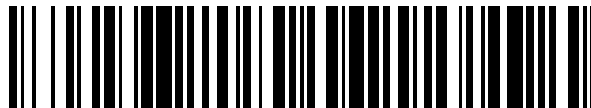


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 547 436**

51 Int. Cl.:

**A61M 1/02** (2006.01)

**A61M 1/36** (2006.01)

**A61M 1/34** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.03.2011 E 11756473 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.09.2015 EP 2548591**

54 Título: **Procedimiento de extracción de células**

30 Prioridad:

**19.03.2010 JP 2010064452**

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

**06.10.2015**

73 Titular/es:

**ASAHI KASEI MEDICAL CO., LTD. (100.0%)  
1-105 Kanda Jinbocho Chiyoda-ku  
Tokyo 101-8101, JP**

72 Inventor/es:

**INADOME, SHUICHIRO;  
SHIMADA, NOBUKAZU y  
YOKOMIZO, TOMOHISA**

74 Agente/Representante:

**DURÁN MOYA, Carlos**

**ES 2 547 436 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

## Procedimiento de extracción de células

5 La presente invención se refiere a un procedimiento de extracción de células, de manera preferente, a un procedimiento de extracción de glóbulos blancos.

10 A efectos de realizar una transfusión de componentes de la sangre, es necesario, por ejemplo, separar componentes de la sangre, tales como componentes de glóbulos rojos empaquetados o componentes del plasma, de la sangre para producir un producto de componentes de la sangre. Un producto de componentes de la sangre se produce utilizando, por ejemplo, un sistema que puede montarse sobre un separador centrífugo. Dicho sistema incluye, por ejemplo, una bolsa de recogida de sangre que recibe la sangre recogida del cuerpo humano, una bolsa para sangre, una bolsa de componentes de la sangre que recibe componentes de la sangre separados, un tubo que los conecta, y similares (véase la bibliografía de patente 1).

15 En la producción de un producto de componentes de la sangre, por ejemplo, se hace pasar la sangre en la bolsa de recogida de sangre a través de un filtro utilizando la diferencia de gravedad para extraer los glóbulos blancos de la sangre que son una sustancia patógena, y a continuación, se reciben en la bolsa para sangre. Posteriormente, el sistema de producción de componentes de la sangre se monta sobre un separador centrífugo. Utilizando el separador centrífugo, se separa la sangre en la bolsa para sangre mediante centrifugación en una capa con componente de plasma y una capa con componente de glóbulos rojos, por ejemplo, según la diferencia en la concentración celular. Posteriormente, por ejemplo, el sistema se monta sobre un sistema de aféresis, y la capa con componente de plasma en la bolsa para sangre se extrae por presión y se recibe en la bolsa de componentes de la sangre para producir un producto de plasma.

25 Además, se extrae por presión la capa con componente de glóbulos rojos que queda en la bolsa para sangre mediante el sistema de aféresis y se recibe en otra bolsa de componentes de la sangre para producir un producto de glóbulos rojos.

30 Bibliografía de patente 1: publicación de patente JP-A-2.009-90136  
Bibliografía de patente 2: publicación de patente JP-A-2002 a 320669

35 A propósito, por ejemplo, en la producción de un producto de componentes de la sangre mencionado anteriormente, a efectos de evitar de forma más fiable los efectos secundarios de la transfusión de componentes de la sangre causados por los glóbulos blancos, etc., es necesario aumentar adicionalmente la eficacia de la extracción de los glóbulos blancos mediante un filtro. Además, al aumentar la eficacia de la extracción de glóbulos blancos mediante un filtro, se puede reducir el tamaño del filtro. Al reducir el tamaño del filtro, se puede reducir la cantidad de componentes útiles capturados por el filtro y desechados, tales como los glóbulos rojos.

40 El documento EP2548590 (publicado como WO2011/115156) representa un documento del estado de la técnica según el Artículo 54(3) del CPE. Da a conocer un procedimiento para la extracción de células predeterminadas, es decir, leucocitos, de un fluido corporal, es decir, sangre completa, que comprende las etapas de aplicar fuerza centrífuga a un fluido corporal situado en una primera bolsa mediante separación centrífuga para formar capas de separación que tienen un gradiente de concentración de las células predeterminadas; pasar las capas de separación a través de un filtro en orden ascendente de la concentración de las células predeterminadas según el gradiente de concentración de las células predeterminadas para extraer las células predeterminadas de las capas de separación; y recibir las capas de separación de las que se han extraído las células predeterminadas en una segunda bolsa.

50 El documento WO 2008/105972 da a conocer un procedimiento para separar, como mínimo, dos volúmenes discretos de un líquido compuesto (tal como sangre completa), como mínimo, en dos componentes. En particular, dicho documento se refiere a un procedimiento de separación centrífuga controlado por microprocesador.

## CARACTERÍSTICAS DE LA INVENCION

55 La presente invención se ha realizado frente a los antecedentes anteriores. Un objetivo de la presente invención es aumentar la eficacia de la extracción de células mediante un filtro en la extracción de células predeterminadas, tales como glóbulos blancos, de un fluido corporal, tal como la sangre.

60 La presente invención para conseguir el objetivo anterior es un procedimiento de extracción de células para extraer células predeterminadas de un fluido corporal. El procedimiento incluye: aplicar fuerza centrífuga a un fluido corporal situado en una primera bolsa mediante separación centrífuga para formar capas de separación que tienen un gradiente de concentración de las células predeterminadas; pasar las capas de separación a través de un filtro en orden ascendente de la concentración de las células predeterminadas según el gradiente de concentración de las células predeterminadas para extraer las células predeterminadas de las capas de separación; y recibir las capas de separación de las que se han extraído las células predeterminadas en una segunda bolsa. A propósito, la concentración de células predeterminadas en el presente documento es concentración en masa.

Según la presente invención, mediante la fuerza centrífuga se forman capas de separación que tienen un gradiente de concentración de células predeterminadas, y se pasan las capas de separación que tienen un gradiente de concentración celular a través de un filtro en orden ascendente de la concentración de las células predeterminadas. De este modo, la capa de separación que tiene la mayor concentración de células predeterminadas puede ser la última en pasar a través del filtro. Por consiguiente, se puede continuar la filtración a la vez que se suprime la disminución en el rendimiento de extracción de células predeterminadas causada por una disminución temporal en el número de sitios de adsorción que acompañan al progreso de filtración, lo cual se observa en el caso en que un componente de fluido corporal que tiene una concentración celular uniforme se hace pasar a través de un filtro. Como resultado, en comparación con dicho caso, se puede incrementar la eficacia de la extracción de células predeterminadas.

También es posible que las capas de separación se pasen a través del filtro utilizando la fuerza centrífuga mediante la separación centrífuga. En tal caso, las capas de separación se pueden pasar a través del filtro a la vez que se mantiene de forma fiable el estado separado de las capas de separación. Además, las capas de separación se pueden pasar a través del filtro durante o inmediatamente después de la separación centrífuga que separa el fluido corporal en las capas de separación, mediante lo cual se puede acortar el tiempo del procedimiento de extracción celular. Además, se elimina la necesidad de un dispositivo especial para el paso de un componente de fluido corporal a través de un filtro, mediante lo cual se reduce el coste del procedimiento de extracción celular.

Según la presente invención, cuando las capas de separación se pasan a través del filtro, la velocidad de paso se modifica según la concentración de las células predeterminadas. En tal caso, según la concentración celular de cada capa de separación, las capas de separación se pueden pasar a una tasa óptima, mediante lo cual el rendimiento del filtro se muestra de manera eficaz, y se puede mejorar la eficacia de la extracción de células predeterminadas mediante el filtro.

También es posible que un componente de fluido corporal producido mediante la extracción de las células predeterminadas de las capas de separación se reciba en la segunda bolsa, y que se pueda añadir un líquido de conservación para conservar el componente de fluido corporal a las capas de separación antes de pasar a través del filtro. En tal caso, el líquido de conservación se puede añadir en el procedimiento de extracción de las células predeterminadas. Por lo tanto, no existe la necesidad en el procedimiento de añadir un líquido de conservación por separado. Además, las capas de separación se diluyen con el líquido de conservación y, de este modo, pasan más fácilmente a través del filtro. Por lo tanto, se puede reducir la carga en el filtro, prolongando la vida útil del filtro.

También es posible recibir una capa de separación adicional diferente de las capas de separación que se separa mediante la fuerza centrífuga descrita anteriormente en una tercera bolsa de forma separada de las capas de separación descritas anteriormente.

Las células predeterminadas pueden ser patógenos. Además, también es posible que el fluido corporal sea sangre, las células predeterminadas sean glóbulos blancos, y las células predeterminadas se extraigan de las capas de separación para producir un componente de la sangre que contiene glóbulos rojos como componente principal.

También se da a conocer un sistema de extracción celular que se monta sobre un separador centrífugo y extrae las células predeterminadas de un fluido corporal. El sistema de extracción celular incluye: una bolsa de fluido corporal que recibe un fluido corporal; una primera bolsa de componente de fluido corporal que recibe un primer componente de fluido corporal que tiene una concentración celular relativamente elevada en el fluido corporal; una segunda bolsa de componente de fluido corporal que recibe un segundo componente de fluido corporal que tiene una concentración celular relativamente baja en el fluido corporal; un primer canal que conecta la primera bolsa de componente de fluido corporal y la bolsa de fluido corporal; un segundo canal que conecta la segunda bolsa de componente de fluido corporal y la bolsa de fluido corporal; un filtro que se dispone en el primer canal y extrae las células predeterminadas de un componente de fluido corporal que pasa a través del canal; una primera válvula de paso que abre y cierra el primer canal; y una segunda válvula de paso que abre y cierra el segundo canal. El primer canal y el segundo canal están conectados a una parte del extremo de la bolsa de fluido corporal, estando la parte del extremo, cuando está montada sobre el separador centrífugo, en la cara de la dirección de la fuerza centrífuga mediante el separador centrífugo.

El primer canal y el segundo canal están conectados a una parte del extremo de la bolsa de fluido corporal en la cara de la dirección de la fuerza centrífuga. Por lo tanto, las capas de separación que tienen un gradiente de concentración de las células predeterminadas separadas a lo largo de la dirección de la fuerza centrífuga mediante el separador centrífugo se pueden pasar a través del filtro en orden de proximidad al primer canal. Por consiguiente, las capas de separación se pueden pasar a través del filtro en el orden ascendente de la concentración de las células predeterminadas. Como resultado, en comparación con el caso en el que un componente de fluido corporal que tiene una concentración uniforme de células a extraer se hace pasar a través de un filtro, se puede incrementar la eficacia de la extracción celular mediante un filtro. Además, también se puede recibir una capa de separación que contiene el segundo componente de fluido corporal diferente de las capas de separación que contienen el primer componente de fluido corporal en la segunda bolsa de componente de fluido corporal utilizando el segundo canal.

Además, dado que el primer canal y el segundo canal están conectados a una parte del extremo de la bolsa de fluido corporal en el cara de la dirección de la fuerza centrífuga, utilizando la fuerza centrífuga del separador centrífugo, es posible no sólo separar el fluido corporal en la bolsa de fluido corporal, sino también enviar un fluido a la bolsa de componente de fluido corporal utilizando el primer canal o el segundo canal. Por consiguiente, se puede acortar el tiempo de procesamiento desde la separación del fluido corporal hasta la producción de componentes del fluido corporal.

Se da a conocer adicionalmente un sistema de extracción celular que se monta sobre un separador centrífugo y extrae células predeterminadas de un fluido corporal. El sistema de extracción celular incluye: una bolsa de fluido corporal que recibe un fluido corporal; una primera bolsa de componente de fluido corporal que recibe un primer componente de fluido corporal que tiene una concentración celular relativamente elevada en el fluido corporal; una segunda bolsa de componente de fluido corporal que recibe un segundo componente de fluido corporal que tiene una concentración celular relativamente baja en el fluido corporal; un primer canal que conecta la primera bolsa de componente de fluido corporal y la bolsa de fluido corporal; un segundo canal que conecta la segunda bolsa de componente de fluido corporal y la bolsa de fluido corporal; un filtro que se dispone en el primer canal y extrae las células predeterminadas de un componente de fluido corporal que pasa a través del canal; una primera válvula de paso que abre y cierra el primer canal; y una segunda válvula de paso que abre y cierra el segundo canal. El primer canal está conectado a una parte del extremo de la bolsa de fluido corporal, estando la parte del extremo, cuando está montada sobre el separador centrífugo, en la cara de la dirección de la fuerza centrífuga mediante el separador centrífugo. El segundo canal está conectado a una parte del extremo de la bolsa de fluido corporal, estando la parte del extremo, cuando está montada sobre el separador centrífugo, en la cara opuesta de la dirección de la fuerza centrífuga mediante el separador centrífugo.

El primer canal está conectado a una parte del extremo de la bolsa de fluido corporal en la cara de la dirección de la fuerza centrífuga. Por lo tanto, las capas de separación que tienen un gradiente de concentración de las células predeterminadas separadas a lo largo de la dirección de la fuerza centrífuga mediante el separador centrífugo se pueden pasar a través del filtro en orden de proximidad al primer canal. Por consiguiente, las capas de separación se pueden pasar a través del filtro en el orden ascendente de la concentración de las células predeterminadas. Como resultado, en comparación con el caso en el que un componente de fluido corporal que tiene una concentración uniforme de células a extraer se hace pasar a través de un filtro, se puede incrementar la eficacia de la extracción celular mediante un filtro. Además, también se puede recibir una capa de separación que contiene el segundo componente de fluido corporal diferente de las capas de separación que contienen el primer componente de fluido corporal en la segunda bolsa de componente de fluido corporal utilizando el segundo canal. Además, dado que el primer canal está conectado a una parte del extremo de la bolsa de fluido corporal en la cara de la dirección de la fuerza centrífuga, utilizando la fuerza centrífuga del separador centrífugo, es posible no sólo separar el fluido corporal en la bolsa de fluido corporal, sino también enviar las capas de separación a la primera bolsa de componente de fluido corporal utilizando el primer canal. Por consiguiente, se puede acortar el tiempo de procesamiento desde la separación del fluido corporal hasta la producción de componentes del fluido corporal.

También es posible que se disponga un filtro adicional en el segundo canal para extraer las células predeterminadas de un componente de fluido corporal que pasa a través del canal. En tal caso, las células predeterminadas se pueden extraer también de un componente de fluido corporal que tiene una concentración celular baja.

También es posible que el sistema de extracción celular incluya además un circuito de suministro de líquido de conservación que se dispone en el primer canal en una posición más cercana a la bolsa de fluido corporal que al filtro y que suministra un líquido de conservación para conservar el primer componente de fluido corporal. En tal caso, el líquido de conservación se puede suministrar junto con la extracción de células predeterminadas. Además, un componente de fluido corporal que pasa a través del primer canal se diluye con el líquido de conservación y, de este modo, pasa más fácilmente a través del filtro. Por lo tanto, se puede reducir la carga en el filtro, prolongando la vida útil del filtro.

Las células predeterminadas pueden ser una sustancia causante de una enfermedad. Además, también es posible que el fluido corporal sea sangre, el primer componente de fluido corporal sea un componente de la sangre que contiene glóbulos rojos como componente principal, el segundo componente de fluido corporal sea un componente de la sangre que contiene plasma como componente principal, y las células predeterminadas pueden ser glóbulos blancos.

En una realización preferente, la presente invención es un procedimiento para extraer glóbulos blancos de un fluido corporal que contiene glóbulos rojos y glóbulos blancos. El procedimiento incluye: aplicar fuerza centrífuga a un fluido corporal situado en una primera bolsa mediante separación centrífuga para formar capas de separación que contienen al menos los glóbulos rojos y los glóbulos blancos y que tienen un gradiente de concentración de los glóbulos blancos; pasar las capas de separación a través de un filtro en orden ascendente de la concentración de los glóbulos blancos según el gradiente de concentración de los glóbulos blancos para extraer los glóbulos blancos de las capas de separación; y recibir las capas de separación de las que se han extraído los glóbulos blancos en una segunda bolsa.

En el procedimiento de extracción de glóbulos blancos, cuando las capas de separación se pasan a través del filtro, se puede modificar la velocidad de paso según la concentración de los glóbulos blancos.

5 Según la presente invención, en la extracción de células predeterminadas de un fluido corporal, se puede mejorar la eficacia de la extracción de células predeterminadas mediante un filtro. Además, la mejora de la eficacia de la extracción de células predeterminadas permite la reducción del tamaño del filtro. Como resultado, se puede reducir la cantidad de componentes útiles capturados por el filtro y desechados, y se puede incrementar la recuperación de componentes útiles del fluido corporal.

10 DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La figura 1 es un dibujo explicativo que muestra de manera esquemática la configuración de un sistema de extracción celular.

15 La figura 2 es una vista en sección longitudinal que muestra de manera esquemática la configuración de un separador centrífugo.

La figura 3 es una vista en planta que muestra de manera esquemática la configuración de un separador centrífugo.

La figura 4 es un dibujo explicativo que muestra la configuración de un mecanismo de presión.

20 La figura 5 es un dibujo explicativo de un sistema de extracción celular en el caso en el que un primer canal y un segundo canal están conectados a una primera parte del extremo de una bolsa para sangre.

La figura 6 es un dibujo explicativo de un sistema de extracción celular en el caso en el que se dispone un filtro en un segundo canal.

La figura 7 es un dibujo explicativo de un sistema de extracción celular en el caso en el que un circuito de suministro de líquido de conservación está conectado a un primer canal.

25 La figura 8 es un dibujo explicativo que muestra el caso en el que una bolsa para sangre está instalada en un separador centrífugo en una dirección diferente.

La figura 9 es un dibujo explicativo de un sistema de extracción celular en el caso de la producción de un producto de sangre completa.

30 DESCRIPCIÓN DETALLADA

En lo sucesivo, se describirá una realización preferente de la presente invención con referencia a los dibujos. La figura 1 es un dibujo explicativo que muestra de manera esquemática la configuración de un sistema de extracción celular -1- según esta realización.

35 El sistema de extracción celular -1- puede estar montado sobre un separador centrífugo -2- descrito a continuación e incluye, por ejemplo, una bolsa para sangre -10- como una primera bolsa, una primera bolsa de componentes de la sangre -11- como una segunda bolsa, una segunda bolsa de componentes de la sangre -12- como una tercera bolsa, un primer canal -13-, un segundo canal -14-, un filtro -15-, etc.

40 La bolsa para sangre -10- está fabricada de resina blanda, etc., por ejemplo, y es deformable. La bolsa para sangre -10- tiene conectado a la misma un canal -20- para la recogida de sangre, y puede recibir sangre recogida del cuerpo humano. El canal -20- para la recogida de sangre tiene dispuesto en el mismo una válvula de paso -21- que abre y cierra el canal -20-.

45 La primera bolsa de componentes de la sangre -11- y la segunda bolsa de componentes de la sangre -12- están fabricadas de resina blanda, etc., por ejemplo, y son deformables.

50 Como primer canal -13- y segundo canal -14-, se utilizan tubos blandos, por ejemplo. El primer canal -13- conecta la bolsa para sangre -10- y la primera bolsa de componentes de la sangre -11-. El primer canal -13- está conectado, por ejemplo, a una primera parte del extremo -10a- de la bolsa para sangre -10-. La parte del extremo -10a- está en la cara de la dirección de la fuerza centrífuga -F- mediante el separador centrífugo -2- cuando la bolsa para sangre -10- está montada sobre el separador centrífugo -2-. El primer canal -13- tiene provisto en el mismo una primera válvula de paso -30- que abre y cierra el canal -13-.

55 El segundo canal -14- conecta la bolsa para sangre -10- y la segunda bolsa de componentes de la sangre -12-. El segundo canal -14- está conectado, por ejemplo, a una segunda parte del extremo -10b- de la bolsa para sangre -10-. La parte del extremo -10b- está en la cara opuesta de la dirección de la fuerza centrífuga -F- mediante el separador centrífugo -2- cuando la bolsa para sangre -10- está montada sobre el separador centrífugo -2-. El segundo canal -14- tiene dispuesto en el mismo una segunda válvula de paso -31- que abre y cierra el canal -14-. A propósito, el canal -20- para la recogida de sangre mencionado anteriormente también está conectado a la segunda parte del extremo -10b- de la bolsa para sangre -10-.

60 El filtro -15- está dispuesto en el primer canal -13-. El filtro -15- está formado de un cuerpo poroso, por ejemplo, que puede separar por filtración glóbulos blancos como células predeterminadas, patógenos. El filtro -15- está dispuesto entre la primera válvula de paso -30- y la primera bolsa de componentes de la sangre -11-.

65

El separador centrífugo -2- incluye, por ejemplo, tal como se muestra en la figura 2 y la figura 3, en una carcasa -50-, unos accionadores giratorios -51-, tales como un motor, un recipiente giratorio -52- que se hace girar por el accionador giratorio -51- y sobre el que se puede montar una pluralidad de sistemas de extracción celular -1-, etc. En el recipiente giratorio -52-, por ejemplo, la bolsa para sangre -10- del sistema de extracción celular -1- puede estar instalada de manera que la primera parte del extremo -10a-, a la que está conectado el primer canal -13-, está de cara al exterior (la cara de la dirección de la fuerza centrífuga -F-), mientras que la segunda parte del extremo -10b-, a la que está conectado el segundo canal -14-, está de cara al centro (la cara opuesta desde la dirección de la fuerza centrífuga -F-). A propósito, en esta realización, la bolsa para sangre -10- está instalada de manera que la dirección en la longitud de la bolsa (dirección horizontal en la figura 4) está en la dirección de la fuerza centrífuga -F-, mientras que la dirección en el grosor de la bolsa (dirección vertical en la figura 4) está en la dirección de rotación.

El recipiente giratorio -52- está provisto, por ejemplo, de un mecanismo de prensado -53- para prensar la bolsa para sangre -10- desde los lados. El mecanismo de prensado -53- tiene, por ejemplo, tal como se muestra en la figura 4, un par de placas de prensado -54- y -55- que atrapan la bolsa para sangre -10- desde ambos lados. Una placa de prensado -54- se puede desplazar horizontalmente mediante un accionador de prensado -56-, tal como un cilindro, hacia la otra placa de prensado -55- para prensar la bolsa para sangre -10- entre las mismas. De este modo, la sangre en la bolsa para sangre -10- puede separarse mediante prensado hacia el primer canal -13- o el segundo canal -14-.

A continuación, se describirá un procedimiento de extracción de células sanguíneas utilizando el sistema de extracción celular -1- configurado de este modo.

En primer lugar, la sangre recogida del cuerpo humano se introduce a través del canal -20- para la recogida de sangre y se recibe en la bolsa para sangre -10-. En este momento, la primera válvula de paso -30- y la segunda válvula de paso -31- están cerradas. A continuación, el sistema de extracción celular -1- se monta sobre el recipiente giratorio -52- del separador centrífugo -2-. En este momento, la bolsa para sangre -10- se instala, por ejemplo, tal como se muestra en la figura 4, entre la placa de prensado -54- y la placa de prensado -55- de manera que la primera parte del extremo -10a- está de cara a la cara de la dirección de la fuerza centrífuga -F-, mientras que la segunda parte del extremo -10b- está de cara a la cara opuesta desde la dirección de la fuerza centrífuga -F-.

A continuación, el separador centrífugo -2- opera de manera que el recipiente giratorio -52- se hace girar mediante el accionador giratorio -51-, mediante lo cual la sangre en la bolsa para sangre -10- se separa mediante la fuerza centrífuga, a lo largo de la dirección de la fuerza centrífuga -F-, en capas de separación -A-, -B-, y -C- que tienen un gradiente de concentración celular de leucocitos, por ejemplo, y una capa de separación -D- como una capa de separación adicional, tal como se muestra en la figura 1. La concentración celular de leucocitos aumenta en el orden de las capas de separación -C-, -B- y -A- (-A- <-B- <-C-), por ejemplo. A propósito, la concentración celular de leucocitos de la capa de separación -D- es inferior que la de la capa de separación -C-. Las capas de separación -A-, -B- y -C- son capas de componentes que contienen una gran cantidad de células de eritrocitos y actúan como capas de células empaquetadas que tienen una concentración celular relativamente elevada. La capa de separación -D- es una capa de componentes que contiene plasma como componente principal y actúa como una capa de células dispersas que tiene una concentración celular relativamente baja. Además, la concentración de glóbulos rojos aumenta en el orden de capas de separación -A-, -B-, y -C- (-A-> -B-> -C-), y la capa de separación -C- contiene una gran cantidad de plaquetas.

A continuación, se abre la segunda válvula de paso -31- y el mecanismo de prensado -53- opera de manera que la bolsa para sangre -10- es prensada por las placas de prensado -54- y -55-. Por consiguiente, la capa de separación -D-, que está cerca de la segunda parte del extremo -10b- en la cara opuesta desde la dirección de la fuerza centrífuga -F-, se separa mediante prensado de la bolsa para sangre -10-, y se envía a la segunda bolsa de componentes de la sangre -12- a través del segundo canal -14- mostrado en la figura 1. Por consiguiente, un componente de plasma como segundo componente de fluido corporal es recibido en la segunda bolsa de componentes de la sangre -12-. Esto sirve como un producto de plasma.

Después de que toda la capa de separación -D- se separa mediante prensado de la bolsa para sangre -10-, a continuación, se cierra la segunda válvula de paso -31- y se abre la primera válvula de paso -30-. Posteriormente, la bolsa para sangre -10- es prensada adicionalmente por las placas de prensado -54- y -55-, y las capas de separación -A-, -B-, y -C- se separan mediante prensado en el primer canal -13- en orden de cercanía a la primera parte del extremo -10a-. Por consiguiente, se separan mediante prensado en el primer canal -13- en orden ascendente de la concentración celular de leucocitos, es decir, en el siguiente orden: capas de separación -A-, -B-, y -C-. En primer lugar, la capa de separación -A-, que tiene la concentración celular de leucocitos más baja, se hace pasar a través del filtro -15- para la extracción de glóbulos blancos, y se recibe en la primera bolsa de componentes de la sangre -11-. A continuación, la capa de separación -B-, que tiene la segunda concentración celular de leucocitos más baja, se hace pasar a través del filtro -15- para la extracción de glóbulos blancos, y se recibe en la primera bolsa de componentes de la sangre -11-. Finalmente, la capa de separación -C-, que tiene la concentración celular de leucocitos más elevada, se hace pasar a través del filtro -15- para la extracción de glóbulos blancos, y se recibe en la primera bolsa de componentes de la sangre -11-. De esta manera, un componente de glóbulos rojos empaquetados que contiene glóbulos rojos como componente principal es recibido como un primer componente de

fluido corporal en la primera bolsa de componentes de la sangre -11-. Esto sirve como un producto de glóbulos rojos. Posteriormente, se cierra la primera válvula de paso -30-. De este modo, se completa el procedimiento de extracción celular de la sangre.

5 Según la realización anterior, mediante la fuerza centrífuga, se forman las capas de separación -A-, -B-, y -C- que tienen un gradiente de concentración de glóbulos blancos, que son células predeterminadas, y las capas de separación -A-, -B-, y -C- se hacen pasar a través del filtro -15- en orden ascendente de concentración de glóbulos blancos. De este modo, la cara que tiene la mayor concentración de glóbulos blancos puede ser la última en pasar a través del filtro -15-. Por consiguiente, se puede continuar la filtración a la vez que se suprime la disminución en el rendimiento de extracción de glóbulos blancos causada por una disminución temporal en el número de sitios de adsorción que acompaña al progreso de filtración, lo cual se observa en el caso en el que se hace pasar un componente de fluido corporal que tiene una concentración de células uniforme a través de un filtro. Como resultado, se puede incrementar la eficacia de extracción de glóbulos blancos mediante el filtro -15-.

15 A propósito, aunque la capa de separación -D- se separa mediante prensado de la bolsa para sangre -10- antes que las capas de separación -A- a -C- en la realización anterior, también es posible separar mediante prensado la capa de separación -D- después de las capas de separación -A- a -C-.

20 Además, en la realización anterior, el primer canal -13- está conectado a la primera parte del extremo -10a- de la bolsa para sangre -10- en la cara de la dirección de la fuerza centrífuga -F-. Por lo tanto, también es posible utilizar la fuerza centrífuga del separador centrífugo -2- para enviar las capas de separación -A- a -C- desde la bolsa para sangre -10- hasta la primera bolsa de componentes de la sangre -11-. Esto permite que las capas de separación -A- a -C- pasen a través del filtro -15-, mientras se mantiene de forma fiable su estado de separación. Además, las capas de separación -A- a -C- se pueden hacer pasar a través del filtro -15- durante o inmediatamente después de la separación centrífuga que separa la sangre en las capas de separación -A- a -D-, mediante lo cual se puede acortar el tiempo del procedimiento de extracción celular.

30 Además, en la realización anterior, también es posible utilizar la fuerza centrífuga del separador centrífugo -2- para enviar la capa de separación -D- a la segunda bolsa de componentes de la sangre -12-. En tal caso, tal como se muestra en la figura 5, el segundo canal -14- está conectado a la primera parte del extremo -10a- de la bolsa para sangre -10-. A continuación, mediante la fuerza centrífuga del separador centrífugo -2-, las capas de separación -A- a -C- se envían a la primera bolsa de componentes de la sangre -11- a través del primer canal -13-, y a continuación se envía la capa de separación -D- a la segunda bolsa de componentes de la sangre -12- a través del segundo canal -14-. En tal caso, se elimina la necesidad de un dispositivo especial para la separación mediante prensado de las capas de separación -A- a -D-, tal como el mecanismo de prensado -53-, mediante lo cual se puede reducir el coste del procedimiento de extracción celular. Además, el suministro a las bolsas de componentes de la sangre -11- y -12- se puede realizar durante o después de la separación centrífuga de la sangre, mediante lo cual se puede acortar adicionalmente el tiempo del procedimiento de extracción celular.

40 En la realización anterior, por ejemplo, tal como se muestra en la figura 6, también es posible disponer un filtro -80- en el segundo canal -14- para extraer glóbulos blancos, por ejemplo, según sea necesario. En tal caso, los glóbulos blancos se pueden extraer de la capa de separación -D- mediante el filtro -80- cuando la capa de separación -D- se hace pasar a través del segundo canal -14-. Por lo tanto, en el caso en el que la capa de separación -D- contiene glóbulos blancos, se puede producir un producto de plasma del que se han extraído los glóbulos blancos. A propósito, este ejemplo también es aplicable al caso en el que, tal como se muestra en la figura 5, el segundo canal -14- está conectado a la primera parte del extremo -10a- de la bolsa para sangre -10-.

50 En la realización anterior, se puede añadir un líquido de conservación para conservar el producto de glóbulos rojos finalmente producido a las capas de separación -A- a -C- antes de hacerse pasar a través del filtro -15-. Por ejemplo, tal como se muestra en la figura 7, se dispone un circuito de suministro de líquido de conservación -100- para suministrar un líquido de conservación al primer canal -13- en una posición más cercana a la bolsa para sangre -10- que al filtro -15-. El circuito de suministro de líquido de conservación -100- incluye, por ejemplo, una bolsa de líquido de conservación -101-, un canal de suministro de líquido de conservación -102- que conecta la bolsa de líquido de conservación -101- y el primer canal -13-, y una válvula de paso -103- que abre y cierra el canal -102-. Por ejemplo, cuando las capas de separación -A- a -C- se separan mediante prensado de la bolsa para sangre -10-, la válvula de paso -103- se abre, y se suministra el líquido de conservación desde la bolsa de líquido de conservación -101- a través del canal de suministro de líquido de conservación -102- al primer canal -13-. Por consiguiente, se añade el líquido de conservación a los componentes de la sangre de las capas de separación -A- a -C- que fluyen a través del primer canal -13-, y a continuación, se hacen pasar las capas de separación -A- a -C- a través del filtro -15-.

60 Según este ejemplo, el líquido de conservación se puede añadir al producto de glóbulos rojos al mismo tiempo que el procedimiento de extracción de glóbulos blancos. Además, las capas de separación -A- a -C- se diluyen con el líquido de conservación y, de este modo, pasan más fácilmente a través del filtro -15-. Por lo tanto, se puede reducir la carga sobre el filtro -15-. Por consiguiente, se puede prolongar la vida útil del filtro -15-. A propósito, este ejemplo también es aplicable al caso en el que, tal como se muestra en la figura 5, el segundo canal -14- está conectado a la primera parte del extremo -10a- de la bolsa para sangre -10-.

En la realización anterior, cuando las capas de separación -A- a -C- se hacen pasar a través del filtro -15-, la velocidad de paso puede modificarse según la concentración celular de leucocitos. Por ejemplo, en el caso en el que las capas de separación -A- a -C- se separan mediante prensado hacia el filtro -15- mediante el mecanismo de prensado -53-, la velocidad a la que la bolsa para sangre -10- es prensada por las placas de prensado -54- y -55- del mecanismo de prensado -53- se puede modificar para modificar la velocidad de paso de cada una de las capas de separación -A- a -C- a través del filtro -15-. En el caso en el que las capas de separación -A- a -C- se separan mediante prensado hacia el filtro -15- utilizando la fuerza centrífuga del separador centrífugo -2-, se puede modificar la fuerza centrífuga para modificar la velocidad de paso de cada una de las capas de separación -A- a -C- a través del filtro -15-. Por ejemplo, es posible que la velocidad de paso se fije a un valor bajo cuando la capa de separación -C-, que tiene una concentración elevada de glóbulos blancos, se hace pasar a través del filtro -15-, la velocidad de paso se fije a un valor elevado cuando la capa de separación -A-, que tiene una concentración baja de glóbulos blancos, se hace pasar a través del filtro -15-, y la velocidad de paso se fije en un valor medio cuando la capa de separación -B-, que tiene una concentración media de glóbulos blancos, se hace pasar a través del filtro -15-. Esto permite que los glóbulos blancos se extraigan correctamente de cada una de las capas de separación -A- a -C- sin poner demasiada carga en el filtro -15-.

Las realizaciones preferentes de la presente invención se han descrito anteriormente con referencia a los dibujos que se acompañan.

Por ejemplo, la realización anterior ha mostrado un ejemplo en el que la bolsa para sangre -10- está instalada de tal manera que la dirección en la longitud de la bolsa (dirección vertical en la figura 1) está en la dirección de la fuerza centrífuga -F- cuando el sistema de extracción celular -1- está montado sobre el separador centrífugo -2-. Sin embargo, tal como se muestra en la figura 8, también es posible que la bolsa para sangre -10- esté instalada de tal manera que la dirección en el grosor espesor de la bolsa (dirección horizontal en la figura 8) esté en la dirección de la fuerza centrífuga -F-. En tal caso, el primer canal -13- y el segundo canal -14- están conectados a una parte del extremo de la bolsa para sangre -10- en la dirección del grosor. Además, también es posible que el mecanismo de prensado -53- esté configurado para prensar la bolsa para sangre -10- desde los lados en la dirección del grosor de la misma.

En la realización anterior, el componente de la sangre que se somete a la extracción de glóbulos blancos y se recibe en la primera bolsa de componentes de la sangre -11- es un producto de glóbulos rojos. Sin embargo, también puede ser un producto de sangre completa, un producto de plaquetas, un producto intermedio de los mismos, etc. Por ejemplo, en el caso de un producto de plaquetas, por ejemplo, las capas de separación -C- y -D- que contienen plaquetas se hacen pasar a través del filtro -15- a través del primer canal -13- en el orden de las capas de separación -D- y -C-, y un producto de plaquetas se recibe en la primera bolsa de componentes de la sangre -11-.

Además, en el caso de un producto de sangre completa, aunque se pueden utilizar el sistema de extracción celular -1- o similares mencionados anteriormente, también es posible utilizar un sistema de extracción celular -110- que no tiene segundo canal -14- o segunda bolsa de componentes de la sangre -12-, pero que sólo tiene el primer canal -13- y la primera bolsa de componentes de la sangre -11-, tal como se muestra en la figura 9. En tal caso, todas las capas de separación -A- a -D- se hacen pasar a través del filtro -15- a través del primer canal -13- en el orden de las capas de separación -D-, -C-, -B- y -A-, por ejemplo, y se recibe un producto de sangre completa en la primera bolsa de componentes de la sangre -11-.

En la realización anterior, están presentes principalmente cuatro capas de separación, y tres de las capas de separación se hacen pasar principalmente a través del filtro -15- y tienen un gradiente de concentración de glóbulos blancos. Sin embargo, el número de capas no se limita a éstas. Además, las células a extraer no se limitan tampoco a los glóbulos blancos y también pueden ser otras células, tales como plaquetas y glóbulos rojos. Además, el filtro -15- también puede ser capaz de extraer otras sustancias que causan enfermedades, tales como parásitos, además de sustancias patógenas, tales como los glóbulos blancos. Además, el fluido corporal del que se extraen las células es sangre en la realización anterior, pero la presente invención también es aplicable a los casos de otros fluidos corporales, tales como la médula ósea y sangre de cordón umbilical.

## Ejemplos

A continuación, se mostrarán los resultados de experimentos para la evaluación del rendimiento de extracción de un filtro.

El procedimiento para preparar un filtro utilizado en los experimentos es el siguiente.

(1) Producción del medio del filtro:

Se utilizó el siguiente polímero como material para un filtro.



## ES 2 547 436 T3

Polímero aleatorio de metacrilato de 2-hidroxietilo (HEMA) y metacrilato de dimetilaminoetilo (DM) (la proporción molar entre HEMA y DM = 97:3, en lo sucesivo abreviado como "HM-3").

5 A una concentración de monómero en etanol de 1 mol/l, se sintetizó HM-3 mediante polimerización aleatoria a 60°C durante 8 horas en presencia de 0,005 mol/l de 2,2'-azobis(2,4-dimetilvaleronitrilo) (fabricado por Wako Pure Chemical Industries, Ltd. Nombre comercial: V-65) como iniciador.

10 En primer lugar, se disolvió HM-3 en un disolvente mixto de agua/etanol (la proporción en peso de agua/etanol = 5/95) para preparar una solución al 0,1% en peso. Las siguientes telas no tejidas A y B se impregnaron con esta solución y, después de la eliminación del exceso de líquido, se secaron al vacío a 40°C durante 16 horas.

A: tela no tejida de poliéster que tiene un diámetro promedio de fibra de 1,8  $\mu$ m producida mediante soplado en fusión ("melt-blowing")

15 B: tela no tejida de poliéster que tiene un diámetro promedio de fibra de 1,2  $\mu$ m producida mediante soplado en fusión

### (2) Producción del filtro

20 En un recipiente con un área de filtración eficaz de 67 mm x 67 mm se colocó la tela no tejida de poliéster recubierta de HM-3 con un diámetro promedio de fibra de 1,8  $\mu$ m producida mediante soplado en fusión, de manera que la densidad de empaquetamiento fue de 0,18 g/cm<sup>3</sup> y el grosor fue de 1,5 mm, y de manera similar, se colocó bajo la misma la tela no tejida de poliéster con un diámetro promedio de fibra de 1,2  $\mu$ m, de manera que la densidad de empaquetamiento fue de 0,2 g/cm<sup>3</sup> y el grosor de 3 mm.

### 25 (Ejemplo 1)

El procedimiento de filtración centrífuga de sangre del ejemplo 1 que utiliza el filtro anterior es el siguiente.

30 (1) Se recogieron en una bolsa para sangre 250 ml de sangre completa fresca de un individuo sano a la que se había añadido CPD (citrato fosfato dextrosa) (en lo sucesivo denominado "sangre completa").

35 (2) La sangre completa se transfirió a una botella de 250 ml para la centrifugación, se colocó en una copa centrífuga, y a continuación, se sometió a centrifugación a 1.250 G durante 5 minutos. A continuación, la botella de centrifugación se extrajo de la copa centrífuga.

(3) En la botella, se habían formado aproximadamente 140 ml de una capa de glóbulos rojos empaquetados y aproximadamente 110 ml de una capa de plasma rico en plaquetas.

40 (4) Se aspiraron aproximadamente 110 ml de la capa de plasma rico en plaquetas y se recuperaron en una botella. En este momento, se llevó a cabo una succión con cuidado a efectos de no afectar a la interfaz con la capa de glóbulos rojos empaquetados.

45 (5) A continuación, se recogieron con cuidado 35 ml de la capa de glóbulos rojos empaquetados que permanecían en la botella mediante succión de la parte superior para producir una primera capa del fluido de glóbulos rojos empaquetados. La concentración de glóbulos blancos (medida utilizando un contador de microcélulas) fue de  $469 \times 10^2/l$ , el hematocrito fue del 30,5%, y la concentración de plaquetas fue de  $29,1 \times 10^4/l$ .

50 (6) Posteriormente, se recogieron con cuidado 35 ml de la capa de glóbulos rojos empaquetados que permanecían en la botella mediante succión de la parte superior para producir una segunda capa del fluido de glóbulos rojos empaquetados. La concentración de glóbulos blancos fue de  $141 \times 10^2/l$ , el hematocrito fue del 53,5%, y la concentración de plaquetas fue de  $9,1 \times 10^4/l$ .

55 (7) A continuación, se recogieron de la parte superior 30 ml de la capa de glóbulos rojos empaquetados que permanecían en la botella y se mezclaron con 5 ml de un líquido SAGM (líquido de conservación de glóbulos rojos) para producir 35 ml de una tercera capa del fluido de glóbulos rojos empaquetados. La concentración de glóbulos blancos fue de  $22 \times 10^2/l$ , el hematocrito fue del 60,2%, y la concentración de plaquetas fue de  $4 \times 10^4/l$ . A propósito, a partir de la proporción de dilución, antes de la adición del líquido SAGM, la concentración de glóbulos blancos fue de  $26 \times 10^2/l$ , el hematocrito fue del 70,2%, y la concentración de plaquetas fue de  $5 \times 10^4/l$ .

60 (8) A continuación, se recogieron de la parte superior 26 ml de la capa de glóbulos rojos empaquetados que permanecían en la botella y se mezclaron con 9 ml de un líquido SAGM para producir 35 ml de una cuarta capa del fluido de glóbulos rojos empaquetados. La concentración de glóbulos blancos fue de  $9,3 \times 10^2/l$ , el hematocrito fue del 61,3%, y la concentración de plaquetas fue de  $2 \times 10^4/l$ . A propósito, a partir de la proporción de dilución, antes de la adición del líquido SAGM, la concentración de glóbulos blancos fue de  $12,5 \times 10^2/l$ , el hematocrito fue del 82,5%, y la concentración de plaquetas fue de  $3 \times 10^4/l$ .

65

(9) A continuación, se recogieron de la parte superior 18 ml de la capa de glóbulos rojos empaquetados que permanecían en la botella y se mezclaron con 8 ml de un líquido SAGM para producir 26 ml de una quinta capa del fluido de glóbulos rojos empaquetados. La concentración de glóbulos blancos fue de  $7,6 \times 10^2/l$ , el hematocrito fue del 60,5%, y la concentración de plaquetas fue de  $1 \times 10^4/l$ . A propósito, a partir de la proporción de dilución, antes de la adición del líquido SAGM, la concentración de glóbulos blancos fue de  $11,0 \times 10^2/l$ , el hematocrito fue del 87,4%, y la concentración de plaquetas fue de  $1 \times 10^4/l$ .

(10) Se conectó un tubo flexible de cinco puertos fabricado de cloruro de polivinilo a la cara de entrada del filtro de extracción de glóbulos blancos. Se conectó un tubo similar con una bolsa para sangre para la recuperación conectada a su extremo a la cara de salida del filtro. Se transfirieron de la primera a la quinta capa del fluido de glóbulos rojos empaquetados a cinco jeringas de 50 ml de volumen, respectivamente, y las jeringas se conectaron a cinco puertos de conexión del tubo, respectivamente. Las jeringas se sometieron a un mezclado intenso mediante inversión, de manera que el fluido de glóbulos rojos empaquetados en cada jeringa era uniforme y, a continuación, se instalaron en una bomba de jeringa fijada a una velocidad de flujo de 20 ml/min.

(11) La bomba de jeringa se conectó para la jeringa que contenía la quinta capa del fluido de glóbulos rojos empaquetados, mediante lo cual se envió la quinta capa para iniciar la filtración a través del filtro. Cuando la quinta capa del fluido de glóbulos rojos empaquetados desapareció de la jeringa, entonces se envió la cuarta capa del fluido de glóbulos rojos empaquetados. Posteriormente, se enviaron, de manera secuencial, la tercera capa, la segunda capa, y la primera capa del fluido de glóbulos rojos empaquetados. De esta manera, en el orden desde la quinta capa que tiene una concentración baja de glóbulos blancos hasta la primera capa que tiene una concentración elevada de glóbulos blancos, se enviaron las capas, se pasaron a través del filtro, y se recuperaron en la bolsa para sangre para la recuperación.

(12) La cantidad de fluido de glóbulos rojos empaquetados finalmente recuperada en la bolsa para sangre para la recuperación fue de 145 ml. El muestreo después de la mezcla mostró que la concentración de glóbulos blancos (contados utilizando un citómetro de flujo) fue de 3,01 células/ $\mu l$  y el hematocrito fue del 57,6%, mientras que no se detectaron plaquetas. El número total de glóbulos blancos en los 145 ml del fluido de glóbulos rojos empaquetados finalmente recuperados que se habían sometido a la extracción de glóbulos blancos fue de  $0,44 \times 10^6$ .

(Ejemplo comparativo 1)

El procedimiento de filtración centrífuga de sangre del ejemplo comparativo 1 que utiliza el filtro anterior es el siguiente.

(1) Se recogieron en una bolsa para sangre 250 ml de sangre completa de un individuo sano a la que se había añadido CPD.

(2) La sangre completa se transfirió a una botella de 250 ml para la centrifugación, se colocó en una copa centrífuga, y a continuación, se sometió a centrifugación a 1.250 G durante 5 minutos. A continuación, la botella de centrifugación se extrajo de la copa centrífuga.

(3) En la botella, se habían formado aproximadamente 140 ml de una capa de glóbulos rojos empaquetados y aproximadamente 110 ml de una capa de plasma rico en plaquetas.

(4) Se aspiraron aproximadamente 110 ml de la capa de plasma rico en plaquetas y se recuperaron en una botella. En este momento, se llevó a cabo una succión con cuidado a efectos de no afectar a la interfaz con la capa de glóbulos rojos empaquetados.

(5) Se añadió una cantidad de 22 ml de un líquido SAGM a la capa de glóbulos rojos empaquetados que permanecían en la botella y, a continuación, se mezclaron de manera uniforme para preparar 162 ml de un fluido de glóbulos rojos empaquetados. La concentración de glóbulos blancos fue de  $132 \times 10^2/l$ , el hematocrito fue del 53,7%, y la concentración de plaquetas fue de  $27,3 \times 10^4/l$ . Como resultado del cálculo, el número total de glóbulos blancos en 162 ml del fluido de glóbulos rojos empaquetados preparado fue de  $2,1 \times 10^9$ .

(6) El fluido de glóbulos rojos empaquetados se distribuyó en cuatro jeringas de 35 ml y una jeringa de 22 ml. Se conectó un tubo flexible de cinco puertos fabricado de cloruro de polivinilo a la cara de entrada del filtro de extracción de glóbulos blancos producido de la misma manera que en el ejemplo 1. Se conectó un tubo similar con una bolsa para sangre para la recuperación conectada a su extremo a la cara de salida. Posteriormente, las jeringas se conectaron a cinco puertos de conexión del tubo, respectivamente. Las jeringas se sometieron a un mezclado intenso mediante inversión, de manera que el fluido de glóbulos rojos empaquetados en cada jeringa era uniforme y, a continuación, se instalaron en una bomba de jeringa fijada a una velocidad de flujo de 20 ml/min. La concentración de glóbulos blancos del fluido de glóbulos rojos empaquetados es la misma en todas las jeringas.

(7) La bomba de jeringa se conectó para la primera jeringa que contenía el fluido de glóbulos rojos empaquetados, mediante lo cual se envió el fluido de glóbulos rojos empaquetados para iniciar la filtración a través del filtro. Cuando el fluido de glóbulos rojos empaquetados desapareció de la primera jeringa, entonces se inició el envío del fluido en la segunda jeringa. De esta manera, se hizo pasar el fluido de glóbulos rojos empaquetados de cada una de las cinco jeringas a través del filtro y se recuperó en la bolsa para sangre para la recuperación.

(8) La cantidad de fluido de glóbulos rojos empaquetados finalmente recuperada en la bolsa para sangre para la recuperación fue de 145 ml. El muestreo después de la mezcla mostró que la concentración de glóbulos blancos (contados utilizando un citómetro de flujo) fue de 7,46 células/ $\mu$ l y el hematocrito fue del 53,7%, mientras que no se detectaron plaquetas. El número total de glóbulos blancos en los 145 ml del fluido de glóbulos rojos empaquetados finalmente recuperados que se habían sometido a la extracción de glóbulos blancos fue de  $1,08 \times 10^6$ .

(Ejemplo comparativo 2)

El procedimiento de filtración centrífuga de sangre del ejemplo comparativo 2 que utiliza el filtro anterior es el siguiente.

(1) Se recogieron en una bolsa para sangre 250 ml de sangre completa de un individuo sano a la que se había añadido CPD.

(2) La sangre completa se transfirió a una botella de 250 ml para la centrifugación, se colocó en una copa centrífuga, y a continuación, se sometió a centrifugación a 1.250 G durante 5 minutos. A continuación, la botella de centrifugación se extrajo de la copa centrífuga.

(3) En la botella, se habían formado aproximadamente 140 ml de una capa de glóbulos rojos empaquetados y aproximadamente 110 ml de una capa de plasma rico en plaquetas.

(4) Se aspiraron aproximadamente 110 ml de la capa de plasma rico en plaquetas y se recuperaron en una botella. En este momento, se llevó a cabo una succión con cuidado a efectos de no afectar a la interfaz con la capa de glóbulos rojos empaquetados.

(5) A continuación, se recogieron con cuidado 35 ml de la capa de glóbulos rojos empaquetados que permanecían en la botella mediante succión de la parte superior para producir una primera capa del fluido de glóbulos rojos empaquetados. La concentración de glóbulos blancos (medida utilizando un contador de microcélulas) fue de  $469 \times 10^2$ / l, el hematocrito fue del 30,5%, y la concentración de plaquetas fue de  $29,1 \times 10^4$ / l.

(6) Posteriormente, se recogieron con cuidado 35 ml de la capa de glóbulos rojos empaquetados que permanecían en la botella mediante succión de la parte superior para producir una segunda capa del fluido de glóbulos rojos empaquetados. La concentración de glóbulos blancos fue de  $141 \times 10^2$ / l, el hematocrito fue del 53,5%, y la concentración de plaquetas fue de  $9,1 \times 10^4$ / l.

(7) A continuación, se recogieron de la parte superior 30 ml de la capa de glóbulos rojos empaquetados que permanecían en la botella y se mezclaron con 5 ml de un líquido SAGM (líquido de conservación de glóbulos rojos) para producir 35 ml de una tercera capa del fluido de glóbulos rojos empaquetados. La concentración de glóbulos blancos fue de  $22 \times 10^2$ / l, el hematocrito fue del 60,2%, y la concentración de plaquetas fue de  $4 \times 10^4$ / l. A propósito, a partir de la proporción de dilución, antes de la adición del líquido SAGM, la concentración de glóbulos blancos fue de  $26 \times 10^2$ / l, el hematocrito fue del 70,2%, y la concentración de plaquetas fue de  $5 \times 10^4$ / l.

(8) A continuación, se recogieron de la parte superior 26 ml de la capa de glóbulos rojos empaquetados que permanecían en la botella y se mezclaron con 9 ml de un líquido SAGM para producir 35 ml de una cuarta capa del fluido de glóbulos rojos empaquetados. La concentración de glóbulos blancos fue de  $9,3 \times 10^2$ / l, el hematocrito fue del 61,3%, y la concentración de plaquetas fue de  $2 \times 10^4$ / l. A propósito, a partir de la proporción de dilución, antes de la adición del líquido SAGM, la concentración de glóbulos blancos fue de  $12,5 \times 10^2$ / l, el hematocrito fue del 82,5%, y la concentración de plaquetas fue de  $3 \times 10^4$ / l.

(9) A continuación, se recogieron de la parte superior 18 ml de la capa de glóbulos rojos empaquetados que permanecían en la botella y se mezclaron con 8 ml de un líquido SAGM para producir 26 ml de una quinta capa del fluido de glóbulos rojos empaquetados. La concentración de glóbulos blancos fue de  $7,6 \times 10^2$ / l, el hematocrito fue del 60,5%, y la concentración de plaquetas fue de  $1 \times 10^4$ / l. A propósito, a partir de la proporción de dilución, antes de la adición del líquido SAGM, la concentración de glóbulos blancos fue de  $11,0 \times 10^2$ / l, el hematocrito fue del 87,4%, y la concentración de plaquetas fue de  $1 \times 10^4$ / l.

(10) Se conectó un tubo flexible de cinco puertos fabricado de cloruro de polivinilo a la cara de entrada del filtro de extracción de glóbulos blancos. Se conectó un tubo similar con una bolsa para sangre para la recuperación conectada a su extremo a la cara de salida del filtro. Se transfirieron de la primera a la quinta capa del fluido de

glóbulos rojos empaquetados a cinco jeringas de 50 ml de volumen, respectivamente, y las jeringas se conectaron a cinco puertos de conexión del tubo, respectivamente. Las jeringas se sometieron a un mezclado intenso mediante inversión, de manera que el fluido de glóbulos rojos empaquetados en cada jeringa era uniforme y, a continuación, se instalaron en una bomba de jeringa fijada a una velocidad de flujo de 20 ml/min.

5 (11) La bomba de jeringa se conectó para la jeringa que contenía la primera capa del fluido de glóbulos rojos empaquetados, mediante lo cual se envió la primera capa para iniciar la filtración a través del filtro. Cuando la primera capa del fluido de glóbulos rojos empaquetados desapareció de la jeringa, entonces se envió la segunda capa del fluido de glóbulos rojos empaquetados. Posteriormente, se enviaron, de manera secuencial, la tercera  
10 capa, la cuarta capa, y la quinta capa del fluido de glóbulos rojos empaquetados. De esta manera, en el orden desde la primera capa que tiene una concentración elevada de glóbulos blancos hasta la quinta capa que tiene una concentración baja de glóbulos blancos, se enviaron las capas, se pasaron a través del filtro, y se recuperaron en la bolsa para sangre para la recuperación.

15 (12) La cantidad de fluido de glóbulos rojos empaquetados finalmente recuperada en la bolsa para sangre para la recuperación fue de 145 ml. El muestreo después de la mezcla mostró que la concentración de glóbulos blancos (contados utilizando un citómetro de flujo) fue de 38,2 células/ $\mu$ l y el hematocrito fue del 58,7%, mientras que no se detectaron plaquetas. El número total de glóbulos blancos en los 145 ml del fluido de glóbulos rojos empaquetados finalmente recuperados que se habían sometido a la extracción de glóbulos blancos fue de  $5,54 \times 10^6$ .

20 La presente invención es útil en la mejora de la eficacia de la extracción de células predeterminadas mediante un filtro en la separación de un componente de fluido corporal predeterminado de un fluido corporal.

- 25 1: Sistema de extracción celular  
2: Separador centrífugo  
10: Bolsa para sangre  
10a: Primera parte del extremo  
10b: Segunda parte del extremo  
11: Primera bolsa de componentes de la sangre  
30 12: Segunda bolsa de componentes de la sangre  
13: Primer canal  
14: Segundo canal  
15: Filtro  
30: Primera válvula de paso  
35 31: Segunda válvula de paso  
A a D: Capa de separación  
F: Dirección de la fuerza centrífuga

**REIVINDICACIONES**

1. Procedimiento para extraer células predeterminadas de un fluido corporal, que comprende las etapas de:  
 5 aplicar fuerza centrífuga (F) a un fluido corporal situado en una primera bolsa (10) mediante separación centrífuga para formar capas de separación (A a D) que tienen un gradiente de concentración de las células predeterminadas; pasar las capas de separación a través de un filtro (15) en orden ascendente de la concentración de las células predeterminadas según el gradiente de concentración de las células predeterminadas para extraer las células predeterminadas de las capas de separación (A a D); y  
 10 recibir en una segunda bolsa (11) las capas de separación (A a D) de las que se han extraído las células predeterminadas; estando el procedimiento caracterizado por el hecho de que cuando las capas de separación (A a D) se hacen pasar a través del filtro (15), se modifica la velocidad de paso según la concentración de las células predeterminadas.
2. Procedimiento para extraer células predeterminadas, según la reivindicación 1, en el que las capas de separación (A a D) se hacen pasar a través del filtro (15) utilizando la fuerza centrífuga mediante la separación centrífuga.  
 15
3. Procedimiento para extraer células predeterminadas, según cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, en el que se recibe en la segunda bolsa (11) un componente predeterminado de fluido corporal producido mediante la extracción de las células predeterminadas de las capas de separación (A a D), y  
 20 se añade a las capas de separación (A a D) un líquido de conservación para conservar el componente de fluido corporal antes de pasarlo a través del filtro (15).
4. Procedimiento para extraer células predeterminadas, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que se recibe una capa de separación adicional (D) diferente de las capas de separación (A a D) que se separa mediante la fuerza centrífuga en una tercera bolsa (12) por separado de las capas de separación.  
 25
5. Procedimiento para extraer células predeterminadas, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que las células predeterminadas son patógenos.
6. Procedimiento para extraer células predeterminadas, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el fluido corporal es sangre, las células predeterminadas son glóbulos blancos, y las células predeterminadas se extraen de las capas de separación (A a D) para producir un componente de la sangre que contiene glóbulos rojos como componente principal.  
 30  
 35
7. Procedimiento, según la reivindicación 1, para extraer glóbulos blancos de un fluido corporal que contiene glóbulos rojos y glóbulos blancos, que comprende las etapas de:  
 40 aplicar fuerza centrífuga (F) a un fluido corporal situado en una primera bolsa (10) mediante separación centrífuga para formar capas de separación (A a D) que contienen, como mínimo, glóbulos rojos y glóbulos blancos, y que tienen un gradiente de concentración de los glóbulos blancos; pasar las capas de separación a través de un filtro (15) en orden ascendente de la concentración de los glóbulos blancos según el gradiente de concentración de los glóbulos blancos para extraer los glóbulos blancos de las capas de separación (A a D); y  
 45 recibir en una segunda bolsa (11) las capas de separación (A a D) de las que se han extraído los glóbulos blancos.
8. Procedimiento para extraer glóbulos blancos, según la reivindicación 7, en el que cuando las capas de separación (A a D) se hacen pasar a través del filtro (15), se modifica la velocidad de paso según la concentración de los glóbulos blancos.

Fig. 1

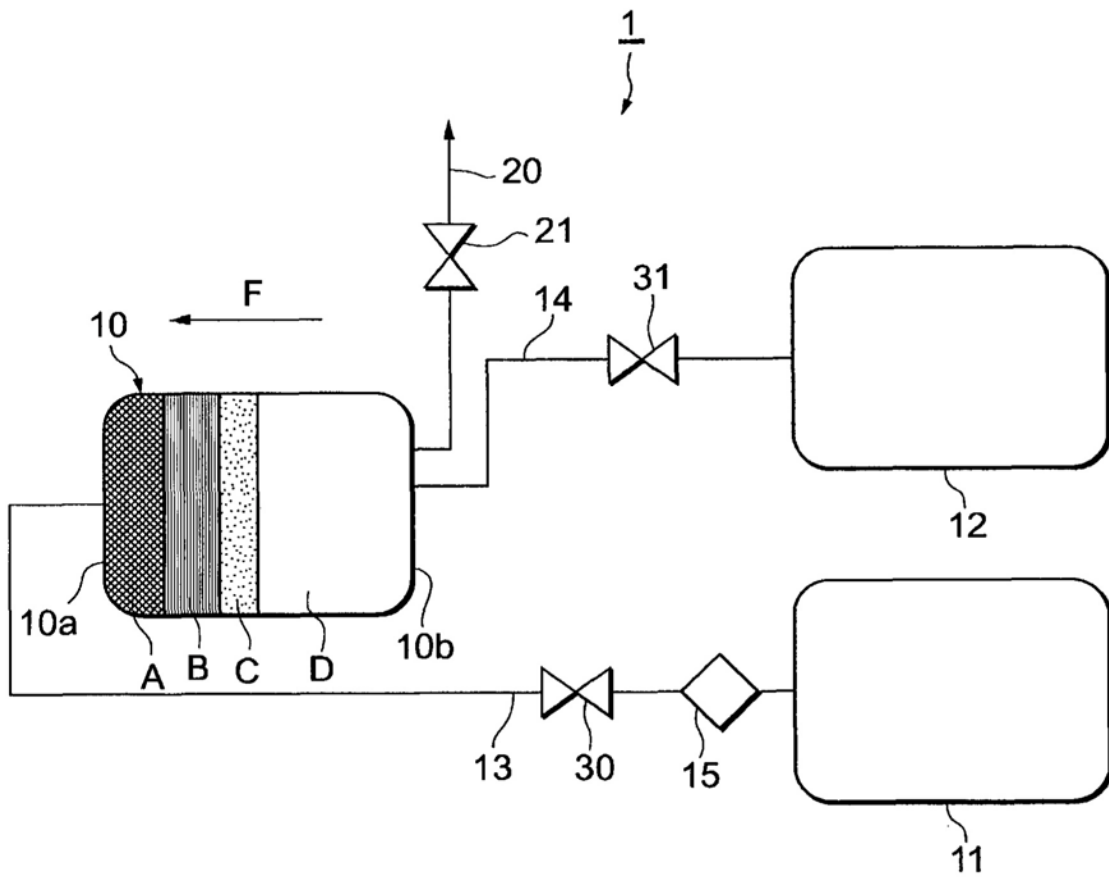


Fig. 2

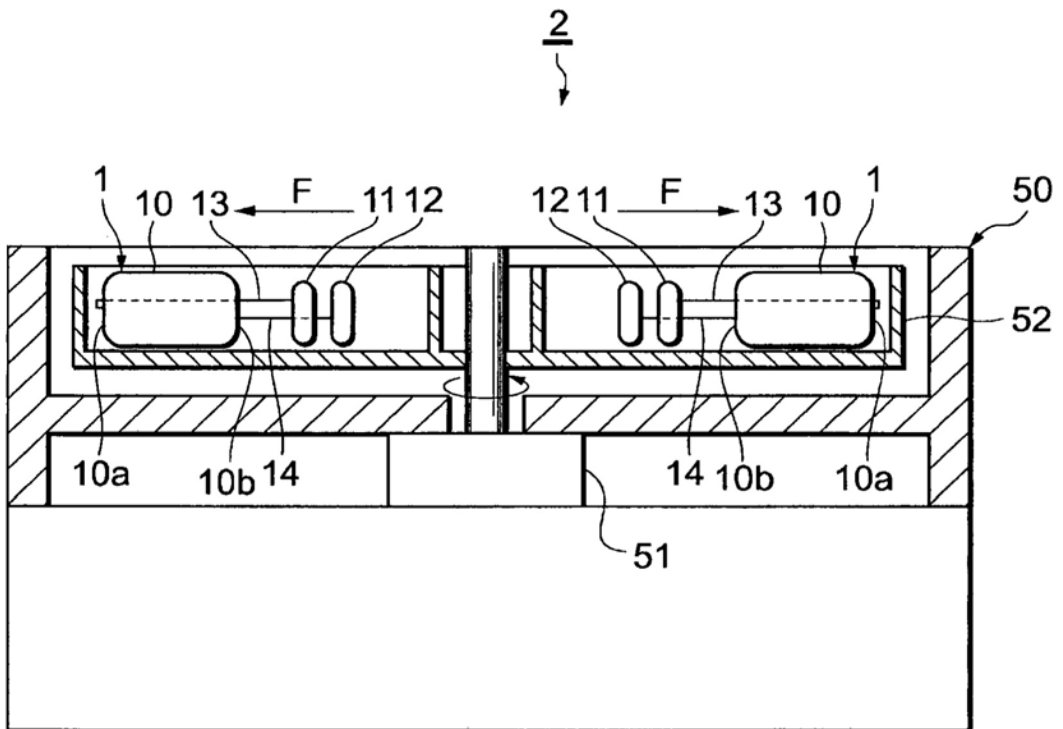


Fig. 3

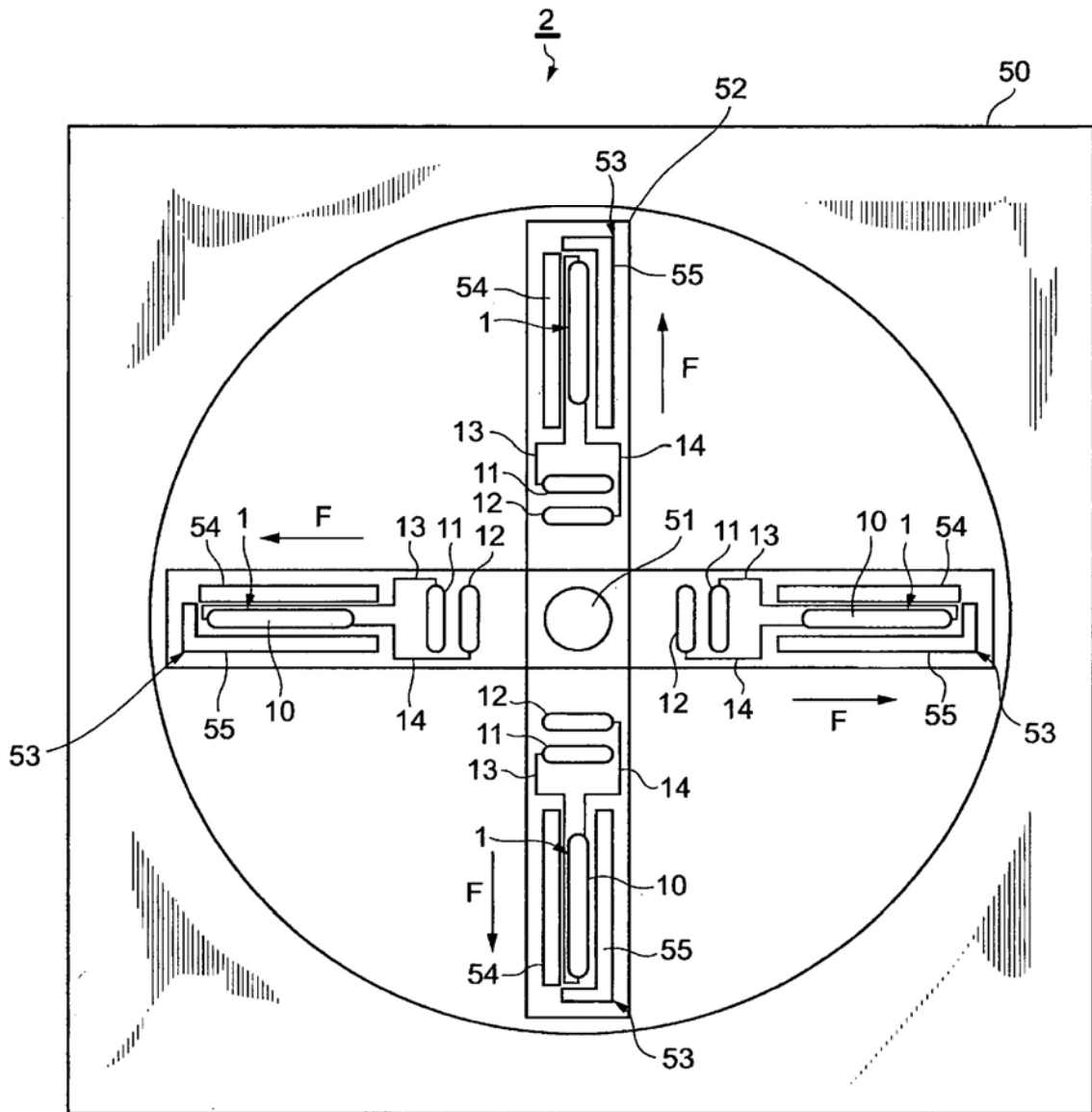




Fig. 4

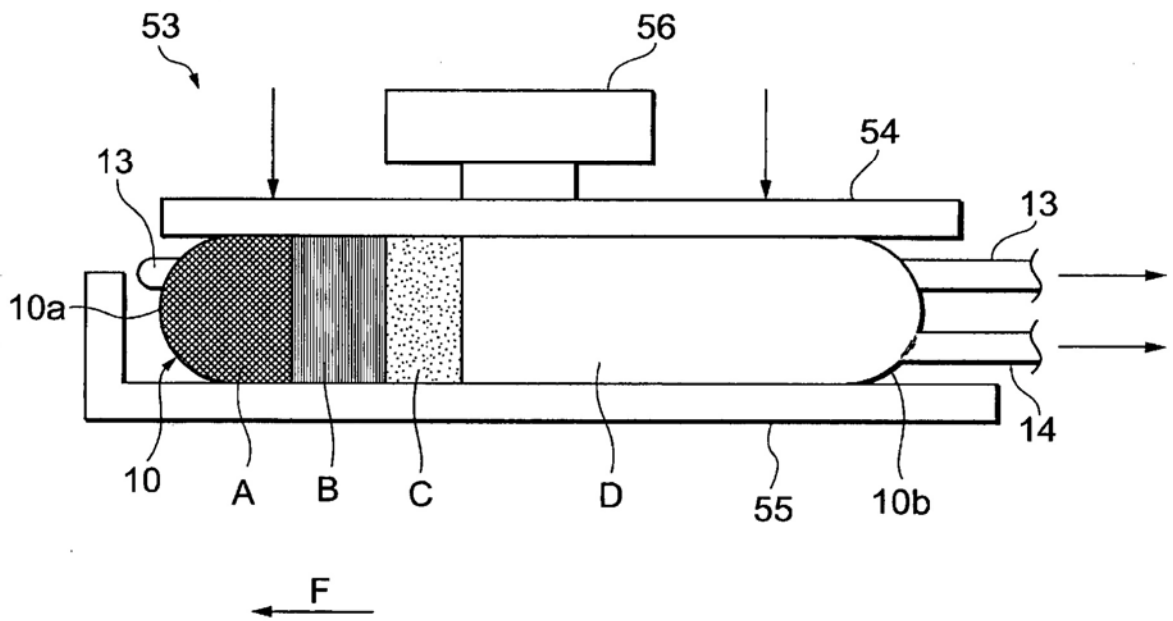


Fig. 5

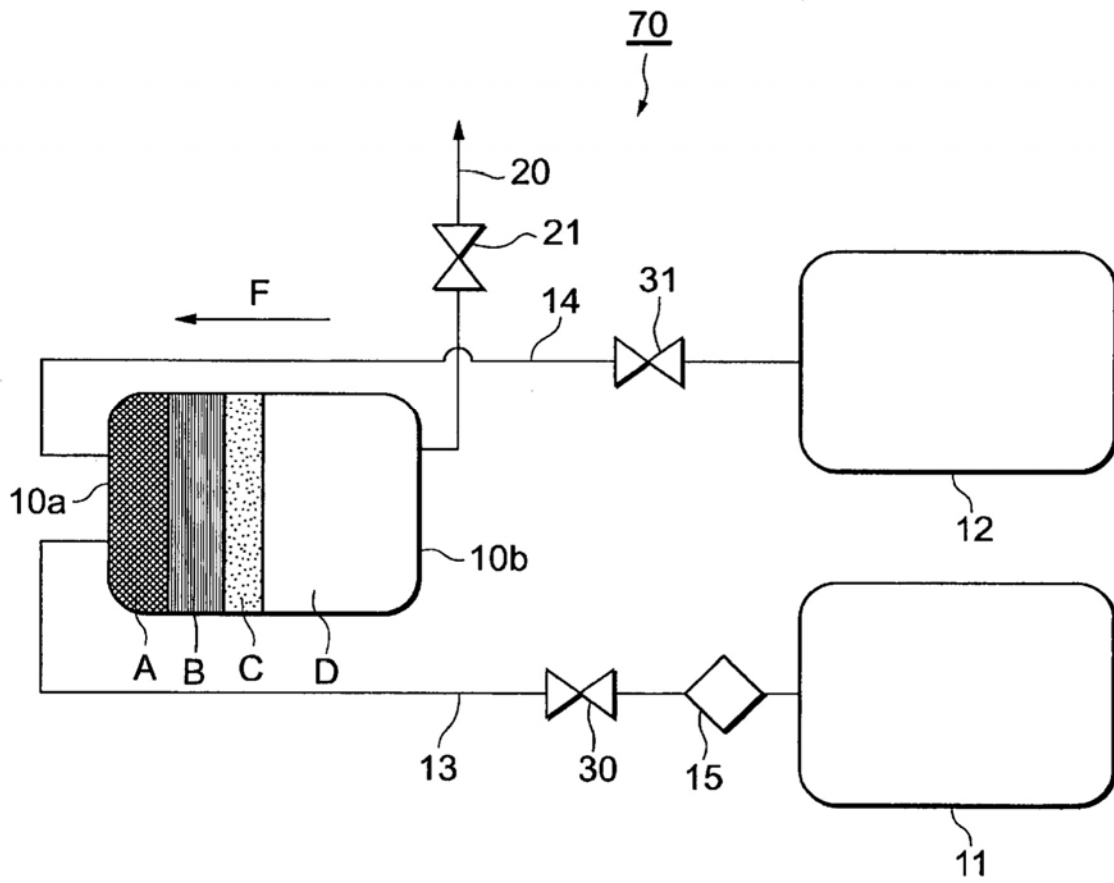


Fig. 6

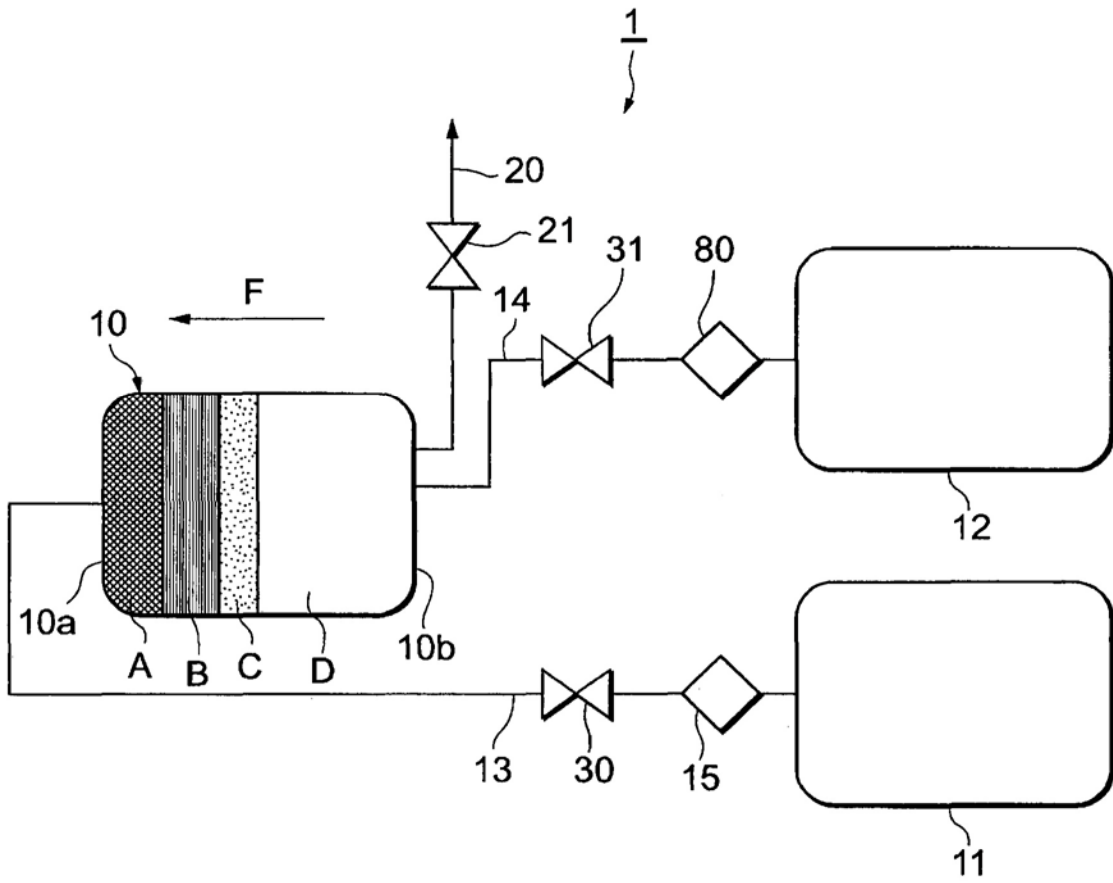


Fig. 7

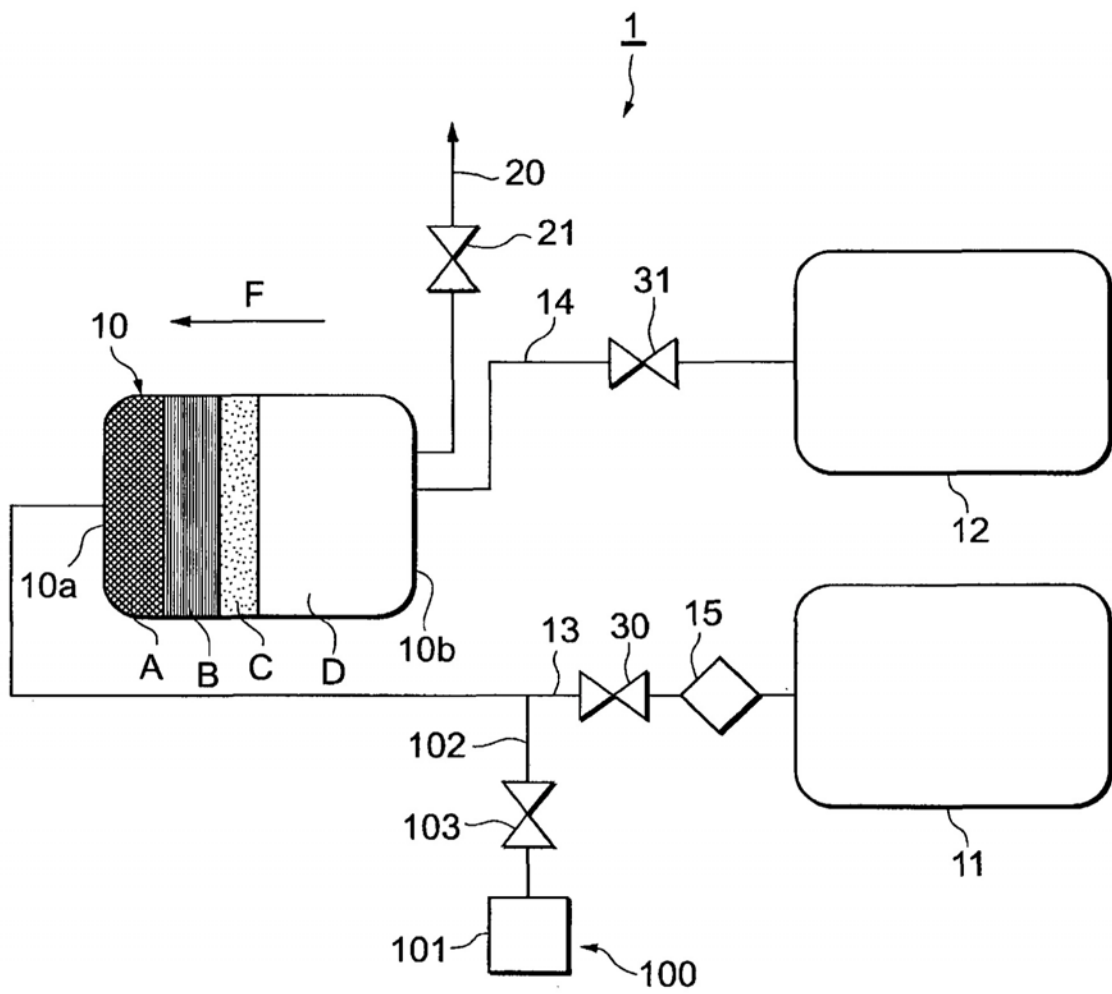


Fig. 8

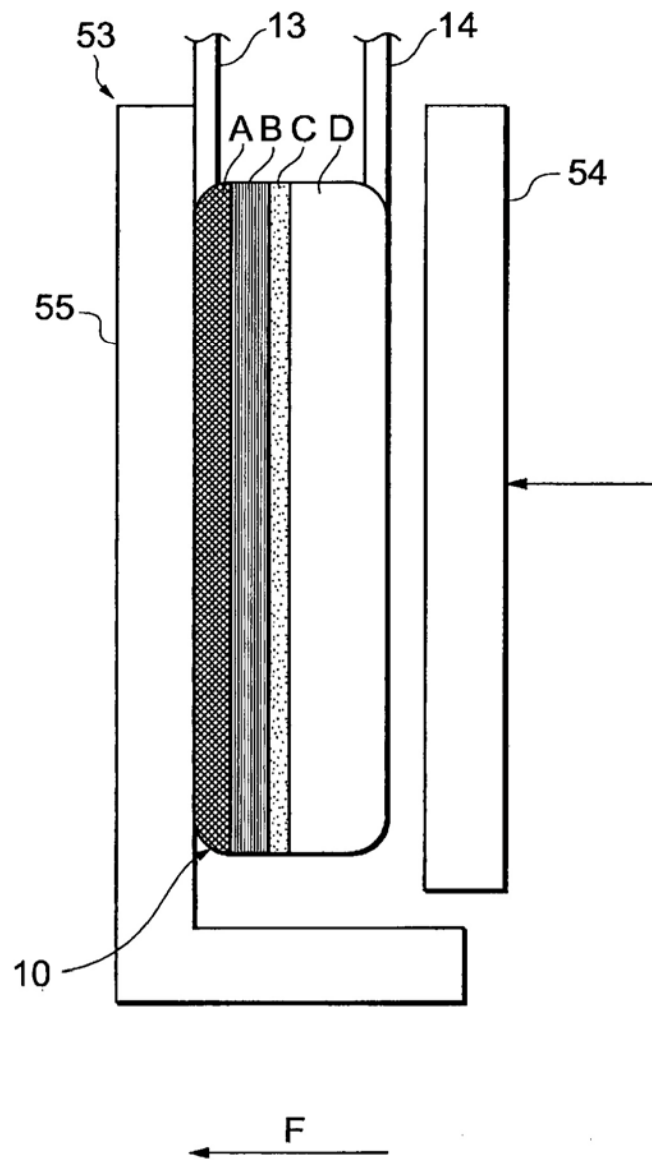


Fig. 9

