655 de plasma. Una vez en el interior de la cámara impelente de plasma, el plasma fluirá a lo largo de la longitud de la cámara impelente (es decir, circunferencialmente) hasta que encuentre y salga a través del orificio o de los orificios que conducen al conducto 610 de plasma. Mientras el plasma se desplaza en el interior de la cámara 655 impelente, no ejercerá fuerzas de cizallamiento sobre la interfaz plasma/capa leucocitaria, que está alejada a una distancia, y físicamente protegida por la presencia de la cuña 609.

La comparación de las Figuras 20b y 27b permitirá la visualización de la dirección del flujo de fluido a medida que el plasma se acerca a la salida de plasma, bien como una pendiente continua (la geometría mostrada en la Fig. 20b), o bien con una cámara 655 impelente (la geometría mostrada en la Fig. 27b). Estas figuras representan una vista de proyección, mirando hacia abajo, hacia la abertura del conducto 610 de plasma, como si se estuviera observando desde el eje de rotación hacia el diámetro exterior de la cámara.

Con referencia a la Fig. 20b, el plasma se representa como desplazándose de derecha a izquierda, y a medida que el fluido se acerca al borde izquierdo de la cámara, el fluido será arrastrado hacia las salidas para el conducto 610 de plasma. En esta realización sin cámara de plasma, las fuerzas de cizallamiento se reducirán proporcionalmente a medida que aumenta la distancia desde la abertura, de esta manera, a medida que el plasma se desplaza a lo largo de la cara interior de la cuña (a lo largo del ángulo c), las fuerzas de cizallamiento no serán necesariamente uniformes a lo largo de todo el diámetro de la región, sino que serán mayores junto a las ubicaciones de las aberturas al conducto 610 de plasma. Aunque la geometría de la Fig. 20a se ha determinado empíricamente de manera que sea efectiva para minimizar las fuerzas de cizallamiento que afectan a la interfaz capa leucocitaria/plasma, es posible reducir adicionalmente las fuerzas de cizallamiento experimentadas en la parte plana de la cuña durante el funcionamiento del dispositivo.

Con referencia a la Fig. 27b, el plasma se representa como desplazándose de derecha a izquierda, y entra a la cámara 655 de plasma, antes de fluir a lo largo de la cámara hacia las aberturas 610. Tal como puede observarse mediante las flechas uniformes (lado derecho) que representan flujo de fluido hacia la cámara 655, se espera que la presencia de la cámara reduzca las variaciones en la fuerza de cizallamiento, cuando se mide circunferencialmente en el interior del canal de plasma (fluyendo el plasma entre la cara de la cuña en el ángulo c y el núcleo de aire), a medida que el plasma se acerque la base de la cuña 609, y fluye al interior de la cámara 655 de plasma y, de esta manera, crea un efecto similar al agua que fluye sobre la parte frontal de una presa. Es decir, antes de superar la obstrucción, bien aguas arriba de la presa, o bien antes de entrar a la cámara impelente, los fluidos fluyen lenta y suavemente, a continuación, una vez pasada la obstrucción, bien aguas abajo de la presa o bien en el interior de la cámara impelente, los caudales de fluido serán relativamente mucho más altos y menos uniformes. Tal como puede observarse mediante las flechas que representan el patrón de flujo de fluido, se espera que el flujo de plasma hacia la cámara de plasma se distribuya de manera uniforme sobre todo el diámetro, a continuación, una vez que el plasma haya superado la cuña y esté en el interior de la cámara 655, entonces habrá grandes variaciones en el movimiento del fluido a medida que el plasma fluye desde las una o más aberturas al conducto 610 de plasma. Debido a que las fuerzas de cizallamiento de dirección variable están en gran medida contenidas en el interior de la cámara impelente, y no afectan al plasma que fluye a lo largo de la cara de la cuña, se esperaría que esta realización permitiera factores de enriquecimiento mejorados de los componentes de la capa leucocitaria. La geometría de esta realización permite minimizar el plasma retenido, medido como la profundidad entre D8 y D6, debido a la menor variabilidad de los caudales de flujo de plasma, cuando se mide circunferencialmente a lo largo del canal de plasma, que sino tendería a interrumpir la interfaz capa leucocitaria/plasma.

Además, con referencia a la Fig. 20a, cabe señalar que el volumen de plasma que permanece después de que todo el plasma descargado ha salido de la cámara está definido por los diámetros D8 y D6 límite. Este volumen puede ajustarse para obtener el valor de enriquecimiento deseado mediante el ajuste de estas mismas dimensiones mencionadas.

También debería aclararse que, para obtener altos grados de enriquecimiento, la profundidad del plasma debajo de la capa leucocitaria (tal como se observa en la Fig. 20a) debe disminuir (la dimensión del diámetro (D6-D8)/2 disminuye), de manera que el riesgo de pérdida de plaquetas aumenta debido a que el plasma que fluye hacia fuera cizalla la interfaz capa leucocitaria/plasma más cerca. Sin embargo, la presión que impulsa el flujo de salida del plasma cae gradualmente a cero a medida que el diámetro del plasma se acerca a D8, ya que la presión que impulsa el flujo de plasma es proporcional al cuadrado de la velocidad de rotación, multiplicado por la diferencia de los cuadrados del radio de la abertura del conducto de plasma situado en D8 y del radio de la interfaz plasma/aire en el interior de la cámara.

Aprovechando este efecto de flujo con reducción constante a medida que el plasma se acerca a D8, puede minimizarse la profundidad del plasma (D8-D6), con poca pérdida de la capa leucocitaria debida al cizallamiento, y se minimiza el volumen de plasma residual y se maximiza el enriquecimiento.

En breve, la cizalladura GR/capa leucocitaria se minimiza usando el canal de diámetro exterior para controlar la cizalladura GR/capa leucocitaria, y la cizalladura plasma/capa leucocitaria es controlada por la geometría y la reducción de la presión impulsora de plasma a núcleo de aire.

De esta manera, mientras la cámara está girando, y antes de la descarga de cualquier parte de plasma, hay una cabeza de presión más grande que impulsa el plasma a través de la salida de plasma y al interior del conducto 610 de plasma, posteriormente, a medida que disminuye el volumen de plasma en la cámara, la cabeza de presión por encima de la salida de plasma se reduce en una cantidad proporcional, hasta que el nivel de plasma alcanza el nivel de la salida de plasma en D8, y termina todo el flujo de plasma a través del conducto 610 de plasma. A medida que se reduce el caudal a través del conducto 610 de plasma a medida que se reduce el volumen de plasma, esto proporciona el beneficio añadido de que la tendencia a que las fuerzas de cizallamiento afecten a la capa leucocitaria se minimiza, ya que en el punto en el que el plasma que fluye hacia fuera y la capa leucocitaria están más cerca uno de otro (es decir, la distancia entre D6 y D8 es mínima), el caudal de evacuación de plasma será el más bajo.

Durante el funcionamiento, la sangre llena la cámara y, después de un período de tiempo a velocidad, se separa en glóbulos rojos (GR), capa leucocitaria y plasma. Después de la separación, el conducto 639 de GR se abre y los GRs se descargan desde el conducto 639 de GR, siendo evidente la interfaz de los GRs en L5 en la superficie cónica transparente. Hay marcadores visibles colocados en la cámara en L5 y L4 para guiar a un operador en el cierre del conducto 639 de GR: cuando la interfaz GR llega a algún punto entre L5 y L4, la descarga de GRs fuera del conducto 639 de GR se detiene mediante la manipulación de las válvulas que se describirán más adelante. En este punto, los GRs residuales ocupan un volumen predefinido definido por el canal 640 cónico y el rebaje circunferencial en el extremo izquierdo del canal 639 GR. Cuando se recoge la capa leucocitaria (BC) 642, definida en la ilustración por el sombreado en forma de panal, es importante prevenir que la BC migre al canal 640 de GR, ya que la BC no puede recuperarse al final del procedimiento si migra al mismo. Para garantizar que esto no suceda, la velocidad a la que la interfaz GR parece moverse a lo largo de la superficie cónica de la cámara se controla a una velocidad que es lo suficientemente baja como para que un operador detenga el proceso (cerrando el conducto 639 de GR) a medida que la interfaz se desplaza entre los fabricantes situados en L5 y L4. Esta velocidad es una función de la velocidad de rotación, del diámetro de la cámara, del tamaño del puerto de descarga de GRs conectado a la etapa 639 y del medio ángulo 'a' de la cámara. Estas variables se ajustan para dar una velocidad de interfaz en L5 o L4 que sea manejable por un operador humano, pero que no impida la rápida separación requerida (proceso completo de separación, descarga de GRs no deseados y plasma en menos de 2 minutos). Ensayando varios parámetros, se ha determinado experimentalmente que una velocidad de interfaz de aproximadamente 4 mm/seg permite una intervención precisa del operador, aunque se reconoce que pueden ser deseables velocidades más altas y más bajas, en el intervalo de menos de 10 mm/seg (en el caso en el que la interfaz de GR a capa leucocitaria es detectada por sensores ópticos o similares, la velocidad de aproximación de la interfaz puede exceder la velocidad de 10 mm/seg). Cuando la descarga de GRs se detiene, la BC es capturada al final de la parte plana en el extremo derecho de la cuña 609, definido por los diámetros D4 y D7. Aunque la parte plana se representa en la Fig. 20a como estando a 90 grados con relación al eje de rotación, se prevé que la parte plana pueda estar en otro ángulo con relación al eje de rotación. Si los GRs se detienen en L5, el diámetro externo de la BC es D5, si los GRs se detienen en L4, el diámetro externo de la BC es D4. El volumen de la capa leucocitaria (BC) es aproximadamente el 0,5% del volumen de sangre introducido inicialmente, de manera que la parte plana en el extremo de la cuña (D4, D7) puede definirse para garantizar que, en el peor de los casos (GR detenidos en L5), la BC permanezca en la parte plana y no se extienda al cono interior de medio ángulo 'c'. Una vez cerrado el conducto 639 de GR, el conducto 610 de plasma se abre y el plasma fluye para su descarga. La ilustración muestra la situación cuando todo el plasma ha salido del conducto 610 de plasma y el flujo se ha detenido debido a que el núcleo 646 de aire se ha expandido hasta el diámetro de la entrada del conducto en D8. La prevención de que la BC entre al cono interior es importante, ya que la velocidad axial de la superficie del plasma se acelera a medida que se acerca al conducto 610 de salida y la rápida velocidad de cizallamiento en la interfaz BC/plasma resulta en la pérdida de plaquetas en el plasma. Con la separación radial de BC a núcleo de aire (D6-D8)/2 del orden de 1 mm-2 mm, la pérdida de plaquetas en plasma es aceptable y pueden obtenerse, de manera consistente, factores de enriquecimiento (EF) de 8:1 o más. Los factores de enriquecimiento se definen mediante la siguiente ecuación: $(EF = (N^o \text{ de plaquetas capturadas en la muestra de BC por unidad de volumen}) / (N^o \text{ de plaquetas en la muestra de sangre completa original por unidad de volumen}))$. Fundamentalmente, este diseño ha sido concebido para minimizar el cizallamiento en las interfaces GR/BC y BC/plasma y, por lo tanto, reducir la pérdida de BC a la descarga de GR o la descarga de plasma.

En una realización, la orientación del dispositivo durante el uso es con el eje XX de rotación vertical, con la válvula 602 de puerto en la parte superior del dispositivo. Como consecuencia de la geometría de la cámara giratoria, cuando se detiene la rotación, cualquier fluido (por ejemplo, GR) que esté en el interior del canal 640, tenderá a permanecer

contenido en ese canal, y sustancialmente la totalidad del otro fluido por encima de la línea correspondiente a la parte 608 plana de la cuña 609 mientras está en funcionamiento (es decir, a la derecha de L3 en la Fig. 20a), fluirá por gravedad, tras cesar la rotación, y se acumulará directamente debajo de la válvula 602 de puerto, y está disponible para ser recogido, tal como arrastrado hacia una aguja dirigida a través de la válvula de puerto y al conjunto de materiales concentrados. Se reconoce que las diversas realizaciones descritas en la presente memoria pueden 5 hacerse funcionar en otro ángulo (por ejemplo, horizontal), y, a continuación, pueden girarse opcionalmente a la vertical para la recogida, tras cesar la rotación. Al mantener los GRs confinados en el interior del canal 640 tras cesar la 10 rotación de la cámara, puede maximizarse la concentración de los componentes de la capa leucocitaria, ya que esos materiales en el interior del canal (por ejemplo, GRs) no están disponibles para diluir adicionalmente la capa 15 leucocitaria concentrada u otros componentes de la sangre. En algunas realizaciones, puede ser ventajoso añadir un revestimiento modificador de tensión superficial (por ejemplo, revestimiento hidrófilo o hidrófobo) a al menos una parte de la cámara giratoria, tal como la parte 608 plana en el extremo de la cuña 609 para prevenir que parte de la BC capturada permanezca en la parte plana debido a la tensión superficial. Además, puede ser beneficioso proporcionar un ángulo (por ejemplo, de 1 a 45 grados) a la parte plana de la cuña, con el fin de dirigir el flujo de fluido hacia el área de recogida central, si está en una orientación generalmente vertical.

Se ha observado que, al hacer que la cámara giratoria se desacelere rápidamente, esto conduce a un aumento en la cantidad de plaquetas en el área de recogida, con relación a una desaceleración más gradual de la cámara giratoria. 20 Se cree que la desaceleración rápida creará una mezcla de los componentes por encima de la parte plana de la cuña, y evitará la aparición de componentes residuales concentrados de la capa leucocitaria que quedan sobre la superficie de la parte plana de la cuña. Se cree que los glóbulos rojos que permanecen en el interior de la cámara y en el interior 25 del canal permanecerán en gran medida contenidos en el interior del canal y no se mezclarán con la capa leucocitaria, incluso después de una desaceleración rápida.

La geometría de las realizaciones del dispositivo que incorpora la cuña 609 proporciona al menos 3 beneficios que 30 ayudan a la eficiencia y al funcionamiento del dispositivo, ya que la cuña 609 sirve para: 1) crear una separación espacial; 2) formar el canal; y 3) aumentar la profundidad aparente de los líquidos. Primero, la cuña crea una separación espacial entre las salidas para el plasma y los GRs y, por lo tanto, puede minimizar los efectos de las 35 fuerzas de cizallamiento en la salida que afectan a los componentes de la capa leucocitaria que permanecen distantes a lo largo de la parte plana de la cuña. En segundo lugar, la cuña forma parcialmente el canal, ya que la superficie más externa de la cuña, en el ángulo b, proporciona parte del límite interior del canal 640. En tercer lugar, la cuña mejora la facilidad de operación del dispositivo, ya que mejora la profundidad aparente de los líquidos desplazados por la existencia de la cuña. Es decir, la cuña sirve para desplazar el volumen de los fluidos que están en la región de la cuña (entre D2 y D8), y tiene el efecto de aumentar la profundidad aparente de estos líquidos, ya que las dimensiones entre D4 y D5 aumentan debido al desplazamiento, y necesariamente la separación entre los marcadores 644, en L4 y L5, 40 puede hacerse por consiguiente más grande y proporcionar una mayor resolución para el operador. Con el efecto de que ahora el operador puede determinar con mayor precisión cuándo detener la descarga de GR a través del conducto 639 de GR.

La Fig. 21 muestra el dispositivo de la Fig. 19 ensamblado y en el estado de funcionamiento con el puerto 638 de GR abierto, el puerto 612 de plasma cerrado y el GR descargado al receptor 647 de GR-plasma. Todavía no se ha 45 descargado plasma 643 a la cámara receptora. El núcleo 646 de aire está completamente establecido y los componentes de fluido separados están establecidos con límites claros. La cámara que contiene sangre de la centrifugadora giratoria está formada por dos elementos, el cilindro 606 cónico y la tapa 614 de extremo. Esta cámara gira en dos cojinetes 619 y 604, en el que el cojinete 604 más pequeño sitúa el extremo estrecho de la cámara y el cojinete 619 más grande sitúa el extremo más grande de la cámara indirectamente a través del eje 617 de accionamiento y la tapa 616 de la válvula. El cojinete 604 más pequeño está montado en la cubierta 607 intermedia transparente y el cojinete más grande en el seguidor 618. La tapa 616 de la válvula gira con los componentes de la cámara accionados por una chaveta o un pasador (no mostrado) desde la tapa 614 de extremo, y puede trasladarse axialmente a lo largo del eje de rotación impulsado axialmente por el seguidor 618 que, a su vez, es movido axialmente 50 por los seguidores 620 de leva y las levas 621. El movimiento axial de la tapa 616 de la válvula controla la posición del puerto 638 de GR y del puerto 612 de plasma y, de esta manera, controla la descarga de GRs desde el conducto 639 de GR o de plasma desde el conducto 610 de plasma. Las levas 621 (típicamente 3, pero pueden ser más o menos de 3) son integrales con el tambor 613. El seguidor 618 puede moverse axialmente en el interior del tambor 613 pero las chavetas 631 macho en el seguidor y las chavetas hembra en la subestructura 624 previenen su rotación. Haciendo girar el tambor 613, el operador mueve el seguidor 620 axialmente y, de esta manera, controla la posición de los puertos 638 y 612 de RBS y de plasma. El receptor 647 de GR-plasma rodea los elementos giratorios para capturar los GRs descargados y el exceso de plasma y se mueve axialmente con la tapa 616 de la válvula.

La separación entre el eje 617 y la tapa 616 de la válvula, y la separación entre la tapa 616 de la válvula y la tapa 614 de extremo afectan al ajuste y a la concentricidad entre la tapa 614 de extremo y la tapa 616 de la válvula. Las juntas 55 648 y 611 tóricas actúan como sellos y/o actúan como suspensiones entre estas dos tapas. Si los espacios libres se

mantienen muy pequeños, las juntas tóricas actúan solo como sellos, pero si el espacio libre se incrementa sustancialmente, las juntas tóricas realizan una doble función como sellos y suspensiones. Dichas características de suspensión pueden seleccionarse de manera que la frecuencia natural de la tapa 616 de la válvula que oscila en el conjunto de la cámara (eje 617, tapa 614 de extremo y cilindro 606) sea sustancialmente más baja o sustancialmente más alta que la velocidad de funcionamiento.

El acoplamiento 633 centrífugo fijado al eje 617 de accionamiento acepta el accionamiento torsional desde el motor 626 a través del acoplamiento 629 del motor. El motor 626 está montado en la subestructura 624 que está fijada firmemente al recinto 625 de la base. Un pestillo 622 activado por el operador asegura que la parte 600 desecharable esté firmemente situada con relación a la parte 601 reutilizable enganchando un anillo integral con el tambor 613.

- 10 La parte 600 desecharable llega como una unidad estéril y se usa adyacente a un campo estéril en un entorno operativo. Tras la finalización del procedimiento para preparar y aplicar PRP o PPP (que podría implicar hacer funcionar el dispositivo múltiples veces para múltiples aplicaciones para un único paciente), la parte 600 desecharable se desecha a la corriente de bio-residuos. Sin embargo, la parte 601 reutilizable permanece en el quirófano y puede ser desplazada a otro lugar para su almacenamiento. Para garantizar que la sangre entera o los componentes sanguíneos no contaminen la parte 601 reutilizable, pueden emplearse una diversidad de elementos para prevenir la salida de estos fluidos. Con referencia a la Fig. 26, arandelas 632 y 636 absorbibles pueden capturar cualquier derrame desde el receptor 647, y el acelerador 649 de gel puede causar que los fluidos descargados en el receptor 647 se gelfiquen en una masa gelatinosa no fluida. De manera alternativa, unos cojinetes sellados (no mostrados) en 619 y diafragmas rodantes (no mostrados) entre el tambor 613 y el seguidor 618 pueden capturar todos los líquidos. Las arandelas absorbibles pueden estar realizadas en polietileno poroso (tal como se comercializan bajo el nombre comercial 'Porex'), polímeros superabsorbentes, poliacrilatos, polielectrolitos, hidrogeles, tiza o tejidos, u otros materiales adecuados conocidos en la técnica. Los aceleradores de gel pueden estar realizados en materiales suministrados por Multisorb Technologies, Inc. bajo el nombre Drimop®. Los residuos del PRP recogido en la cámara están contenidos por la válvula 602 de puerto. Las combinaciones de estas soluciones a las fugas serán también evidentes para las personas expertas en la materia.

Las Figuras 28 - 31 representan un receptor 700 de válvula de indexación radial, que es una realización alternativa del receptor 647 de GR-plasma descrito anteriormente. Este receptor de válvula de indexación radial incorpora una válvula de indexación radial que funciona en cooperación con el tambor 613 giratorio y el seguidor 618 (tal como se ha mostrado previamente en la Fig. 21) con el fin de prevenir que el contenido se derrame desde el receptor. El receptor 700 de válvula de indexación radial consiste en dos componentes de acoplamiento, la válvula 701 superior y la cámara 702 de almacenamiento inferior. La válvula 701 superior incluye preferiblemente cuatro ranuras 704 y la cámara 702 de almacenamiento inferior incluye cuatro ranuras 705. El número de ranuras puede variarse y, típicamente, el número de ranuras en cada componente es el mismo. La válvula 701 superior incluye pestañas 703 de indexación que cooperan con las ranuras (no mostradas) en el tambor 613 de manera que la válvula 701 superior gire cuando se hace girar el tambor 613. La válvula 701 superior incluye también una ventana 707 de entrada de líquido de 360 grados. La cámara 702 de almacenamiento inferior incluye ranuras 706 en su circunferencia interior que cooperan con pestañas (no mostradas) en el seguidor 618. Las ranuras 706 sirven para enchavetar la cámara 702 de almacenamiento inferior al seguidor 618 y previenen que la cámara 702 de almacenamiento inferior gire cuando se hace girar el tambor 613. Con referencia a la Fig. 30, la válvula 701 superior y la cámara 702 de almacenamiento inferior incluyen características 709 y 708 de enclavamiento anulares. Tal como puede observarse más detalladamente en la representación desmontada de la Fig. 31, las características de enclavamiento incluyen las ranuras 704, 705 y superficies 710, 711 de acoplamiento. Tal como puede observarse en la Fig. 30, las características 709, 708 de enclavamiento definen un ajuste de interferencia de manera que la válvula 701 superior y la cámara 702 de almacenamiento inferior puedan ajustarse a presión donde las superficies 710 y 711 de acoplamiento crean un sello hermético al agua. Durante el uso, el receptor 700 debe suministrarse en la posición mostrada en la Fig. 28, donde las ranuras 704 en la válvula 701 superior no están superpuestas con las ranuras 705 en la cámara 702 de almacenamiento. A continuación, la cámara 646 de centrifugadora debe llenarse con sangre y la centrifugadora se activa. Cuando el tambor 613 se hace girar para abrir el puerto 638 de la válvula de GR (tal como se ha descrito anteriormente con referencia a la Fig. 21), la válvula 701 superior gira con el tambor, solapando de esta manera al menos parcialmente las ranuras 704 y 705 y, creando de esta manera un conducto entre los dos componentes 701 y 702 de receptor, y, tal como se observa en la Figura 29. Los GRs 641 expulsados entran a la válvula 701 superior a través de la ventana 707 de entrada de líquido de 360 grados y son drenados por gravedad al interior de la cámara 702 de almacenamiento inferior, a través de la región superpuesta de las ranuras. Cuando el tambor 613 se hace girar de nuevo a su posición inicial para detener el flujo de los GRs 641 desde el puerto 638 de la válvula, las ranuras 704 y 705 vuelven a la posición no superpuesta mostrada en la Figura 28, sellando de esta manera los GRs en la cámara 702 de almacenamiento inferior. De manera similar, cuando el tambor 613 se hace girar en la dirección opuesta para abrir el puerto 612 de plasma, se causa que los lados opuestos de las ranuras 704 y 705 se solapen, permitiendo de esta manera que el plasma 643 expulsado sea drenado al interior de la cámara 702 de almacenamiento inferior a través de las ranuras superpuestas. A continuación, el tambor 613 se gira de nuevo a su posición inicial al final del proceso para devolver las ranuras 704 y 705 a la posición no

superpuesta, sellando de esta manera el fluido desecharado en la cámara 702 de almacenamiento inferior. Esto previene cualquier derrame del fluido durante la manipulación y la eliminación subsiguientes de la parte 600 desecharable.

El dimensionamiento típico de las ranuras 704 y 705 es tal que habrá una superposición cuando la válvula 701 superior se hace girar en cualquier dirección. En una realización preferida, cada una de las ranuras 704 de la válvula superior

5 abarca 30 grados de la circunferencia, mientras que las ranuras 705 de la cámara de almacenamiento inferior abarcan 50 grados de la circunferencia. Este dimensionamiento deja 5 grados entre los bordes de las ranuras, cuando están en la orientación cerrada. El tambor 613 debe ser girado aproximadamente 35 grados para abrir los puertos en la tapa 616 de la válvula. Esto causará una superposición de las ranuras 704 y 705 de 30 grados o, dicho de otra manera, cada ranura 704 completa de la válvula 701 superior estará totalmente abierta a la cámara 702 de almacenamiento inferior a través de la ranura 705. Otras combinaciones de geometría y de colocación de ranuras son posibles y serían obvias para una persona experta en la materia. La válvula 701 superior y la cámara 702 de almacenamiento son típicamente componentes moldeados por soplado, que usan resinas termoplásticas elásticas, incluyendo, pero sin limitarse a, polipropileno y polietileno.

10 La parte 601 reutilizable es alimentada por un transformador montado en un cable (no mostrado) desde un suministro de CA o desde un bloque de alimentación de CC, tal como los usados para taladros sin cables y similares. Los elementos adicionales no mostrados son (pero no se limitan a) una pantalla simple montada en el recinto 625 de la base que indica el encendido y apagado de la centrifugadora, el tiempo transcurrido desde el encendido y puede incluir elementos tales como una alarma audible para avisar al operador cuando los tiempos transcurridos alcanzan ciertos niveles. Además, commutadores de efecto hall o commutadores de lámina (no mostrados) montados en la base 625, 20 que responden a imanes montados en la parte 600 desecharable, pueden usarse para indicar la rotación del tambor 613 en el recinto 625 de la base, y/o pueden usarse para seleccionar velocidades de motor variables que podrían ser necesarias para una separación óptima de los componentes del fluido.

25 En lugar de que un operador haga girar manualmente el tambor 613, unos actuadores (por ejemplo, combinaciones de motor/caja de engranajes o elevadores mecánicos) en la base 625 pueden hacer girar el tambor automáticamente en respuesta a las señales desde los commutadores descritos anteriormente y/o desde un pequeño ordenador de estado sólido empleado para optimizar el funcionamiento.

La Fig. 22 es una sección transversal simplificada de la Fig. 21 en AA. La sangre se ha separado en sus componentes principales plasma 643, GRs 641 y capa leucocitaria (BC) en 642.

30 La Fig. 23 es una sección transversal simplificada a través de BB de la Fig. 21. Esta sección muestra la construcción de la válvula de plasma que consiste en el conducto 610 y la junta 611 tórica. La construcción de estos puertos de salida es similar a la mostrada en la Fig. 3b. Cuando se abre esta válvula, el puerto 612 se moverá a una posición alineada con el conducto 610, para permitir el flujo de fluido a través del mismo.

35 La Fig. 24 muestra el dispositivo de la Fig. 21 funcionando en la situación en la que el puerto 638 de válvula de GR está cerrado, el puerto 612 de plasma está abierto y la descarga de plasma se ha completado. El volumen de plasma 643 es el volumen final.

Cuando se requiere plasma pobre en plaquetas (PPP) para un procedimiento, se requiere una configuración ligeramente diferente para el receptor de PPP. La Fig. 25 tiene la mayoría de los componentes similares a los mostrados en la Fig. 21, pero hay dos receptores, uno para los GRs 637 y otro para el PPP 635. Debido a que dos componentes del fluido son capturados por la descarga desde la cámara giratoria, ambos receptores deben ser fijados 40 axialmente con relación al tambor 613 para aceptar las ubicaciones axiales diferentes del puerto 612 de plasma y del puerto 638 de GR a medida que descargan el componente de fluido apropiado. Un puerto 645 de acceso de plasma abarca las paredes del receptor 635 y se extiende a través de la ranura o abertura (no mostrada) en el tambor 613. Este puerto es de material elastomérico, tal como caucho de nitrilo, que permite el paso de una aguja hipodérmica para la extracción de PPP.

45 Durante el uso, el operador coloca una parte 600 desecharable estéril en la parte 601 reutilizable, siendo preestablecida la posición del tambor en la fábrica a la posición donde están cerrados tanto el puerto 612 de plasma como el puerto 638 de GR. A continuación, el operador llena una jeringa con sangre completa del paciente e introduce la sangre a través de la jeringa a través de la válvula 602 de puerto al interior de la cámara de la centrifugadora hasta que la cámara se llena. El dispositivo se activa y el motor funciona durante aproximadamente un minuto, tiempo en el que la sangre se ha separado en las capas primarias de GR, capa leucocitaria y plasma. En este momento, el tambor se gira 50 para posicionar la válvula de GR en la posición abierta, después de lo cual los GRs empiezan a descargarse al interior del receptor 637. A medida que se descargan los GRs, la interfaz entre los GRs y la capa leucocitaria (D5 en la Fig. 20a) se acerca a las marcas sobre el cilindro giratorio en 644 (L5 y L4 de la Fig. 20a). Cuando la interfaz está entre las marcas en 644 (aproximadamente 30 segundos después de abrir el puerto 638 de GR), el tambor se gira para cerrar el puerto de GR y abrir el puerto 612 de plasma. A continuación, el plasma se descarga al interior del receptor y continúa 55

haciéndolo hasta que el núcleo de aire limita la descarga adicional. En este punto (aproximadamente 30 segundos después de que abrir el puerto de plasma), el motor se detiene y la muestra residual enriquecida en la cámara se retira a través del puerto 602 con una jeringa y una cánula para la inyección en el paciente (o en el material a ser usado como un implante) En el caso de una preparación de PPP, el proceso es el mismo que el descrito para PRP, excepto

5 que el dispositivo se ajusta al dispositivo mostrado en la Fig. 25 y el PPP se extrae desde el puerto 645 elastomérico lateral de la Fig. 25.

Se reconoce que empleando velocidades de centrifugación variables y alterando los diámetros en los que se colocan las salidas de la cámara, es posible concentrar diferentes componentes o aislar fracciones de diferentes densidades del material fluido en el interior de la cámara giratoria. Por ejemplo, el giro a una velocidad más lenta, tal como conocen 10 las personas expertas en la materia, y la eliminación de la mayor parte de los GRs tal como se ha descrito anteriormente, proporcionarán un material de plasma con plaquetas suspendidas. Cuando se hacen girar a velocidades más bajas, las plaquetas no se diferenciarán por densidad del plasma. Tras aumentar la velocidad de rotación, las plaquetas tenderán a diferenciarse por densidad del plasma, permitiendo flexibilidad en la consecución de la combinación deseada de productos sanguíneos buscados por el operador.

15 Aunque las diversas realizaciones descritas anteriormente han descrito la cámara de separación de sangre con una sección transversal circular, se reconoce que puede utilizarse cualquier forma capaz de una rotación a alta velocidad, siempre que haya un diámetro interior angulado o cónico para facilitar el flujo apropiado de los glóbulos rojos hacia el 20 conducto de GR. Por ejemplo, puede emplearse una cámara de separación que proporcione una sección transversal ovalada, ya que estará adecuadamente equilibrada y será adecuada para las velocidades de rotación requeridas. De 25 manera similar, pueden emplearse otras cámaras de separación que tengan perfiles de sección transversal de formas diferentes (por ejemplo, octogonal, cuadrada, triangular, etc.) y, si es necesario, equilibradas con pesos para garantizar un equilibrio apropiado durante la rotación. Además, se reconoce también que pueden utilizarse múltiples cámaras en el dispositivo, tal como mediante la provisión de 2 o más secciones de un círculo o, de manera alternativa, 2 o más recipientes pueden equilibrarse para permitir la rotación de las múltiples cámaras, formando colectivamente un rotor, 30 donde cada una de las cámaras permitiría la descarga de componentes sanguíneos particulares (por ejemplo, GR y plasma), mientras permite la concentración y el acceso al componente sanguíneo deseado concentrado en cada una de las cámaras.

Las realizaciones descritas en la presente memoria están destinadas principalmente para su uso en la separación de 35 componentes a partir de sangre completa, aunque pueden usarse también con otros líquidos. En el caso de un producto sanguíneo, una vez que el dispositivo ha sido operado para estratificar la sangre en sus componentes constituyentes, y los glóbulos rojos y el plasma se han retirado de la cámara de separación de sangre a través de los conductos de GR y de plasma descritos anteriormente, la capa leucocitaria concentrada que contiene plaquetas y 40 glóbulos blancos permanecerá en el interior de la cámara. En todas las realizaciones descritas, el operador del dispositivo puede elegir adicionalmente aclarar la capa leucocitaria resultante mediante la adición de una o más soluciones biocompatibles adicionales, como una ayuda a la separación, al dispositivo y, opcionalmente, realizar 45 etapas de centrifugación adicionales. Estas soluciones biocompatibles adicionales se denominan a veces fluidos de enfoque. Tal como se ha descrito anteriormente, la capa leucocitaria consiste en varios componentes, incluyendo plaquetas y leucocitos (es decir, glóbulos blancos), cada uno con densidades únicas. Los leucocitos contienen granulocitos y células linfoides, tales como linfocitos y monocitos, cada uno de los cuales tiene densidades únicas. 50 Para algunas aplicaciones, puede ser importante aislar o eliminar uno o varios de estos componentes desde la capa leucocitaria para proporcionar un material terapéutico purificado adicional. Por ejemplo, algunos investigadores han encontrado un rendimiento *in vitro* mejorado mediante la eliminación de leucocitos desde la capa leucocitaria (S. R. Mrowiec et al., A novel technique for preparing improved buffy coat platelet concentrates, *Blood Cells, Molecules and Diseases* (1995) 21(3) 15 de Febrero: 25-23) A modo de ejemplo, una cantidad fija de uno o más líquidos (por ejemplo, 55 fluidos de enfoque) que tienen densidades específicamente dirigidas podría ser administrada a la cámara de separación de sangre para permitir una separación adicional de varios componentes de la capa leucocitaria (por ejemplo, leucocitos) enfocándose de esta manera en un subcomponente muy específico de la sangre. De manera alternativa, puede usarse un fluido de enfoque para permitir la eliminación de todos los glóbulos rojos o plasma, que tenga una densidad específica entre la capa leucocitaria y los glóbulos rojos o los componentes del plasma, de manera que, repitiendo el proceso de concentración descrito anteriormente, pueda conseguirse un componente sanguíneo libre de trazas residuales de plasma o de glóbulos rojos. Dichos fluidos de enfoque podrían incluir colorantes, marcadores u otros indicadores para ayudar a distinguir los límites entre los componentes biológicos objetivo y no objetivo. Podrían usar fluidos, tales como una solución de diatrizoato de sodio Ficoll-Paque (densidad de 1,077 g/ml, distribuida por GE Healthcare), Percoll (densidad de 1,088 g/ml, distribuida por GE Healthcare) y Cellotion (distribuido por Zenoaq) y otros fluidos conocidos en la técnica para purificar, separar y/o concentrar una amplia diversidad de células terapéuticamente 60 beneficiosas y otros componentes biológicos.

En otra realización, el fluido de enfoque biocompatible puede unirse de manera selectiva a un producto sanguíneo y posteriormente puede aislarse o separarse mediante centrifugación, para resultar en un componente sanguíneo

deseado más concentrado. Se conocen varias técnicas en la técnica para conseguir la unión, por ejemplo, componentes de perlas sólidas de densidad deseada pueden revestirse con anticuerpos y emplearse para unir selectivamente la capa de fluido de enfoque con el componente sanguíneo objetivo (o, por el contrario, el componente sanguíneo a ser separado del componente sanguíneo deseado). De manera alternativa, pueden emplearse diversas

5 técnicas y reactivos conocidos por una persona experta en la técnica, usando técnicas conocidas, por ejemplo, en la química de separación (por ejemplo, cromatografía o absorción) (tales como resinas de intercambio iónico, tal como se usan en las metodologías HPLC y FPLC). En estas realizaciones, tras añadir el fluido de enfoque a la cámara de separación de sangre que contiene el producto sanguíneo previamente concentrado, y permitir una oportunidad de unirse, se causará que el producto sanguíneo deseado se separe del producto sanguíneo no deseado cuando la 10 rotación se emplea para estratificar los materiales en el interior de la cámara de separación de sangre. La eliminación de los productos separados puede proceder a través de una o ambas de las salidas, tal como se ha descrito anteriormente. La unión del fluido de enfoque en esta realización puede ser reversible usando técnicas conocidas en la 15 técnica, de manera que, tras ser recogido, el componente sanguíneo puede separarse del fluido de enfoque y, opcionalmente, puede someterse a otro procedimiento de purificación para proporcionar un producto sanguíneo cosechado libre de cualquier fluido de enfoque.

Como anteriormente, con un operador o sensor que causa el accionamiento del mecanismo de la válvula que controla la descarga de fluidos desde la cámara, una interfaz detectable sería beneficiosa para determinar cuándo cerrar las 20 válvulas de salida. Por esta razón, el fluido de enfoque es preferiblemente distingible de alguna manera en la interfaz con los otros componentes en el interior de la cámara, por ejemplo, distingible por el color. De manera alternativa, antes de la centrifugación con el fluido de enfoque, puede añadirse un tinte selectivo biocompatible o un material 25 marcador para distinguir los fluidos en el interior de la cámara y crear la interfaz que sea detectable por el operador o por el sensor. De esta manera, la coloración selectiva facilitaría la detección de una interfaz entre los componentes deseados, y esos componentes serían eliminados desde la cámara de separación de sangre a través de uno o ambos puertos de salida.

30 25 Las realizaciones descritas anteriormente pueden estar disponibles en forma de kit, que incluye el dispositivo y los accesorios necesarios para el funcionamiento del dispositivo, que incluye las instrucciones de uso y el embalaje adecuados para el almacenamiento y para conservar la esterilidad. En algunos casos, el kit puede proporcionar instrucciones junto con el dispositivo centrífugo (bien como una única unidad o como componentes separables) y, opcionalmente, puede incluir accesorios tales como ayudas a la separación, incluyendo fluidos de enfoque. Se prevé 35 que las ayudas a la separación puedan estar contenidas en el interior de un recipiente separado en el interior del embalaje, o contenidas en el interior de la cámara de separación de sangre durante el embalaje, o disponibles aparte de la unidad centrífuga. Para la realización que proporciona un componente de accionamiento reutilizable con un motor que está dispuesto para acoplarse a un componente de centrífuga desecharable, el kit puede incluir múltiples componentes de centrífuga desecharables, cada uno adecuado para su uso con el componente de accionamiento reutilizable.

40 De esta manera, debido a que el proceso inventivo y las invenciones divulgadas en la presente memoria pueden llevarse a la práctica mediante etapas adicionales u otras formas específicas sin apartarse del espíritu de sus características generales, habiéndose indicado algunas de dichas etapas y formas, las realizaciones descritas en la presente memoria deben considerarse en todos los aspectos como ilustrativas y no restrictivas. El alcance de la invención debe estar indicado por las reivindicaciones adjuntas, en lugar de por la descripción anterior, y todos los cambios incluidos dentro del significado y del rango de equivalencia de las reivindicaciones están destinados a estar incluidos en el mismo.

REIVINDICACIONES

1. Centrifugadora para concentrar selectivamente los componentes separables por centrifugación de una mezcla líquida, mediante la retira de componentes seleccionados desde la cámara de la centrifugadora tras la separación, comprendiendo dicha centrifugadora:
 - 5 a) una cámara de separación de sangre dispuesta para contener un líquido sanguíneo, en el que dicha cámara de separación de sangre comprende
 - (i) un cilindro (606) tubular cónico que comprende un interior con un diámetro interior más grande y un diámetro interior más pequeño y un eje (XX) longitudinal, y que comprende además al menos un canal (640) que se extiende desde el interior del cilindro (606) tubular cónico a al menos un orificio (639),
 - (ii) medios para añadir dicho líquido sanguíneo a dicha cámara de separación de sangre;
 - (iii) medios para descargar los componentes de dicho líquido sanguíneo tras la separación de dicho líquido sanguíneo, comprendiendo dichos medios de descarga dicho al menos un orificio (639), en el que dicho al menos un orificio (639) está posicionado en un radio deseado desde dicho eje longitudinal y situado en dicho canal, y un segundo orificio (610) posicionado en un segundo radio deseado desde dicho eje (XX) longitudinal y que permite la descarga de un segundo componente descargado, en el que dicho segundo componente descargado tiene una gravedad específica más baja que la de dicho primer componente descargado, y además en el que la cámara de separación de sangre comprende además una cuña (609) troncocónica que se extiende hacia el interior desde el lado más grande del cilindro (606) tubular cónico, y dicho cilindro (606) tubular cónico y dicha cuña (609) troncocónica definen los lados del canal; y
 - 10 b) unos medios para girar la cámara de separación de sangre alrededor de dicho eje (XX) longitudinal, tras lo cual dichos componentes de dicha mezcla líquida se separan en función de la distancia radial desde dicho eje (XX) longitudinal; comprendiendo dichos medios para girar la cámara de separación de sangre un componente (601) de accionamiento, estando dicho componente (601) de accionamiento y dicha cámara de separación de sangre asegurados entre sí de manera liberable, en el que dicho componente (601) de accionamiento, mientras está en una posición segura, acciona la rotación de la cámara de separación de sangre para causar que el producto sanguíneo se separe por densidad,
 - 15 c) medios de válvula para abrir y cerrar dicho al menos un orificio (639), donde la apertura de dicho al menos un orificio (639) durante la rotación de dicho cilindro (606) tubular cónico expulsa al menos un primer componente de la mezcla que está presente en dicho al menos un orificio (639), siendo dicha expulsión a través de dicho al menos un orificio (639).
- 20 2. Centrifugadora según la reivindicación 1, en la que dicha separación es detectada al ser visible para un operador humano, y dichos medios de válvula sin operados manualmente.
- 25 3. Centrifugadora según la reivindicación 1, en la que dicha separación es detectada por un sensor óptico, y dicho sensor causa automáticamente el accionamiento de dichos medios de válvula.
- 30 4. Centrifugadora según la reivindicación 1, en la que dicha separación es detectable como una diferenciación de color o de densidad en la superficie externa de dicha cámara de separación de sangre.
- 35 5. Centrifugadora según la reivindicación 1, en la que al menos una parte de dicha cámara de separación de sangre comprende un material transparente.
- 40 6. Centrifugadora según la reivindicación 1, que comprende además un recipiente de recogida sellable de manera selectiva para recibir las partes desechadas de dicho líquido sanguíneo, en el que dicho recipiente de recogida se abre solo cuando se abren dichos medios de válvula y, además, se cierra cuando se cierran dichos medios de válvula.

7. Centrifugadora según la reivindicación 6, en la que dichos medios de válvula y dicho recipiente de recogida sellable de manera selectiva son operados por la misma acción del operador.
8. Centrifugadora según la reivindicación 1, en la que dicho canal (640) comprende además una cámara impelente adyacente a dicho al menos un orificio (639), dicha cámara impelente combinada con el canal están dispuestos para reducir la velocidad de los componentes descargados en el punto de entrada al canal con relación a la velocidad de descarga a través de dicho al menos un orificio (639).
- 5 9. Centrifugadora según la reivindicación 1, en la que la centrifugadora comprende, además:
- d) un respiradero (332) para permitir la entrada de aire al centro de la cámara de separación de sangre, para reemplazar al menos parcialmente un volumen de componente eliminado.
- 10 10. Centrifugadora según la reivindicación 1, que comprende además un componente (601) reutilizable y un componente (600) desechable que puede unirse operativamente al componente (601) reutilizable, y en el que el componente (601) reutilizable comprende un motor (201, 301, 401, 501, 626), y el componente desechable comprende la cámara de separación de sangre.
- 15 11. Centrifugadora según la reivindicación 10, en la que el componente (600) desechable comprende además al menos un receptor (635, 637, 647) dispuesto para capturar el producto sanguíneo que se descarga desde dicha cámara de separación de sangre.
12. Centrifugadora según la reivindicación 11, en la que dicho receptor (635, 637, 647) es un recipiente de recogida sellable de manera selectiva.
- 20 13. Centrifugadora según la reivindicación 12, en la que dichos medios de válvula y dicho recipiente de recogida sellable de manera selectiva son operados por la misma acción del operador.
14. Centrifugadora según la reivindicación 11, que comprende un primer receptor para glóbulos (637) rojos y un segundo receptor para plasma (635) pobre en plaquetas.
15. Centrifugadora según la reivindicación 11, en la que dicho al menos un receptor (635, 637, 647) comprende además un puerto (645) de acceso de plasma.
- 25 16. Centrifugadora según la reivindicación 10, en la que dicho componente (600) desechable comprende materiales (632, 636) absorbentes de captura de productos sanguíneos.
17. Centrifugadora según la reivindicación 16, en la que los materiales (632, 636) absorbentes de captura de sangre comprenden al menos uno de entre polietileno microporoso, polímeros superabsorbentes, poliacrilatos, polielectrolitos, hidrogeles, tiza y textiles tejidos.
- 30 18. Centrifugadora según la reivindicación 14, en la que dicho primer receptor y dicho segundo receptor están ambos dispuestos concéntricamente con el eje de rotación de la cámara de separación de sangre.
19. Centrifugadora según la reivindicación 1, en la que dicha cámara de separación de sangre comprende una cámara impelente en el extremo del canal (640), en donde dicho canal y dicha cámara (640) impelente están dispuestos para reducir la velocidad del primer componente descargado en el punto de entrada al canal con relación a la velocidad de descarga a través de dicho al menos un orificio (639).
- 35 20. Centrifugadora según la reivindicación 19, en la que dicho componente (601) de accionamiento es reutilizable, y dicha cámara (600) de separación de sangre es un componente de un solo uso.
21. Centrifugadora según la reivindicación 1, en la que, tras hacer girar dicha cámara de separación de sangre, dicha sangre se separa en glóbulos rojos, capa leucocitaria y plasma, y dichos medios de descarga incluyen medios para descargar una parte de dichos glóbulos rojos, medios para descargar un parte de dicho plasma, y medios para recoger dicha capa leucocitaria.
- 40 22. Centrifugadora según la reivindicación 21, en la que dichos medios para descargar una parte de dichos glóbulos rojos comprenden unos medios de válvula y una abertura de glóbulos rojos situada en un extremo de dicho canal más alejado de dicho eje (XX) longitudinal, o
- 45 en el que dichos medios para descargar una parte de dicho plasma comprenden unos medios de válvula y una abertura de plasma situada en un extremo más grande de dicha cuña (609) troncocónica, o
- en el que dichos medios para descargar una parte de dicho plasma comprenden unos medios de válvula y una abertura de plasma situada en un radio más pequeño que el radio interior de la capa leucocitaria.

23. Centrifugadora según la reivindicación 22, en la que dichos medios para recoger dicha capa leucocitaria comprenden un área de recogida situada centralmente a dicho cilindro (606) tubular cónico, de manera que después de descargar dicha parte de dichos glóbulos rojos, y después de cesar dicha rotación de dicha cámara de separación de sangre, al menos una segunda parte de dichas células sanguíneas permanece en el interior de dicho canal, y dicha capa leucocitaria se acumula en dicha área de recogida.
- 5 24. Centrifugadora según la reivindicación 8, en la que dicha reducción de velocidad es en un factor de al menos 100:1.
25. Centrifugadora según la reivindicación 1, en la que dichos medios de válvula comprenden una tapa (616) de válvula que comprende al menos un puerto (228, 328, 428, 638) para dicho al menos un orificio (639), y además en 10 la que dicha descarga ocurre cuando dicho al menos un puerto (228, 328, 428, 638) está en alineación axial con dicho al menos un orificio (639).
- 15 26. Centrifugadora según la reivindicación 25, en la que dicha tapa (616) de válvula gira con dicha cámara de separación de sangre.
27. Centrifugadora según la reivindicación 25, en la que dicha tapa (616) de válvula es desplazada axialmente a lo largo del eje de rotación por al menos un seguidor (618).
- 20 28. Centrifugadora según la reivindicación 27, en la que dicho al menos un seguidor (618) es desplazado axialmente haciendo girar un tambor (613) que es coaxial con respecto a dicha cámara de separación de sangre.
29. Centrifugadora según la reivindicación 1, en la que dicha cuña (609) troncocónica comprende además una parte (608) plana.
- 25 30. Centrifugadora según la reivindicación 29, en la que dicha parte (608) plana está en un ángulo con relación a un eje de rotación.
31. Método para concentrar componentes seleccionados de la sangre, que comprende las etapas de:
- a. proporcionar un dispositivo centrifugador según la reivindicación 1;
 - b. añadir sangre a dicha cámara de separación de sangre;
 - c. hacer girar dicha cámara de separación de sangre, tras lo cual los componentes de dicho líquido sanguíneo se separan por densidad en glóbulos rojos, capa leucocitaria y plasma;
 - d. abrir una válvula para permitir la descarga de glóbulos rojos a través de dicho al menos un orificio (639); y
 - e. cerrar dicha válvula cuando se ha descargado una parte deseada de dichos glóbulos rojos.
32. Método según la reivindicación 31, que comprende además las etapas de:
- 30
- e. abrir una segunda válvula en la que el segundo orificio (610) permite la descarga del componente de plasma; y
 - f. cerrar dicha válvula cuando se ha descargado una parte deseada de dicho plasma.
33. Método según la reivindicación 31, en el que dicho líquido sanguíneo contiene también al menos un fluido de enfoque.
- 35 34. Método según la reivindicación 33, en el que
- dicho al menos un fluido de enfoque tiene una densidad intermedia a la de las plaquetas y a la de los leucocitos, o
 - dicho al menos un fluido de enfoque tiene una densidad intermedia a la de los GRs y a la de la capa leucocitaria, o
 - dicho al menos un fluido de enfoque tiene una densidad intermedia a la de la capa leucocitaria y a la de las plaquetas.
- 40 35. Método según la reivindicación 33, en el que dicha cámara de separación de sangre se hace girar a una primera velocidad de rotación para separar dichos componentes, en el que dicho método comprende además la etapa de cambiar dicha primera velocidad de rotación a una segunda velocidad de rotación que es menor que dicha primera velocidad de rotación antes de abrir dicha válvula.

36. Método según la reivindicación 32, en el que el método comprende además recuperar el concentrado de producto sanguíneo, en el que el producto recuperado tiene un factor de concentrado de plaquetas de al menos 6,3 veces y una recuperación de al menos el 87% de las plaquetas de la sangre proporcionada de la etapa b.

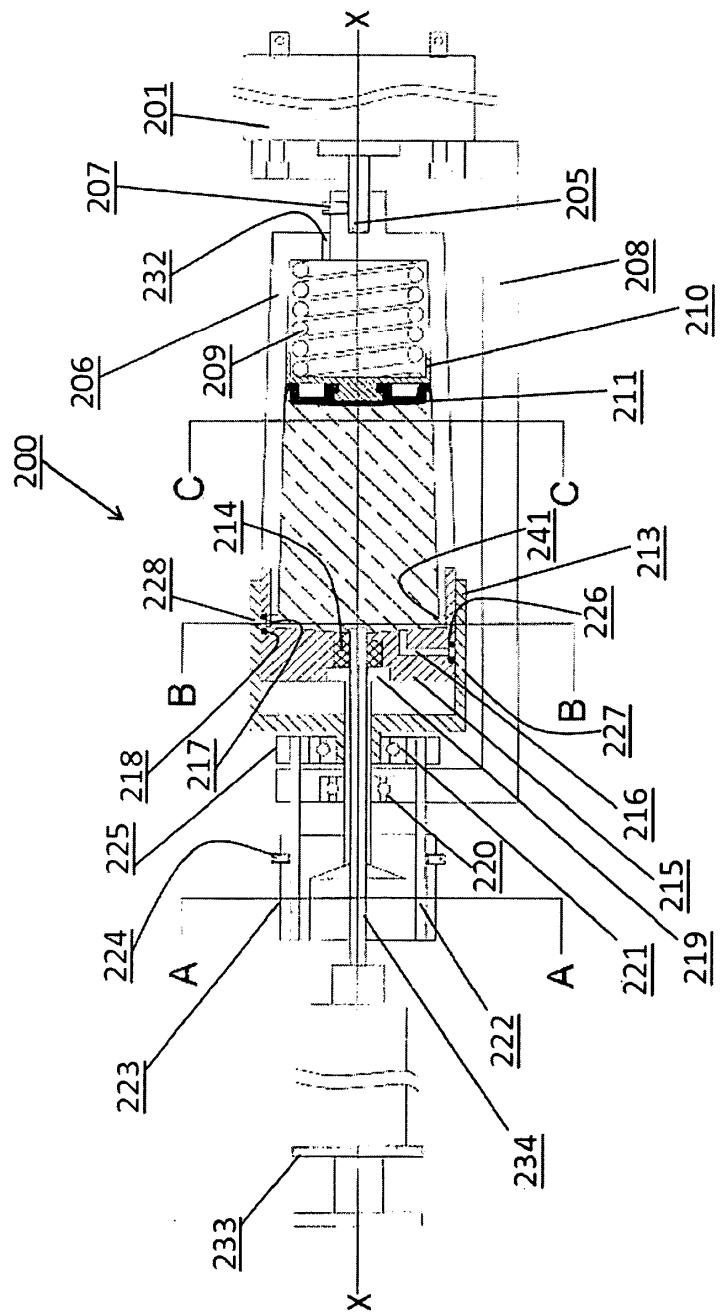


Fig. 2

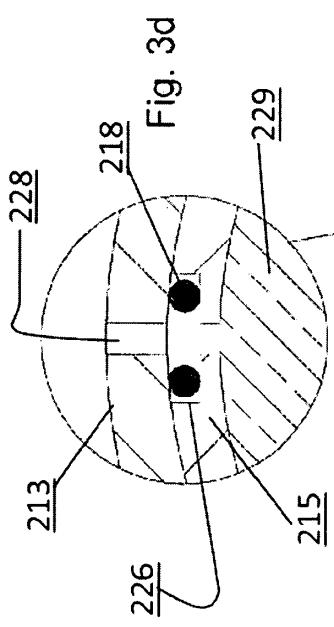


Fig. 3d

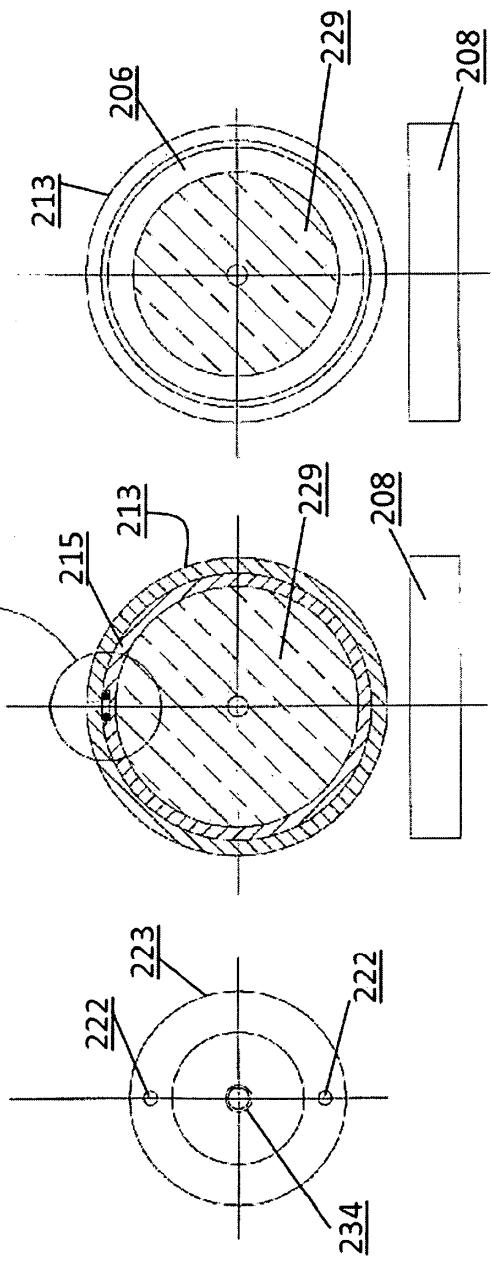


Fig. 3c

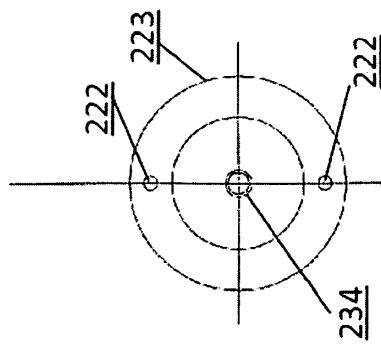


Fig. 3b

Fig. 3a

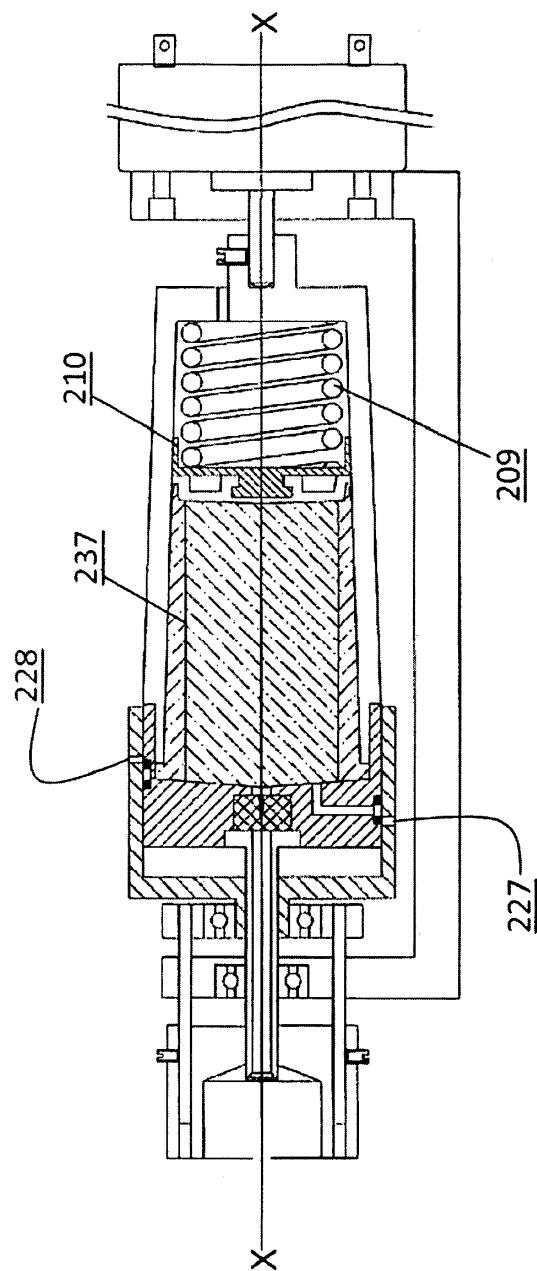


Fig. 4

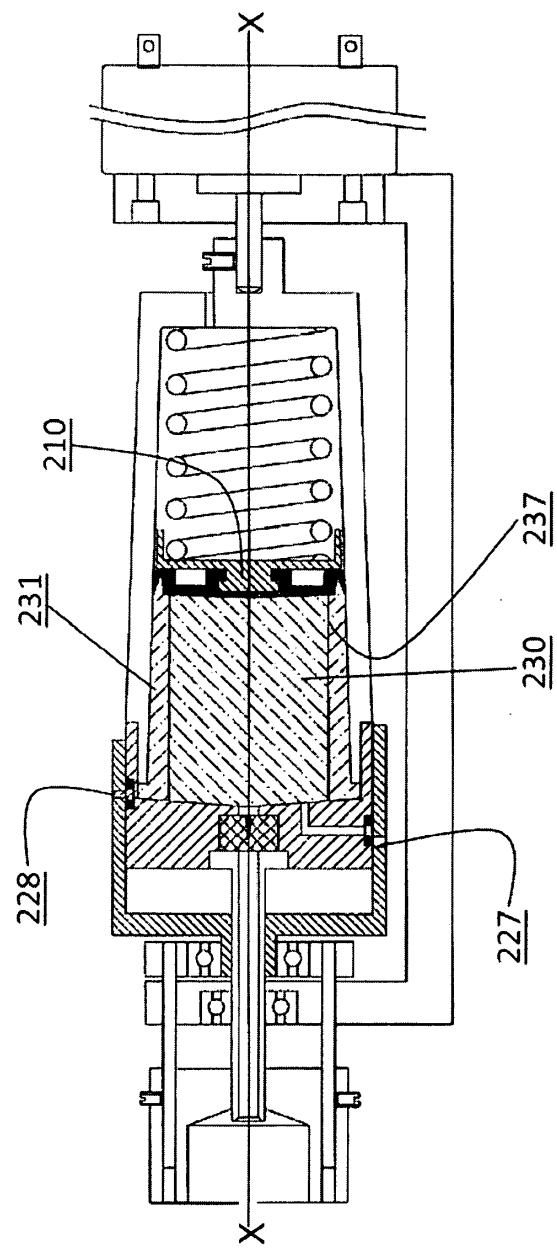


Fig. 5

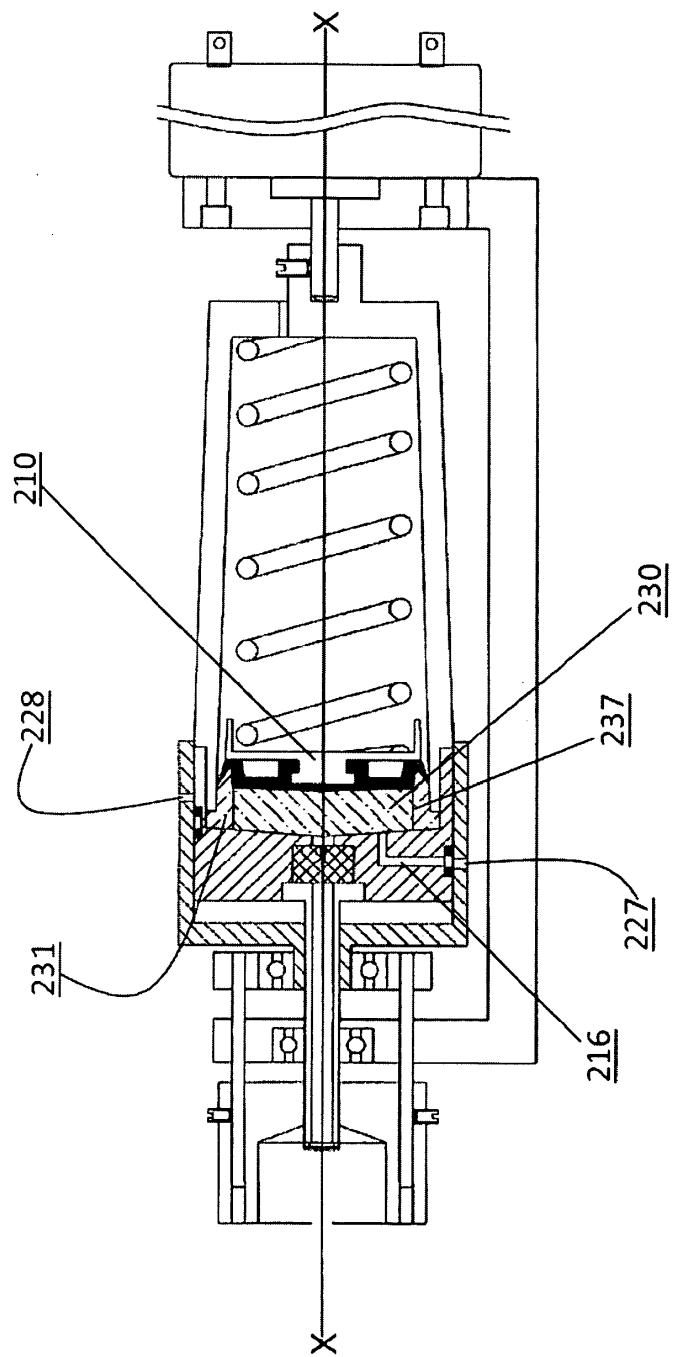


Fig. 6

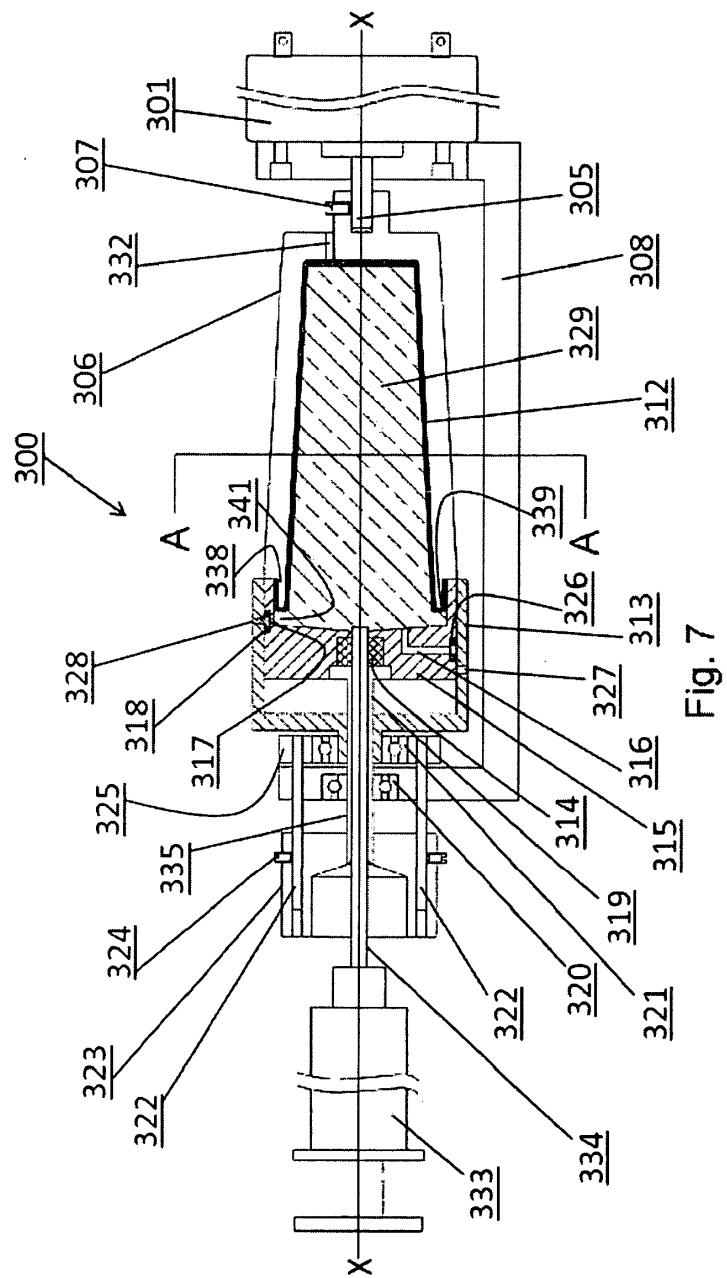


Fig. 7

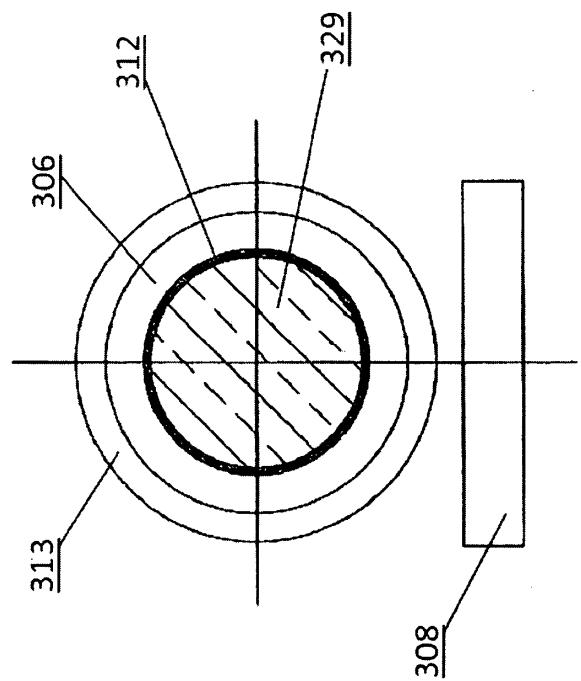


Fig. 8

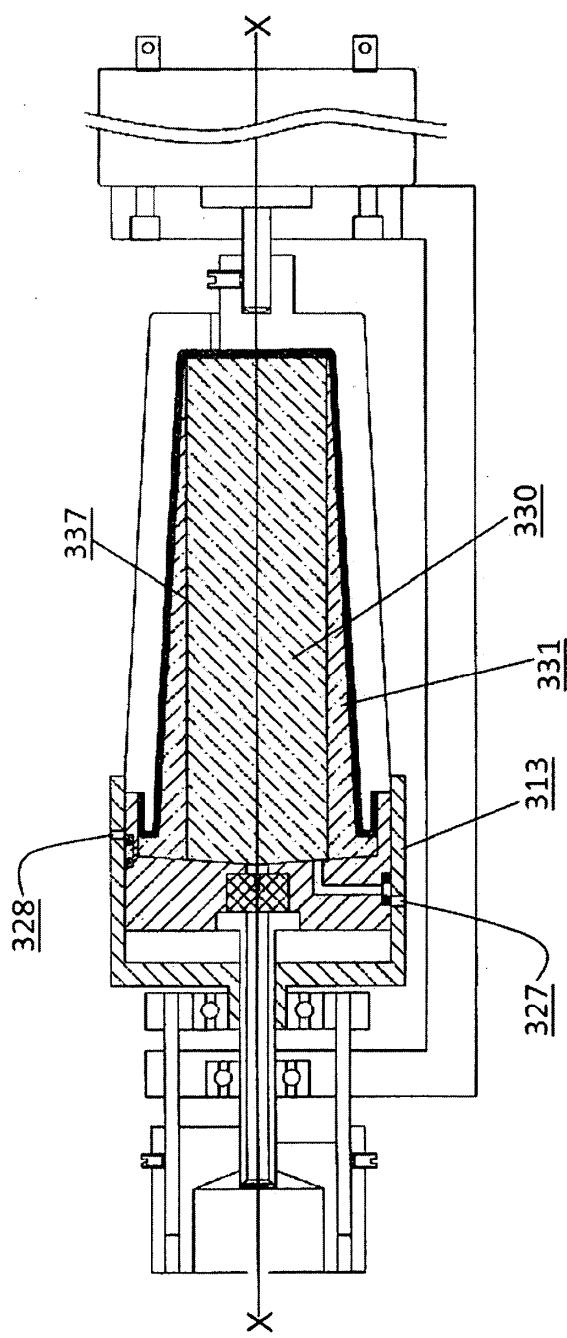


Fig. 9

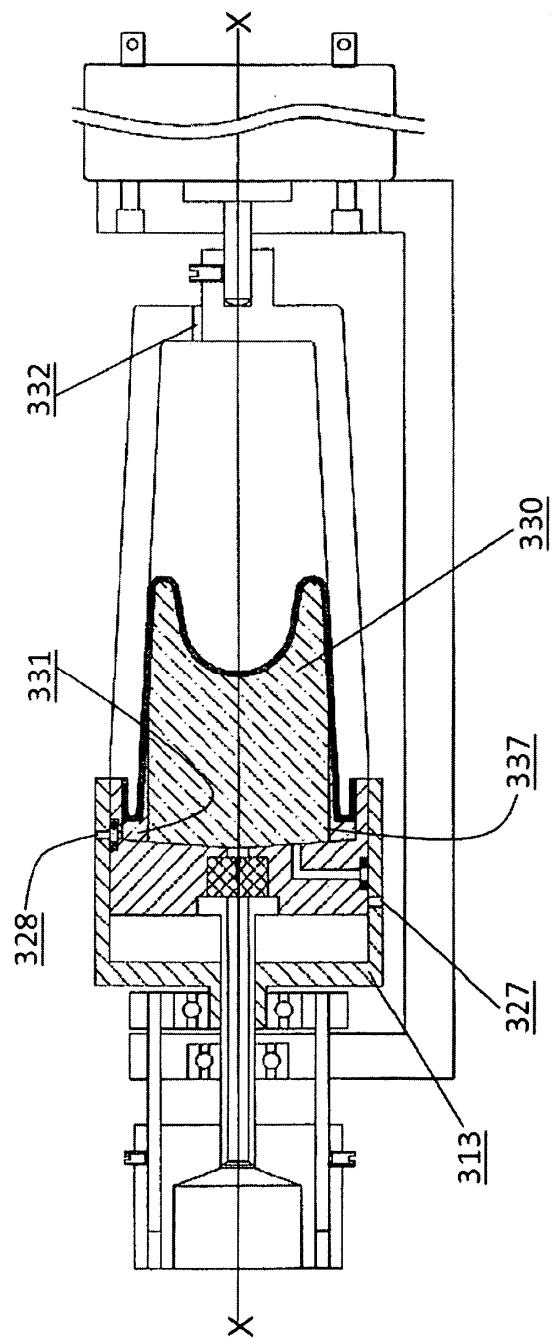


Fig. 10

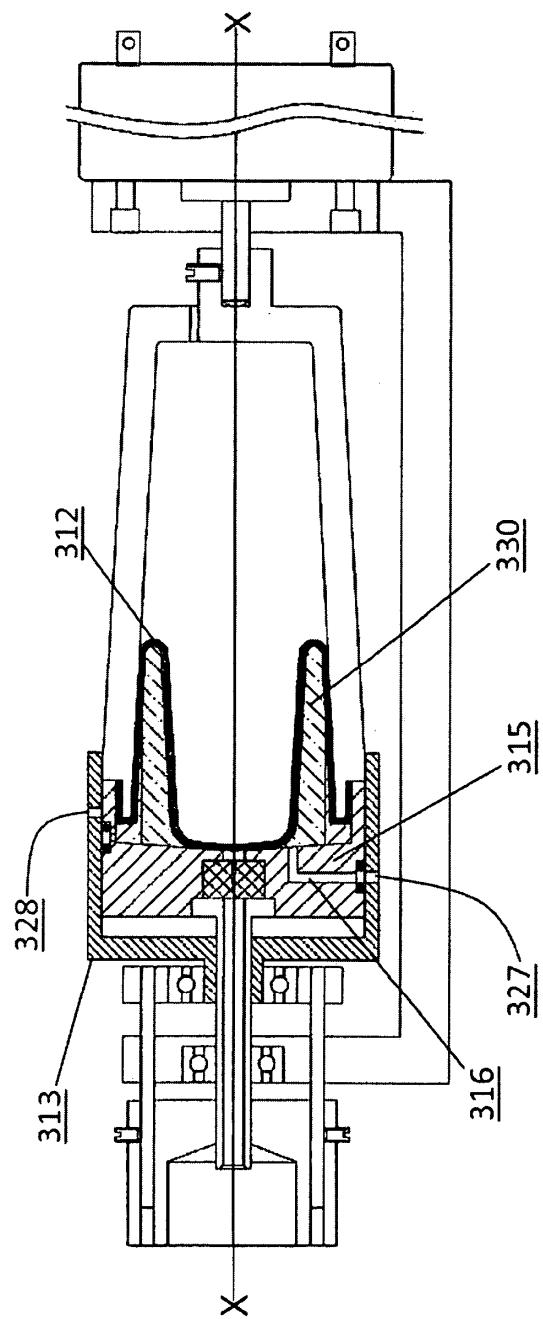


Fig. 11

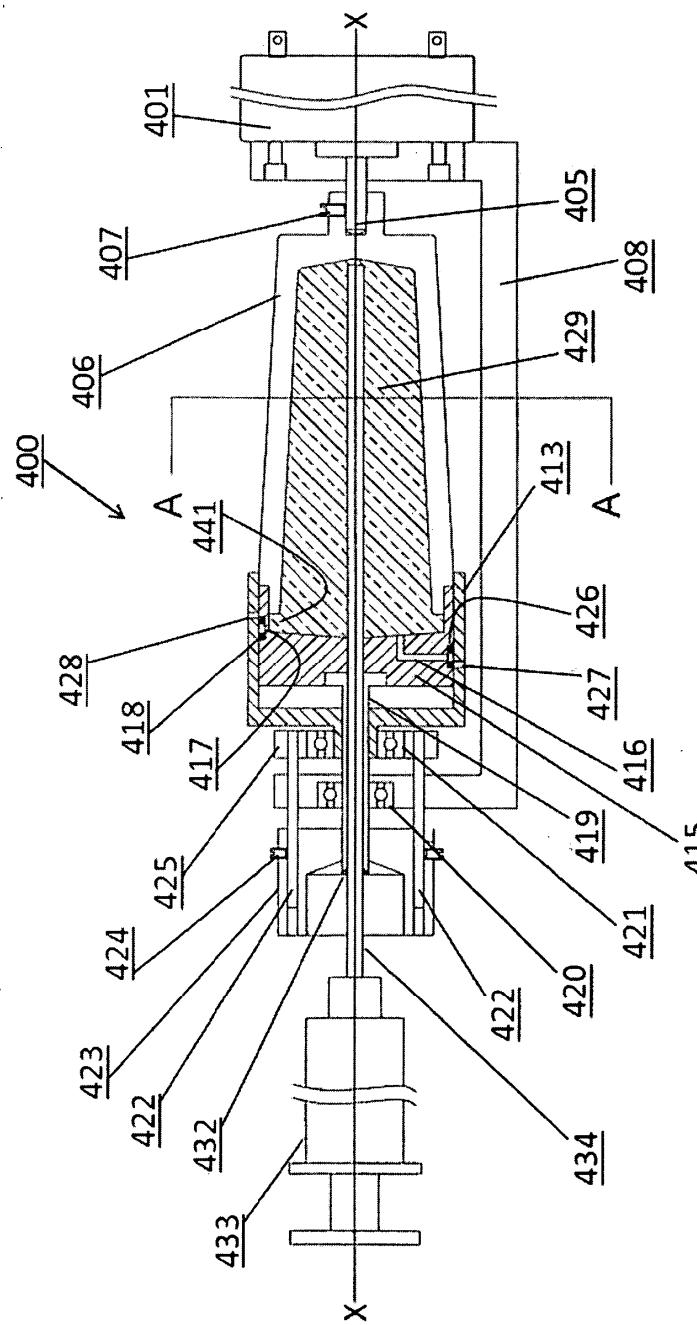


Fig. 12

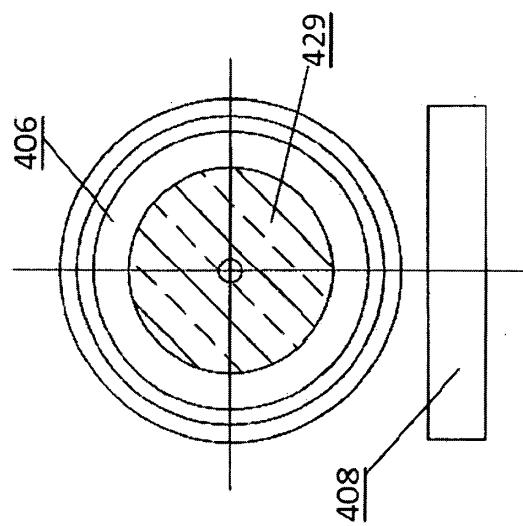


Fig. 13

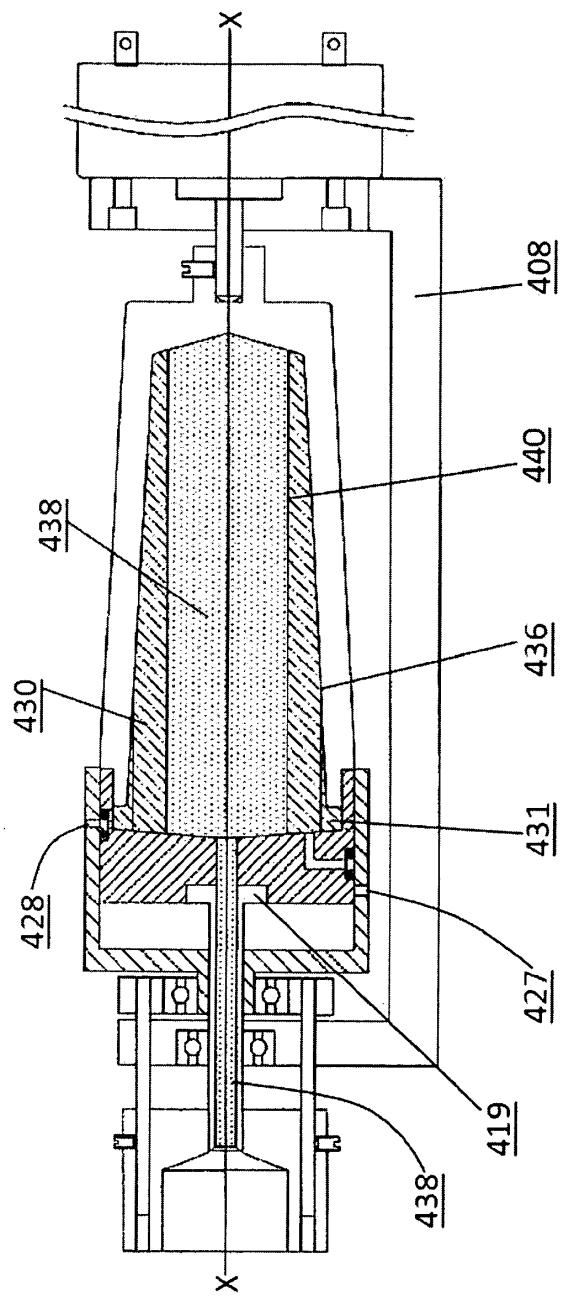


Fig. 14

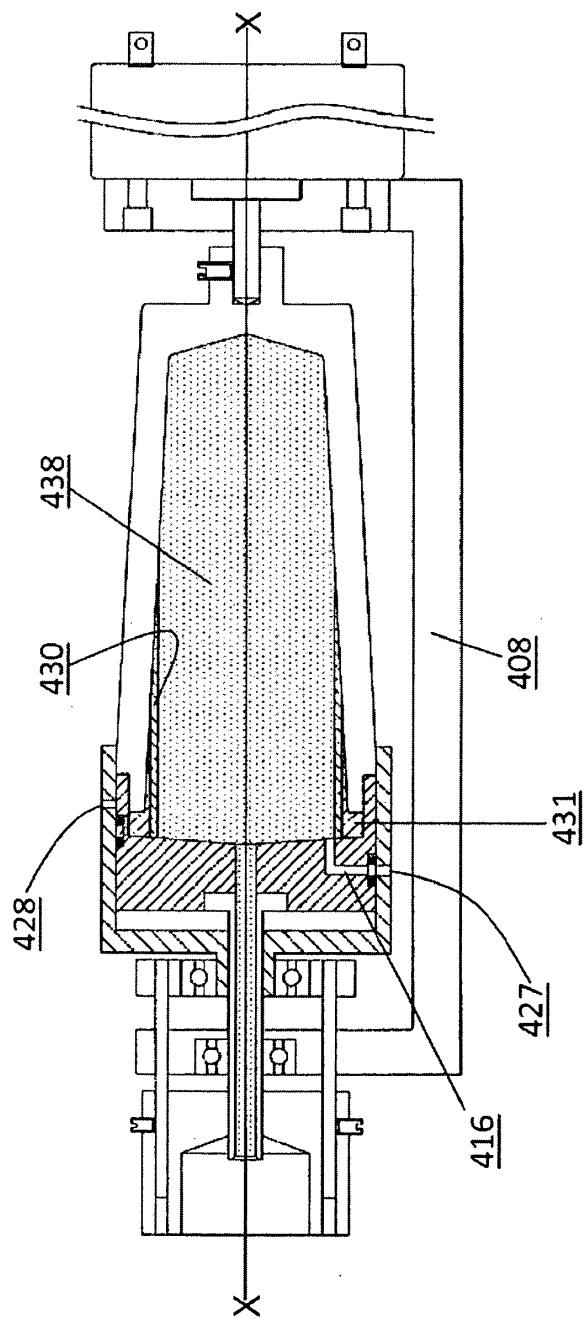


Fig. 15

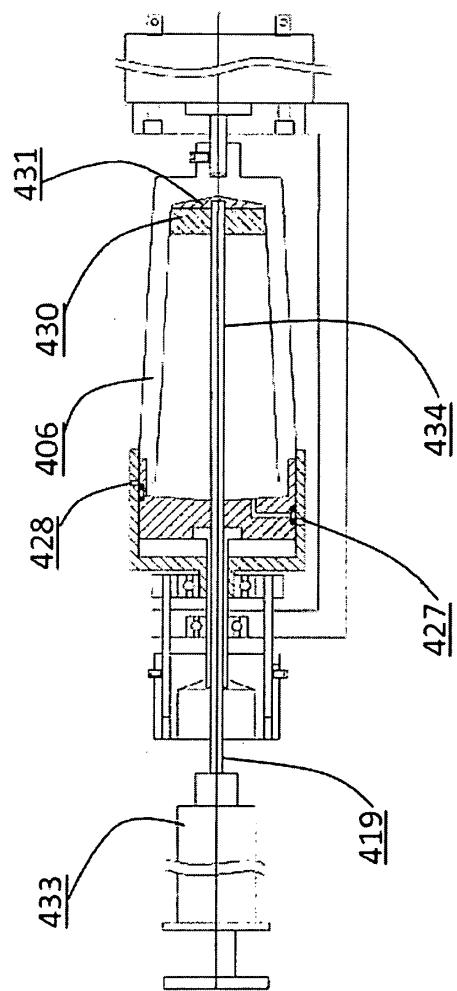


Fig. 16

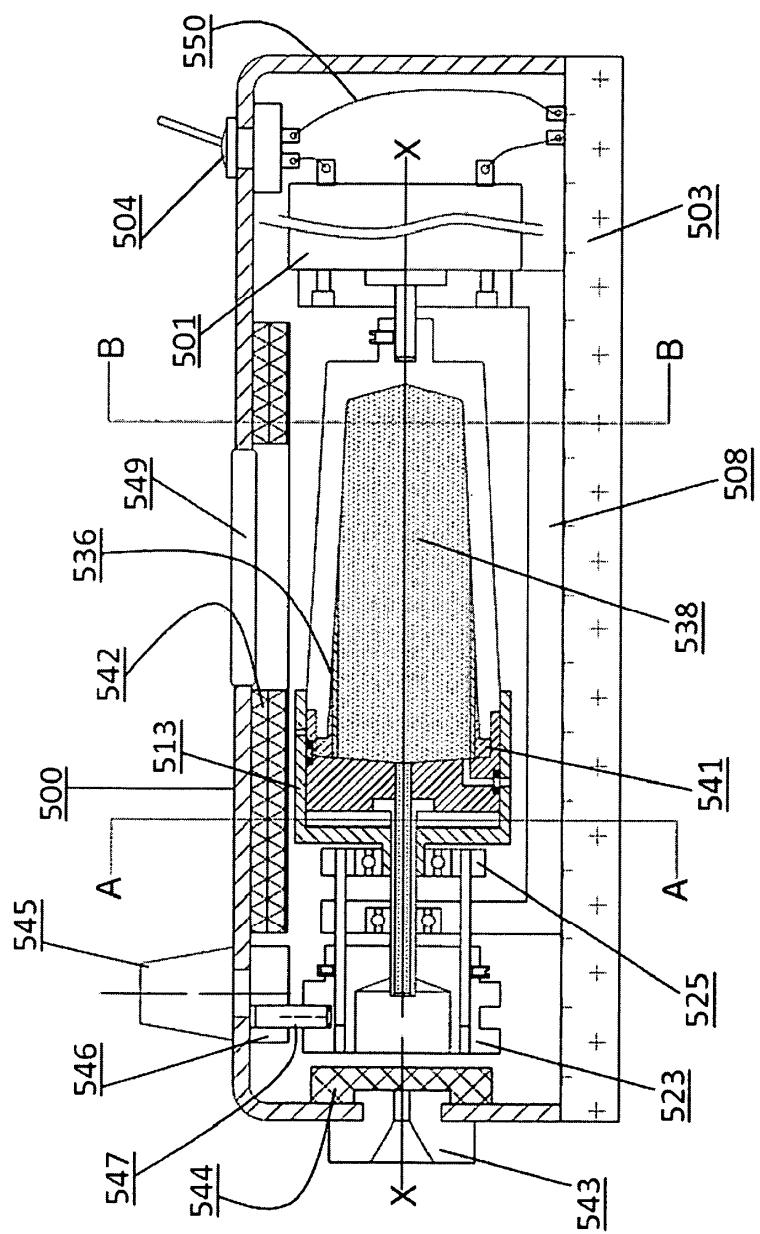


Fig. 17

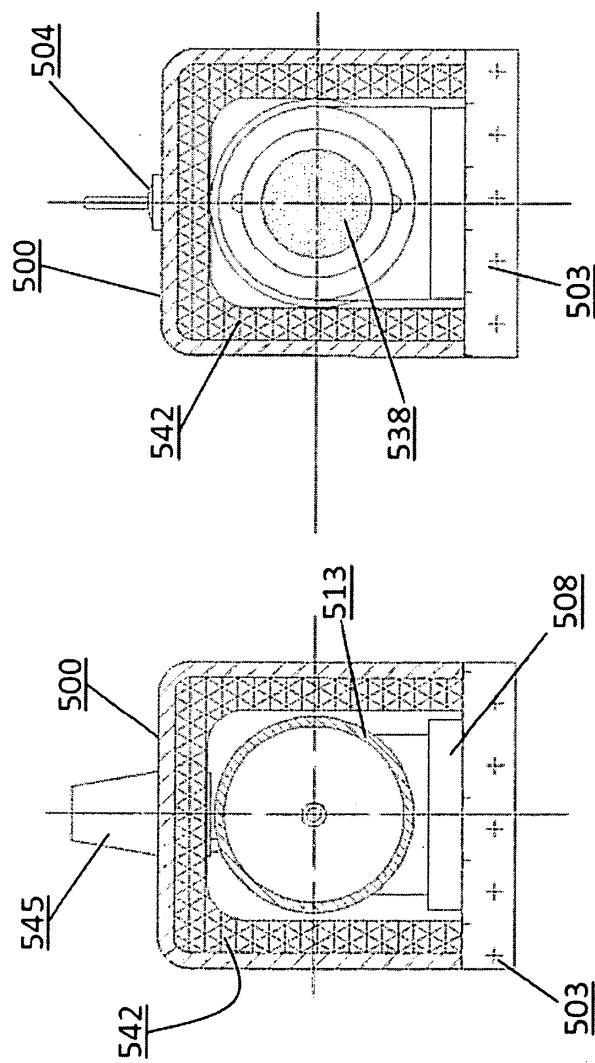


Fig. 18 b

Fig. 18 a

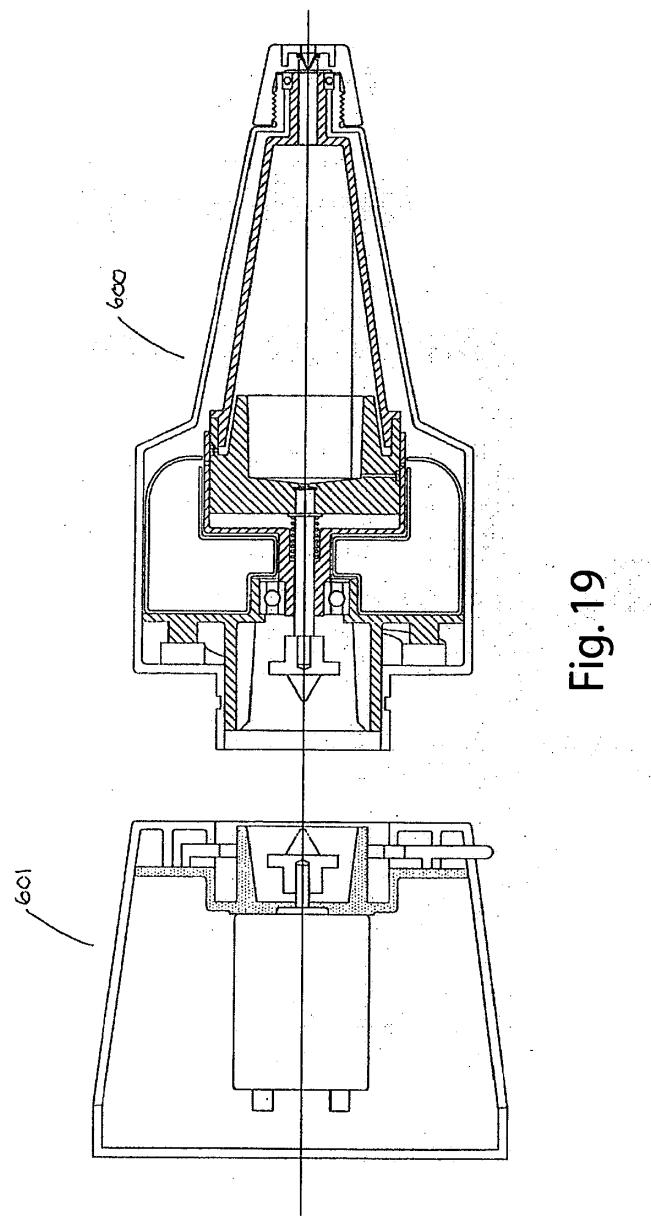
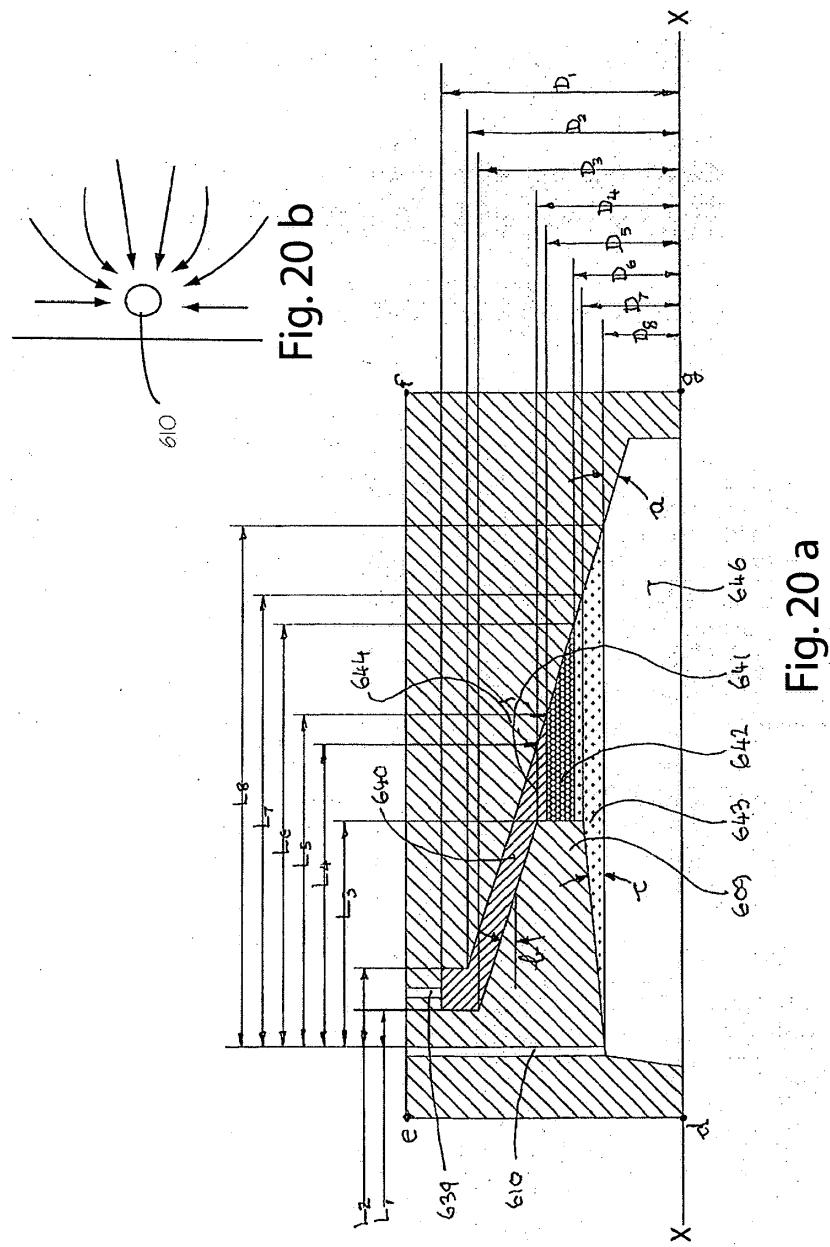


Fig. 19



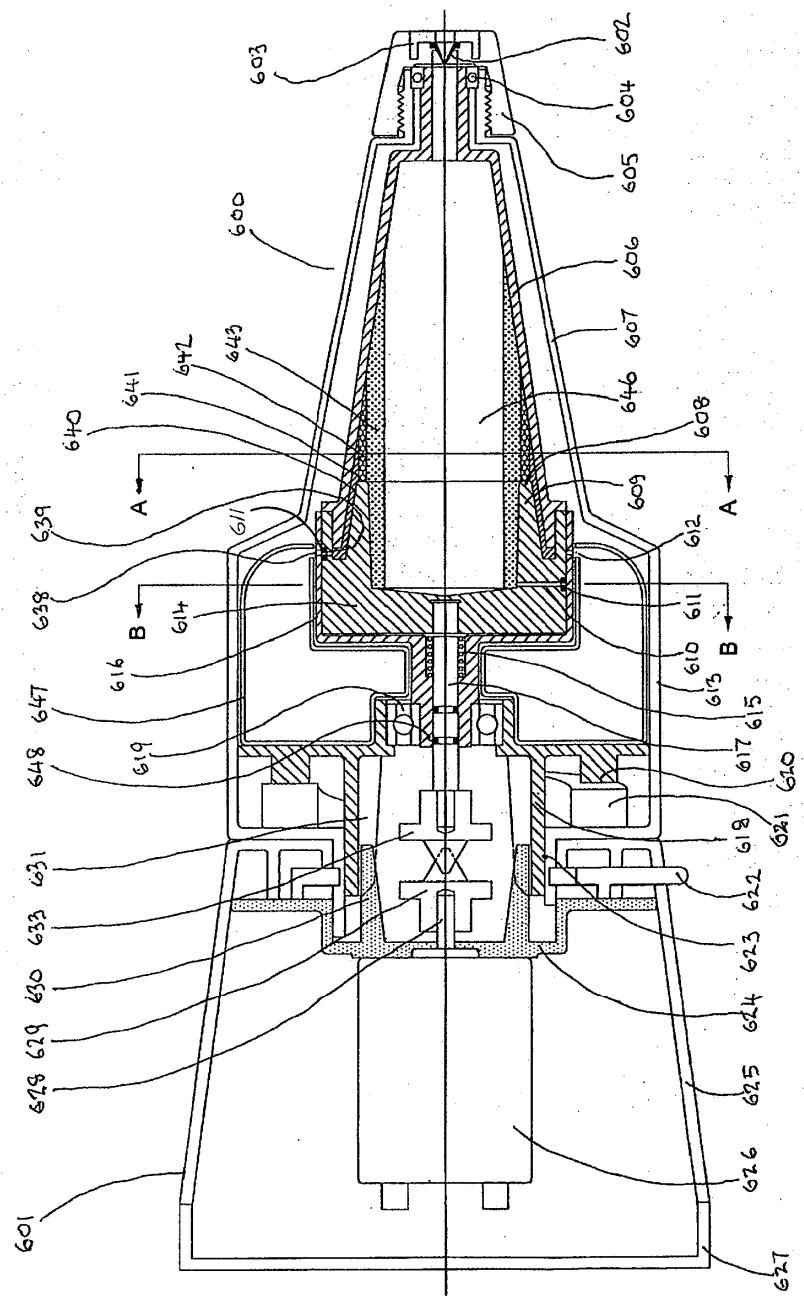


Fig. 21

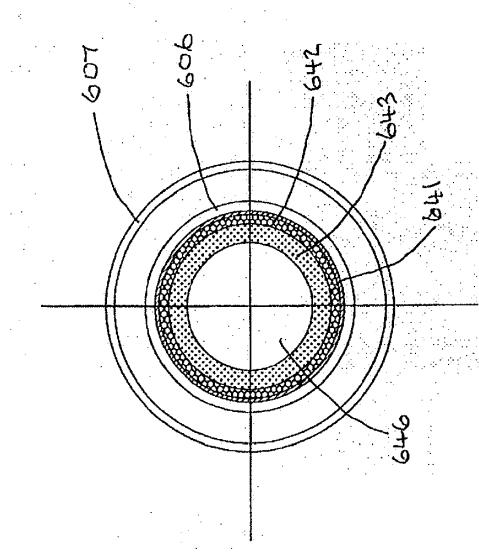


Fig.22

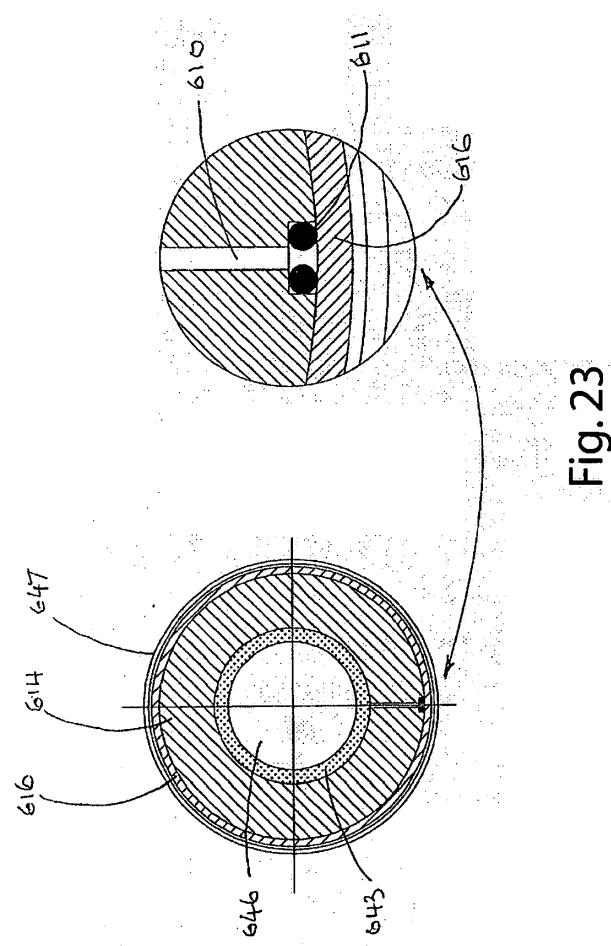


Fig. 23

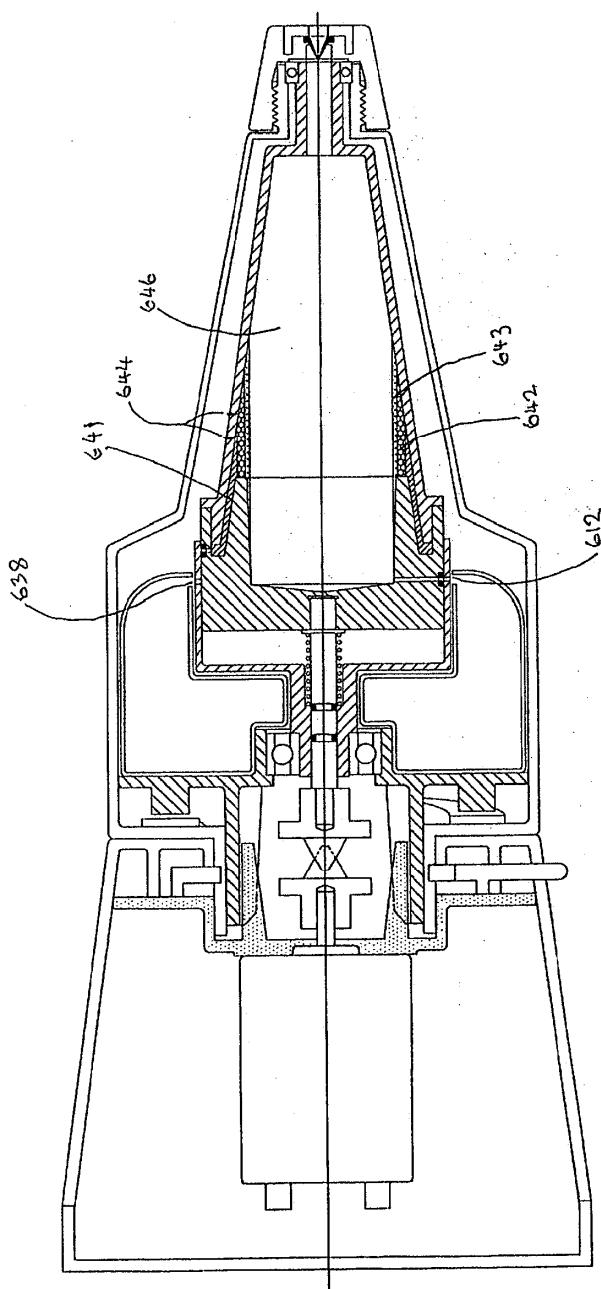


Fig. 24

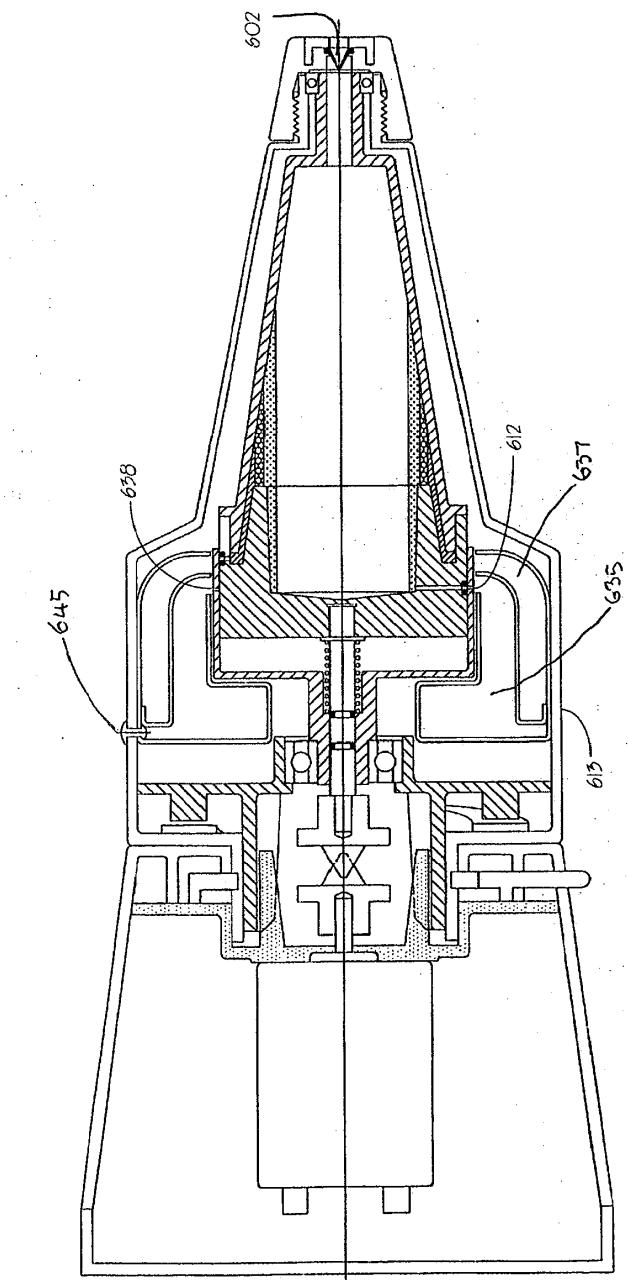


Fig. 25

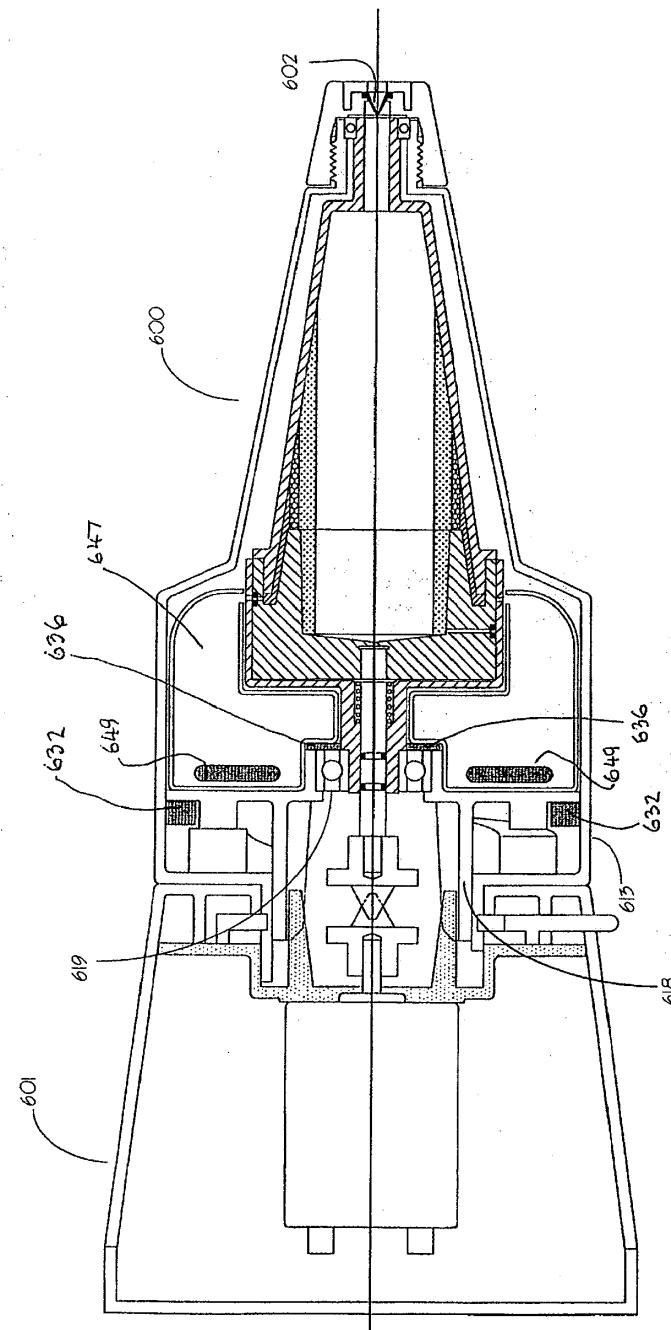


Fig. 26

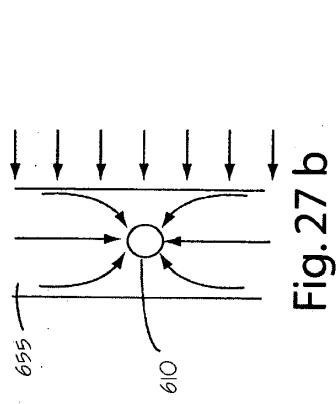


Fig. 27 b

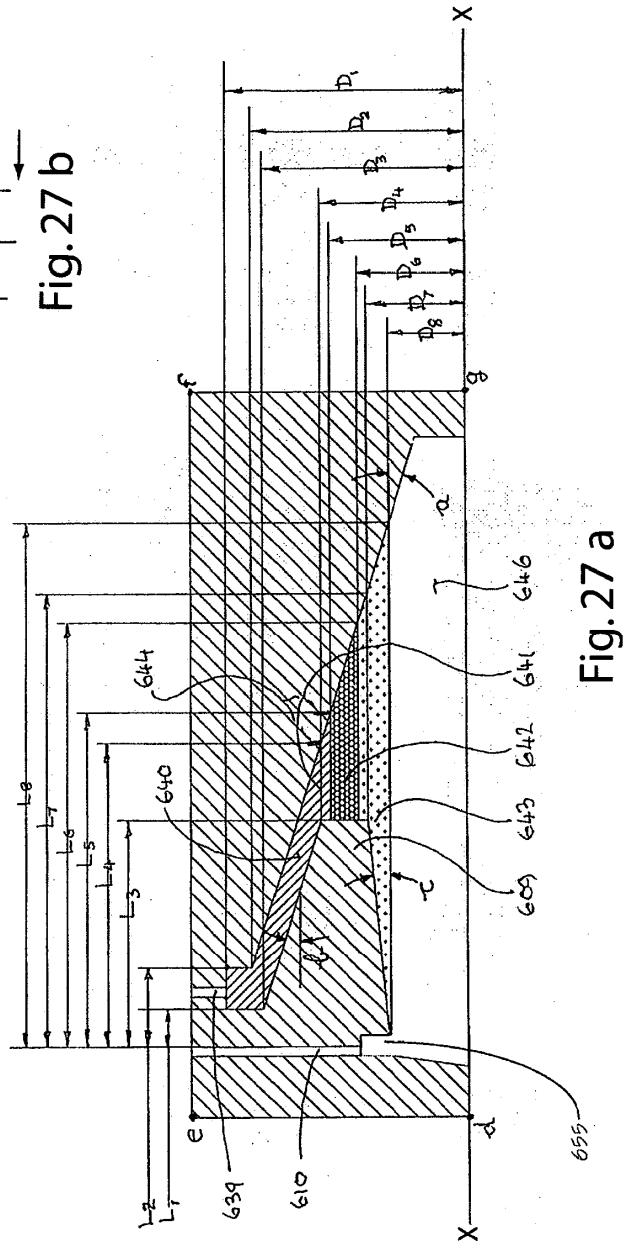


Fig. 27 a

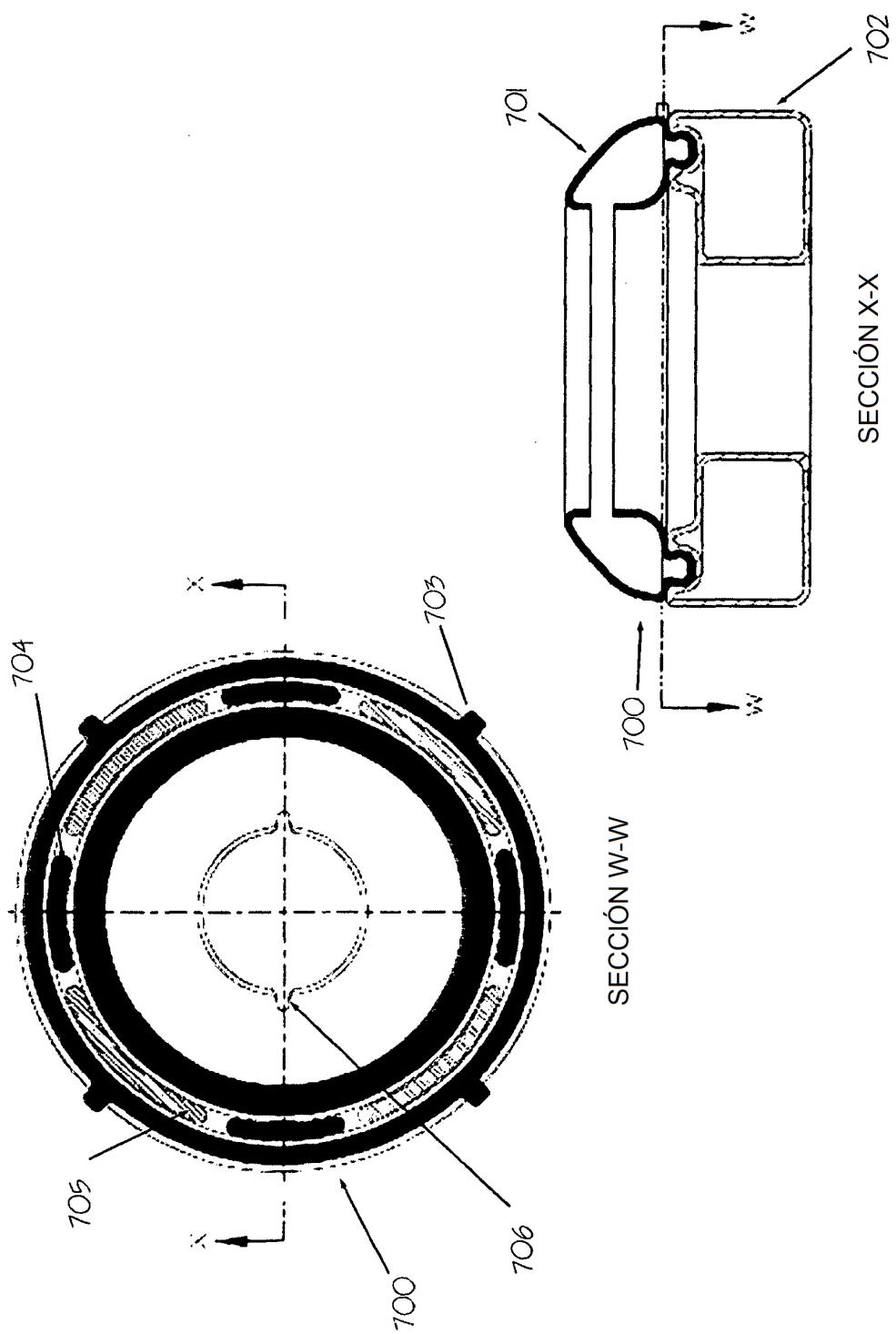


Fig. 28

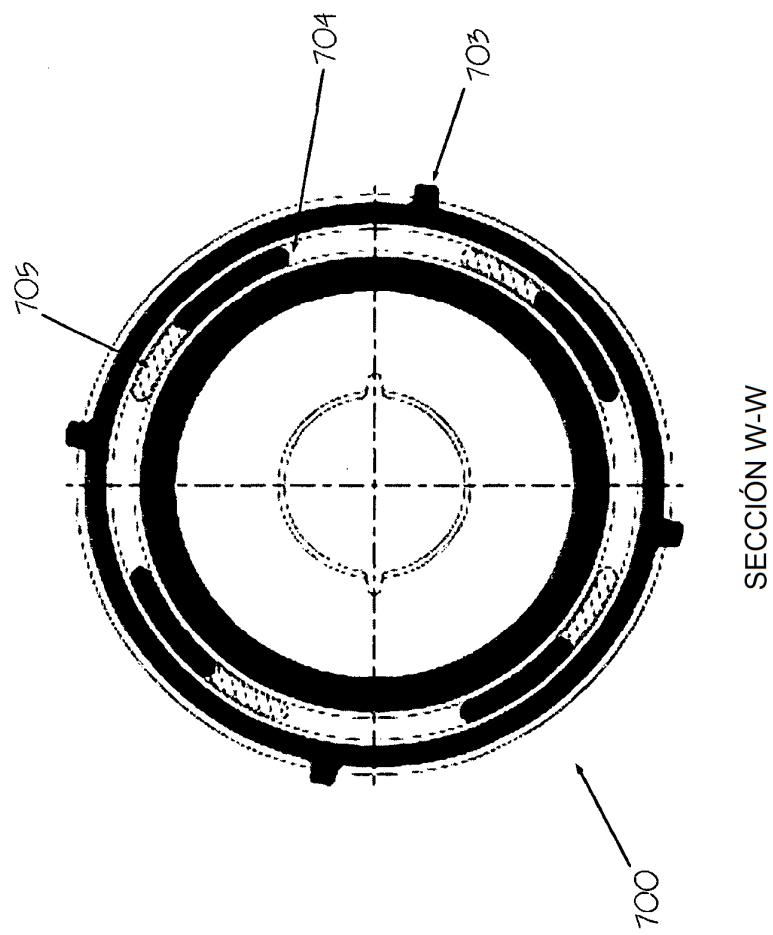


Fig. 29

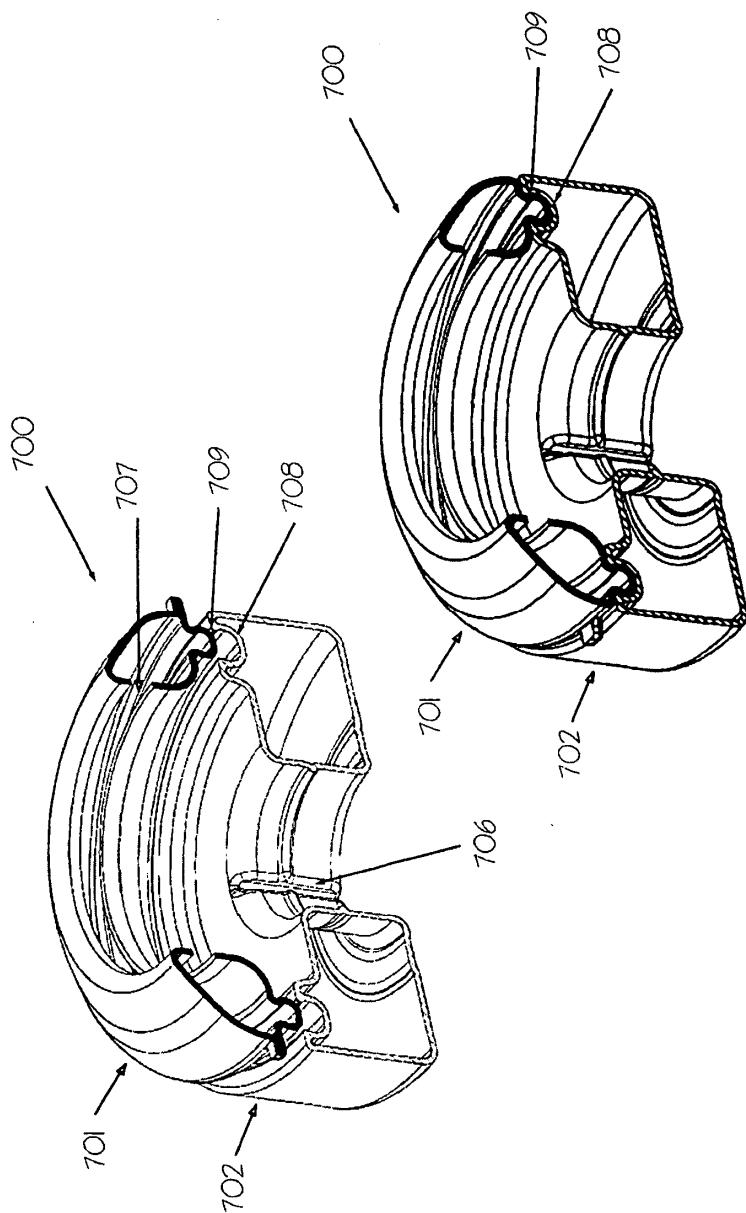


Fig. 30

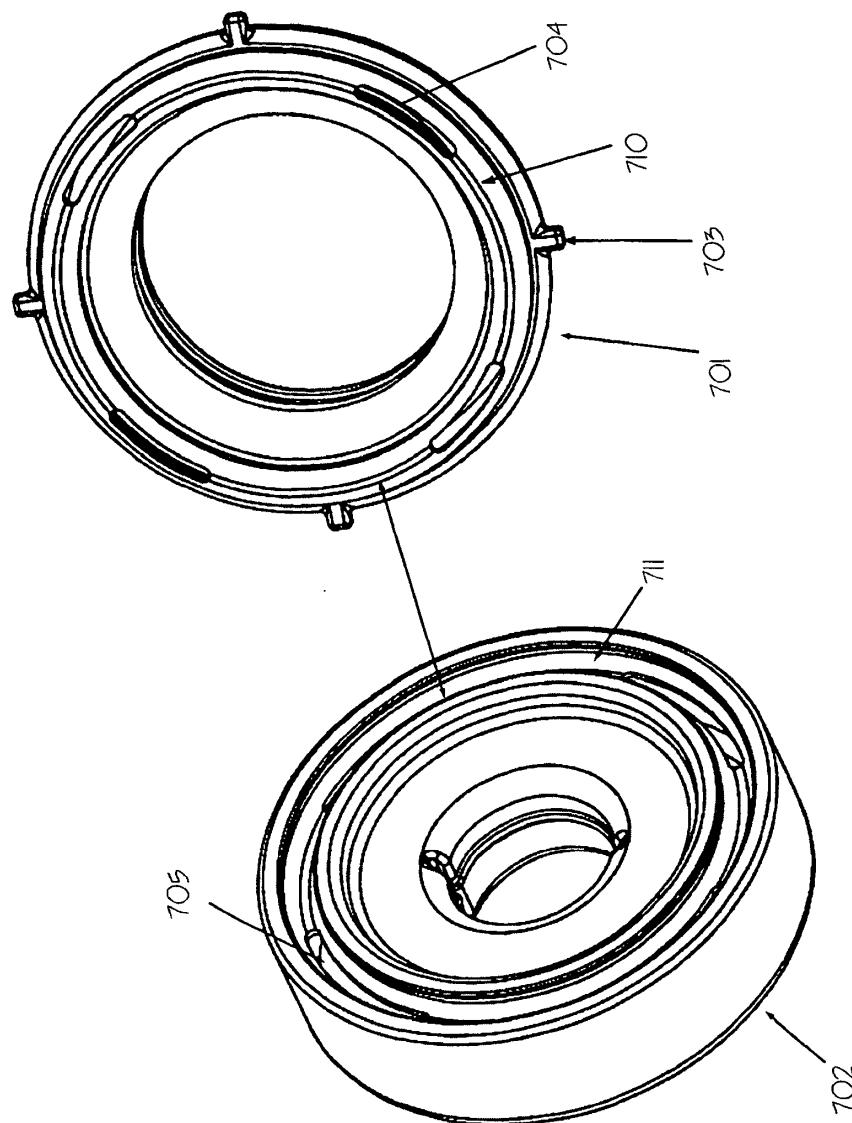


Fig. 31