

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 416 493**

51 Int. Cl.:

**B01L 3/00** (2006.01)

**B01L 3/14** (2006.01)

**C12Q 1/42** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.11.2004 E 10155786 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.03.2013 EP 2191899**

54 Título: **Sistema de recogida de muestras de inhibidores de fosfatasa**

30 Prioridad:

**08.12.2003 US 527790 P**

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

**01.08.2013**

73 Titular/es:

**BECTON, DICKINSON AND COMPANY (100.0%)  
1 Becton Drive  
Franklin Lakes, New Jersey 07417-1880, US**

72 Inventor/es:

**HAYWOOD, BRUCE C.**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 416 493 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

Sistema de recogida de muestras de inhibidores de fosfatasa

5 CAMPO DE APLICACIÓN DEL INVENTO

El presente invento está dirigido a un método para obtener y estabilizar una muestra biológica, en particular una muestra de sangre completa, directamente de un paciente.

10 ANTECEDENTES DEL INVENTO

Recientemente se ha incrementado de forma significativa el estudio de la proteómica. La proteómica podría abarcar muchos significados, pero implica considerar las proteínas, ya sea individualmente o no, más típicamente, como pautas. Por ejemplo, los investigadores están interesados en los perfiles de proteínas que podrían ser reflectores de ciertos estados de enfermedad, por ejemplo, el perfil de un individuo sano frente al perfil de un individuo enfermo podrían presentar diferencias que pueden usarse como futuros indicadores de estados de enfermedad. Como es conocido en la técnica, la espectrometría de masas es una herramienta fundamental utilizada para analizar tales perfiles. Un problema a enfrentarse en dicho estudio de proteínas estriba en las muchas modificaciones por las que pasa una proteína a lo largo de su vida, que se denominan con carácter amplio modificaciones de post-transducción. Dado que el estado de una proteína varía con el tiempo, es difícil asegurar que un perfil de un individuo sea coherente a través del tiempo. Por tanto, un perfil que se crea que es indicativo de un estado de enfermedad podría ser válido solamente para condiciones específicas, y por tanto no repetible sobre una base suficiente para servir como una herramienta de diagnóstico. En consecuencia, sería conveniente disponer de dispositivos y/o procesos capaces de aplicarse a esta variabilidad.

25 SUMARIO DEL INVENTO

El mecanismo más común de comunicación entre células implica la liberación de moléculas de señalización, tales como hormonas, neurotransmisores, y factores de crecimiento, de un tipo de célula que interactúe con – y active – proteínas receptoras específicas en la superficie de las células objetivo. El receptor activado genera luego una señal intracelular que por último se acopla a procesos específicos funcionales en las células para producir una respuesta fisiológica. Los estudios de los caminos de transducción de señal que acoplan la activación del receptor a estas respuestas fisiológicas representan una de las áreas de investigación más activa e importante en la biología moderna. Los estudios de transducción de señal son fundamentales para la investigación de enfermedades, descubrimiento y desarrollo de fármacos, y diagnósticos. La fijación reversible de fosfato a residuos de serina, treonina y tirosina de las proteínas celulares es un mecanismo de control que representa un papel importante en la mayoría – si no en todos – los caminos de transducción de señal. Dos tipos de enzimas controlan la extensión y dirección de fosforilación de una proteína celular particular:

Las quinasas de proteína añaden fosfato a las proteínas (fosforilación)

Las fosfatasas de proteínas extraen el fosfato (defosforilación)

40 Estos efectos de camino continúan para ser activos después que se han obtenido las muestras biológicas. Sin entender estas modificaciones de variables “ex vivo” (fuera del cuerpo vivo) la extracción de fosfato, en particular, puede confundir o perturbar los resultados. Las fosfatasas de proteínas se clasifican basándose en su especificidad de sustrato, su dependencia de iones metálicos, y su sensibilidad a los agentes inhibitorios. Una clase de productos químicos, los inhibidores de fosfatasas de proteína, se usa comúnmente para limitar la extracción de grupos fosfato (los inhibidores de fosfatos de proteína se usan también para tratar enfermedades).

50 Existen centenares de inhibidores disponibles a través de los proveedores de productos químicos, y alguno incluso suministra combinaciones de inhibidores con cualquier cantidad desde dos a cinco inhibidores premezclados. Es un hecho desafortunado, que por el momento en que la mayoría de estos inhibidores se aplican, gran parte de la actividad que se esté estudiando es “innatural” o un artefacto *ex vivo*. Para ciertos estudios, es importante ser capaz de comprender el estado de las células de una manera que muy próximamente sea representativa de la fisiología *ex vivo*. Por esta razón, es valioso regular la defosforilación lo más cerca que sea posible del “instante cero” de la excisión o extracción del espécimen.

55 El invento incluye una gama diversa de dispositivos de recogida de muestras que contienen uno o más inhibidores precargados de fosfatasas de proteínas de tal manera que, cuando el espécimen contacta con el dispositivo de recogida de muestras, entre inmediatamente en contacto con el inhibidor y se regule la actividad de la defosforilación.

60 En concreto, el presente invento proporciona lo siguiente:

1. Un método de estabilización de una muestra biológica, que comprende:

65 suministrar un recipiente de recogida de muestras; y  
disponer la muestra biológica dentro del recipiente de recogida de manera que la muestra esté en contacto con un agente estabilizante de proteínas, comprendiendo dicho agente al menos un inhibidor

de fosfatasas.

- 5 2. El método de punto 1, en el que el recipiente de recogida de muestras incluye el agente estabilizante antes de recoger la muestra biológica.
3. El método del punto 1, en el que la disposición de la muestra biológica en el recipiente y el contacto de la muestra con el agente estabilizante se realizan en el mismo recipiente de recogida.
- 10 4. El método del punto 3, en el que el recipiente de recogida es evacuado y tiene una presión interna predeterminada suficiente para garantizar un volumen predeterminado de la muestra en el recipiente de recogida.
- 15 5. El método del punto 1, en el que el agente estabilizante está en una forma seleccionada del grupo consistente en una solución, una suspensión u otro líquido, una píldora, una tableta o pastilla, una cápsula, un material desecado por aspersion, un material desecado por congelación, un polvo, una partícula, un gel, cristales y un material liofilizado.
- 20 6. El método del punto 1, en el que el recipiente de recogida es seleccionado de entre un grupo consistente en tubos, dispositivos de recogida de muestras de sangre de circuito cerrado, bolsas de recogida de muestras, jeringas, placas de microtitulación (micropozos), dispositivos de recogida de muestras con múltiples pocillos, matraces, matraces giratorios, botellas con ruedas y viales, preferiblemente aquellos cuyo recipiente de recogida de muestras es un tubo.
- 25 7. El método del punto 6, en el que el recipiente de recogida es un tubo que incluye un medio de separación.
8. El método del punto 7, en el que el miembro de separación está al menos parcialmente recubierto con el agente estabilizante.
- 30 9. El método del punto 7, en el que el miembro de separación es un elemento de separación mecánico, preferiblemente en el que el elemento de separación mecánico es inerte con respecto al agente estabilizante.
- 35 10. El método del punto 7, en el que el miembro de separación es un gel.
11. El método del punto 1, en el que el agente estabilizante comprende además al menos un inhibidor de proteasas.
- 40 12. El método del punto 1, en el que al menos un inhibidor de fosfatasas, inhibe al menos una fosfatasa seleccionada del grupo que consiste en fosfatasa de serina, fosfatasa de treonina y fosfatasa de tirosina, preferiblemente en el que el agente estabilizante comprende más de dos inhibidores de fosfatos.
- 45 13. El método del punto 1, en el que la muestra biológica es seleccionada del grupo consistente en sangre completa o un componente de la misma, concentrados de glóbulos rojos, concentrados de plaquetas, concentrados de leucocitos, plasma, suero, orina, aspirados de médula ósea, líquido cefalorraquídeo, tejido, células, heces, saliva y secreciones orales, secreciones nasales y fluido linfático.
- 50 14. El método del punto 13, en el que la sangre completa es recogida de un paciente directamente dentro del recipiente de recogida.
15. El método del punto 14, en el que el recipiente de recogida incluye el agente estabilizante antes de que se recoja la sangre del paciente.

#### BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

- 55 La Figura 1 es una vista en perspectiva de un tubo típico de recogida de muestras de sangre  
La Figura 2 es una vista en perspectiva de una placa de ensayos.  
La Figura 3a es una vista en perspectiva de un conjunto de recogida de muestras, mientras que la Figura 3b es una vista en corte del conjunto de recogida de muestras.  
La Figura 4 es una vista en corte longitudinal de una jeringuilla.  
La Figura 6a es una vista lateral de un conjunto de catéter, mientras que la Figura 6b es una vista lateral parcial del catéter.
- 60 La Figura 7 es una vista en perspectiva de una pipeta.  
La Figura 8 es una vista en perspectiva que ilustra una bolsa de recogida de muestras de sangre.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA DEL INVENTO

- 65 Aunque este invento se satisface mediante realizaciones en muchas modalidades diferentes, en la presente memoria se describirán con detalle realizaciones preferidas del mismo, en el entendimiento de que la presente descripción tiene que considerarse como a título de ejemplo de los principios del invento, y no está destinada a

limitarlo a las realizaciones ilustradas y descritas. Los expertos en la técnica podrían realizar numerosas variaciones sin apartarse del espíritu del invento. El alcance del invento se medirá por las reivindicaciones y sus equivalentes que se adjuntan como apéndice.

5 El presente invento está dirigido a métodos para estabilizar proteínas en una muestra biológica para habilitar mejor el análisis de fase posterior. Más particularmente, el presente invento está dirigido a un método que comprende suministrar un recipiente de recogida de muestras que contiene un agente estabilizante en una cantidad suficiente para evitar o inhibir el desencadenamiento de una o más cascadas de defosforilación al inhibir los disparadores de fosfatasa y al añadir al recipiente una muestra biológica.

10 Aunque es posible usar el presente invento con cualquier muestra biológica que contenga proteínas, preferiblemente la muestra biológica es cualquier cuerpo fluido extraído de un paciente. Con máxima preferencia, la muestra biológica es sangre completa o un componente de la misma. Ejemplos de otras muestras biológicas incluyen composiciones que contengan células tales como concentrados de células de eritrocitos, concentrados de trombocitos, concentrados de leucocitos, plasma, suero, orina, aspirados medulares, líquido cefalorraquídeo, tejido, células, heces, saliva y secreciones orales, secreciones nasales, fluido linfático y elementos similares.

15 El sistema de recogida de muestras utilizado en el presente invento puede abarcar cualquier dispositivo de recogida de muestras incluyendo, sin carácter limitativo, tubos tales como tubos de ensayo y tubos centrífugos; dispositivos de recogida de sangre de sistema cerrado, tales como bolsas de recogida; jeringuillas, en especial jeringuillas pre-llenadas; catéteres, tales como vías centrales; placas de microtitulación (micropozos) y otras placas multipocillos; matrices; tubos; vasijas de laboratorio tales como matraces, matraces giratorios, botellas con ruedas, viales, portaobjetos de microscopio, conjuntos de portaobjetos de microscopio, cubreobjetos, películas y sustratos y conjuntos porosos pipetas y puntas de pipeta; recipientes de recogida de muestras de tejido y otras muestras biológicas; y cualquier otro recipiente adecuado para contener una muestra biológica, así como recipientes y elementos implicados en la transferencia de muestras. En un aspecto del invento, se usa un tubo de recogida de muestras que tiene un miembro de separación (por ejemplo, un elemento de separación mecánico, un gel o un mecanismo de filtro) para separar sangre. En dicho aspecto, el interior del tubo y/o el exterior del miembro de separación se podrían usar con el agente estabilizante. De acuerdo con el presente invento, el dispositivo de recogida contiene un agente estabilizante para estabilizar la muestra biológica.

20 A menudo se usan plástico o vidrio para la fabricación del dispositivo de recogida de muestras usado en el presente invento. Algunos materiales utilizados para fabricar el dispositivo de recogida incluyen polipropileno, polietileno, polietilentereftalato, poliestireno, policarbonato y celulosas. Se podrían usar también plásticos más caros como el politetrafluoretileno y otros polímeros fluorados. Además de los materiales mencionados anteriormente, ejemplos de otros materiales adecuados para los dispositivos de recogida utilizados en el presente invento incluyen poliolefinas, poliamidas, poliésteres, siliconas, poliuretanos, materiales epoxídicos, materiales acrílicos, poliacrilatos, polisulfonas, polimetacrilatos, poliéter-éter-cetona (en adelante PEEK), poliimida y fluopolímeros tales como teflón® de politetrafluoroetileno (en adelante PTFE), teflón® de propileno fluorado del etileno (en adelante FEP), Tefzel®, resinas de poli(fluoruro de vinilideno) (en adelante PVDF) y de perfluoroalkoxy. Los productos de vidrio incluyendo vidrio de sílice se usan también en la fabricación de los dispositivos de recogida de muestras. Un ejemplo de vidrio producido es el PYREX® que vende la Corning Glass, Corning, Nueva York). Los dispositivos cerámicos de recogida de muestras se pueden usar de acuerdo con realizaciones del invento. Los productos de celulosa tales como los recipientes de papel y de papel reforzado se pueden usar también para formar dispositivos de recogida de muestras de acuerdo con el invento.

25 El agente estabilizante del invento comprende uno o más inhibidores de fosfatasa capaces de inhibir la actividad de fosforilación y la modificación en relación de asociación con ella, o bien, la destrucción de proteínas durante el almacenamiento de una muestra biológica. El agente estabiliza la muestra biológica, tal como una muestra de sangre, para producir una composición estable que inhibe o previene la modificación, degradación y/o fragmentación de las proteínas presentes en la muestra biológica. De acuerdo con una realización del presente invento, el dispositivo de recogida de muestras se pre-trata con el agente estabilizante, preferiblemente en fábrica, y se envasa en una forma lista para usar. Típicamente, el dispositivo de recogida envasado es estéril y se empaqueta también en materiales de embalaje estériles.

30 El presente invento se podría usar por compañías farmacéuticas, compañías de biotecnología, organizaciones de investigación de contratos, organismos de investigación universitarios, hospitales de investigación y cualquier institución o individuo que esté interesado en el estudio de las proteínas. El presente invento permitiría a los investigadores proteger conveniente y fácilmente y procesar las muestras de proteínas para su análisis en fase posterior. El dispositivo de recogida de muestras de acuerdo con el presente invento serviría como un dispositivo frontal de recogida de muestras que ayude a objetivos analíticos incluyendo, sin carácter limitativo, los siguientes: bancos de datos de proteínas, identificación y caracterización de proteínas, expresión de proteínas, cuantificación de proteínas, interacciones de proteína a proteína, desarrollo de valoraciones de proteínas, búsqueda y validación de objetivos de proteínas, toxicología de predicción, determinación de acción de fármacos, validación de fármacos, análisis tridimensional estructural de proteínas y modelización por ordenador. Se contemplan también usos clínicos.

Preferiblemente, el agente estabilizante comprende o consiste en como mínimo un inhibidor de fosfatasa. Ejemplos adecuados incluyen inhibidores de fosfatasa de serina o treonina (por ejemplo, las familias de PPP ó PPM), y/o fosfatasa de tirosina (la familia PTP). Por ejemplo, los inhibidores de fosfatasa de PPI incluyen caliculin A, nodularin, NIPP-1, microcistin LR, tautomycin, ácido ocadaico, y vantaridin. Los inhibidores de PP2A incluyen caliculin A, microcistin R, ácido ocadaico, fostriecin, tautomycin, cantaridin, endothall, y nodularin. Los inhibidores de PP2B incluyen ciclosporin A, complejos de FK 506/immunofilin, cipermetrin, deltametrin, y fenvalerato. Los inhibidores de PTP incluyen bpV (fen), defostatin, mpV (pic) DHMV, y ortovanadato de sodio. Por tanto, las fosfatasa y los inhibidores son conocidos en la técnica, y están disponibles comercialmente, por ejemplo, en Calbiochem de San Diego, California, EE.UU.

Las combinaciones de inhibidores de fosfatasa, a las que comúnmente se hace referencia como "cocktails" por los suministradores comerciales de dichos inhibidores, se podrían usar también como agente estabilizante. Tales "cocktails" son generalmente ventajosos en el sentido de que proporcionan estabilización para un intervalo de proteínas de interés; por tanto, generalmente es conveniente un agente estabilizante que contenga más de dos inhibidores de fosfatasa.

Además, podría ser conveniente incluir inhibidores de proteasa con el inhibidor de fosfatasa, para promover más la estabilidad de la proteína. Ejemplos incluyen inhibidores de proteasa tales como las proteasa de serina, proteasa de cisteína, proteasa aspártica, metaloproteasa, proteasa de tilo, exopeptidasa y productos análogos. De ellos, son de particular interés los inhibidores de proteasa de serina y cisteína, siendo también significativos los inhibidores de metaloproteasa y los inhibidores aspárticos. Ejemplos sin carácter limitativo de inhibidores de proteasa de serina incluyen antídolor, aprotinin, quimostatina, elastatinal, fluoruro de fenimetilsulfonilo (en adelante PMSF), APMSF, TLC TPCK, inhibidor de leupeptin y de tripsin haba de soja. Los inhibidores de proteasa de cisteína incluyen por ejemplo, ácido indoleacético (en adelante IAA), y E-64. Ejemplos adecuados de inhibidores de proteasa aspártica incluyen pepstatin y VdLPFFVdL. Ejemplos sin carácter limitativo de inhibidores de metaloproteasa incluyen EDTA, así como fenantrolina 1, 10 y fosforamodón. Los inhibidores de exopeptidasa incluyen, por ejemplo, amastatin, bestatin, diprotin A y diprotin B. Ejemplos adicionales adecuados de inhibidores de proteasa incluyen alfa-2- macroglobulin, inhibidor de tripsin de haba de soja o de haba de lima, inhibidor de proteasa pancreático, ovostatin blanco de huevo y cistatin blanco de huevo.

El agente estabilizante podría estar en cualquier forma adecuada incluyendo, sin carácter limitativo, una solución, una suspensión u otro líquido, una píldora, una tableta, una cápsula, un material desecado por aspersion, un material desecado por congelación, un polvo, una partícula, un gel, cristales, aditivo pegado con sustrato, matriz tampón o un material liofilizado. Como la vida media de muchos inhibidores es corta, el agente estabilizante preferiblemente se introduce en el dispositivo de recogida de muestras de una forma tal que optimice la duración en estantería. La liofilización parece ser particularmente útil en el sentido de que proporciona buena estabilidad y también permite una esterilización subsiguiente, de las que ambas son fundamentales desde el punto de vista de la automatización, estandarización e implementación clínica.

El agente estabilizante se podría ubicar en cualquier superficie del dispositivo de recogida de muestras. Dicho agente estabilizante se podría ubicar también en obturadores, en cierres herméticos para cerrar dichos dispositivos o en superficies de componentes mecánicos, y sub-superficies, u otras, en piezas de inserción colocadas dentro de tales dispositivos. Preferiblemente, el agente estabilizante se sitúa en cualquier lugar a lo largo de al menos una pared interior del dispositivo de recogida de muestras o en cualquier lugar dentro de la parte de depósito. Adicionalmente, algunos inhibidores de fosfatasa podrían presentar sensibilidad a la luz. Por tanto, podría ser conveniente proteger al agente contra la luz. Para tales inhibidores, sería ventajoso el uso de un tubo opaco, por ejemplo, un tubo coloreado en ámbar con o sin ventana de observación, (Kirk, Scott, considerar ventana en tubo de color ámbar para reivindicación independiente). Alternativamente, la colocación del agente en una cápsula que le proteja de la exposición a la luz, por ejemplo, en forma de polvo, y luego colocar la cápsula en el interior del tubo solucionaría este problema. La encapsulación del agente impediría también otras interacciones inconvenientes entre el agente y otros elementos del recipiente. Los materiales de cápsula que se disuelven tras la recogida de muestras son conocidos en la técnica.

El agente estabilizante se podría aplicar al dispositivo de recogida de muestras por cualquier cantidad de métodos. Por ejemplo, el agente estabilizante se podría desecar por aspersion, dispensarse suelto o liofilizarse sobre la superficie de la pared interior del dispositivo de recogida de muestras. Alternativamente, el agente estabilizante, tal como cuando está en forma de gel o de líquido, por ejemplo, se podría posicionar en la parte de depósito del dispositivo de recogida de muestras. Son también posibles métodos adicionales para proveer el dispositivo de recogida de muestras con el agente estabilizante. Típicamente, para disponer la cantidad prevista de agente en un recipiente, se reconstituye una forma sólida del agente y luego se dispensa la cantidad apropiada de líquido en el recipiente, El líquido se podría desecar por aspersion, disponer en el fondo del recipiente o liofilizarse subsiguientemente.

La cantidad y localización del agente estabilizante se determinan mediante varias variables, incluyendo el modo de aplicación, el agente estabilizante específico utilizado, el volumen interno y la presión interna del dispositivo de recogida de muestras, y el volumen de la muestra biológica aspirada del recipiente.

La concentración del agente estabilizante es suficiente para estabilizar la proteína y para inhibir o prevenir la degradación de la misma

5 Además del agente estabilizante, el dispositivo del presente invento podría también contener medios portadores (por ejemplo, agua o alcohol), medios estabilizantes (por ejemplo, polivinilpirolidona, manitol tetralosa, etc) y uno o más de otros aditivos para tratar la muestra biológica. Los aditivos adecuados incluyen, sin carácter limitativo, fenol, mezclas de fenol/cloroformo, alcoholes, aldehidos, cetonas, ácidos orgánicos, sales de ácidos orgánicos, sales de metales alcalinos de haluros, agentes quelantes orgánicos, colorantes fluorescentes, anticuerpos, agentes aglutinantes, anticoagulantes como citrato de sodio, heparina, ácido etilendiaminotetraacético (en adelante EDTA) de potasio y compuestos análogos, y cualquier otro reactivo o combinación de reactivos usados normalmente para tratar muestras biológicas para su análisis. Otros aditivos potenciales incluyen antioxidantes y agentes reductores, que podrían ayudar a preservar la confirmación de proteína, por ejemplo, preservar acoplamiento de grupos sulfhidrilo. Podría ser ventajoso también incluir un agente tampón/corrector del pH, o compuestos de azúcar. Todavía otros grupos o productos químicos de aditivos incluyen los que aumentan la solubilidad del aditivo preservativo o estabilizador en la matriz del espécimen. Preferiblemente, el portador y los aditivos no degradan las proteínas. Cuando el agente estabilizante está en forma de tableta, se podrían incluir, si se desea, materiales de desintegración de tabletas farmacéuticas, que conocen los expertos en la técnica.

20 Los métodos del presente invento incluyen obtener una muestra biológica e introducirla en el recipiente que contiene el agente estabilizante. En realizaciones preferidas, la muestra biológica se extrae del paciente directamente al interior del recipiente de recogida de muestras sin ninguna etapa de proceso de intervención. Se ha averiguado que la recogida de la muestra biológica directamente del paciente, tal como cuando se obtiene una muestra de sangre completa, y la introducción de la muestra directamente al recipiente que contiene el agente estabilizante, reducen o previenen las modificaciones, la degradación y/o la fragmentación de las proteínas, que de no ser así ocurren cuando la muestra se almacena antes de combinarla con el agente estabilizante. El método del presente invento es útil tanto en sistemas de recogida de muestras abiertos como sistemas de recogida de muestras cerrados en los que la abertura se cierra por un medio de cierre.

30 En una realización preferida, el dispositivo de recogida de muestras del presente invento sirve para aspirar una muestra de sangre completa directamente de un paciente para estabilizar las proteínas inmediatamente en el punto de recogida. El dispositivo podría ser un sistema con vacío para recoger sangre. Alternativamente, el dispositivo podría ser un sistema con vacío parcial o sin vacío para recoger sangre. Un ejemplo adecuado de un sistema con vacío es un tubo cerrado. Una jeringuilla manual es un ejemplo adecuado de un sistema con vacío parcial y un sistema sin vacío. Los sistemas sin vacío podrían incluir también sistemas de aspiración automática. Se prefieren en particular los sistemas con vacío.

40 Refiriéndose a los dibujos, en los que los caracteres de referencia aluden a partes análogas a lo largo de las diversas vistas de los mismos, la Figura 1 muestra un dispositivo típico 10 de recogida de muestras de sangre, que incluye un recipiente 12 que define una cámara interna 14. En la realización ilustrada, el recipiente 12 es un tubo hueco que tiene una pared lateral 16, un extremo de fondo cerrado 18 y una parte superior abierta 20. Opcionalmente, se provee un miembro separador 13 dentro de la cámara 14 del recipiente. El miembro separador 13 sirve para ayudar en la separación de los componentes de la muestra, por ejemplo, por centrifugación. El recipiente 12 está dimensionado para recoger un volumen adecuado de fluido biológico, preferiblemente sangre. 45 Cuando se exige un producto estéril, es necesario un medio de cierre 22 para tapar el extremo abierto 20 con el fin de cerrar el recipiente 12. Para tubos convencionales, normalmente es suficiente un tapón roscado. Para tubos de recogida de muestras con vacío, generalmente se emplea un obturador elastómero de ajuste apretado para retener el vacío durante los períodos de almacenamiento requeridos. Preferiblemente, el cierre 22 forma un obturador capaz de cerrar eficazmente el recipiente 12 y retener una muestra biológica en la cámara 14. El cierre 22 podría ser una de entre una variedad de modalidades incluyendo, sin carácter limitativo, cierres de goma, cierres metálicos, cierres de goma con banda metálica y cierres de diferentes polímeros y diseños. Un blindaje protector podría superponerse al cierre 22. El recipiente 12 contiene también un agente estabilizante de acuerdo con el presente invento.

55 El recipiente 12 se podría fabricar de vidrio, plástico u otros materiales adecuados. Preferiblemente, el recipiente 12 es transparente. Son ejemplos sin carácter limitativo de materiales de termoplásticos transparentes adecuados para el recipiente 12 los policarbonatos, el polietileno, el polipropileno y el polietiléneter ftalato. Los materiales de plástico pueden ser materiales impermeables al oxígeno o podrían contener un estrato impermeable o semipermeable al oxígeno. Alternativamente, el recipiente 12 se podría fabricar de un material de plástico permeable al agua y al aire. El agente estabilizante se podría proveer al recipiente usando cualesquiera medios apropiados. En un aspecto, el agente estabilizante está en una solución líquida y se coloca en el recipiente. Subsiguientemente, la solución se podría liofilizar por métodos que son conocidos en la técnica tales como, por ejemplo, el desecado por congelación. Por ejemplo, congelando la solución y luego calentando lentamente después de congelar, mientras que simultáneamente se aplica un vacío, un polvo desecado por congelación permanece en el tubo de recogida de muestras. Se podría añadir a la solución de agente estabilizante un aditivo tal como un excipiente, por ejemplo, PVP o trehalosa, antes del desecado por congelación para que el agente estabilizante resultante se nodulice en el recipiente. Se podría usar también el desecado al vacío después de añadir la solución estabilizante. En otro aspecto,

el agente estabilizante se forma en un aerosol líquido o sólido y se rocía sobre una o más superficies del interior del recipiente.

5 La presión en el interior de la cámara 14 se selecciona para aspirar un volumen predeterminado de muestra biológica al interior de la cámara 14. Preferiblemente, el cierre 22 se ha construido de un material elástico que es capaz de mantener la diferencia de presión interna entre la presión atmosférica y una presión menor que la atmosférica. El cierre 22 es tal que se puede perforar por una aguja 26 u otra cánula para introducir una muestra biológica en el recipiente 12 como es conocido en la técnica. Preferiblemente, el cierre 22 se puede volver a sellar. 10 Materiales adecuados para el cierre 22 incluyen, por ejemplo, caucho silicónico, caucho natural, caucho de butadieno y estireno, copolímeros de etileno-propileno y policloropreno.

Ejemplos adecuados de recipiente 22 incluyen tubos de una sola pared y tubos de múltiples estratos. En la patente de EE.UU. N° 5.860.937 concedida a Cohen se describe un ejemplo más específico de un recipiente adecuado 12.

15 Un proceso útil de fabricación para dispositivos de acuerdo con el presente invento implica obtener un recipiente de recogida de muestras; añadir al menos un inhibidor de fosfatasas al recipiente; liofilizar el al menos un inhibidor; hacer el vacío en el recipiente; y esterilizar el recipiente. El al menos un inhibidor se podría dispensar en el interior del recipiente en forma de solución. Después de añadir el inhibidor al recipiente de recogida de muestras, se podría añadir al recipiente un miembro de separación, si se desea. 20

Como se ha observado, el recipiente 12 podría contener también un gel, un miembro de separación mecánica u otro miembro de separación (por ejemplo, un mecanismo de filtro). En tales casos, el agente estabilizante se podía desecar por aspersión y/o liofilizar sobre una superficie exterior de los medios de separación. El recipiente 12 podría ser también un dispositivo de recogida de muestras para la preparación de plasma sanguíneo. Dicho dispositivo de 25 recogida de muestras comprende, además del agente estabilizante, un elemento para separar plasma de la sangre completa humana o animal. El elemento para separar plasma de sangre completa podría ser un miembro separador tal como una formulación de gel, unos medios mecánicos o un mecanismo de filtro. El gel es convenientemente una formulación de gel de polímero tixotrópico. El gel podría ser un homopolímero o un copolímero y podría incluir geles con base de silicona tales como, por ejemplo, polisiloxanos, o geles orgánicos basados en hidrocarburos tales como, 30 por ejemplo, poliacrílicos, poliésteres, poliolefinas, polibutadienos cis oxidizados, copolímeros de diácidos y propandioles, ciclopentadienos hidrogenados y copolímeros de olefinas-alfa con dialquilmaleatos. El gel convenientemente aísla el plasma de las células de la muestra de sangre en el tubo sirviendo como un medio de separación de densidades. En la patente de EE.UU. N° 5.906.744 concedida a Carroll y colaboradores se describe un ejemplo de un tubo adecuado para la preparación de plasma. De este modo, la estabilización se puede proveer tanto antes como durante y después de la centrifugación para separar el plasma de la sangre. En el caso de un 35 material de separación de gel, podría ser conveniente proveer separación física/química entre el agente estabilizante y el gel, por ejemplo, uso de una cápsula como se ha indicado anteriormente. Por ejemplo, si fracciones del agente se incorporan a –o reaccionan con- el gel, se podría reducir la eficacia del agente. Por las mismas razones, cuando se usa un elemento de separación mecánico, convenientemente el elemento es sustancialmente inerte al agente estabilizante, y ello refleja una ventaja significativa de dicho separador. La provisión de un elemento de separación en tubos de plasma, frente a la centrifugación sin un elemento de separación, es particularmente ventajosa. Específicamente, como la liberación de células libera proteasas que degradan proteínas de interés, 40 cuanto mejor sea la separación entre las células (es decir, la sangre coagulada) y el plasma, mejor será la estabilidad de las proteínas en la muestra de plasma. Separadores mecánicos útiles se encuentran, por ejemplo, en las patentes de EE.UU. Números 6.516.953; 6.406.671; 6.409.528; y 6.497.325. Mecanismos de filtro útiles se encuentran, por ejemplo, en la patente de EE.UU. N° 6.506.167. Ishimito y colaboradores describen un tubo de separación de sangre que incluye un tubo de fase anterior separado por un filtro de un tubo de fase posterior donde los tubos se pueden fijar y separar uno de otro y se les ha hecho el vacío. Durante la recogida de sangre, la sangre se extrae de un paciente por medio de una punción intravenosa y se transfiere al tubo de fase anterior por medio de 45 presión de la sangre y presión positiva dentro del tubo. De acuerdo con la descripción, se supone que se crea una diferencia de presión entre el tubo de fase anterior y el tubo de fase posterior cuando la sangre contacta con el filtro entre los dos tubos. Por tanto, no se requiere centrifugación para separar la sangre completa. Varios filtros sugeridos incluyen una membrana, fibras de vidrio, papel de filtro con grandes poros que tenga fijados al mismo anticuerpos antihemoblastos, un filtro impregnado con una sustancia macromolecular catiónica para agregar células, y un filtro laminado multi-estratos. 50

El recipiente 12 podría ser también un tubo de recogida de muestras para separar por centrifugación linfocitos y monocitos de las fases más densas de una muestra de sangre completa que comprendan, además del agente estabilizante, un medio líquido de gradiente de densidad, y unos medios para prevenir la mezcla del medio líquido de gradiente de densidad con una muestra de sangre antes de la centrifugación. Un ejemplo de un tubo adecuado de recogida de muestras de linfocitos/monocitos se describe en la patente de EE.UU. N° 5.053.134 concedida a Luderer y colaboradores. 60

En otra realización, el recipiente es un tubo con los dos extremos abiertos que tiene cierres sobre ellos. Dicho tubo permitiría que se tomase una muestra, por ejemplo un tubo de separación de plasma con un elemento separador en el mismo, bien de la muestra de plasma o bien de la muestra coagulada. 65

5 En todavía otra realización, el dispositivo de recogida de muestras utilizado en el presente invento comprende una placa de ensayo tal como, por ejemplo, una placa de ensayo monopocillo o multipocillo, un pocillo de microvaloración, una placa para cultivos de tejido o un elemento similar. Una típica placa de ensayo comprende generalmente uno o más pocillos, que preferiblemente son cilíndricos. Como se muestra en la Figura 2, una placa 30 de ensayo incluye una superficie superior 32 y una superficie inferior 34. La placa de ensayo 30 incluye un número de pocillos 36 cada uno de los cuales comprende una pared lateral 38 que se extiende desde la superficie superior 32 de la placa hasta la superficie inferior 34 de la placa. Cada pocillo comprende una parte superior 40 y una parte de fondo 44. La parte superior 40 comprende un extremo abierto 42 que se extiende hasta la parte de fondo 44, la cual comprende un extremo cerrado 46. La parte de fondo 44 podría ser plana, cónica (terminada en punta) o redondeada. La capacidad de cada pocillo 36 abarca típicamente desde varios mililitros (ml) hasta menos de aproximadamente 0,5 ml. Cada uno de los pocillos 36 podría alojar en el mismo un agente estabilizante de acuerdo con el presente invento.

15 El número de pocillos 36 de la placa de ensayo 20 no es crítico. Podrían existir cualquier cantidad de pocillos, aunque comúnmente se conocen y están disponibles placas de ensayo de seis, doce, veinticuatro, cuarenta y ocho y noventa y seis pocillos. En la Figura 2, se ha ilustrado una placa de ensayos de seis pocillos, simplemente a título de ejemplo, y el invento no depende del número de pocillos. Las placas de multipocillos más estándar tienen los pocillos dispuestos en filas y columnas ortogonales para que se puedan identificar con claridad los pocillos individuales que se estén usando. Por supuesto, la disposición de los pocillos en la placa de ensayos 30 no es una limitación esencial del presente invento, porque el invento contempla cualquier disposición de pocillos.

20 La placa 30 se podría construir de materiales termoplásticos por conformación al vacío, moldeo de hojas, moldeo por inyección u otras técnica similares. Los materiales termoplásticos adecuados incluyen, sin carácter limitativo, el poliestireno, el cloruro de polivinilo, el policarbonato, el polietilentereftalato y similares. Preferiblemente, la placa 30 es transparente.

25 Circundando los pocillos y formando el límite exterior de la placa de ensayos 30 se encuentran las paredes laterales 38. En la presente realización, la placa de ensayos 30 tiene seis (6) paredes laterales. Las placas de ensayos bien conocidas son de forma rectangular o de cuadrilátero, aunque para los fines del presente invento la placa se podría fabricar en cualquier configuración práctica. Ejemplos de placas de ensayos adecuadas que contienen una pluralidad de pocillos se describen en la patente de EE.UU. N° 5.882.922 concedida a Tyndorf y colaboradores, patente de EE.UU. N° 5.801.055 concedida a Henderson y patente de EE.UU. N° 5.681.743 concedida a Brian y colaboradores.

30 Todavía en otra realización, el dispositivo de recogida de muestras utilizado en el presente invento podría ser un conjunto de recogida de muestras para la recogida, transporte y dispensación de muestras biológicas. El conjunto de recogida de muestras incluye generalmente una pluralidad de pocillos de muestras para recoger muestras biológicas individuales. Los pocillos de muestras se soportan en una bandeja en una orientación con separaciones. La bandeja de muestras se podría soportar dentro de una caja que contenga la bandeja de muestras y permita el transporte seguro y eficaz de los pocillos de muestras. La bandeja de muestras se acomoda de forma desplazable dentro de la caja para su desplazamiento desde una primera posición que encierre a la pluralidad de pocillos de muestras, hasta una segunda posición que haga accesible exteriormente a uno de los pocillos de muestras para que la muestra se pueda dispensar manualmente desde la bandeja.

35 Como se muestra en las Figuras 3a y 3b, la bandeja 50 de muestras incluye una pluralidad de depresiones espaciadas longitudinalmente que forman pocillos 52 de recogida de especímenes. La bandeja 30 de muestras podría formarse de un material de plástico adecuadamente deformable. Los pocillos 52 tienen un fondo 54 y un extremo abierto 56. Se contempla que los pocillos de muestras puedan ser de la forma de miembros parecidos a una copa con el extremo abierto. Los pocillos 52 se construyen para que tengan una profundidad suficiente para contener un volumen adecuado de una muestra biológica. Cada uno de los pocillos 52 podría alojar en el mismo un agente estabilizante de acuerdo con el presente invento. Aunque la bandeja 50 del presente invento se ha mostrado con una sola fila de pocillos formada en la misma, el presente invento contempla que los pocillos se podrían proveer en cualquier cantidad o cualquier agrupación conveniente para un caso de ensayos particular. El conjunto de recogida de muestras podría incluir una caja 57 para recogida de muestras. Tras la recogida de una muestra biológica dentro de los pocillos 52, la bandeja 50 de muestras se podría insertar en el extremo abierto 58 de la caja 57 de recogida de muestras y luego dentro del interior 59 de la caja 57 de recogida de muestras hasta que todos los pocillos 52 estén encerrados en ella. En la patente de EE.UU. N° 6.357.583 B1 concedida a Rainen se describe un conjunto adecuado para la recogida de muestras.

40 De acuerdo con otra realización del presente invento, representada en la Figura 4, el dispositivo de recogida de muestras comprende una jeringuilla y, con más preferencia, una jeringuilla previamente llena de un agente estabilizante de acuerdo con el presente invento. Una jeringuilla típica comprende un ánima generalmente cilíndrica que tiene unos extremos proximal y distal opuestos con al menos una cámara formada entre los extremos para recibir una sustancia tal como una muestra biológica. Un émbolo se encuentra típicamente dispuesto de forma sellable dentro del ánima y se puede desplazar con respecto a la misma, y unos medios de obturación podrían

5 disponerse de forma sellable en un punto próximo al extremo distal del ánima. Refiriéndose ahora a la Figura 4, se muestra una jeringuilla 60, que incluye un ánima o cilindro alargados 62 que tienen un extremo proximal abierto 64 y un extremo distal 66, con al menos una cámara hueca 68 formada entre los extremos proximal y distal para recibir una muestra biológica. En la realización ilustrada, el extremo distal 66 incluye una protección 70 de aguja. La protección de aguja mantiene a la jeringuilla, así como a la aguja, estériles durante el almacenamiento.

10 El ánima de la jeringuilla incluye un agente estabilizante. Preferiblemente, el ánima de la jeringuilla se ha llenado previamente con el agente estabilizante. Las jeringuillas pre-llenadas, tal como se conoce el término en la técnica, son jeringuillas que se han llenado en fábrica y se han transportado al proveedor de asistencia sanitaria listas para su uso.

15 Un émbolo 72 podría situarse en un extremo proximal abierto 64. El émbolo 72 se puede desplazar por medio de un vástago 74 de émbolo, que está fijado al émbolo, por ejemplo, por rosca. En el mismo extremo donde está situado el émbolo, el ánima podría tener una sujeción 76 para los dedos, que se fija al ánima de acuerdo con el principio denominado tapón de ajuste a presión. La sujeción 76 para los dedos consiste preferiblemente en un material un poco elástico, por ejemplo de plástico. En otra realización (no mostrada), la sujeción para los dedos es una parte del ánima parecida a una pestaña que sobresale radialmente hacia fuera. Por supuesto, son posibles otras construcciones conocidas para los expertos en la técnica.

20 Un tapón 78, que cierra el ánima, podría situarse en el extremo del ánima más alejado del émbolo. El émbolo y el tapón se fabrican preferiblemente de un material elástico y, con máxima preferencia, de caucho de una calidad farmacéutica.

25 En la realización ilustrada, una aguja 80 de inyección está fijada al ánima por medio de un porta-aguja 82. El porta-aguja 82 tiene un cuello 84, que sujeta la aguja, un eje 86 y un collarín 88. El porta-aguja se fabrica preferiblemente de un material un poco elástico que tenga resistencia a la deformación tal como, por ejemplo, plástico, y se fija al extremo del ánima por medio de una construcción de tapón con resorte. En la alternativa, el porta-aguja podría fijarse al ánima por medio de una unión roscada o con adhesivo o bien, cuando el ánima comprende también un collarín, por medio de un aro de fijación. En la realización citada en último lugar, el porta-aguja podría tener una pestaña alrededor de un collarín del ánima.

30 Aunque el ánima de la jeringuilla ilustrada en esta realización incluye un collarín de enclavamiento 88 tipo Luer, está dentro del alcance del presente invento incluir ánimas de jeringuilla sin un collarín, ánimas de jeringuilla que tengan una boquilla posicionada excéntricamente y otras diversas estructuras parecidas a una boquilla destinadas a aceptar, ya sea permanentemente o con carácter desmontable, una cánula de aguja o un conjunto de cánula de aguja. Solamente se requiere que exista una abertura en el extremo distal del ánima de jeringuilla en comunicación para paso de fluidos con el interior del ánima de jeringuilla.

35 Una o más ranuras 90 podrían estar rebajadas en la pared interior del eje 86 y en la cara posterior del cuello 84. La ranura o ranuras se extienden en el extremo posterior de la cánula. En corte transversal, las ranuras podrían ser partes de un círculo, pero son posibles otras formas, siempre que el tamaño sea tal que pueda pasar fácilmente a través de ellas una cantidad suficiente de líquido; esto se logra si el diámetro de la ranura o la sección transversal máxima de las ranuras es al menos tan grande como el de la cánula. El eje 86 del porta-aguja 82 se construye de tal manera que, cuando el tapón 78 se desliza axialmente hacia delante, sea recibido, por fricción, por el eje; por tanto, aparte de las ranuras 90 rebajadas en el eje, el diámetro interior del eje es aproximadamente tan grande como el del ánima 62. El eje 86 del porta-aguja 82 es un poco más largo que el tapón 78 de tal manera que una parte 92 de la ranura (o ranuras) adjunta al ánima sea libre cuando el tapón se mueve hacia delante contra la pared posterior del cuello del porta-aguja. Si se desea, la protección 70 de aguja se podría construir para servir también como un vástago de émbolo. En ese caso, antes de usar la jeringuilla, se retira de la aguja la protección de la aguja y se fija en el otro extremo de la jeringuilla al émbolo.

40 En general, una jeringuilla que comprenda un protector de aguja tiene un miembro de seguridad, que indica si el protector de aguja se ha extraído anteriormente. Dicho miembro de seguridad en la forma de una caperuza se describe, por ejemplo, en la patente de EE.UU. N° 3.995.630.

45 En realizaciones adicionales, la jeringuilla no se guarda con una aguja en posición, es decir, es una jeringuilla sin aguja como se conoce en la técnica. Esto se ha ilustrado en la Figura 5. Con este tipo de jeringuilla, antes de usarla, la aguja se posiciona sobre el cuello 84 del porta-aguja 82 por medio de un cubo de aguja. Para esta unión preferiblemente se usa un cono denominado de Luer. En esta realización, la abertura 94 practicada en el cuello del porta-aguja se cierra sobre la parte exterior mediante una caperuza protectora 96, que asegura la esterilidad de la jeringuilla así como del porta-aguja. La ranura 90 rebajada en el porta-aguja sobresale al interior del extremo de la abertura del cuello.

50 Un ejemplo de una jeringuilla adecuada se describe en la patente de EE.UU, N° 6.027.481 concedida a Barrelle y colaboradores, la cual se ha incorporado en su totalidad por la presente a esta memoria como referencia. Otros ejemplos de jeringuillas adecuadas se describen, por ejemplo, en la patente de EE.UU. N° 4.964.866 concedida a

Szwarc, patente de EE.UU. N° 4.986.818 concedida a Imbert y colaboradores, patente de EE.UU. N° 5.607.400 concedida a Thibault y colaboradores, y patente de EE.UU. N° 6.263.641 B1 concedida a Odell y colaboradores.

5 En una realización adicional, el dispositivo de recogida de muestras utilizado en el presente invento comprende un catéter. Como es conocido en la técnica, los catéteres se emplean comúnmente cuando un paciente requiere dosis repetidas de medicación u otras sustancias. Un catéter permite la administración repetida y continua de medicación directamente en el torrente circulatorio de un paciente, o en otra región del cuerpo, sin inyecciones repetidas. Típicamente, los catéteres tienen una luz tubular hueca, un extremo proximal y un extremo distal. El extremo distal del catéter, que podría ser abierto o cerrado, se inserta en la vena o arteria de un paciente.

10 La Figura 6a ilustra un ejemplo de conjunto de catéter que incluye un catéter flexible 100 que tiene una pared lateral cilíndrica 102 que describe una luz a través de la misma, un extremo proximal 106 y un extremo distal cerrado 108 que, en esta realización ilustrada, tiene una superficie exterior redondeada 110 para facilitar la inserción del catéter en el paciente. Como se ha ilustrado en la Figura 6b, el catéter 100 incluye una rendija 112 practicada a través de la pared lateral 102 adyacente al extremo distal 108 y está definida por dos caras opuestas 114 y 116 formadas en la pared lateral. El catéter 100 incluye un agente estabilizante de acuerdo con el presente invento, preferiblemente en la luz del catéter.

20 El extremo proximal del catéter está unido a un alojamiento 118 de catéter que tiene un conducto 120 que pasa a través del mismo. El conducto 120 del alojamiento de catéter y la luz 104 del catéter están en comunicación para paso de fluidos. Un mando 122 de control de válvula que tiene un conducto de paso 124 a través del mismo está unido a rotación al alojamiento 118 de catéter de tal manera que el conducto de paso 124 están en comunicación para paso de fluidos con el conducto 120. El mando 122 de control de válvula y el alojamiento 118 de catéter se sujetan juntos en virtud de la pestaña proximal 126 sobre el alojamiento de catéter que se acopla a una acanaladura rotatoria 128 practicada en el mando de control de válvula. Esta estructura permite que el mando de control de válvula rote con respecto al alojamiento de catéter, pero mantiene a los dos elementos para que no se separen. Un ejemplo de un catéter adecuado se describe en la patente de EE.UU. N° 4.737.152 concedida a Alchas, que se ha incorporado en su totalidad por la presente en esta memoria.

30 En todavía otra realización, el dispositivo de recogida de muestras utilizado en el presente invento comprende una pipeta. En las configuraciones de laboratorio, es bien conocido usar una pipeta para extraer un volumen determinado de un fluido biológico de un recipiente y transportar y dispensar parte o todo el volumen extraído a otro recipiente. Típicamente, las pipetas son miembros tubulares generalmente huecos que se usan mediante la aplicación de succión en un extremo superior abierto, o boquilla, para extraer o aspirar una cantidad de medio fluido en el tubo hueco. Una diferencia de presión mantenida mediante el cierre de la abertura de la boquilla retiene al fluido dentro de la pipeta permitiendo el transporte del medio fluido a otro recipiente. La apertura selectiva de la boquilla permite que se dispense una cantidad del medio fluido contenido en la pipeta. Se provee un cierto grado de precisión en la cantidad de fluido dispensado por las partes de extremo que se estrechan progresivamente por reducir la cantidad de fluido perdido debida al goteo.

40 Refiriéndose ahora a la Figura 7, se muestra un ejemplo de pipeta 200. La pipeta 200 es generalmente un miembro tubular alargado definido por una pared tubular 202 de un espesor generalmente uniforme. Dentro de la pared tubular 202, se define un interior 204 de pipeta para alojar un volumen dado de medio fluido, por ejemplo, una muestra biológica. La pipeta 200 incluye una parte de cuerpo principal alargado 206 generalmente cilíndrica que se extiende conjuntamente con el interior 204. El cuerpo 206 de pipeta se podría llenar previamente con un agente estabilizante de acuerdo con el presente invento.

50 Con el fin de aspirar y dispensar un fluido biológico, la pipeta 200 incluye una parte de dispensación 208 en un extremo del cuerpo 206 y una boquilla 210 en el otro extremo. Tanto la parte de dispensación 208 como la boquilla 210 están en comunicación con el interior 204 de la pipeta 200 con el fin de permitir la aspiración y dispersión del fluido a través de la parte de dispensación 208 mediante la creación de una diferencia de presión selectiva entre el interior 204 de la pipeta 200 usando la boquilla 210. Dicha diferencia de presión se puede crear manualmente abriendo y cerrando la boquilla 210 o se podría crear mediante el uso de dispositivos de asistencia mecánica para pipetas.

55 La pipeta 200 se podría construir de vidrio o de un material termoplástico como policarbonato, polietileno, poliestireno, polipropileno, polisulfona, poliuretano, acetato de etilen-vinilo o productos similares. Las pipetas de termoplástico han reemplazado en gran parte a las pipetas de vidrio para muchas aplicaciones. El material de la pipeta 200 podría ser transparente, translúcido u opaco.

60 Ejemplos de pipetas adecuadas se describen, por ejemplo, en la patente de EE.UU. N° 6.280.689 B1 concedida a Stevens y en la patente de EE.UU. N° 6.343.717 B1 concedida a Zhang y colaboradores.

65 El dispositivo de recogida de muestras utilizado en el presente invento podría comprender también una bolsa de recogida de muestras adecuada para contener una muestra biológica tal como, por ejemplo, una bolsa de recogida de muestras de sangre, una bolsa de recogida de muestras de plasma, una bolsa para leucocitos, una bolsa para

plaquetas o un elemento similar. Para facilidad de la descripción, a continuación se describe una bolsa de recogida de muestras de sangre con referencia a la Figura 8.

5 La Figura 8 ilustra una bolsa 300 de recogida de muestras de sangre para alojar sangre obtenida. La bolsa 300 de recogida de muestras de sangre tiene un cuerpo 302 formado mediante la superposición de un par de piezas idénticamente cortadas de un material de lámina fabricado de una resina, que se describirá con un carácter más específico más adelante en la presente memoria, y dotado de flexibilidad y propiedades de fusión (es decir, fusión por calor, fusión por alta frecuencia o fusión similar) o uniendo por adhesivos una con otra la periferia de la parte obturadora 306 de cada una de las piezas de material de lámina. Una parte 306 de alojamiento de sangre que aloja la sangre recogida está formada en una parte interior rodeada con una parte obturadora 304 del cuerpo 302. La bolsa 300 de recogida de muestras de sangre preferiblemente contiene un agente estabilizante de acuerdo con el presente invento.

15 Un extremo del tubo flexible 308 que comunica con la parte 306 de alojamiento de sangre está unido con el cuerpo 302 en una parte superior del mismo. Una aguja 310 de recogida de muestras de sangre está instalada en el otro extremo del tubo flexible 308 a través de un cubo 312. Sobre el cubo 312 se podría instalar una caperuza 314, que sirve para tapar la aguja 310 de recogida de muestras de sangre. En una parte superior del cuerpo 302 se podrían practicar dos aberturas 316 y 319, cada una cerrada herméticamente con una lengüeta de despegue. para que puedan abrirse.

20 La composición, características y propiedades análogas del material de las láminas que componen el cuerpo 302 de la bolsa 300 de recogida de muestras de sangre no se limitan a las especificadas. En este caso, como el material de lámina que compone la bolsa 300 de recogida de muestras de sangre, se usa preferiblemente cloruro de polivinilo blando o materiales que contengan el cloruro de polivinilo blando como su componente principal. Por ejemplo, se pueden usar un copolímero que contenga el cloruro de polivinilo blando como su componente principal y una pequeña cantidad de material macromolecular, una mezcla de polímeros, una aleación de polímeros y un producto similar. Como plastificante para el cloruro de polivinilo blando, se pueden usar preferiblemente dioctilftalato (en adelante DEHP, di(2)-etilheftalato) y (DnDP, di(n)-decilftalato). Es preferible que el contenido de dicho plastificante en el cloruro de polivinilo esté en el intervalo aproximado de 30 a 70 partes en peso, basándose en 100 partes en peso de cloruro de polivinilo.

25 Las otras sustancias que se pueden usar eficazmente para el material de lámina de la bolsa 300 de recogida de muestras de sangre son las poliolefinas, es decir, los productos de la homopolimerización o copolimerización de dichas olefinas o diolefinas como etileno, propileno, butadieno e isopreno. Ejemplos típicos incluyen polietileno, polipropileno, copolímero de acetato de etilenvinilo (en adelante EVA), mezclas de polímeros formadas entre el EVA y diversos elastómeros termoplásticos y combinaciones arbitrarias de los mismos. Se pueden usar también poliésteres tales como tereftalato de polietileno (en adelante PFT), tereftalato de polibutileno (en adelante PBT), tereftalato de dimetil poli-1,4-ciclohexano acetato de etileno y vinilo (en adelante PCHT) y cloruro de polivinilideno

35 En todavía otra realización, el dispositivo de recogida de muestras utilizado en el presente invento podría ser una vasija de laboratorio que contiene el agente estabilizante. Vasijas particulares que puedan usarse de acuerdo con el presente invento incluyen, por ejemplo, viales, matraces, matraces giratorios, botellas con ruedas, portaobjetos de microscopio, conjuntos de portaobjetos de microscopio, cámaras de muestras para dispositivos analíticos, cintas, laminados, agrupaciones, tubos y elementos análogos. Las vasijas de laboratorio acordes con el presente invento tienen al menos una superficie operativa. Muchas vasijas de acuerdo con el invento tienen al menos una pared interior, que define una parte de depósito para contener la muestra biológica, y al menos una abertura en comunicación con la parte de depósito.

40 A menudo se usa plástico o vidrio para fabricar las vasijas de laboratorio. Algunos materiales preferidos que se usan para fabricar vasijas de laboratorio incluyen polipropileno, polietileno, polietilertereftalato, poliestireno, policarbonato y celulosas. Como el polipropileno es barato, es un material particularmente preferido para las vasijas de laboratorio utilizadas para la manipulación y el transporte de cantidades precisas de muestras biológicas.

45 Ejemplos de otros materiales adecuados para las vasijas de laboratorio del presente invento incluyen poliolefinas, poliamidas, poliésteres, siliconas, poliuretanos, materiales epoxídicos, materiales acrílicos, poliacrilatos, poliésteres, polisulfonas, polimetacrilatos, PEEK, poliimidias y fluopolímeros. Para la fabricación de vasijas de laboratorio se usan también productos de vidrio que incluyen vidrio de sílice.

**REIVINDICACIONES**

1. Un método para estabilizar una muestra biológica, que comprende:
  - 5            suministrar un recipiente de recogida de muestras; y  
             disponer la muestra biológica dentro del recipiente de recogida de manera que la muestra esté en contacto con un agente estabilizante de proteínas, el agente comprendiendo al menos un inhibidor de fosfatasa.
- 10    2. El método de la reivindicación 1, en el que el recipiente de recogida de muestras incluye el agente estabilizante antes de recoger la muestra biológica.
- 15    3. El método de la reivindicación 1, en el que la disposición de la muestra biológica en el recipiente y el contacto de la muestra con el agente estabilizante se realizan en el mismo recipiente de recogida de muestras.
- 20    4. El método de la reivindicación 3, en el que el recipiente de recogida de muestras es evacuado y tiene una presión interna predeterminada suficiente para establecer un volumen predeterminado de la muestra en el recipiente de recogida de muestras.
- 25    5. El método de la reivindicación 1, en el que agente estabilizante está en una forma seleccionada del grupo consistente en una solución, una suspensión u otro líquido, una píldora, una tableta o pastilla, una cápsula, un material desecado por aspersión, un material desecado por congelación, un polvo, una partícula, un gel, cristales o un material liofilizado.
- 30    6. El método de la reivindicación 1, en el que el recipiente de recogida de muestras es seleccionado a partir de un grupo consistente en tubos, dispositivos de recogida de muestras de sangre de circuito cerrado, bolsas de recogida de muestras, jeringas, placas de microtitulación (micropozos), dispositivos de recogida de muestras con múltiples pocillos, matraces, matraces giratorios, botellas con ruedas y viales, preferiblemente aquellos cuyo recipiente de recogida de muestras es un tubo.
- 35    7. El método de la reivindicación 6, en el que el recipiente de recogida de muestras es un tubo que incluye un miembro de separación
- 40    8. El método de la reivindicación 7, en el que el miembro de separación está al menos parcialmente revestido con el agente estabilizante.
- 45    9. El método de la reivindicación 7, en el que el miembro de separación es un elemento de separación mecánico, preferiblemente en el que el elemento de separación mecánico es inerte con respecto al agente estabilizante.
- 50    10. El método de la reivindicación 7, en el que el miembro de separación es un gel.
- 55    11. El método de la reivindicación 1, en el que el agente estabilizante comprende además al menos un inhibidor de proteasas.
12. El método de la reivindicación 1, en el que al menos un inhibidor de fosfatasa, inhibe al menos una fosfatasa seleccionada del grupo que consiste en fosfatasa de serina, fosfatasa de treonina y fosfatasa de tirosina, preferiblemente en el que el agente estabilizante comprende más de dos inhibidores de fosfatos.
13. El método de la reivindicación 1, en el que la muestra biológica es seleccionada del grupo consistente en sangre completa o un componente de la misma, concentrados de glóbulos rojos, concentrados de plaquetas, concentrados de leucocitos, plasma, suero, orina, aspirados de médula ósea, líquido cefalorraquídeo, tejido, células, heces, saliva y secreciones orales, secreciones nasales y fluido linfático.
14. El método de la reivindicación 13, en el que la sangre completa es recogida de un paciente directamente dentro del recipiente de recogida.
15. El método de la reivindicación 14, en el que el recipiente de recogida incluye el agente estabilizante antes de que se recoja la sangre del paciente.

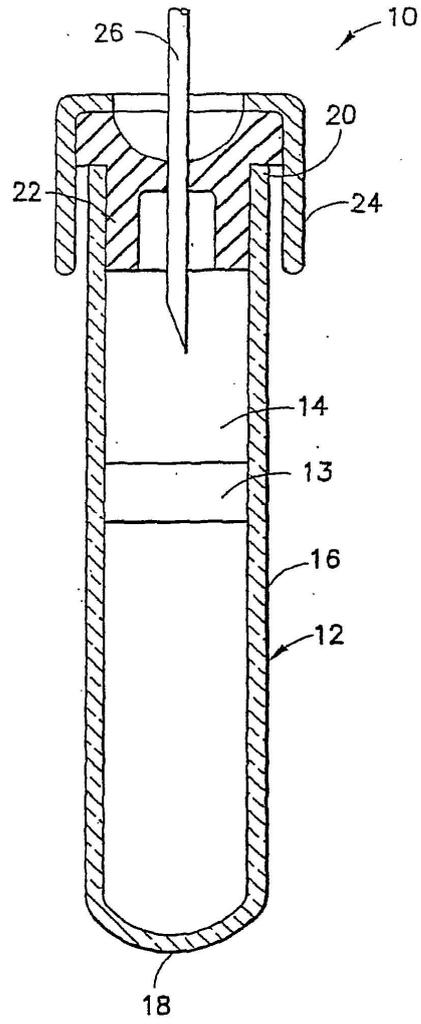


FIG. 1

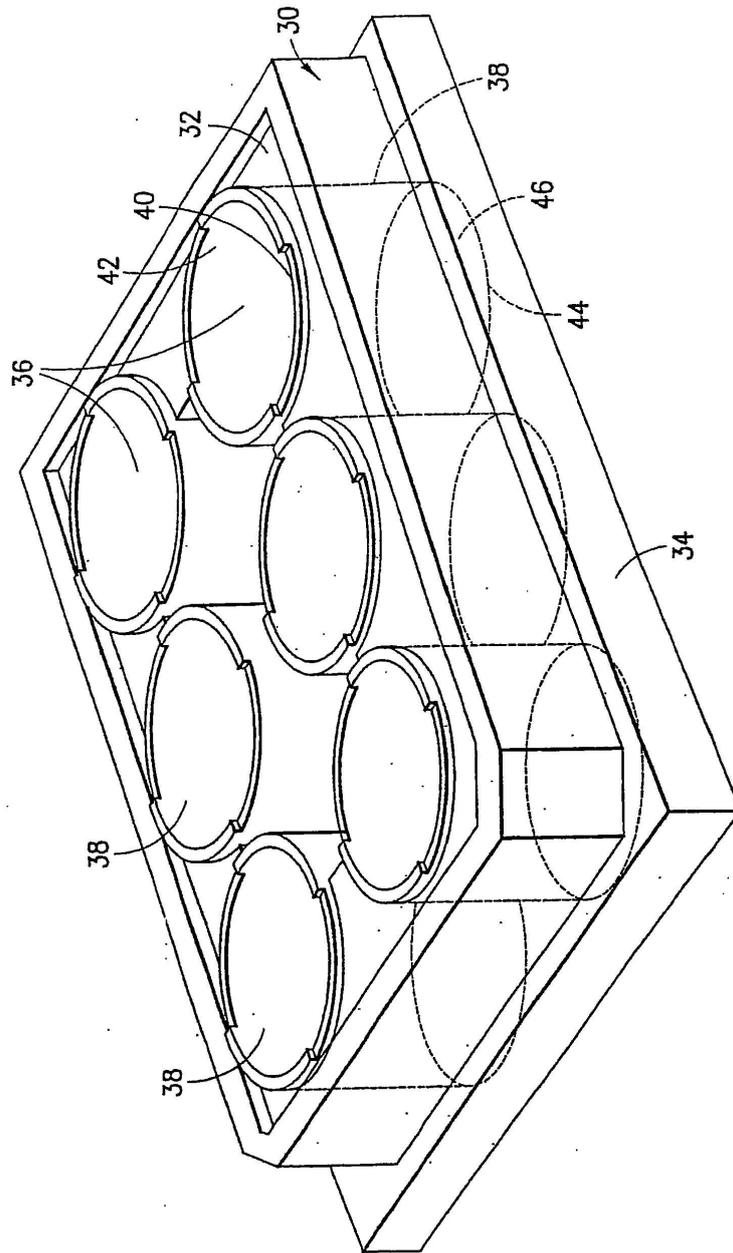


FIG.2

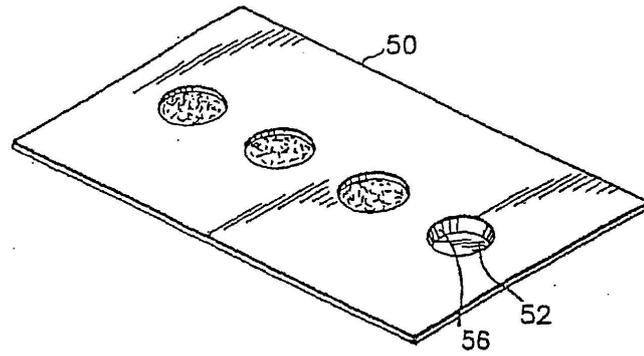
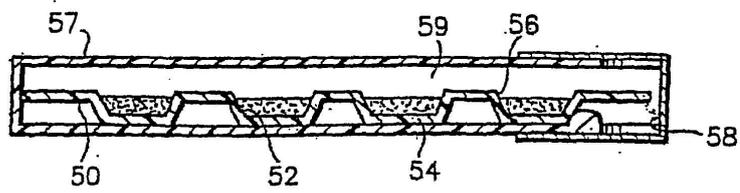


FIG. 3a

FIG. 3b



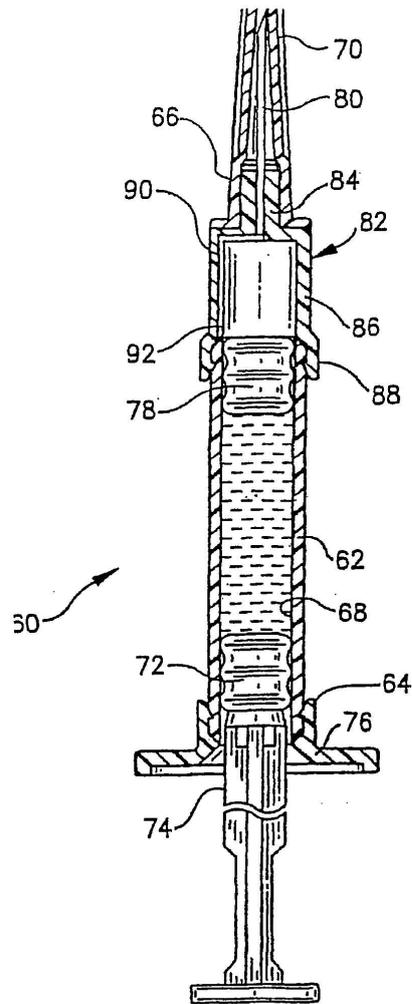


FIG. 4

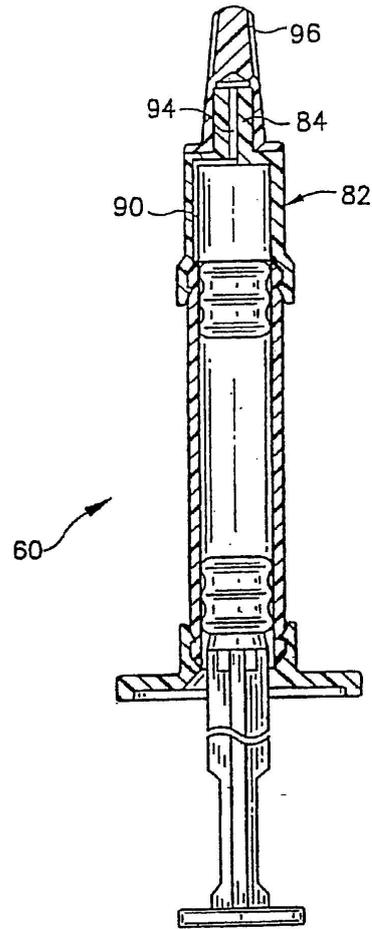


FIG. 5

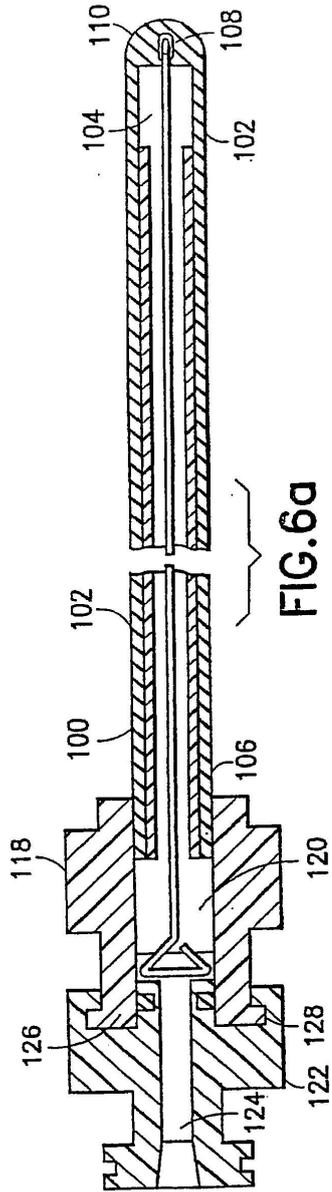


FIG. 6a

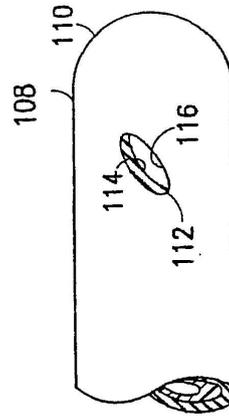


FIG. 6b

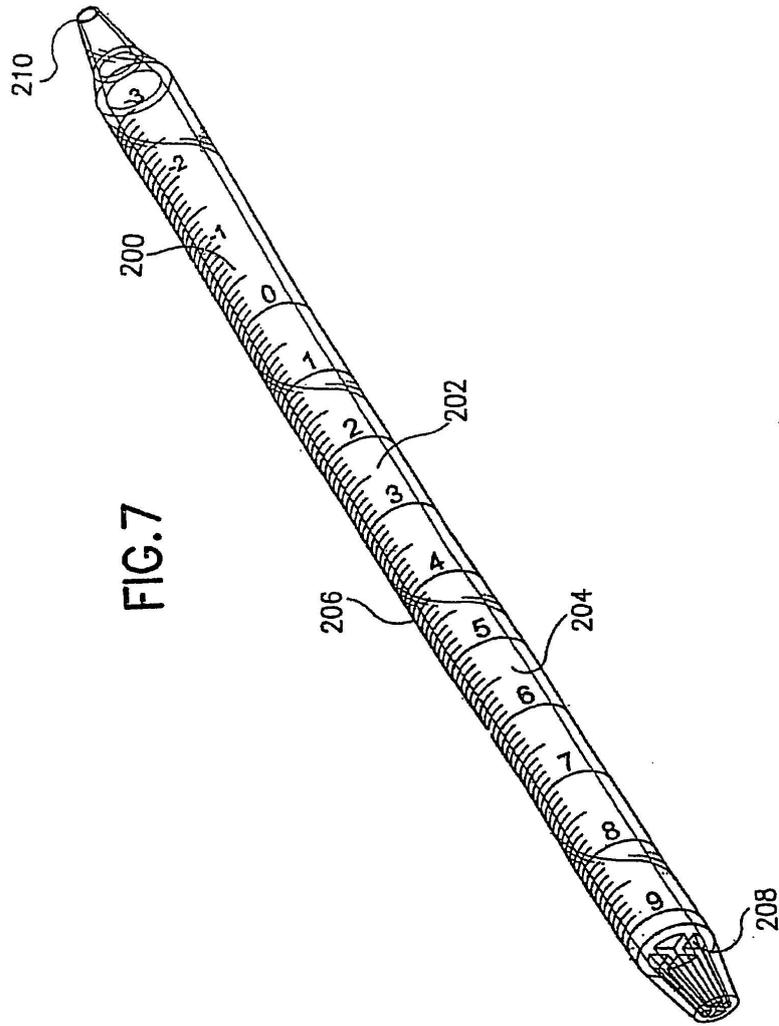


FIG. 7

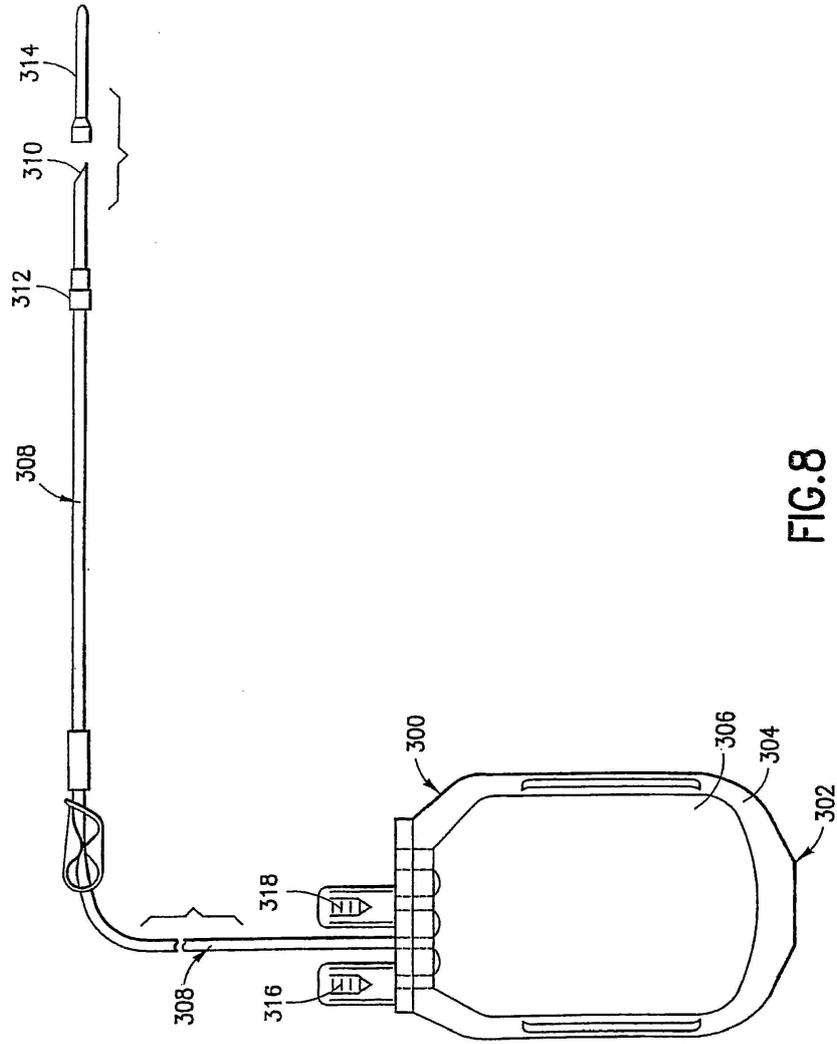


FIG. 8