



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 341 535**

51 Int. Cl.:  
**A61M 1/36** (2006.01)  
**B04B 5/04** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **01977483 .5**  
96 Fecha de presentación : **04.10.2001**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1322353**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **02.07.2003**

54 Título: **Set de cámaras de tratamiento múltiple y utilización del mismo.**

30 Prioridad: **04.10.2000 US 237514 P**  
**03.10.2001 US 970547**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**22.06.2010**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**22.06.2010**

73 Titular/es: **Zymequest, Inc.**  
**100 Cummings Center**  
**Beverly, Massachusetts 01915, US**

72 Inventor/es: **Jorgensen, Glen y**  
**Rosiello, Keith**

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

**ES 2 341 535 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**

Set de cámaras de tratamiento múltiple y utilización del mismo.

**5 Antecedentes del invento****Campo del invento**

10 El invento se refiere a sets o conjuntos de cámaras de tratamiento para tratar independiente y/o simultáneamente múltiples muestras de células biológicas en un dispositivo de tratamiento.

**Antecedentes del invento**

15 Se conocen cámaras de tratamiento flexibles (bolsas o sacos) para tratar celular biológicas en una centrifugadora de volumen fijo, y métodos para usar tales bolsas de tratamiento, por ejemplo, mediante centrifugación. Por ejemplo, la solicitud de patente de PCT, PCT/US96/10406 describe una cámara de tratamiento de células flexible que tiene un cierre hermético giratorio para conservar el contenido de la cámara estéril durante el tratamiento. Las cámaras flexibles de tratamiento son desechables ventajosamente y así adecuadas para aplicaciones estériles de un solo uso.

20 Para ciertas aplicaciones, tales como el tratamiento de sangre que incluye la separación de los componentes de la sangre, la conversión enzimática del tipo de sangre, y la inactivación patógena de los componentes de la sangre, es deseable tratar múltiples unidades al mismo tiempo, en un único instrumento en las mismas condiciones. El tratamiento simultáneo de múltiples unidades reduce el tiempo y gastos requeridos para realizar tales aplicaciones. Las cámaras de tratamiento flexibles actuales no proporcionan la capacidad de realizar el tratamiento simultáneo independiente de múltiples muestras.

25 El documento WO9200145 se refiere a un método y a un dispositivo para separar sangre presente en un recipiente de sangre en componentes centrifugando la sangre, y para transmitir al menos uno de los tres componentes estratificados obtenidos por centrifugación de manera estéril a un recipiente lateral respectivo conectado al recipiente de la sangre mediante una manguera respectiva.

30 Una de las dificultades en la construcción de un set o conjunto de cámaras de tratamiento múltiple es la extracción del contenido de las múltiples cámaras. En cualquier protocolo de tratamiento, puede ser necesario añadir y eliminar soluciones y productos químicos de tratamiento durante varias operaciones del protocolo. Así, es necesario tener la capacidad de eliminar de modo eficiente el contenido de las múltiples cámaras, usualmente el sobrenadante que sigue a la centrifugación, de manera que retenga la integridad de las múltiples cámaras y le esterilidad del contenido alojado en ellas. Por consiguiente, existe la necesidad de un set o conjunto de cámaras de tratamiento múltiple para el tratamiento de células biológicas en un dispositivo centrifugador que mantenga la esterilidad de las células tratadas y proporcione una adición y extracción eficientes de las muestras de células y de las soluciones de tratamiento desde las múltiples cámaras simultánea y/o independientemente.

**Sumario del invento**

45 El presente invento proporciona un set o conjunto de cámaras de tratamiento múltiple para tratar células biológicas en un dispositivo centrifugador que incluye bolsas de tratamiento y bolsas de extracción. El invento también proporciona métodos para usar tal set o conjunto de cámaras de tratamiento múltiple para tratar células biológicas en un dispositivo centrifugador, incluyendo la adición o la extracción independientes y/o simultáneas de contenidos desde las múltiples cámaras.

50 De acuerdo con un primer aspecto del invento, se ha proporcionado un aparato de tratamiento de múltiples muestras para una centrifugadora de flujo continuo. En realizaciones preferidas, las cámaras de tratamiento y de extracción son construidas y dispuestas para ser flexibles y expandibles, preferiblemente las cámaras están construidas y dispuestas para hacer contacto de modo liberable entre sí en una parte circunferencial de las cámaras cuando las cámaras de extracción son llenadas con un fluido extractor. La bolsa de procesador y las bolsas de extracción pueden ser alternativamente dispuestas.

55 En el primer aspecto según la reivindicación 1, los cubos centrales son construidos y dispuestos para impedir la construcción de un aparato que tenga dos cámaras de tratamiento adyacentes. Los cubos centrales de las cámaras de tratamiento pueden tener una forma general a modo de disco con lados no complementarios, tales como formas de conector macho y hembra no complementarias. De modo preferible los cubos centrales de las bolsas de extracción están también construidos y dispuestos para impedir la construcción de un aparato que tenga dos cámaras de extracción adyacentes, de una manera similar. De modo más preferible el aparato usa dos sets o conjuntos de cubos centrales, siendo la forma de un lado del cubo central de la cámara de tratamiento complementaria en forma solamente con un lado del cubo central de la cámara de extracción, y siendo la forma del otro lado (segundo) del cubo central de la cámara de tratamiento complementaria en forma solamente con el otro lado (segundo) del cubo central de la cámara de extracción.

## ES 2 341 535 T3

En otras realizaciones preferidas, los cubos centrales están contruidos y dispuestos para definir múltiples pasos para comunicación de fluido, preferiblemente un número de pasos que es al menos igual al número de cámaras del aparato. Así los cubos centrales, cuando son conectados juntos, proporcionan pasos de fluido único continuos entre cada cámara y una de las alimentaciones de fluido más externas.

5

El aparato también incluye preferiblemente una pluralidad de anillos de soldadura dispuestos sobre los cubos centrales, estando contruidos y dispuestos los anillos de soldadura para permitir la unión de las cámaras de tratamiento y de las cámaras de extracción, que pueden estar alternativamente dispuestas.

10

En ciertas realizaciones preferidas del invento, las cámaras de tratamiento y las cámaras de extracción tienen sustancialmente la misma forma, preferiblemente una forma sustancialmente circular, y más preferiblemente tienen sustancialmente el mismo diámetro. En algunas realizaciones las cámaras de tratamiento y las cámaras de extracción están contruidas a partir de dos láminas de material flexible, estando las láminas de material cerradas herméticamente en una circunferencia exterior y una circunferencia interior, aunque son posibles y permisibles también otras construcciones. Preferiblemente, la circunferencia interior es sustancialmente adyacente a la abertura axial.

15

El aparato en otra realización preferida incluye también un cubo central terminal, dispuesto en una extremidad de la pluralidad de cámaras de tratamiento y cámaras de extracción alternativamente alineadas de modo axial. Preferiblemente, el cubo central terminal contruido y dispuesto para terminar el flujo de fluido a través de los pasos de fluido del cubo central.

20

En realizaciones adicionales, un cubo de entrada de fluido está dispuesto en un punto de entrada de fluido de la pluralidad de cámaras de tratamiento y cámaras de extracción alineadas alternativamente de modo axial, y está contruido y dispuesto para servir como una interfaz a la comunicación de fluido entre la pluralidad de cámaras de tratamiento y cámaras de extracción alineadas alternativamente de modo axial y un trayecto de fluido externo a la centrífugadora de flujo continuo. Preferiblemente, el trayecto de fluido es un tubo de múltiples lúmenes o aberturas.

25

De acuerdo con un segundo aspecto del invento, se ha proporcionado un método para tratar independiente y simultáneamente una pluralidad de muestras en un dispositivo centrífugador de acuerdo con la reivindicación 18.

30

En ciertas realizaciones preferidas, el método incluye añadir uno o más fluidos de tratamiento a la pluralidad de muestras o pelets. En otras realizaciones preferidas, una parte de una o más de la pluralidad de muestras es extraída independientemente de las muestras restantes. En otras realizaciones preferidas, los fluidos de tratamiento son añadidos a una o más de la pluralidad de muestras independientemente de las muestras restantes.

35

Estos y otros aspectos del invento serán descritos en conexión con los dibujos y la descripción detallada a continuación.

### Breve descripción de los dibujos

40

La fig. 1 representa una bolsa de extracción que tiene una abertura axial.

La fig. 2 representa tres vistas de un cubo central de extracción.

45

La fig. 3 representa el conjunto de una bolsa de extracción uniendo dos anillos de soldadura a una bolsa de extracción y al cubo central.

La fig. 4 representa una vista en perspectiva de la unión de un anillo soldado a una bolsa de extracción y al cubo central.

50

La fig. 5 representa una bolsa de tratamiento que tiene una abertura axial.

La fig. 6 representa tres vistas de un cubo central de tratamiento.

55

La fig. 7 representa el conjunto de una bolsa de tratamiento uniendo los anillos de soldadura a una bolsa de tratamiento y al cubo central.

La fig. 8 representa una vista en perspectiva de la unión de un anillo soldado a una bolsa de tratamiento y a un cubo central.

60

La fig. 9 representa un set o conjunto de bolsas con seis bolsas de extracción y de tratamiento alternativas 92, un cubo 91 de entrada de fluido y un tubo 93 de alimentación de fluido.

La fig. 10 representa una vista lateral de un set o conjunto de bolsas de un conjunto de una bolsa de procesador con una realización de una bolsa de extracción.

65

La fig. 11 representa una vista lateral en sección transversal de un conjunto de una bolsa de procesador dentro de una realización de una bolsa de extracción.

## ES 2 341 535 T3

La fig. 12 representa una vista en perspectiva despiezada ordenadamente del conjunto de una bolsa de procesador dentro de una realización de una bolsa de extracción.

### Descripción detallada de las realizaciones preferidas

El invento proporciona sets o conjuntos de cámaras de tratamiento múltiple para tratar simultánea e independientemente un número de muestras separadas al mismo tiempo en un dispositivo de tratamiento de células centrifugador. Los sets o conjuntos de cámaras de tratamiento múltiple permiten la adición y extracción estéril de muestras (y fracciones tratadas de las mismas), fluidos de tratamiento (incluyendo enzimas, sales, tampones y otros productos químicos de tratamiento), y productos residuales sin necesidad de cierres herméticos giratorios de ningún tipo. Así, el set o conjunto de cámaras de tratamiento múltiple representa una parte de un sistema cerrado para el tratamiento de células biológicas e incluye un número de recipientes separados cerrados que pueden ser tratados en serie o en paralelo.

En una realización del presente invento, el set o conjunto de cámaras de tratamiento múltiple incluye cámaras flexibles de tratamiento y de extracción alternativas secuencialmente (también denominadas aquí como "bolsas") de tal modo que cada bolsa de tratamiento está en contacto con una o más bolsas de extracción. En una realización, las bolsas de extracción (E) y de tratamiento (P) están previstas en una relación 1:1 y están alternadas en la secuencia:

E-P-E-P-E-P-E-P-E.

En otra realización, las bolsas de extracción y de tratamiento están previstas en una relación de 2:1, secuenciadas para rodear cada bolsa de tratamiento P con su propio set o conjunto de dos bolsas de extracción:

E-P-E-E-P-E-E-P-E-E-P-E.

En cada uno de los ejemplos anteriores, pueden preverse cuatro bolsas P de tratamiento. Los sets o conjuntos de cámaras de tratamiento múltiple del invento pueden en teoría tener cualquier número específico de bolsas, desde dos hasta infinito, para tratar un número similar de muestras. Así, para la aplicación de los sets o conjuntos de cámaras de tratamiento múltiple del invento para el tratamiento de sangre, por ejemplo, el número de bolsas corresponderá usualmente al número de unidades o sangre que han de ser tratados. En tales casos, puede seleccionarse un set o conjunto de cámaras de tratamiento múltiple y que tiene el número apropiado de bolsas de tratamiento. Alternativamente, una o más de las bolsas de tratamiento puede opcionalmente ser dejada sin llenar o llenada con una solución que no es tratada si el set o conjunto de cámaras de tratamiento múltiple usado contiene un número mayor de bolsas de tratamiento que el número de muestras que ha de ser tratado.

El número y configuración óptimos de bolsas en el set o conjunto de cámaras de tratamiento múltiple puede ser limitado por el tamaño y capacidad del dispositivo centrifugador, de los materiales usados, o de otros factores conocidos por un experto en la técnica. Preferiblemente, los sets o conjuntos de cámaras de tratamiento múltiple del invento tienen entre 4 y 16 bolsas de tratamiento, y más preferiblemente tienen entre 8 y 12 bolsas de tratamiento, con números apropiados de bolsas de extracción entremezcladas como se ha descrito antes.

Las bolsas de tratamiento y de extracción pueden ser colocadas en la secuencia alternativa antes mencionada con una orientación que sitúa todas las bolsas o cámaras a lo largo de un eje de rotación situado centralmente. Así las cámaras están alineadas axialmente, es decir, apiladas (véase fig. 9, artículo 92). Este eje está definido en cada bolsa indicando el mayor área de la bolsa y encontrando el centro de rotación perpendicular a la mayor bolsa o superficie de cámara. Preferiblemente las bolsas son de forma circular, aunque pueden ser usadas otras formas.

Cada bolsa de tratamiento o de extracción está comprendida de un compartimiento flexible, un cubo central y anillos de soldadura para conectar el compartimiento flexible al cubo central. Como se ha mostrado en las figs. 1 y 5 para las bolsas de extracción y las bolsas de tratamiento, respectivamente, las bolsas 10, 50 tienen una abertura axial 11, 51 en las que está unido el cubo central. El compartimiento flexible de la bolsa de tratamiento y el cubo central están contruidos de un material plástico que es capaz de resistir una variedad de condiciones de tratamiento incluyendo, pero no estando limitado a, cambios en la temperatura, pH, y concentraciones de sal; aplicación de aceleración, deceleración y fuerzas centrífugas; y aplicación de fuerza desde el inflado o expansión de las bolsas de extracción. El compartimiento flexible de la bolsa de extracción está construido de un material plástico que es capaz de resistir el inflado con fluido o gas extractor. Preferiblemente, los compartimientos flexibles de las bolsas de tratamiento y de extracción están contruidos usando un material de PVC. Preferiblemente los cubos centrales y los anillos de soldadura están contruidos usando un material plástico rígido.

Los cubos centrales de plástico para las cámaras de tratamiento y de extracción son notablemente diferentes y se interbloquean de tal modo que, para el montaje apropiado de sets o conjuntos de cámaras de tratamiento múltiple, debe mantenerse la secuencia alternativa de bolsas de tratamiento y de extracción en una relación 1:1. Compárense las formas del cubo central de la bolsa de extracción representado en la fig. 2 y del cubo central de la bolsa de tratamiento representado en la fig. 6. Cada uno de estos cubos centrales respectivos tiene una conexión macho-hembra diferente para impedir la conexión con un cubo similar. Por ejemplo, el anillo exterior 61 que rodea al conector macho 64 del cubo de tratamiento impedirá su correspondencia con otro cubo central de tratamiento, pero se ajusta a la pestaña

## ES 2 341 535 T3

exterior 21 parámetro para permitir su correspondencia con un lado del cubo central de extracción (vista media). Cuando han coincidido apropiadamente, las características de correspondencia de los cubos centrales de tratamiento y de extracción alinearán, por ejemplo, agujeros periféricos 22, 62, y agujeros centrales 23, 63 en todos los casos; así como uno de los sets o conjuntos de superficies siguientes: superficies 24, 64 y 25, 65 o superficies 26, 66 y 27, 67.

5 Otras características de los cubos centrales permiten una orientación rotacional apropiada de los cubos de extracción y de tratamiento relativamente entre sí para impedir la desalinización de agujeros periféricos 22, 62.

Para el montaje de sets o conjuntos de cámaras de tratamiento múltiple que tienen bolsas de extracción y de tratamiento en una relación 2:1, puede preverse una geometría diferente para los cubos de plástico centrales que conectan las dos bolsas de extracción insertadas entre dos bolsas de tratamiento (es decir, la conexión subrayada: P-E-E-P).

10

Cada uno de los cubos centrales contiene varios trayectos o pasos de fluido independientes (por ejemplo agujeros pasantes 22, 62 y agujeros 23, 63 de los cubos centrales) que interconectan con pasos similares en cubos subsiguientes durante el montaje. La naturaleza del interbloqueo de los cubos fuerza los trayectos de fluido para que sean consistentes a lo largo de todo el montaje de tal modo que todos los trayectos de fluido mantienen independencia entre sí. Específicamente, un único trayecto de fluido es formado dentro del conjunto de cubos ensamblado que comunica con todas las bolsas o cámaras de extracción (agujeros pasantes 23, 63). Además, cada cámara o bolsa de tratamiento tiene un trayecto de fluido único e independiente a través del set o conjunto ensamblado de cubos (agujeros pasantes 22, 62).

15

20

El set o conjunto de cámaras de tratamiento múltiple (set o conjunto de bolsas) está definido como cualquier número de bolsas de tratamiento y bolsas de extracción asociadas ensambladas juntas con los cubos centrales en su sitio. Las operaciones de ensamblar bolsas de extracción están representadas en las figs. 3 y 4. La fig. 3 es una vista lateral del conjunto de bolsa de extracción, que muestra los anillos de soldadura 30 antes de su unión con el conjunto 31 de bolsa de extracción/cubo central (vista izquierda) y después de la unión (vista derecha) para formar un conjunto 32 de bolsa de extracción totalmente montado. La fig. 4 es una vista en perspectiva de un lado del conjunto de bolsa de extracción, que muestra el conjunto 41 de bolsa de extracción/cubo central (vista derecha) antes de unión con el anillo soldado 40, y después de unión (vista izquierda) para formar un conjunto 42 de bolsa de extracción totalmente montado. De modo similar, las operaciones de ensamblar bolsas de tratamiento están representadas en las figs. 7 y 8. La fig. 7 es una vista lateral del conjunto de bolsa de tratamiento, que muestra los anillos de soldadura 70 antes de su unión con el conjunto 71 de bolsas de tratamiento/cubo central (vista izquierda) y después de su unión (vista derecha) para formar un conjunto 72 de bolsas de tratamiento totalmente montado. La fig. 8 es una vista en perspectiva de un lado del conjunto de bolsa de tratamiento, que muestra el conjunto 81 de bolsa de tratamiento/cubo central (vista izquierda) antes de unión con el anillo soldado 80, y después de unión (vista derecha) para formar un conjunto 82 de bolsa de tratamiento totalmente montado.

25

30

35

Una vez que se ha ensamblado completamente un set o conjunto de bolsa disponiendo el número deseado de sets o conjuntos de bolsa de tratamiento y de conjuntos de bolsa de extracción, se montan dos cubos centrales específicos, uno en cada extremo del conjunto de bolsas. El cubo central más alejado del punto de entrada de fluido sirve para terminar los trayectos de fluido, es decir, es un cubo terminal. El cubo central más próximo al punto de entrada de fluido sirve como una interfaz entre el set o conjunto de bolsa y el trayecto de fluido externo a la centrifugadora, es decir, es un cubo de entrada de fluido. Un set o conjunto 90 de bolsa completado (es decir un set o conjunto de cámaras de tratamiento múltiple) está representado en la fig. 9. El cubo 91 de entrada de fluido forma la interfaz entre un tubo 93 de múltiples lúmenes y las bolsas 92 de tratamiento/extracción montadas. El tubo de múltiples lúmenes incluye preferiblemente al menos tantos lúmenes como bolsas de tratamiento y de extracción hay.

40

45

Aún en otra realización, múltiples sets o conjuntos de combinaciones de bolsa de extracción y de bolsa de tratamiento son ensamblados en la relación 1:1, excepto en que la bolsa de portada del procesador está dimensionada de menor tamaño que las bolsas de extracción y es colocada dentro de la bolsa de extracción, produciendo un conjunto "bolsa dentro de una bolsa" ilustrado en las figs. 10 a 12.

50

Como se ha mostrado en estas figuras, el conjunto 94 de bolsa dentro de una bolsa incluye la bolsa 96 de extracción exterior, una bolsa 98 de tratamiento interior, anillos de soldadura exteriores 100, anillos de soldadura interiores 102 y cubos 104. En el eje central, un conducto 106 permite que un fluido extractor sea bombeado a (y fuera de) la bolsa de extracción, de modo que los puertos 108 permiten que los componentes que sobrenadan o están separados fluyan hacia fuera de la bolsa de tratamiento a través de conducto 110.

55

El cubo está diseñado de modo que múltiples conjuntos puedan ser ensamblados juntos. Específicamente, un lado del cubo incluye un rebaje 112 mientras el otro lado incluye una parte sobresaliente 114 del conducto 106. Así, el rebaje 112 recibe una parte sobresaliente correspondiente 114 de una bolsa adyacente dentro de un conjunto de bolsa.

60

El invento incluye además un método para tratar independiente y simultáneamente múltiples muestras en dispositivo centrifugador. En particular, el invento proporciona medios para el uso de un set o conjunto de cámaras de tratamiento múltiple en el tratamiento de células biológicas de acuerdo con los protocolos definidos en un dispositivo de tratamiento de células. El método es útil para lavar células, separación de componentes de la sangre, tratamiento de componentes de la sangre, incluyendo la conversión enzimática del tipo de sangre de células de glóbulos rojos de la sangre (por ejemplo tipos A, B o AB a tipo 0 de glóbulos rojos), inactivación patógena de fluidos o células bio-

65

## ES 2 341 535 T3

lógicos, y similares. Los métodos utilizan un protocolo de tratamiento definido que implica la adición de una o más muestras a las bolsas de tratamiento del set o conjunto de cámaras de tratamiento múltiple, la centrifugación opcional de las muestras, la extracción opcional de la sustancia que sobrenada formada por la centrifugación, añadiendo uno o más productos químicos o fluidos de proceso, etc. Los protocolos de tratamiento son conocidos por los expertos en la técnica, y sigue un método ejemplar.

El método de separar o tratar muestras puede ser definido en varias operaciones subsiguientes al montaje del set o conjunto de bolsas. La operación inicial implica montar el set o conjunto de bolsas en una centrifugadora de volumen fijo continuo. El fluido (por ejemplo sangre) que ha de ser separado o tratado es drenado, bombeado o cargado de otro modo en las cámaras o bolsas de tratamiento y los componentes son separados utilizando la centrifugación. Para la extracción del fluido sobrenadante o de los componentes separados, la centrifugadora es ralentizada a la velocidad de extracción mientras la interfaz de componentes es mantenida. En este punto, el fluido extractor (véase por ejemplo la solicitud de patente de PCT PCT/US98/10406) es entregado a las bolsas de extracción, preferiblemente mediante una bomba calibrada. Cuando el fluido extractor llena las bolsas de extracción, el volumen total del compartimiento centrífugo disponible para las bolsas de tratamiento es reducido proporcionalmente. Así, a causa del volumen centrífugo fijo, cuando el fluido extractor llena las bolsas de extracción, el contenido de la bolsa de tratamiento es vaciado o extraído. Además, el contenido de las bolsas de tratamiento es extraído preferentemente de menos denso a más denso debido a la centrifugación y al hecho de que el fluido extractor es más denso que el componente más denso contenido dentro de la cámara de tratamiento.

El fluido extractor puede incluir dos componentes de fluido que, cuando son mezclados juntos, crean un fluido que es más pesado que el componente más pesado de la muestra biológica. Por ejemplo, si la muestra biológica es sangre, los dos componentes del fluido mezclados crean un fluido más pesado que el componente de glóbulos rojos de la sangre (es decir que el componente más pesado) de sangre, de modo que todos los componentes de la sangre (por ejemplo glóbulos rojos, glóbulos blancos, plaquetas) pueden ser separados y eliminados de las bolsas de tratamiento.

Sin embargo, si solamente se requiere que se separen ciertos componentes de la muestra biológica, entonces el fluido extractor puede no requerirse que sea más pesado que el componente más pesado de la muestra. Por ejemplo, si los glóbulos rojos de la sangre son el único componente que requeriría separación de una muestra de sangre, entonces pueden usarse un fluido extractor comprimido sustancialmente de aire.

Así bajo la fuerza centrífuga el fluido extractor llenará las bolsas de extracción desde la parte radial más exterior hacia dentro a la parte radial más interior como se ha descrito en la solicitud de patente de PCT PCT/US98/10406. Finalmente, cuando las bolsas de extracción se llenan desde la parte radial más exterior hacia dentro, el volumen reducido dentro de las bolsas de tratamiento hace que el fluido en la parte radial más interior de las bolsas de tratamiento sea extraído. Después de la extracción, el fluido extractor puede ser eliminado, si se desea, de las bolsas de extracción por aplicación de un vacío a la tubería o tuberías de alimentación de las bolsas de extracción, el uso del fluido extractor también permite el ajuste del volumen de las bolsas de tratamiento cuando se necesite, por ejemplo, para diferentes protocolos o para diferentes operaciones de un único protocolo. Un experto en la técnica apreciará que si se usa aire como fluido extractor, puede ser eliminado en un período de tiempo mucho más corto que los fluidos extractores usuales más pesados utilizados para separar más componentes de la muestra.

Las subsiguientes operaciones de protocolo pueden incluir el lavado de células después de que los sobrenadantes haya sido extraídos. Los fluidos de lavado y/o los fluidos de tratamiento, etc., son introducidos en las bolsas de tratamiento como lo fueron las muestras, e incubados con la muestra. Las bolsas de tratamiento pueden ser agitadas si se desea invirtiendo el sentido del accionamiento centrífugo, haciendo girar la centrifugadora intermitentemente, y así sucesivamente.

Aunque el invento ha sido descrito con respecto a ciertas realizaciones, debería apreciarse que pueden hacerse muchas modificaciones y cambios por los expertos en la técnica sin salir del marco del invento. Se pretende que tal modificación, cambios y equivalentes caigan dentro del marco de las siguientes reivindicaciones.

55

60

65

# ES 2 341 535 T3

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Un aparato de tratamiento de múltiples muestras, para una centrifugadora de flujo continuo, **caracterizado** porque comprende una pluralidad de cámaras (50) de tratamiento y cámaras de extracción (10) axialmente alineadas, comprendiendo cada cámara una abertura axial (11, 51) en una disposición fija, y una pluralidad de cubos centrales (20, 60) cada cubo dispuesto dentro de una abertura axial (11, 51) de una cámara de tratamiento respectiva (50) o de una cámara de extracción respectiva (10), construidos y dispuestos los cubos centrales para definir pasos (agujeros pasantes 22, 62, 23, 63) para una comunicación de fluido entre las cámaras (10, 50) y una alimentación de fluido.
- 10 2. Un aparato según la reivindicación 1, en el que dicha cámara de tratamiento (50) y dichas cámaras de extracción (10) están dispuestas alternativamente.
- 15 3. Un aparato según la reivindicación 1, en el que cada una de dichas cámaras de tratamiento (50) está dispuesta dentro de una cámara de extracción correspondiente (10).
- 20 4. Un aparato según la reivindicación 1, en el que una cámara de tratamiento (50) está posicionada entre dos cámaras de extracción (10).
- 25 5. Un aparato según cualquier reivindicación precedente, en el que en las cámaras de tratamiento (50) y de extracción (10) son construidas y previstas para ser flexibles y expandibles.
- 30 6. Una aparato según cualquier reivindicación precedente, en el que los cubos centrales (20, 60) incluyen una pluralidad de pasos (agujeros pasantes 22, 62, 23, 63) para comunicación de fluido.
- 35 7. Un aparato según cualquier reivindicación precedente, en el que los cubos centrales (20, 60) comprenden un número de pasos (agujeros pasantes 22, 62, 23, 63) para comunicación de fluido que es al menos igual al número de cámaras en el aparato.
- 40 8. Un aparato según cualquier reivindicación precedente, que comprende además una pluralidad de anillos de soldadura (30, 40, 70) dispuestos sobre los cubos centrales, y construidos y dispuestos para permitir la unión de cámaras de tratamiento (50) y cámaras de extracción (10).
- 45 9. Un aparato según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 y 4 a 8, en el que las cámaras de tratamiento (50) y las cámaras de extracción (10) tienen sustancialmente la misma forma.
- 50 10. Un aparato según la reivindicación 9 en el que las cámaras de tratamiento (50) y las cámaras de extracción (10) son sustancialmente circulares.
- 55 11. Un aparato según la reivindicación 10, en el que las cámaras de tratamiento (50) y las cámaras de extracción (10) tienen sustancialmente el mismo diámetro.
- 60 12. Un aparato según cualquiera de las reivindicaciones 1, 3 y 5 a 8, en el que las cámaras de tratamiento (50) son menores que las cámaras de extracción (10).
- 65 13. Un aparato según la reivindicación 12, en el que las cámaras de tratamiento (50) tienen un diámetro menor que las cámaras de extracción (10).
14. Un aparato según cualquier reivindicación precedente, en el que las cámaras de tratamiento (50) y las cámaras de extracción (10) están construidas a partir de dos láminas de material flexible, siendo cerradas herméticamente las láminas de material flexible en una circunferencia exterior y una circunferencia interior, en que la circunferencia interior es sustancialmente adyacente a la abertura axial (11, 51).
15. Un aparato según cualquier reivindicación precedente, que comprende además un cubo central terminal (20, 60) dispuesto en una extremidad de la pluralidad de cámaras de tratamiento (50) y cámaras de extracción (10) axialmente alineadas.
16. Un aparato según cualquier reivindicación precedente, que comprende además un cubo de entrada de fluido (91) dispuesto en un punto de entrada de fluido de la pluralidad de cámaras de tratamiento (50) y de cámaras de extracción (10) alineadas axialmente.
17. Un aparato según la reivindicación 16, en el que el trayecto de fluido externo a la centrifugadora es un tubo (93) de múltiples lúmenes o aberturas.
18. Un método para el tratamiento independiente y simultáneamente de una pluralidad de muestras en un dispositivo centrífugo, comprendiendo el dispositivo un aparato de tratamiento de múltiples muestras para una centrifugadora de flujo continuo, que incluye una pluralidad de cámaras de tratamiento (50) y cámaras de extracción (10) alineadas axialmente comprendiendo cada cámara una abertura axial (11, 51) en una disposición fija, y una pluralidad de cubos

## ES 2 341 535 T3

centrales (20, 60) dispuestos en las aberturas axiales, los cubos centrales construidos y dispuestos para definir pasos (agujeros pasantes 22, 62, 23, 63) para la comunicación de fluido entre las cámaras y una alimentación de fluido, comprendiendo el método: añadir una pluralidad de muestras a la pluralidad de cámaras de tratamiento (50), centrifugar la pluralidad de muestras, extraer opcionalmente una pluralidad de sobrenadantes, que comprenden una primera parte de las muestras formadas por la centrifugación de la pluralidad de muestras y opcionalmente extraer una pluralidad de pelets que comprenden una segunda parte de las muestras formadas por la centrifugación de la pluralidad de muestras, en el que los sobrenadantes y los pelets son extraídos llenando las bolsas de extracción (10) con un fluido extractor.

19. Un método según la reivindicación 18, en el que dicho fluido extractor comprende una mezcla de dos fluidos.

20. Un método según la reivindicación 18, en el que dicho fluido extractor comprende aire.

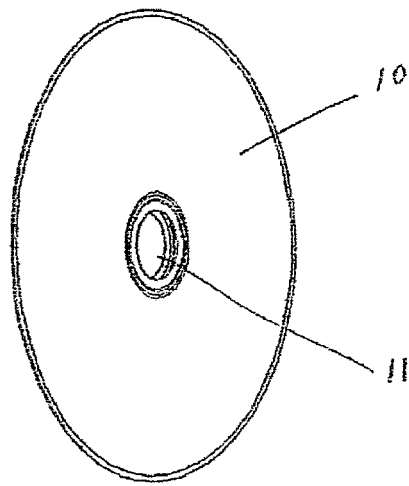


FIGURA 1 BOLSA DE EXTRACTOR

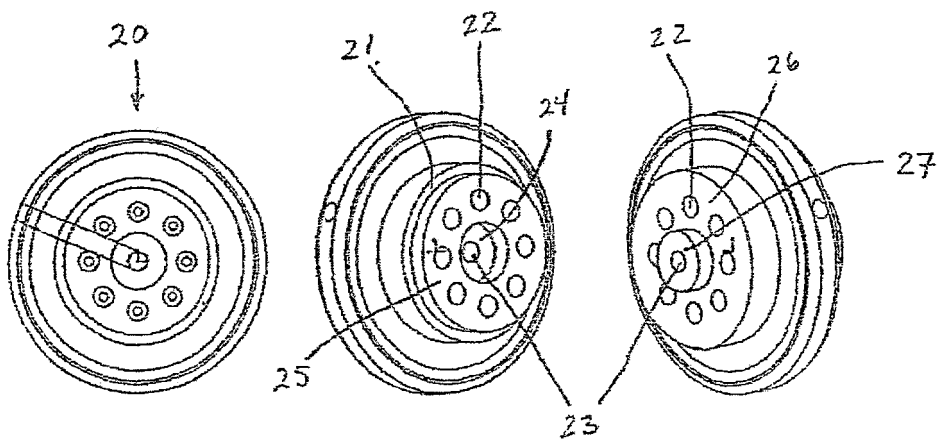


FIGURA 2 CUBO CENTRAL DE EXTRACTOR

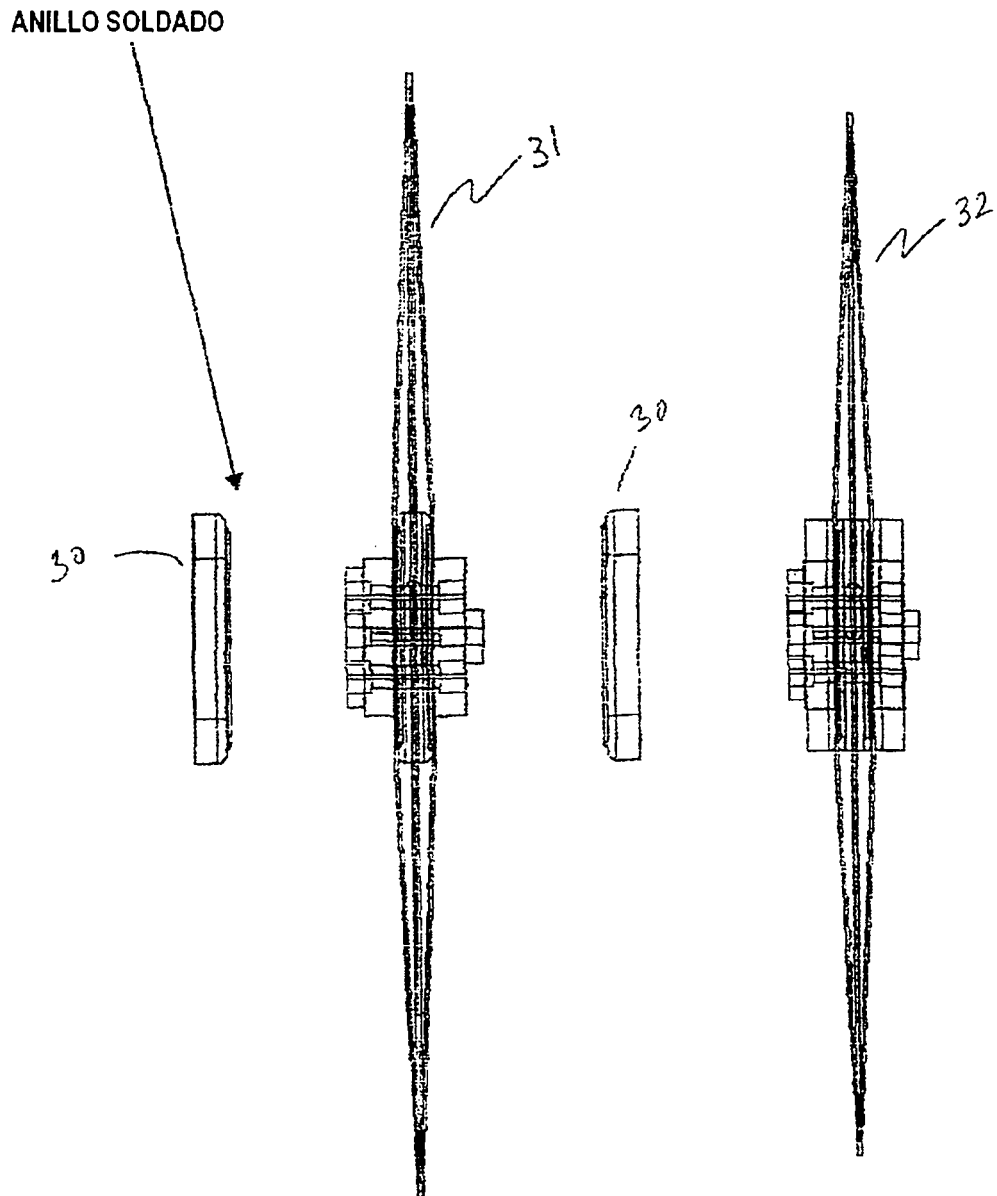


FIGURA 3 CONJUNTO DE BOLSA DE EXTRACTOR

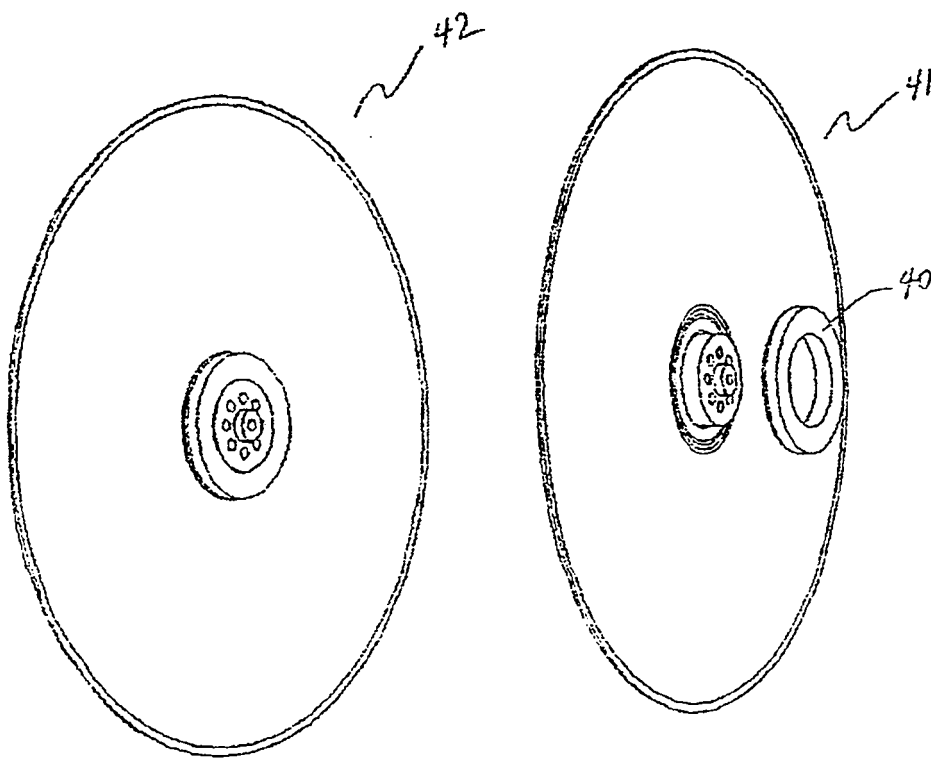


FIGURA 4 CONJUNTO DE BOLSA DE EXTRACTOR

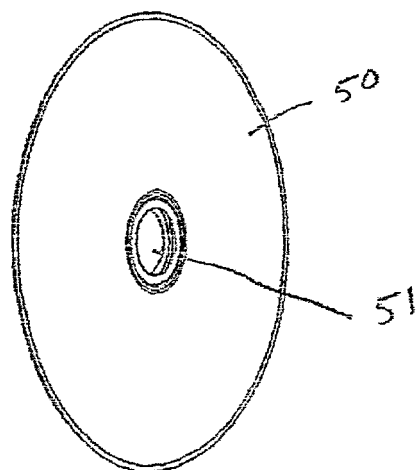


FIGURA 5 BOLSA DE TRATAMIENTO

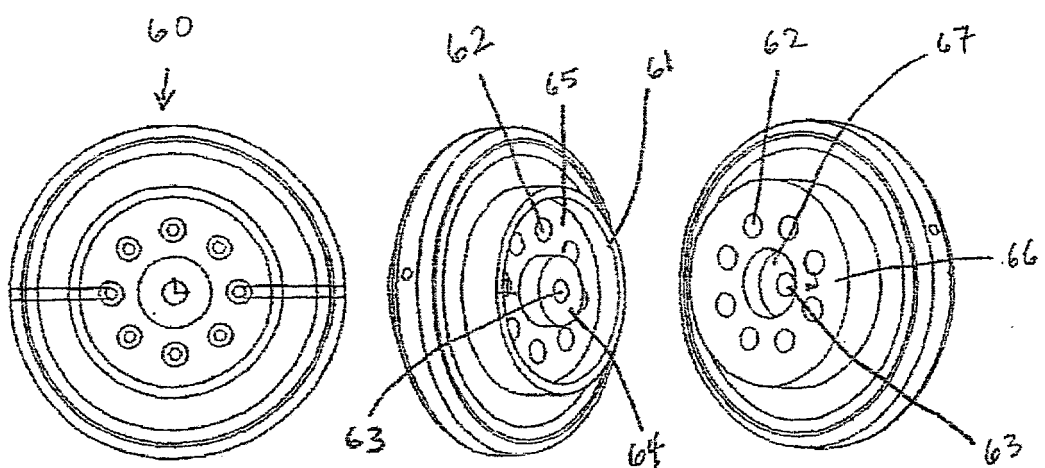


FIGURA 6 CUBO CENTRAL DE TRATAMIENTO

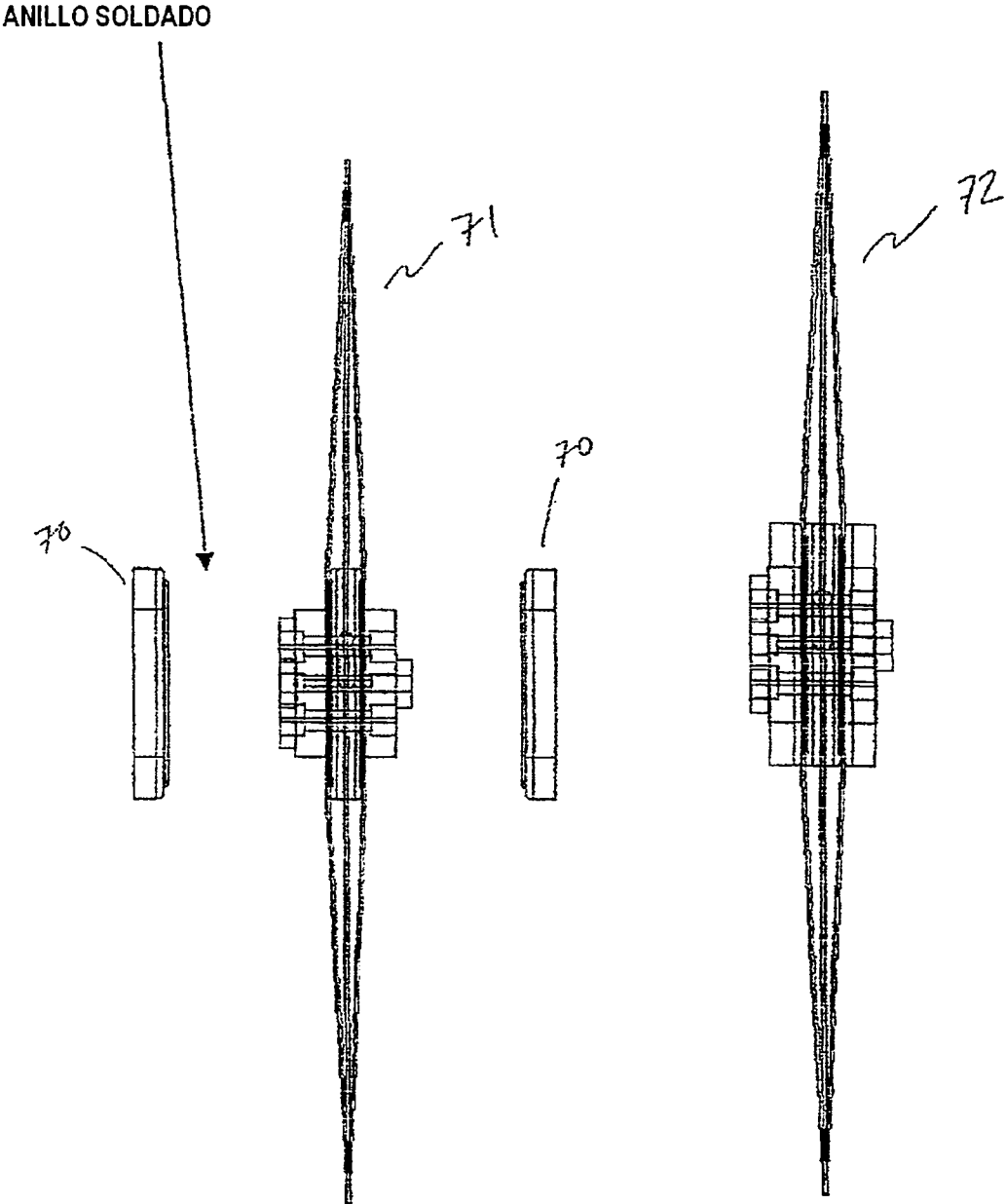


FIGURA 7 CONJUNTO DE BOLSA DE TRATAMIENTO

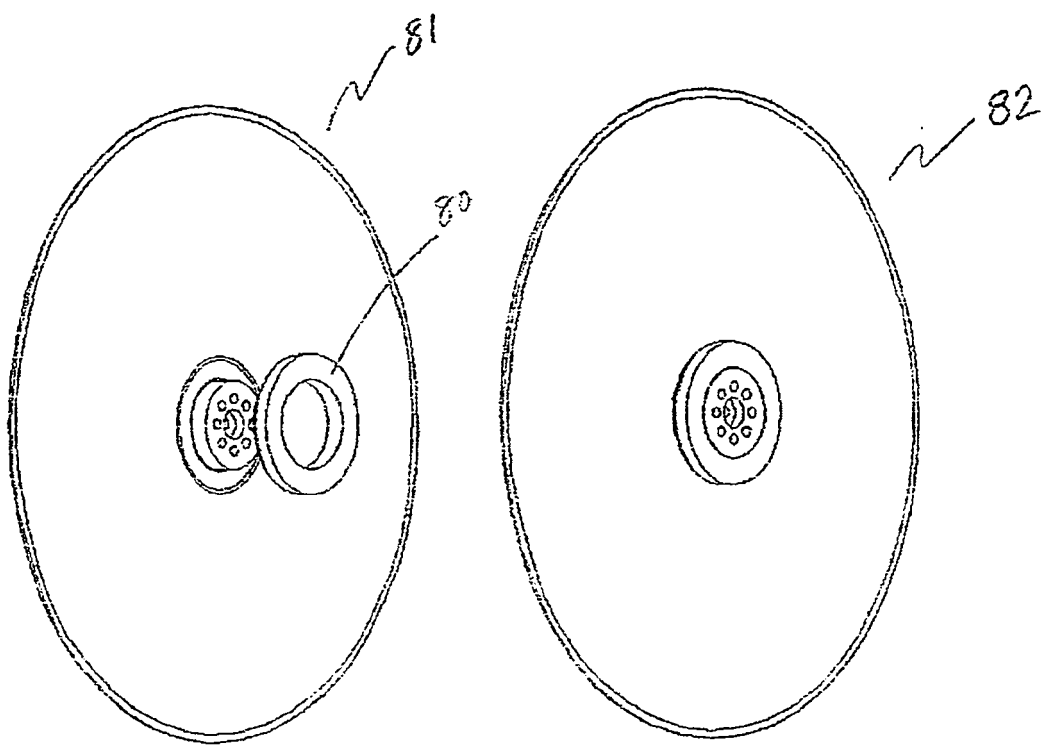


FIGURA 8 CONJUNTO DE BOLSA DE TRATAMIENTO

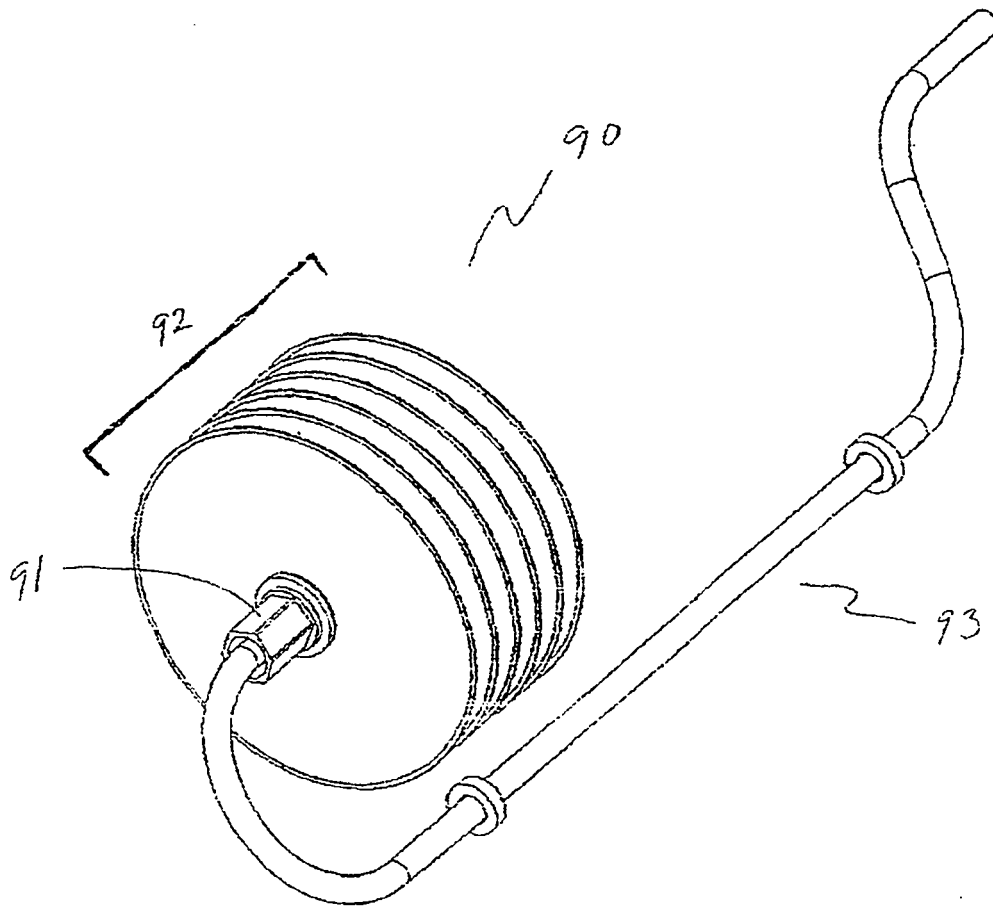


FIGURA 9 MONTAJE DE CONJUNTO DE BOLSAS

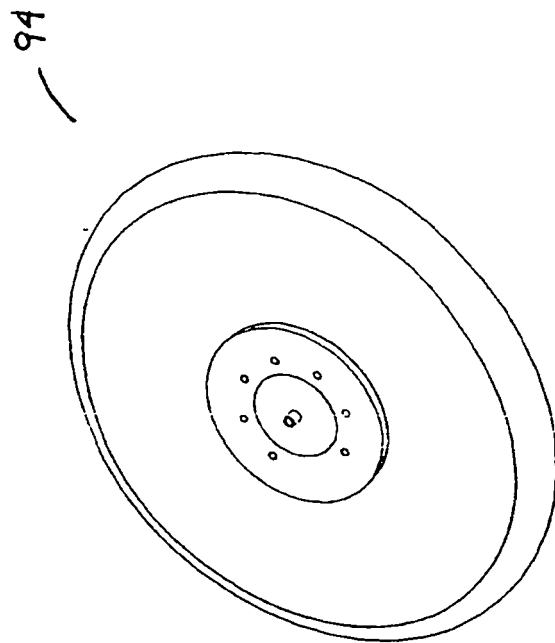


Fig. 10

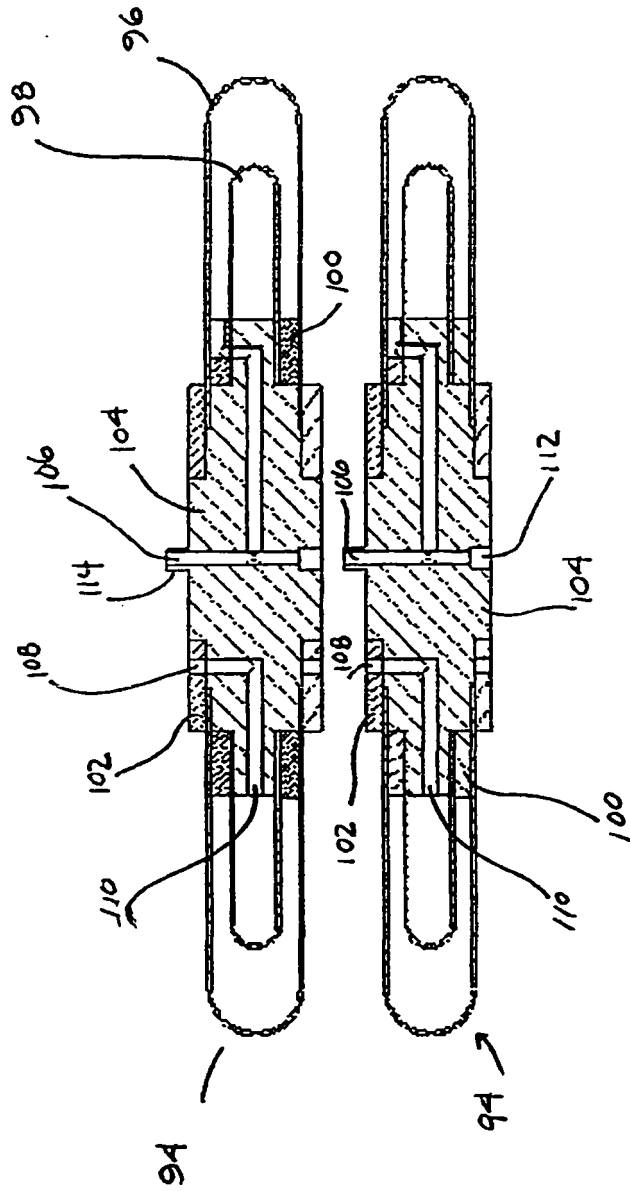


FIG. 11

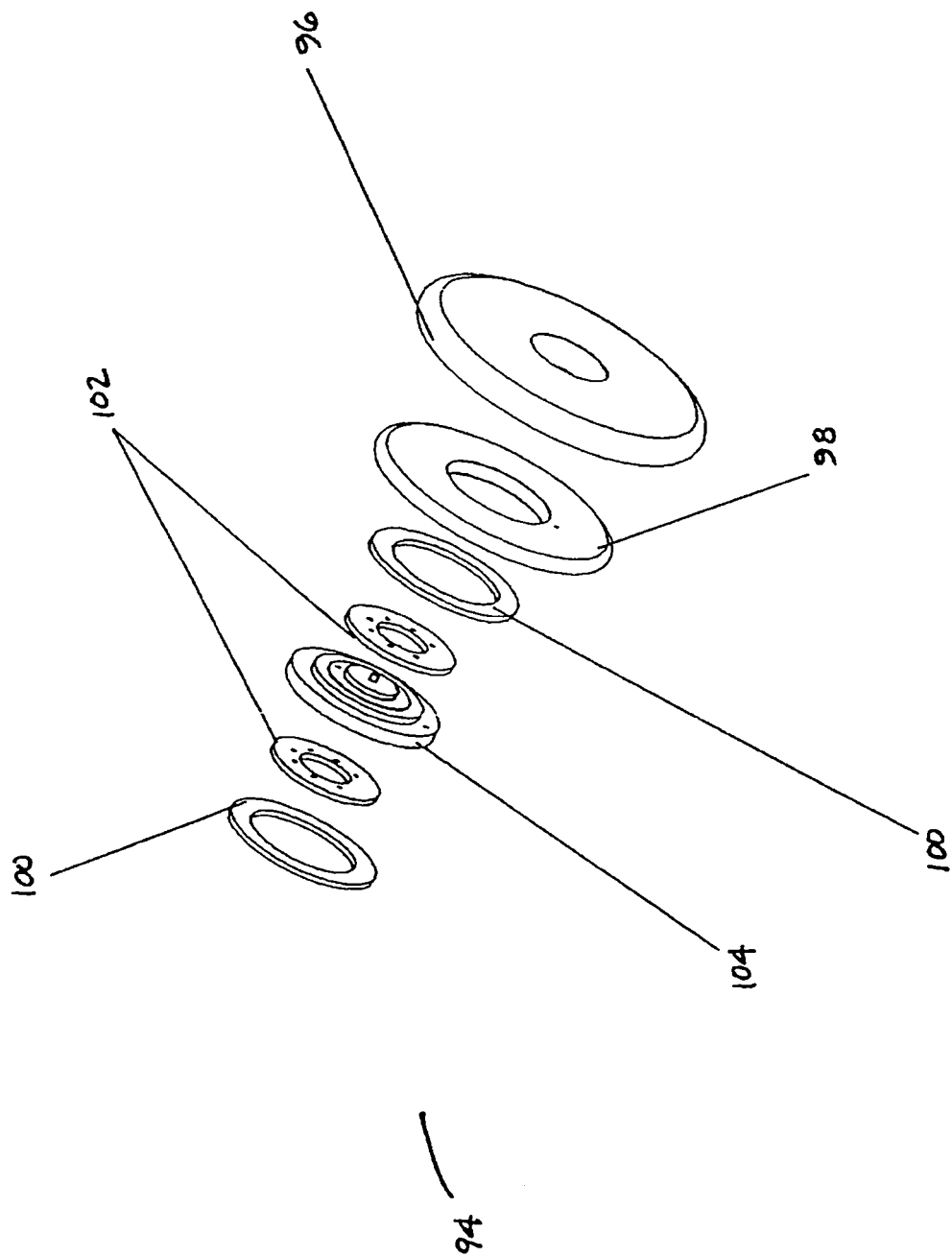


FIG. 12