

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 390 621**

51 Int. Cl.:
B01L 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **08157955 .9**
96 Fecha de presentación: **10.06.2008**
97 Número de publicación de la solicitud: **2014367**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **14.01.2009**

54 Título: **Aparato y procedimiento para el lavado de material biológico**

30 Prioridad:
02.07.2007 TW 96123957
17.04.2008 US 104685

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
14.11.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
14.11.2012

73 Titular/es:
**INDUSTRIAL TECHNOLOGY RESEARCH
INSTITUTE (100.0%)
NO. 195 SEC. 4 CHUNG HSING ROAD
CHUTUNG HSINCHU 310, TW**

72 Inventor/es:
**CHEN, CHUNG-NUN;
LIAO, CHUN-JEN;
LIN, CHIN-YU;
CHEN, CHIN-FU y
WU, YUNG CHIH**

74 Agente/Representante:
CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 390 621 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

Aparato y procedimiento para el lavado de material biológico

5 Los avances en las tecnologías médicas han ofrecido nuevas promesas en el campo de la regeneración tisular. Recientemente, por ejemplo, se ha implantado quirúrgicamente en pacientes tejido del cartílago creado mediante bioingeniería para reparar el cartílago en rodillas lesionadas. En algunas situaciones, para crear dicho implante, se han recogido células primarias de un donante de tejido y se han cultivado en soportes para formar nuevos tejidos. Durante este proceso, las células/tejidos recogidos y cultivados se lavan y filtran frecuentemente para eliminar reactivos químicos y evitar la contaminación. Los aparatos de lavado convencionales incluyen centrífugas de laboratorio que usan fuerzas centrífugas para separar el tejido/célula de las mezclas. Sin embargo, las centrífugas de laboratorio no son adecuadas para su uso en quirófanos.

15 En un aspecto, en general, se proporciona un aparato para el lavado de material biológico que incluye una cubierta externa y una cubierta interna dispuesta dentro de la cubierta externa, según se reivindica en la reivindicación 1. La cubierta externa tiene un extremo abierto para recibir al material biológico, y un extremo opuesto cerrado. La cubierta interna se coloca de forma desmontable y deslizable dentro de la cubierta externa, e incluye un primer puerto para recibir y dispensar el líquido de lavado, un segundo puerto que define una vía de flujo de líquido entre un interior de la cubierta interna y un interior de la cubierta externa, y un filtro dispuesto en el segundo puerto. El filtro permite el paso del líquido de lavado pero no el paso del material biológico a través del mismo. Hay una cámara, formada entre el filtro y el extremo cerrado de la cubierta externa, configurada para permitir el flujo del líquido de lavado a través del filtro mientras retiene el material biológico en ella.

20 Las formas de realización pueden incluir una o más de las siguientes características.

La cubierta externa incluye una primera pieza de cubierta y una segunda pieza de cubierta conectada de forma desmontable con la primera pieza de cubierta. La cubierta interna incluye un miembro flexible que se acopla herméticamente a la superficie periférica interior de la cubierta externa. El miembro flexible incluye un miembro de goma anular.

25 La cubierta externa comprende un miembro de base y un miembro de extensión. El miembro de base tiene un extremo abierto y un extremo opuesto cerrado, y el miembro de extensión tiene abiertos el primer y el segundo extremo que son respectivamente opuestos. El primer extremo del miembro de extensión está configurado para conectarse de forma desmontable al extremo abierto del miembro de base. El segundo extremo del miembro de extensión está configurado para conectarse de forma desmontable a otro miembro de extensión. Según la invención, el segundo extremo está configurado para recibir el material biológico.

El primer puerto de la cubierta interna incluye una porción de detención, configurada la porción de detención para limitar el movimiento axial relativo de la cubierta interna con respecto a la cubierta externa.

35 El filtro puede disponerse de forma extraíble en el segundo puerto. El filtro puede ser un filtro de malla con una pluralidad de aberturas de malla. El tamaño de la pluralidad de las aberturas de malla varía desde 100 µm hasta 3.000 µm de diámetro. Alternativamente, el filtro puede ser un filtro de membrana con una pluralidad de aberturas de membrana. El tamaño de la pluralidad de las aberturas de membrana varía entre 5 µm hasta 20 µm de diámetro.

40 En otro aspecto, en general, se proporciona un procedimiento de lavado de material biológico. El procedimiento incluye las siguientes etapas: proporcionar el material biológico; colocar el material biológico en una cámara del aparato según la invención; y dirigir el líquido de lavado dentro y fuera de la cámara a través de un filtro expandiendo y contrayendo la cámara, mientras que el material biológico queda retenido en la cámara.

Las formas de realización pueden incluir una o más de las siguientes etapas adicionales: proporcionar dicho líquido de lavado dentro de la cámara; descargar dicho líquido de lavado de la cámara a través del filtro; proporcionar un nuevo líquido de lavado a la cámara después de descargar dicho líquido de lavado; agitar el líquido de lavado dentro de la cámara; y recoger dicho material biológico después de descargar dicho líquido de lavado.

45 En algunas formas de realización, el procedimiento incluye adicionalmente uno o más de las siguientes etapas: proporcionar una cubierta exterior con un extremo abierto para recibir el material biológico y un extremo opuesto cerrado; y proporcionar una cubierta interior colocada de forma desmontable y deslizable dentro de la cubierta exterior. En algunas formas de realización, la cubierta interior incluye un primer puerto para recibir y dispensar dicho líquido de lavado, y un segundo puerto que define una vía de paso de líquido entre un interior de la cubierta interna y un interior de la cubierta externa. Además, el filtro está dispuesto en el segundo puerto, y la cámara se forma entre el filtro y el extremo cerrado de la cubierta exterior.

Las formas de realización pueden incluir la siguiente característica. La cubierta exterior incluye una primera pieza de cubierta y una segunda pieza de cubierta conectada de forma desmontable con la primera pieza de cubierta, y el procedimiento incluye la etapa adicional del procedimiento de desmontar la primera pieza de cubierta de la segunda pieza de cubierta para recoger dicho material biológico.

- 5 Otras características y ventajas de la invención son apreciables a partir de la siguiente descripción, y de las reivindicaciones.

La FIG. 1 es una vista transversal de un aparato para el lavado de material biológico.

La FIG. 2A es una vista en perspectiva de la cubierta externa del aparato mostrado en la FIG. 1.

La FIG. 2B es una vista transversal de la cubierta externa de la FIG. 2A.

- 10 La FIG. 3A es una vista en perspectiva de la cubierta interna del aparato mostrado en la FIG. 1.

La FIG. 3B es una vista transversal de la cubierta interna de la FIG. 3A.

La FIG. 4 es un diagrama de flujo que ilustra un procedimiento de lavado de material biológico que usa el aparato mostrado en la FIG. 1.

Las FIGs. 5A y 5B representan modos de operación ejemplares del aparato de lavado.

- 15 Haciendo referencia a la Fig. 1, en una forma de realización preferida, un aparato de lavado 100 incluye una cubierta interna 20 colocada de forma desmontable y deslizante en una cubierta externa 10. La cubierta interna 20 y la cubierta externa 10 son miembros tubulares alargados, y en algunas formas de realización, tienen una sección transversal circular.

- 20 Haciendo referencia a las FIGs. 2A y 2B, la cubierta externa 10 incluye una primera pieza de cubierta 11 y una segunda pieza de cubierta 12. La segunda pieza de cubierta 12 sirve como miembro de base, e incluye un extremo superior abierto 18, y un extremo inferior cerrado 19. Los términos "superior" e "inferior" se usan aquí y a lo largo de este documento con propósitos descriptivos más que para implicar cualquier orientación relativa absoluta. La primera pieza de cubierta 11 sirve como un miembro de extensión, e incluye unos extremos superior 14 e inferior 15 opuestos. Ambos extremos superior e inferior 14, 15 están abiertos. La abertura del extremo superior 14 se identifica como una abertura 13. El extremo inferior 15 de la primera pieza de cubierta 11 está conectado de forma desmontable con el extremo superior 18 de la segunda pieza de cubierta 12.

- 30 En algunas formas de realización, la primera y la segunda pieza de cubierta están conectadas, por ejemplo, mediante roscas, aunque está en el ámbito de la invención conectar de forma desmontable la primera y la segunda cubierta 11, 12 mediante otros medios convencionales, tales como un acople de ajuste por presión. En algunas formas de realización, la periferia exterior del extremo superior 18 de la segunda pieza de cubierta 12 está provista con roscas 28 configuradas para acoplar cooperativamente roscas complementarias 27 formadas en la periferia interior del extremo inferior 15 de la primera pieza de cubierta 11. En algunas formas de realización, la periferia exterior del extremo superior 14 de la primera pieza de cubierta está provista con roscas 26 configuradas para acoplar cooperativamente roscas de un miembro de extensión adicional (no mostrado).

- 35 La cubierta externa 10 está configurada para recibir, a través de la abertura 13, el material biológico que necesita ser lavado. Cuando se completa el lavado, la primera pieza de cubierta 11 puede desmontarse de la segunda pieza de cubierta 12, en la que se recoge el material biológico.

- 40 Haciendo referencia a las FIGs. 3A y 3B, la cubierta interna 20 tiene un primer puerto 22 formado en un extremo superior 44 de la misma, y un segundo puerto 23 formado en un extremo inferior 42 de la misma. El primer puerto 22 está configurado para recibir el líquido de lavado (por ejemplo, disolución salina), mientras que el segundo puerto 23 define una vía de flujo para el intercambio de líquido entre los interiores de las cubiertas interna y externa 20 y 10. El extremo superior 44 de la cubierta interna 20 incluye un miembro de detención 25. El miembro de detención 25 también sirve como mango.

- 45 El miembro de retención 25 es una protuberancia que se extiende hacia fuera con una dimensión exterior que es mayor que la dimensión de la abertura 13 del extremo superior de la cubierta externa 10. El miembro de detección 25 determina una distancia máxima a la que se permite desplazar la cubierta interior 20 dentro de la cubierta exterior 10. La cubierta interior 20 incluye adicionalmente un cuerpo tubular 21 que se extiende desde el miembro de detención 25. En algunas formas de realización, el cuerpo tubular 21 tiene una dimensión axial que es menor que la de la cubierta externa 10, de forma que cuando se inserta la cubierta interna 20 en la cubierta externa 20 hasta el punto permitido por el miembro de detención 25, el extremo inferior 42 de la cubierta interna 20 está separado del

extremo inferior cerrado 19 de la cubierta externa. Esto es, se forma una cámara 50 dentro de la cubierta externa entre el extremo inferior 42 de la cubierta interna 20 y el extremo inferior cerrado 19 de la cubierta externa, en el que puede recogerse el material biológico. Por lo tanto, el miembro de detención 25 se proporciona para que limite el punto hasta el cual se mueve la cubierta interna con respecto a la cubierta externa 10, mediante lo que se evita que una mala manipulación del aparato 100 pueda dañar el material biológico.

La cámara 50 varía su tamaño según las posiciones relativas de las cubiertas interna y externa 10, 20.

La cubierta interna 20 incluye adicionalmente una estructura de filtro 32 dispuesta en el segundo puerto 23. Por lo tanto, la estructura de filtro 32 proporciona un límite superior de la cámara 50. El material biológico 40 puede colocarse en la cubierta externa 10 y confinarse en la cámara 50 mediante el filtro 30 durante el proceso de lavado (véase la FIG. 5A). Para los propósitos de esta desvelación, el material biológico 40 puede incluir, pero no se limita a, una o más células o lisados de las mismas, y tejidos.

En algunas formas de realización se proporciona un miembro flexible 24 en el extremo inferior 42 de la cubierta interna 20 que acopla herméticamente una superficie periférica interior de la cubierta externa 10. El miembro flexible 24 está fijado a la superficie periférica exterior de la cubierta interna 20, y puede consistir en, por ejemplo, un miembro de goma anular (por ejemplo, un anillo en o). El miembro flexible 24 sirve para sellar el espacio entre la superficie periférica interior de la cubierta externa 10 y la superficie periférica exterior de la cubierta interna 20, mediante lo que se evita que el fluido de lavado y el material biológico salgan de la cámara 50 por un sitio distinto al filtro 30.

La estructura de filtro 32 dispuesta en el segundo puerto 23 define una vía de flujo de líquido entre los interiores de las cubiertas interna y externa 20, 10. En algunas formas de realización, la estructura de filtro 32 incluye un filtro 30 fijado y colocado entre un miembro de malla de alambre 34 y miembros de soporte 29 formados en el segundo puerto 23 (FIGs. 3B, 5A y 5B). En otras formas de realización, la estructura de filtro 32 incluye un filtro 30 fijado y colocado entre dos miembros de malla de alambre (no mostrados). Esta disposición proporciona soporte adicional al filtro 30 para evitar la ruptura o la deformación del filtro durante el proceso de lavado. En otras formas de realización más, el filtro 30 está montado sobre una estructura de soporte (por ejemplo, un miembro de malla de alambre) que es desmontable del segundo puerto 23 para permitir la reutilización del aparato de lavado con la sustitución de los filtros (no mostrado).

Dependiendo de la implementación pueden emplearse varios filtros en la estructura de filtro 32 del aparato de lavado 100. Por ejemplo, cuando se lavan tejidos obtenidos a partir de cartílago, puede ser adecuado un filtro de malla con un tamaño de poro de 100 μm , mientras que un filtro de malla con un tamaño de poro en el intervalo de desde 150 μm hasta 3.000 μm puede ser adecuado para tejidos obtenidos a partir de un cordón umbilical. Cuando el material biológico que se va a lavar consiste en células más que en tejidos, es preferible elegir filtros de membrana con un tamaño de poro menor. Por ejemplo, cuando se lavan células, puede ser adecuado un filtro de membrana con un tamaño de poro de 10 μm . En algunas formas de realización, los filtros de membrana pueden incluir tamaños de poro en el intervalo de desde 5 μm hasta 20 μm .

Haciendo referencia a la FIG. 4, un diagrama de flujo 400 ilustra un procedimiento de lavado de material biológico que usa el aparato 100 descrito anteriormente.

Inicialmente, en la etapa 410, se coloca el material biológico 40 (por ejemplo, tejido biológico) en la cubierta externa 10 a través de la abertura 13. En la etapa 420, la cubierta interna 20 se inserta en la cubierta externa 10 para formar la cámara 50, en la que el material biológico 40 es retenido durante el proceso de lavado. En la etapa 430, la cámara 50 se llena con el líquido de lavado 60 adecuado para este material biológico 40. El líquido de lavado 60 se proporciona a través del primer puerto 22 de la cubierta interna 20. Un ejemplo de un líquido de lavado usado habitualmente 60 incluye disolución salina tamponada con fosfato (*phosphate buffer saline*, PBS), pero la invención no se limita a la misma.

A continuación se realiza el proceso de lavado 440 llevando el líquido de lavado 60 dentro y fuera de la cámara a través del filtro 30. Este proceso 440 incluye, por ejemplo, mover la cubierta interna 20 en una primera dirección axial D1 para comprimir la cámara 50 (etapa 442), y mover la cubierta interna 20 en una segunda dirección axial D2 para expandir la cámara (etapa 444), según se representa en las FIGs. 5A y 5B, respectivamente. Estas dos etapas pueden realizarse múltiples veces de forma alternativa para eliminar, por ejemplo, reactivos químicos no deseados contenidos en el material biológico. En algunas aplicaciones, una suave agitación de la mezcla (etapa 446) también ayuda a mejorar la eficacia de lavado. La suave agitación puede proporcionarse después de una o ambas de la etapa de compresión 30 (etapa 442) o de la etapa de expansión (etapa 444).

Durante el lavado, el material biológico 40 es sustancialmente retenido en la cámara 50, mientras que el líquido de lavado 60 entra y sale de la cámara 50 a través del filtro 30. El miembro flexible de goma 24, fijado en el exterior de la cubierta interna 20, evita el intercambio de fluido entre las cubiertas interna y externa 20, 10 a través de una vía de

flujo de líquido distinta a la proporcionada por el filtro 30.

Después del proceso de lavado 440, el líquido de lavado 60 de la cámara 50 es descargado a través del filtro 30 y subsiguientemente del primer puerto 22 hacia un contenedor de desechos, según se muestra en la etapa 450. La descarga del líquido de lavado 60 puede conseguirse, por ejemplo, invirtiendo el aparato 100.

5 En algunas aplicaciones es deseable lavar el material biológico 40 múltiples veces para asegurar el éxito en la eliminación de los reactivos químicos y de otras sustancias no deseadas. En estos casos, después de descargar el líquido de lavado 60 (etapa 450), se suministra nuevo líquido de lavado 60' a la cámara 50 a través del primer puerto 22 (etapa 430) para repetir el proceso de lavado 440 y la etapa de descarga 450.

10 Cuando el material biológico 40 se ha lavado lo suficiente (etapa 460), la cubierta interior 20 se desmonta de la cubierta exterior 10 donde se recoge el material biológico 40 (etapa 470). En algunas aplicaciones, la primera y segunda piezas de cubierta 11 y 12 se desmontan adicionalmente para proporcionar un fácil acceso al material biológico 40.

15 Todas las características desveladas en esta memoria descriptiva pueden combinarse en cualquier combinación. Cada característica desvelada en esta memoria descriptiva puede sustituirse por una característica alternativa con un propósito igual, equivalente o similar. Por lo tanto, salvo que se establezca específicamente de otro modo, cada característica es sólo un ejemplo de una serie genérica de características equivalentes o similares.

20 A partir de la descripción anterior, el experto en la materia puede averiguar fácilmente las características esenciales de la presente invención, y sin desviarse del espíritu y el ámbito de la misma, puede realizar diversos cambios y modificaciones de la invención para adaptarla a diversos usos y condiciones. Por lo tanto, otras formas de realización están también en las reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Un aparato para el lavado de material biológico que comprende:

una cubierta externa (10), que incluye:

5 un miembro de base (12) con un extremo abierto (18) y un extremo opuesto cerrado (19); un miembro de extensión (11) con un primer y un segundo extremo abiertos y opuestos (15, 14), en la que el primer extremo (15) del miembro de extensión (11) está configurado para conectarse de forma desmontable al extremo abierto (18) del miembro de base (12), y el segundo extremo (14) está configurado para recibir el material biológico; y

10 una cubierta interna (20) colocada de forma desmontable y deslizable dentro de la cubierta externa (10), incluyendo la cubierta interna (20):

15 un primer puerto (22) para recibir y dispensar líquido de lavado;
un segundo puerto (23) que define una vía de flujo de líquido entre un interior de la cubierta interna (20) y un interior de la cubierta externa (10); y un filtro (30) dispuesto en el segundo puerto (23), permitiendo el filtro (30) el paso de líquido de lavado pero no el paso del material biológico a través del mismo;
en el que una cámara (50), formada entre el filtro (30) y el extremo cerrado (19) de la cubierta externa (10), está configurada para permitir el flujo de líquido de lavado a través del filtro (30) mientras retiene el material biológico en ella.

2. El aparato de la reivindicación 1, en el que la cubierta interna (20) incluye un miembro flexible (24) que se acopla herméticamente a la superficie periférica interior de la cubierta externa (10).

20 3. El aparato de la reivindicación 1, en el que el segundo extremo (14) del miembro de extensión (11) está configurado para conectarse de forma desmontable a otro miembro de extensión.

4. El aparato de la reivindicación 3, en el que la cubierta interna (20) incluye un miembro flexible (24) que se acopla herméticamente a la superficie periférica interior de la cubierta externa (10).

5. El aparato de la reivindicación 4, en el que el miembro flexible (24) incluye un miembro de goma anular.

25 6. El aparato de la reivindicación 4, en el que el primer puerto (22) de la cubierta interna (20) incluye una porción de detención (25), configurada la porción de detención (25) para limitar el movimiento axial relativo de la cubierta interna (20) con respecto a la cubierta externa (10).

7. El aparato de la reivindicación 6, en el que el filtro (30) está dispuesto de forma extraíble en el segundo puerto (23).

30 8. El aparato de la reivindicación 1, en el que el primer puerto (22) de la cubierta interna (20) incluye una porción de detención (25), configurada la porción de detención (25) para limitar el movimiento axial relativo de la cubierta interna (20) con respecto a la cubierta externa (10).

9. El aparato de la reivindicación 1, en el que el filtro (30) está dispuesto de forma extraíble en el segundo puerto (23).

35 10. El aparato de la reivindicación 1, en el que el filtro (30) es un filtro de malla con una pluralidad de aberturas de malla.

11. El aparato de la reivindicación 10, en el que el tamaño de la pluralidad de aberturas de malla varía desde 100 µm hasta 3.000 µm de diámetro.

40 12. El aparato de la reivindicación 1, en el que el filtro (30) es un filtro de membrana con una pluralidad de aberturas de membrana.

13. El aparato de la reivindicación 12, en el que el tamaño de la pluralidad de aberturas de membrana varía desde 5 µm hasta 20 µm de diámetro.

14. Un procedimiento de lavado de material biológico, comprendiendo el procedimiento:

proporcionar material biológico;

- colocar el material biológico en una cámara (50) del aparato de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes; y
dirigir el líquido de lavado dentro y fuera de la cámara (50) a través de un filtro (30) deslizando la cubierta interna (20) y expandiendo y contrayendo la cámara (50), mientras el material biológico queda retenido en la cámara (50).
- 5
15. El procedimiento de la reivindicación 14, que comprende adicionalmente la etapa de proporcionar dicho líquido de lavado dentro de la cámara (50).
16. El procedimiento de la reivindicación 14, que comprende adicionalmente la etapa de descargar dicho líquido de lavado desde la cámara (50) a través del filtro (30).
- 10 17. El procedimiento de la reivindicación 16, que comprende adicionalmente la etapa de proporcionar un nuevo líquido de lavado a la cámara (50) después de descargar dicho líquido de lavado.
18. El procedimiento de la reivindicación 14, que comprende adicionalmente la etapa de agitar dicho líquido de lavado dentro de la cámara (50).
- 15 19. El procedimiento de la reivindicación 14, que comprende adicionalmente la etapa de recoger dicho material biológico después de descargar dicho líquido de lavado.
20. El procedimiento de la reivindicación 14, que comprende adicionalmente la etapa de desmontar la primera pieza de cubierta (11) de la segunda pieza de cubierta (12) para recoger dicho material biológico.

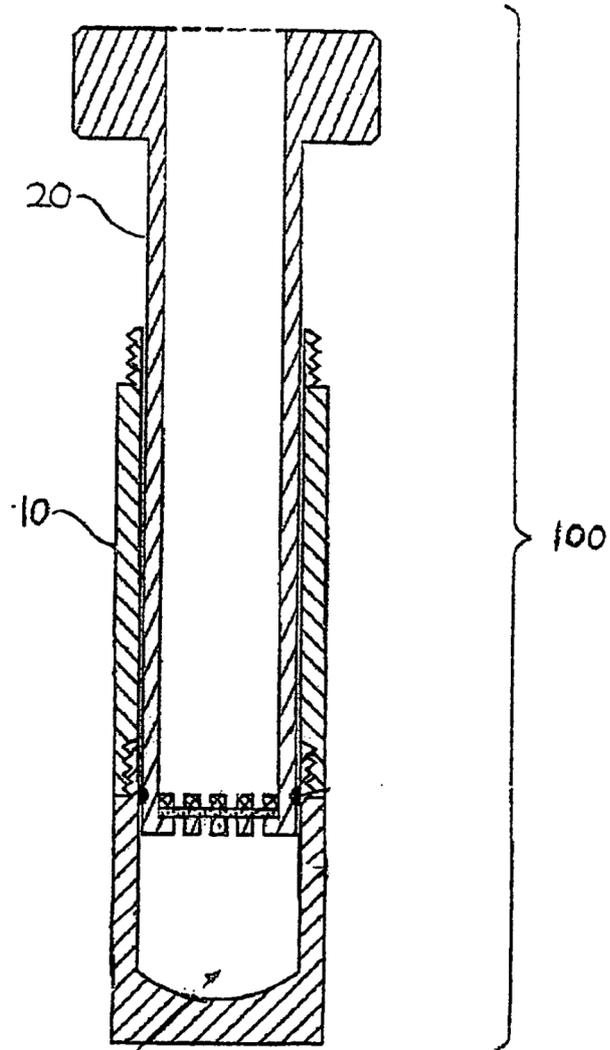


FIG. 1

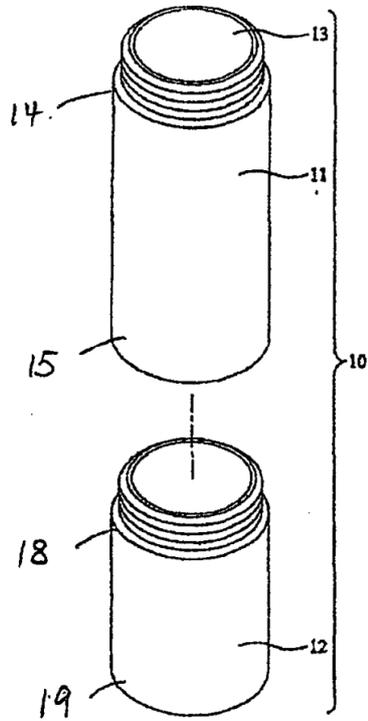


FIG. 2A

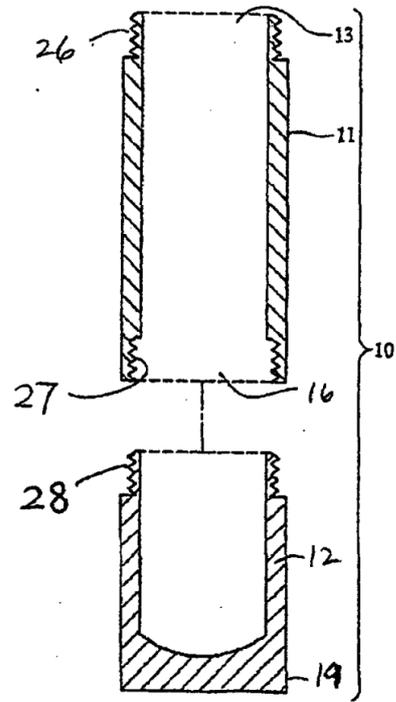


FIG. 2B

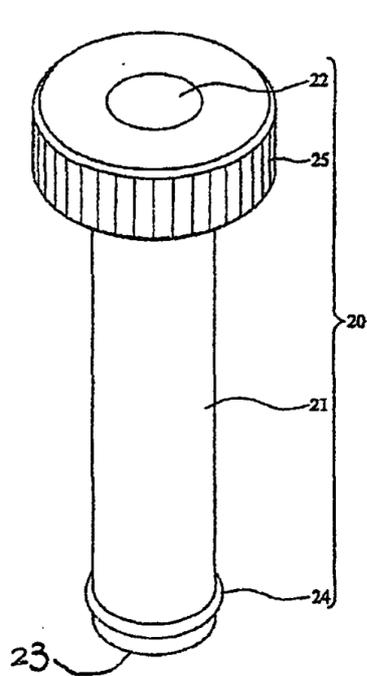


FIG. 3A

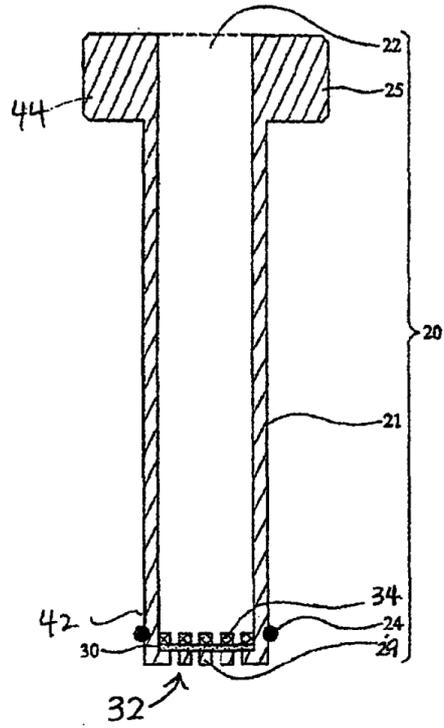


FIG. 3B

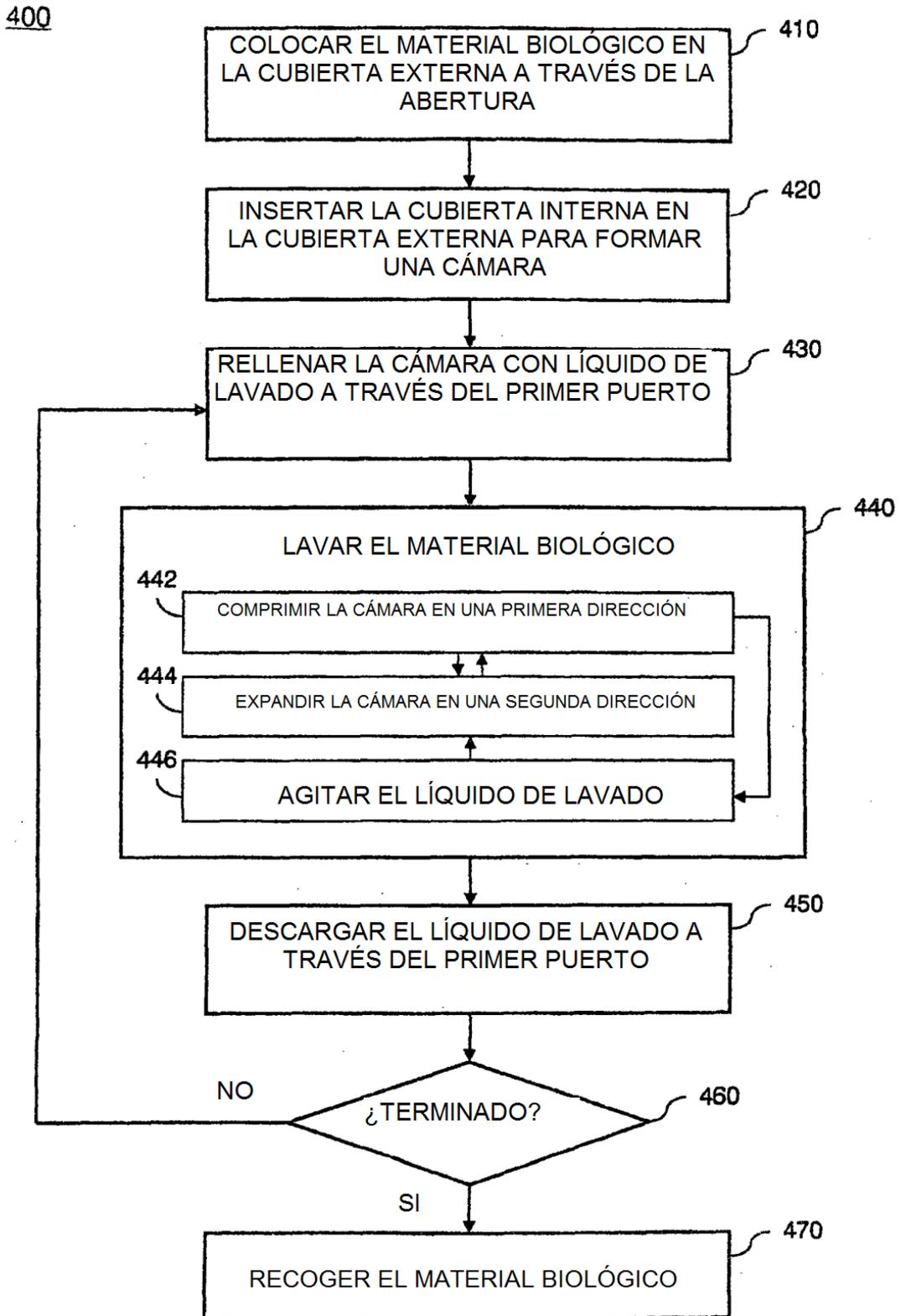


FIG. 4

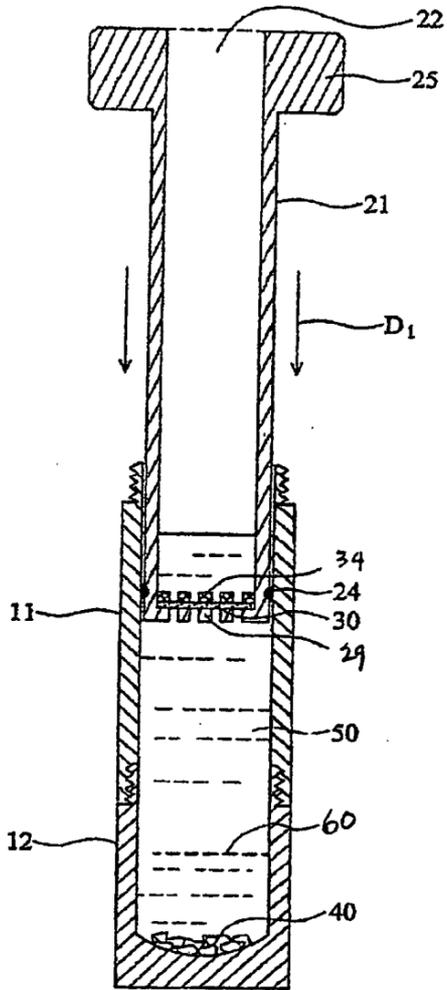


FIG. 5A

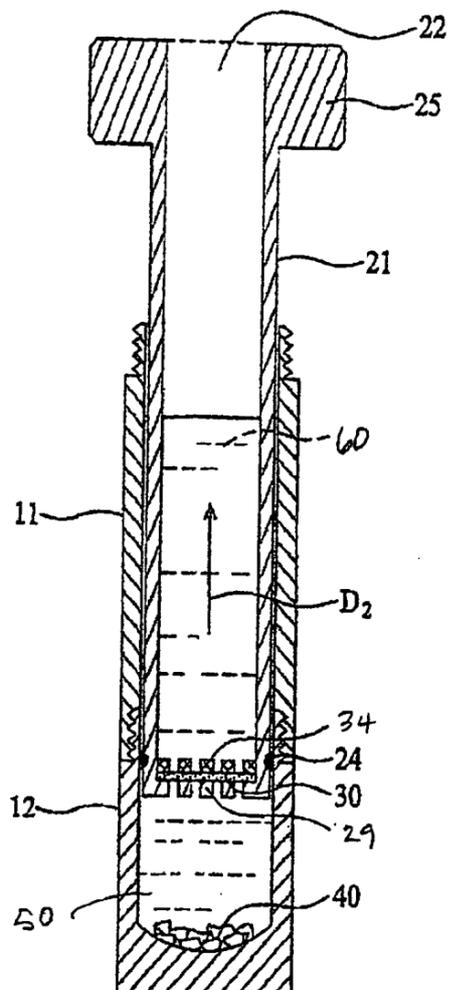


FIG. 5B