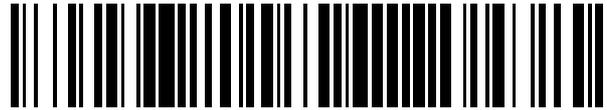


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 554 477**

51 Int. Cl.:

A61M 1/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.06.2012 E 12740875 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.09.2015 EP 2720729**

54 Título: **Procedimiento para la separación de sangre, recipiente de separación para una centrifugadora de sangre, sistema para el llenado de un recipiente de congelación**

30 Prioridad:

19.06.2011 DE 102011105311

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

21.12.2015

73 Titular/es:

**POBITSCHKA, WALTER (100.0%)
Lechfeldtstrasse 7
61350 Bad Homburg, DE**

72 Inventor/es:

POBITSCHKA, WALTER

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Nuria

ES 2 554 477 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).

Procedimiento para la separación de sangre, recipiente de separación para una centrifugadora de sangre, sistema para el llenado de un recipiente de congelación

DESCRIPCIÓN

5 La invención se refiere a un procedimiento para la separación de sangre, obteniéndose diferentes fracciones de sangre – eritrocitos, capa leucocitaria y plasma sanguíneo, introduciéndose la sangre en un recipiente de separación y centrifugándose después en diferentes secciones fluidicamente conectadas del recipiente de separación, dispuestas una sobre otra, específicamente una sección superior que recibe el plasma sanguíneo, una sección central para recibir la capa leucocitaria y una sección inferior para recibir los eritrocitos. Dicho procedimiento se describe por ejemplo en el documento WO84/02091.

10 Además, la invención se refiere a un recipiente de separación para una centrífuga de sangre, en particular para la realización del procedimiento, con una sección inferior para la recepción de eritrocitos, con una sección central para la recepción de la capa leucocitaria y con una sección superior para la recepción de plasma sanguíneo, presentando la sección central una dimensión transversal más pequeña que la sección superior e inferior, estando las secciones fluidicamente conectadas y pudiéndose separar la sección inferior de la sección central.

15 Finalmente, la invención se refiere a un sistema para el llenado de un recipiente de congelación con una fracción sanguínea obtenida tras centrifugación, es decir capa leucocitaria, y para la preparación de la capa leucocitaria con finalidades de crio-conservación en el recipiente de congelación, en particular empleando una forma de realización del recipiente de separación según la invención y en particular llevando a cabo una forma de realización del procedimiento según la invención.

20 La sangre se puede separar mediante una centrífuga en diferentes fracciones sanguíneas, girando rápidamente la centrífuga a determinadas revoluciones y a lo largo de una duración determinada. Tras el centrifugado, la naturaleza de la sangre se ha modificado en el recipiente de separación. Los componentes individuales se han dividido en plasma sanguíneo, que se compone sobre todo de proteínas y agua, capa leucocitaria y eritrocitos. La capa leucocitaria contiene todos los leucocitos y la mayor parte de trombocitos. Los eritrocitos presentan el peso más alto, seguidos de los leucocitos y los trombocitos en la capa leucocitaria y en el plasma sanguíneo.

25 La descomposición de la sangre en sus componentes no sólo es necesaria en procedimientos diagnósticos u otras aplicaciones de laboratorio, sino también en el ámbito de la crio-conservación de sangre del cordón umbilical. La congelación implica costes elevados. El espacio en dispositivos de baja temperatura en bancos de sangre es limitado y caro, ya que allí las muestras se deben ultracongelar empleando nitrógeno líquido. Por esa razón existe una necesidad general de reducir el volumen. El material para congelar se debe disponer en bolsas del menor volumen posible. Como material para congelar interesa la capa leucocitaria, ya que contiene células madre. La fracción separada de capa leucocitaria se debe conservar, para poderla administrar más tarde a los pacientes. La conservación o crio-conservación se realiza empleando el compuesto químico dimetilsulfóxido, en adelante denominado DMSO, en un recipiente de congelación. El compuesto químico DMSO sirve para concentrar el líquido celular en el preparado, para compensar allí las diferencias entre las diferentes presiones osmóticas. De este modo la capa leucocitaria o la sustancia celular se protege de la destrucción/reventado de las células. De forma alternativa al DMSO puro se podría emplear también un agente de crio-conservación premezclado, como por ejemplo DEXTRAN 40.

30 Tras la centrifugación se ha formado un límite de fase entre la fracción de capa leucocitaria de interés aquí y los eritrocitos. La posición del límite de fases siempre es distinta según las propiedades y cantidades de la sangre. De este modo se dificulta la toma dirigida de la capa leucocitaria y el rendimiento no es óptimo. En lo que se refiere al límite entre el plasma sanguíneo y la capa leucocitaria, ésta juega un papel subordinado. Por lo general, el plasma sanguíneo también se extiende en la sección central, ya que la cantidad de capa leucocitaria es muy pequeña. En la preparación de la sustancia que se tiene que congelar, habitualmente la capa leucocitaria se mezcla también con plasma sanguíneo y otras sustancias.

35 En el documento DE 10 2008 047 068 A1 ya se describe una centrífuga que dispone de un recipiente de separación con dos contenedores que están fluidicamente conectados entre sí mediante un tubo de plástico flexible. Existe una sección superior, una sección central y una sección inferior, en las cuales se centrifugan las diferentes fracciones de la sangre. Allí aparece el cumplimiento de sistemas cerrados en lo referente a instalaciones de entrada y salida y recipientes de separación y conexiones estériles. La capa leucocitaria se recoge en la sección central o en el tubo de plástico y mediante pinzas la sección central se puede separar de la sección inferior, en la que se recogen los eritrocitos. Allí la sangre que se tiene que centrifugar se puede añadir con volumen preciso, aunque en el estado de la técnica que se trata no se obtiene ninguna separación de fases definida. La recogida de la capa leucocitaria en la sección central, en la que también se extiende plasma sanguíneo, se produce conforme a valores experimentales y el volumen de la sección central se aprovecha unas veces más y unas veces menos.

40 Un recipiente de separación, que no obstante se prevé exclusivamente para el procedimiento de sedimentación, y presenta también tres secciones – sección superior, sección central con escasa sección transversal frente a las otras

5 dos secciones, sección inferior, se conoce a partir del documento DE 2741398 A1. Allí se describe que las secciones superior e inferior presentan una relación de volumen que esencialmente equivale a la relación de volumen que impera en la sangre entre los eritrocitos y el plasma. Así, la superficie que separa el plasma de los eritrocitos se debe encontrar en la parte central o en la interconexión de la zona. No se describe donde transcurre exactamente el límite de fases. Aquí también se trata más bien de apreciaciones y no se da una concreción del límite de fases en vista a las diferentes cantidades y muestras de sangre.

10 La invención se basa en el objetivo de proporcionar un procedimiento o un recipiente de separación del tipo que se trata, así como un sistema, optimizándose la obtención de la capa leucocitaria.

15 Con el procedimiento y el recipiente de separación se dirige la optimización en particular de la obtención de un límite de fases definido entre los eritrocitos centrifugados y la capa leucocitaria centrifugada, para optimizar el rendimiento de la capa leucocitaria.

20 Con el sistema la optimización está exenta de contaminación a partir del instante en que la sangre se deposita en el recipiente de separación y se dirige a la obtención de un recipiente de congelación manejable para la crio-conservación, por lo que se debe optimizar la obtención y también el transporte y almacenamiento de la capa leucocitaria. Con el sistema se consigue en particular un recipiente de congelación adecuado para el almacenamiento/ crio-conservación en un banco de sangre, el cual se rellena con la capa leucocitaria bajo condiciones exentas de contaminación, evitando el contacto con el entorno. En particular, con el sistema se deben cumplir las correspondientes etapas del procedimiento descritas aquí, con la ayuda del correspondiente recipiente de separación descrito aquí, en relación con la preparación de al menos un recipiente de congelación.

25 El objetivo indicado anteriormente se alcanza en relación con el procedimiento mediante las características de la reivindicación 1 o de las reivindicación 2. A continuación, un procedimiento de la técnica que se trata se configura de manera que en vista del valor de hematocrito de la sangre introducida se determina el volumen de envasado futuro de los eritrocitos que se tienen que centrifugar, de manera que la sección inferior en su volumen de recogida se ajusta al volumen de envasado de eritrocitos que se espera tras la centrifugación, de manera que el límite de fases que se forma al centrifugar se sitúa entre la capa leucocitaria y los eritrocitos en una zona de la sección central cercana a la sección inferior del recipiente de separación, y que la cantidad de sangre que se tiene que introducirse indica en el recipiente de separación con un volumen preciso, teniendo en cuenta el volumen esperado de envasado de eritrocitos; presentando además las características señaladas en las reivindicaciones 1 o 2.

35 El objetivo indicado anteriormente se alcanza en relación con el recipiente de separación mediante las características de las reivindicaciones 9 o 10. A continuación, un recipiente de separación de la técnica que se trata se configura de manera que la sección inferior en lo que respecta a su volumen de recogida se puede ajustar al volumen de envasado de los eritrocitos esperado tras la centrifugación, de manera que el volumen de envasado esperado de la sección inferior esencialmente está disponible en su totalidad y que por consiguiente el límite de fases entre los eritrocitos y la capa leucocitaria se encuentra en una zona de la sección central cercana a la sección inferior, presentando además las características señaladas en las reivindicaciones 9 o 10.

40 El objetivo indicado anteriormente se alcanza en relación con el sistema mediante las características de la reivindicación 21. A continuación, el sistema presenta las características siguientes:

45 se prevén un dispositivo de entrada para sangre, un recipiente de separación y un recipiente de congelación. el dispositivo de entrada para sangre comprende al menos la introducción de anticoagulante y una sección de toma de muestras y está unido al recipiente de separación.

50 El dispositivo de entrada para sangre se puede separar de forma estéril del recipiente de separación tras el llenado del recipiente de separación y antes de a centrifugación.

55 El recipiente de separación presenta una sección inferior, una sección central y una sección superior. La sección central, tras la centrifugación mediante la retirada de las secciones superior e inferior se puede transformar en un recipiente de congelación.

La sección central o el recipiente de congelación está unido de forma estéril a una jeringa, a un dispositivo de entrada para DMSO y a un dispositivo de compensación de presión.

La jeringa, el dispositivo de entrada para DMSO y el dispositivo de compensación de presión se pueden separar de forma estéril según la preparación de la capa leucocitaria del recipiente del recipiente de separación, es decir, como se define en la reivindicación 21.

60 Partiendo del estado de la técnica conocido en la práctica se reconoce acerca del procedimiento que según las propiedades y cantidad de la sangre se obtiene siempre otra posición del límite de fases, de manera que se dificulta la recogida dirigida de la capa leucocitaria. Además, se reconoce que es deseable que el límite de fases obtenido mediante centrifugación entre los eritrocitos y la capa leucocitaria se forme en una posición prefijada. El límite de fases debe situarse de forma óptima en el límite entre la sección inferior y la sección central del recipiente de separación, de modo que la sección central esté solamente a disposición de la capa leucocitaria, dado el caso el plasma sanguíneo, en cualquier caso no de los eritrocitos, y el rendimiento no se reduzca. Finalmente se reconoce

que se puede conseguir una posición prefijada del límite de fases cuando mediante el valor de hematocrito de la sangre introducida se determina el volumen de envasado futuro de los eritrocitos que se tienen que centrifugar, cuando la sección inferior en su volumen de recogida se ajusta al volumen de envasado esperado tras la centrifugación de los eritrocitos de manera que el límite de fases formado al centrifugar entre la capa leucocitaria y los eritrocitos se posiciona en una zona de la sección central del recipiente de separación cercana a la sección inferior, y cuando la cantidad de sangre suministrada se introduce con un volumen preciso, teniendo en cuenta el volumen de envasado esperado de los eritrocitos, en el recipiente de separación. La sangre puede tratarse, por ejemplo, de sangre de cordón umbilical o sangre del banco de sangre, que contiene en cada caso anticoagulante.

5
10
15 Para la determinación del valor de hematocrito se pudieron analizar valores estándar y obtener de ellos conclusiones en lo referente al volumen de envasado de las células de la muestra de sangre presente. De forma ventajosa se podría realizar una determinación mucho más precisa del valor de hematocrito mediante la toma de muestras de la sangre introducida. Según el valor de hematocrito obtenido mediante una centrifugación por separado en un recipiente de separación sencillo se puede determinar entonces el volumen de envasado de los eritrocitos esperado tras la centrifugación y realizar entonces la introducción en el recipiente de separación según la invención.

20 Por las mediciones se conoce la relación entre el volumen de envasado de los eritrocitos tras la separación. Junto con el valor de hematocrito determinado se puede calcular qué volumen de envasado de eritrocitos resulta si se centrifuga. Por ejemplo, si se ha introducido una cantidad de 100 ml de sangre de cordón umbilical, entonces es de prever un volumen de envasado de los eritrocitos entre 40 y 60 ml. Es decir, se debe prever un volumen de recogida entre 40 y 60 ml en la sección inferior del recipiente de separación que toma los eritrocitos tras la centrifugación.

25 El ajuste del volumen de recogida de la sección inferior en el volumen de envasado esperado de los eritrocitos se podría realizar mediante modificaciones de modelado. Para ello la sección inferior podría presentar por ejemplo compartimentos desconectados o desunidos o interrumpidos. También se puede considerar un ensanchamiento de la sección inferior, pudiéndose unir compartimentos prefabricados mediante válvulas de cierre. El ajuste del volumen de recogida se podría obtener también mediante una medida de relleno. Por ejemplo la sección inferior se podría rellenar con una bolita inerte, hasta que ajuste el volumen de recogida restante. En cualquier caso se debe impedir que la capa leucocitaria se deposite en la sección inferior o en la sección superior.

30 En el caso de la separación de zonas de la sección inferior tiene lugar una modificación del volumen irreversible. Como siempre se debe tener en cuenta también un factor experimental, como el tiempo y la rapidez de centrifugación, pueden producirse imprecisiones. En el caso de que el volumen de envasado se calcule demasiado justo, los eritrocitos llegarían a la sección central. En dicho caso se podrían retirar eritrocitos rápidamente, de modo que el nivel de eritrocitos baje y la sección central esté de nuevo libre de eritrocitos. En el caso de ajuste reversible del volumen de envasado – por ejemplo en el llenado con glóbulos – éste se podría alejar en la medida necesaria o también se podrían desplazar las pinzas.

35 El ajuste del volumen de recogida de la sección inferior al volumen de envasado de los eritrocitos esperado tras la centrifugación se podría realizar con la ayuda de un escalado en la sección inferior. También se podría trabajar con una sección inferior que presenta diferentes compartimentos con volumen definido y así se obtiene un ajuste.

40 Sin datos de volumen precisos de la sangre en el recipiente de separación no podría tener lugar la recogida óptima de los eritrocitos en la sección inferior. Por tanto, la introducción de la sangre se podría realizar preferentemente con la ayuda de un escalado vertical en el recipiente de separación, el cual se extiende a lo largo de las tres secciones (sección superior, sección central, sección inferior).

45 Para favorecer la sedimentación antes de la centrifugación se podría añadir a la sangre otra sustancia, en particular solución de hidroxietil almidón, en adelante denominada HES. La adición se podría realizar en el recipiente de separación tras la adición de sangre. La cantidad necesaria de HES se podría calcular teniendo en cuenta la cantidad de sangre introducida y añadirse siempre con volumen preciso. La adición de HES se podría controlar mediante el escalado vertical.

50 Tras la centrifugación se realiza según la invención la separación de la sección inferior de la sección central. Aquí se prefiere emplear la soldadura estéril como procedimiento de separación o la desconexión. Al separar la sección inferior se produce sobre todo que la separación sin pérdidas para la capa leucocitaria, es decir se pueden aceptar las mínimas cantidades de eritrocitos en la capa leucocitaria en el proceso de separación. Naturalmente se produce también una separación de la sección central de la sección superior. En base a esto se pueden realizar otras etapas de procedimiento con la capa leucocitaria de gran interés aquí para la obtención de células madre.

55
60 Es de esencial importancia para la continuación de la presente invención el transporte y el almacenamiento de las capas leucocitarias recogidas en la sección central. Según un ejemplo de realización preferido, toda la capa leucocitaria recogida se podría depositar en un recipiente de congelación, cuyo componente es la propia sección central. Para ello la unión se fabrica con la zona del recipiente de congelación separada anteriormente durante la

centrifugación. En este ejemplo de realización preferido se ahorra altura de construcción, ya que el recipiente de separación según la invención debe ajustar en un vaso de centrifuga estandarizado.

5 Según un ejemplo de realización alternativo, la capa leucocitaria podría situarse también sobre la sección central en un recipiente de congelación, que se dispone preferentemente en la sección superior del recipiente de separación y está fluidicamente conectado con éste por ejemplo mediante una conducción conectada de forma estéril. Tras la centrifugación y tras la separación de la sección inferior de la sección central se podría fabricar entonces la conexión fluidica entre el recipiente de congelación y la sección central. En este ejemplo de realización es ventajoso considerar dos centrifugaciones, teniendo lugar la segunda centrifugación en dirección contraria tras la separación de la sección inferior y sirviendo para transportar la capa leucocitaria a la sección superior y finalmente al recipiente de congelación unido a ésta, conectado fluidicamente y el plasma sanguíneo más ligero en la sección central. La sección inferior separada por ejemplo por una costura de soldadura, pero todavía presente, podría someterse al segundo proceso de centrifugación. La sección inferior separada se podría dar la vuelta, ya que en la segunda centrifugación se llena directamente el recipiente de congelación y se debe tener en cuenta la altura construida del vaso de centrifugación estandarizado. La conducción de unión entre el recipiente de congelación y el recipiente de separación se podría mantener en un estabilizador.

20 Sobre la aceleración de la centrifugación se debe mencionar que, para la sangre a la que se ha añadido HES y se ha planificado un segundo proceso de centrado, es suficiente un valor pequeño. Después para la segunda centrifugación se debe acelerar considerablemente, para introducir la capa leucocitaria suficientemente en la sección prevista para ello.

25 Los procesos referidos a la capa leucocitaria centrifugada en el recipiente de congelación se podrían configurar por el contrario según la variante del procedimiento conforme a la invención de modo que también el recipiente de congelación – como anteriormente la sección inferior – en lo referente a su volumen de recogida se ajusta a la cantidad de capa leucocitaria visible tras la centrifugación. El ajuste se podría realizar, por ejemplo, mediante la separación de compartimentos del recipiente de congelación. La separación de los compartimentos fluidicamente conectados se podría facilitar mediante puentes insertados dentro del recipiente de congelación. Está claro que el recipiente de congelación tras el ajuste del volumen de recogida y tras el llenado con la capa leucocitaria o dado el caso al menos de otra sustancia debe estar completamente aislado y finalmente también separado de la sección superior. De este modo se consiguen recipientes de congelación pequeños y manejables, que se llenan de forma óptima y no ocupan espacio superfluo en caros bancos de sangre / instalaciones de baja temperatura. Para el ajuste del volumen de recogida del recipiente de congelación para la recogida de capa leucocitaria se debe tener en cuenta que otras sustancias, en particular DMSO, dado el caso plasma sanguíneo o una mezcla de ellas se deben tener en cuenta para el ajuste del volumen de recogida.

40 Alternativamente a un introducción de sustancia mediante una conducción de entrada, en el recipiente de congelación se podría prepara ya con antelación un reservorio con DMSO. Por ejemplo se podría desconectar una zona en el recipiente de congelación para formar el reservorio. Si el recipiente de congelación dispone de compartimentos, el reservorio también se podría formar mediante al menos un compartimento. Después de tener lugar el llenado del recipiente de congelación con capa leucocitaria, se podría fabricar la conexión entre los compartimentos del recipiente de congelación llenos con DMSO por un lado y con capa leucocitaria por otro y se podría mezclar todo en el recipiente de congelación.

45 Si la cantidad de capa leucocitaria para un volumen estándar del recipiente de congelación no es suficiente, se podría añadir plasma sanguíneo como relleno. El plasma sanguíneo se podría introducir también en un reservorio del recipiente de congelación. Alternativamente se podría introducir en el reservorio una mezcla de DMSO y plasma sanguíneo.

50 En la centrifugación de muestras de sangre y el conjunto de etapas siguientes no es deseable ningún contaminante. El riesgo de contaminación se puede reducir fuertemente cuando el llenado del recipiente de separación de la centrífuga tiene lugar como es sabido herméticamente hacia fuera y la recogida de este se realiza excluyendo la atmósfera. El contacto con la atmósfera se podría excluir cuando el llenado del recipiente de separación con sangre se realiza a través de su conexión de entrada que se puede conectar de forma estéril. También la adición de otras sustancias en el dispositivo de entrada para sangre, en el recipiente de separación o en el recipiente de congelación, se debería realizar mediante conexiones estériles. Así, el recipiente de separación, el recipiente de congelación y el resto de dispositivos de entrada o recogida están conectados de forma estéril entre sí con función de provisión y/o mezcla y/o dosificación o transporte.

60 El dispositivo de entrada para sangre podría comprender un recipiente de recogida de sangre en el que se introduce la sangre extraída mediante cánulas. También el recipiente de recogida de sangre podría presentar una conexión estéril y estar aislado del medio ambiente. De este modo también en el interior del dispositivo de entrada, que a causa de las cánulas abiertas para la recogida de sangre no puede formar en sí mismo un sistema cerrado, pese a la entrada en el recipiente de recogida de sangre se crea un componente que se puede cerrar y; también puede ser

parte componente de un sistema cerrado. El recipiente de recogida de sangre podría encontrarse en forma de una bolsa colapsada y por tanto también podría llenarse con sangre sin desplazamiento del aire.

5 Contrariamente a una bolsa colapsada, que sin llenar es bidimensional y sólo tras el llenado alcanza tridimensionalidad, las secciones del recipiente de separación previstas para la sangre y sus fracciones podrían ser tridimensionales desde el principio y ofrecer así de forma ventajosa una capacidad mucho mayor de recogida de sangre. La desventaja de la bolsa colapsada se encuentra en la limitación de los volúmenes de sangre y dado el caso de coadyuvantes, unido a la necesidad de varias fases de trabajo de centrifugado, reparto de cantidades de sangre procedente de una misma fuente, así como su caracterización y gestión. Si una bolsa colapsada se subdivide
10 en cámaras, se reduce aún más la capacidad de recogida. Las bolsas colapsadas presentan dimensiones estandarizadas, de manera que existe poco margen. Es esencial para la invención que la sangre se encuentre en secciones tridimensionales del recipiente de separación, ya que así se pueden realizar volúmenes de llenado variables. Mediante la tridimensionalidad ventajosa de las secciones del recipiente de separación desde el inicio también se pueden centrifugar de forma variable grandes cantidades de sangre, dado el caso de coadyuvantes en una fase de trabajo. Se pueden realizar volúmenes de llenado de hasta 500 ml.

De forma ventajosa todos los componentes podrían formar respectivamente un sistema cerrado, los cuales se podrían poner en contacto entre sí de forma estéril o cuyas uniones se pueden interrumpir o separar completamente unas de otras de forma estéril. A partir de los sistemas cerrados individuales tras la conexión estéril se forma un sistema total cerrado, que finalmente se puede volver a desmontar en sistemas cerrados individuales. Es evidente que el riesgo de contaminación se reduce de forma ventajosa en la etapa de recogida de sangre.

Justo la adición de DMSO tiene lugar en la práctica siempre abriendo el recipiente que contiene la capa leucocitaria. De este modo puede aparecer la contaminación. Este riesgo se produce en el trabajo en caras salas limpias. El ejemplo de realización según la invención, que también se refleja mediante el sistema según la invención, permite de forma ventajosa una reducción de costes, ya que también se puede trabajar en el laboratorio, si todos los componentes, que están subordinados al dispositivo de entrada o al dispositivo de entrada de sangre a un recipiente de recogida de sangre del dispositivo de entrada, son partes componentes de un sistema cerrado. Así, el recipiente de recogida de sangre podría tratarse de una bolsa colapsada, que consigue la tridimensionalidad justo por la entrada de la sangre. Las conducciones están unidas de forma estéril al recipiente de recogida de sangre por conexiones abiertas que se pueden cerrar, de manera que el sistema cerrado se puede fabricar mediante el cierre de del tubo de alimentación de sangre.

En el ejemplo de realización preferido, realizándose la entrada de sangre en el recipiente de separación tridimensional desde el inicio, el sistema cerrado parte del cierre del recipiente de separación tras el llenado. El aire existente en el recipiente de separación se puede desplazar a un recipiente adicional o – en el caso de que se prevea un recipiente de recogida de sangre – conducirlo a éste. En el último caso tiene lugar una circulación interna del sistema de aire / gas inerte desde el recipiente de separación hasta el recipiente de recogida de sangre y desde la sangre del recipiente de recogida de sangre hasta el recipiente de separación.

En lo que se refiere ahora a la adición de DMSO, hay jeringas y ampollas de DMSO dentro de recipientes tridimensionales o están revestidas de manera que el usuario, no obstante – a través de la pared separadora – puede accionar la jeringa y abrir la ampolla y colocarla. Las conducciones también están conectadas de forma estéril al recipiente / revestimiento, de manera que no se produce ningún contacto con el medio exterior. La otra sustancia añadida HES también está contenida en un recipiente que abre un espacio en el que está contenida la sustancia y que presenta las conducciones conectadas de forma estéril. Con ello no se produce ninguna abertura del sistema. Las sustancias se transportan más bien sin intercambio con el medio ambiente, el aire o el gas inerte permanece siempre en el sistema, que comprende precauciones para la compensación de presión. De la desviación del aire o gas a través de filtros se prescinde explícitamente, ya que siempre existe el riesgo de entrada de gas y virus en el sistema. Ahora el aire desplazado se aleja del sistema, si se realiza una separación estéril de componentes según las sucesivas etapas del procedimiento.

También fuera del sistema cerrado, en la zona del dispositivo de entrada, se dispone anticoagulante en un recipiente que abre un espacio para la recogida del anticoagulante y presenta conducciones conectadas de forma estéril.

Tan pronto como el recipiente de separación está lleno de sangre, el dispositivo de entrada de sangre se desconecta de forma estéril. Por el contrario, los dispositivos de recogida y/o entrada con función de provisión y/o mezcla y/o transporte y/o dosificación en relación con DMSO, también con toda la jeringa, plasma sanguíneo, HES, dado el caso bolitas inertes con el recipiente de separación, se introducen junto a todas las conducciones de unión dispuestas juntas en un vaso de centrifuga estandarizado. Las conducciones de unión se unen de forma estéril con los componentes, pero se aseguran mediante sujeciones del tubo, de manera que la conexión del flujo se puede producir justo al eliminar las sujeciones del tubo. Para el caso que el recipiente de separación es parte componente de un sistema cerrado, en el vaso de centrifuga se podrá introducir también una instalación de compensación de presión en el recipiente de separación o en el revestimiento de una jeringa que introduce DMSO. Esto es aplicable también para un recipiente de separación para eritrocitos que se dispone en la sección inferior del recipiente de

separación y tras la centrifugación recoge los eritrocitos sobrantes, en caso de que el límite de fases o el nivel de capa leucocitaria sea demasiado elevado en la parte central y mediante el proceso de centrifugación pudiera producirse una desviación del cálculo.

5 A más tardar después que el recipiente de congelación está lleno con capa leucocitaria y dado el caso DMOS, dado el caso plasma sanguíneo, las partes componentes restantes del recipiente de separación estéril se apartan / desconectan del recipiente de congelación. El recipiente de congelación puede ahora realizar el procedimiento de congelación el banco de sangre. En un recipiente de congelación con compartimentos se pueden introducir aplicaciones y localizaciones. Tras otro ejemplo de realización, la separación del recipiente de congelación del
10 recipiente de separación o de restos del recipiente de separación se podría realizar a partir de restos del recipiente de separación, antes del llenado con DMSO.

En relación con el recipiente de separación según la invención se reconoce que mediante la capacidad de ajuste del volumen de recogida de la sección inferior al volumen de envasado de eritrocitos esperado tras la centrifugación se
15 puede posicionar el límite de fases de forma precisa, es decir en una zona cercana al límite entre la sección inferior y la central, y por tanto el rendimiento de capa leucocitaria se puede optimizar en la sección central.

Para poder realizar una adición de volumen preciso de la muestra de sangre, en el recipiente de separación se
20 podría prever un escalado vertical que alcanza todas las secciones. Para el ajuste previo del volumen de recogida de la sección inferior correspondiente al volumen de envasado de eritrocitos esperado tras a centrifugación se podría prever un escalado horizontal en la sección inferior.

Ahora, para ajustar el volumen de recogida de la sección inferior al volumen de envasado esperado, en particular
25 para reducir, se podrían aplicar dispositivos de sujeción en la sección inferior. Según otra forma de realización, la sección inferior podría presentar compartimentos fluidicamente conectables, que se podrían desconectar para reducir el volumen. En este ejemplo de realización, construyéndose de compartimentos la sección inferior, si fuera necesario los compartimentos podrían ser fluidicamente conectables mediante válvulas de cierre. Mediante esta forma de realización también se puede provocar un aumento del volumen. También se podrían separar fácilmente
30 zonas de la sección inferior.

[0043] En particular en el caso de la irreversibilidad de la reducción del volumen, pero también en general, se podría
35 prever en la sección inferior un recipiente de recogida para desviar los eritrocitos centrifugados, para mantener la sección central libre de eritrocitos. El recipiente de recogida para eritrocitos en particular podría estar unido de forma estéril con la conexión del lado de la sección inferior del recipiente de separación. Si tras la centrifugación el límite de fases está situado demasiado arriba en la parte central, se pueden verter rápidamente eritrocitos a la sección inferior hacia el recipiente de recogida. Tras esta recogida de eritrocitos, dado el caso necesario, el recipiente de recogida se podría separar del recipiente de separación preferentemente de forma estéril.

Finalmente se podría prever alternativa o adicionalmente un dispositivo de entrada para carga, en particular bolitas
40 inertes, que se puede conectar fluidicamente con la sección inferior, de manera que para la reducción del volumen de la sección inferior se puede insertar carga en ésta. Para que se pueda conseguir la tridimensionalidad, reconocida como muy ventajosa para la invención, de las secciones del recipiente de separación previstas para las fracciones de sangre, el recipiente de separación se podría fabricar en lo referente al acabado técnico a partir de dos láminas dispuestas una sobre otra con zonas embutidas a profundidad para la formación de las diferentes secciones
45 y una zona ciega dispuesta entre ambas. La zona ciega fuera de las secciones para las fracciones de sangre podría ser plana y soldada. De esta manera por un lado en las zonas embutidas a profundidad se forman las diferentes secciones para recoger las diferentes fracciones de sangre – sección inferior, sección central, sección superior – y por otro lado zonas ciegas, que apenas ocupan espacio, sino que permiten que se puedan encontrar los dispositivos de entrada para DMSO, HES o carga junto con conducciones de unión con vasos de centrífuga. En el borde de la
50 zona ciega se podrían tomar precauciones, para poder asegurar el recipiente de separación en una unidad que entonces se introduce en el vaso de centrífuga. El recipiente de separación según la invención es apropiado para una centrífuga de sangre normal en su tridimensionalidad existente desde el inicio – con o sin zonas ciegas – y se ajusta a vasos de centrífuga estandarizados, incluso cuando otros componentes adicionales del sistema se colocan también en vasos de centrífuga.

55 En la zona ciega se podrían prever diversas aberturas en forma de ranura, que se podrían atravesar mediante dispositivos de sujeción, como por ejemplo una pinza. Por un lado, esto es necesario en la zona de la sección central, para que se pueda sujetar al menos por debajo del límite de fases y se pueda asegurar la capa leucocitaria, pero también en la zona de la sección inferior y – en una configuración preferida del recipiente de separación según
60 la invención también en relación con la transformación de la sección central en recipiente de congelación. A través de las aberturas en forma de ranura se podría introducir también un dispositivo de soldadura para la separación de las secciones entre sí o para la separación de las zonas de una sección, en particular de la sección inferior para la reducción del volumen.

En el vaso de centrifuga se pueden prever suspensiones, en las cuales se fijan medios de sujeción del recipiente de separación. Aquí entra en consideración sobre todo el borde, cercano a la sección superior y que cierra hacia arriba, de la zona ciega, que podría presentar una serie de aberturas de paso. Éstas pueden ser útiles también para suspensiones en trípodes durante la realización de otras etapas del procedimiento. Adicionalmente se podría aplicar una parte de estabilización o un inserto en el vaso de centrifugado, que sostenga el recipiente de separación según la invención y se ajuste a su modelado.

Una variante ventajosa del recipiente de separación en relación al objetivo de introducir capa leucocitaria de la crioconservación, prevé que ésta comprenda un recipiente de congelación. Por razones de seguridad en el sentido de una medida redundante un recipiente de separación podría asignarse también a dos recipientes de congelación, llenándose ambos. Esto es ventajoso en relación con el depósito de la capa leucocitaria en dos lugares distintos. Sin embargo, también es posible un recipiente de congelación con compartimentos separables posteriormente.

Tras una primera alternativa preferida el recipiente de congelación podría ser parte componente integral de la sección central del recipiente de separación. Esta es una variante que ahorra espacio, que tiene lugar muy bien también en un vaso de centrifuga estandarizado. Mediante la separación de las secciones superior e inferior tras la centrifugación y tras la entrada de la capa leucocitaria y dado el caso otras sustancias en el recipiente de congelación se proporciona entonces un recipiente de congelación en el que – mirado en sentido contrario – se integra la sección central del recipiente de separación antiguo. El recipiente de congelación se podría desglosar mediante una línea de perforación del campo ciego arriba descrito.

Alternativamente el recipiente de congelación se podría acoplar también al recipiente de separación y conectar fluidicamente mediante conductos con posibilidad de apertura y cierre. Aquí la conexión podría tener lugar en la sección superior, donde se requiere un segundo procedimiento de centrifugado en dirección opuesta, el cual ya se encuentra descrito en relación al procedimiento.

Especialmente cuando el objetivo que se persigue es, de acuerdo con una realización preferida, trabajar en un sistema cerrado – sin intercambio con el medio ambiente, o sea, sin filtro, se acopla al recipiente de separación un dispositivo de compensación de presión para aire o gas inerte, el cual está cerrado de forma estéril y se puede separar también de forma estéril. En relación al ejemplo de realización, donde la sección central se puede convertir en el recipiente de congelación, se podría conectar de forma estéril el dispositivo de compensación de presión, por ejemplo, en la sección central del recipiente de separación. Para una realización de un ejemplo de realización con recipiente colector de sangre se podría utilizar también este dispositivo de compensación de presión para desplazar el aire / gas inerte. Por tanto también es necesario un dispositivo de compensación de presión si el recipiente de separación presenta desde un principio zonas tridimensionales para la formación de las secciones superior, central e inferior. Las conexiones de aire juegan siempre un papel en los recipientes tridimensionales. Las conexiones de aire pueden tener un efecto negativo en el producto congelado y el recipiente de congelación. Si se introduce aire en el recipiente de congelación puede generar tensiones y a bajas temperaturas de congelación de casi -200 °C se puede agrietar el recipiente de congelación.

El volumen de recogida del recipiente de congelación se podría ajustar al rendimiento esperado de la capa leucocitaria de la sección central o dado el caso a la adición de al menos una sustancia adicional. A tal efecto, los compartimentos del recipiente de congelación conectados fluidicamente, especialmente las nervaduras formadas entre los compartimentos, son separables para la reducción del volumen y en particular se pueden soldar de forma estéril.

Como ya se ha descrito en relación con el procedimiento, se podría tomar la sangre de un cordón umbilical o se podría tratar de sangre con anticoagulante de un banco de sangre. La adición de sangre en la sección inferior del recipiente de separación se podría llevar a cabo con éxito mediante una conexión estéril. En el caso de sangre de cordón umbilical el dispositivo de entrada podría presentar una cánula para la toma de sangre, un conducto de conexión dispuesto a tal efecto y al menos un ramal para la conexión de un dispositivo para la adición de anticoagulante en el conducto de conexión. Además se podría prever la inclusión en la conexión del recipiente de separación una sección de toma de muestra como ramal diego del conducto de conexión. La muestra de sangre tomada de la sección de toma de muestra se puede utilizar para la determinación del valor de hematocrito de forma provisional, para la determinación tras la centrifugación del valor esperado de eritrocitos del volumen de envasado del paciente específico. La sección de toma de muestra podría presentar dimensiones diversas, particularmente diferentes longitudes. De esta forma se podría disponer de muestras adicionales para la determinación del valor de hematocrito.

Al efecto de mantener el riesgo de contaminación lo más bajo posible, la cánula podría presentar un recubrimiento de látex estéril perforable, que se perforaría cuando el cordón umbilical sea punzado con la cánula. De esta forma se mantiene una ventana temporal de contacto con el ambiente muy pequeña y se reduce el riesgo de contaminación.

A través de un ramal se podría acoplar un dispositivo al conducto de conexión del dispositivo de entrada de sangre para la adición de HES con el fin de promover la sedimentación. Alternativamente el dispositivo de entrada podría

comprender un recipiente colector de sangre y el dispositivo de entrada para HES podría estar unido de forma estéril preferiblemente con el recipiente colector de sangre. Según otra forma de realización se podría llevar a cabo también la adición de HES directamente a través de la conexión al recipiente de separación. La sustancia se podría contener en un depósito con conector o también en una ampolla que se abriría según fuera necesario. En el último caso mencionado se podría prever un recipiente según si se desea trabajar en sistema cerrado, el cuál recubriría la ampolla -análogo al dispositivo de entrada de DMSO. También es importante en este caso asegurarse que el aire desplazado permanezca en el sistema cerrado - por ejemplo mediante la conexión estéril de un dispositivo de compensación de presión. Se podría prescindir totalmente de HES cuando la centrifugación se lleva a cabo a valores g alto (valores de aceleración) respectivamente a altas velocidades de rotación.

El recipiente de congelación - separado o bien colocado en la sección media de recipiente de separación - y, dado el caso, la sección superior del recipiente de separación se podrían conectar con dispositivos adicionales de extracción o adición con funciones de transporte, entrada, y/o mezcla, y/o dosificación. Por motivos ya representados se podría conectar el recipiente de congelación con el dispositivo de entrada de DMSO. Ahí se podría disponer del DMSO mediante una ampolla rompible. Tras romper la ampolla se podría tomar manualmente con una jeringa el DMSO a través de un filtro de partículas/filtro redondo y bombearlo al recipiente de congelación mediante una bomba para jeringas. El rellenado con DMSO se lleva a cabo tras el centrifugado. La sección superior del recipiente de separación se podría conectar con un dispositivo de extracción para la extracción del plasma sanguíneo. Para conseguir un volumen estandarizado en el recipiente de congelación en el contexto de crio-conservación también se puede tomar plasma sanguíneo de la sección superior - p.ej. con una jeringa - y conducirlo al recipiente de congelación.

El recipiente de separación, el recipiente de congelación, el dispositivo de entrada de DMSO y la jeringa, el dispositivo de entrada de HES - independientemente de si está conectado al recipiente de separación, al recipiente colector de sangre o al conducto para la adición -, dado el caso, el recipiente colector de sangre del dispositivo de entrada de sangre, podrían ser partes de un sistema cerrado. Así, los componentes individuales podrían estar contenidos en el interior de recipientes, que estarían contruidos para ser una cobertura estéril y no permitir ningún intercambio con el exterior. Para la construcción del sistema cerrado se podrían conectar los componentes individuales de forma estéril. Un sólo sistema permite una solución de transporte y mezcla para todos los dispositivos de adición y extracción. Esto concierne especialmente a las jeringas, previstas para el transporte de DMSO, según el caso, plasma sanguíneo o HES y también sirve para los recipientes de mezcla, particularmente de plasma sanguíneo.

Para reducir el sistema según los progresos del procedimiento se podría hacer que los componentes individuales estériles fueran separables unos de otros. Para una interrupción reversible de la conexión fluidica se podría prever el uso de pinzas para los tubos. La idea de un sistema cerrado - con la excepción de la extracción de sangre como único punto "abierto" - en la realización anteriormente descrita es de gran importancia para la invención, puesto que la contaminación queda prácticamente eliminada. Únicamente en la extracción de sangre puede entrar contaminación. Tras la entrada en el recipiente de separación según una configuración o en el recipiente colector de sangre según otra configuración no puede darse ninguna contaminación adicional.

Otra construcción, esencialmente de acuerdo con la invención, del recipiente de separación de acuerdo con la invención consiste en que en las secciones superior, media e inferior del recipiente de separación, dado el caso, en la sección de toma de muestra, se estampa al menos un número de identificación. La sección de toma de muestra puede ser un ramal ciego de un conducto de conexión, que esté conectado al recipiente de separación. La sección de toma de muestra podría también, según una realización de la invención, derivarse en un conducto de conexión unido al recipiente colector de sangre que esté conectado al recipiente de separación. Estos números de identificación evitan de forma provechosa la obligatoria identificación posterior. Desde el comienzo se establece la relación entre la muestra de sangre y el paciente y con ello la relación correcta del paciente con el valor de hematocrito determinado y finalmente el recipiente de congelación, el cuál presenta el mismo número de identificación, de tal forma que se elimina el peligro de clasificación incorrecta.

La descripción del procedimiento y sus configuraciones también incluyen el recipiente de separación, con lo que para explicar el recipiente de separación se toma lo que hay en relación a la realización aquí descrita.

En vista de que se ha dado a conocer el sistema de acuerdo con la invención que permite que el recipiente de separación de acuerdo con la invención, la utilización dentro de un sistema, el cual comprende un recipiente de congelación y el procedimiento de acuerdo con la invención que comprende el llenado de recipiente de congelación con la capa leucocitaria y que posibilita el paso de toma de muestra de sangre libre de contaminación. La única contaminación solo puede tener lugar al inicio del procedimiento, posteriormente no. Además, mediante el sistema se dispone de un medio cuyos componentes tras sucesivas ejecuciones de los diferentes pasos del procedimiento se van reduciendo paso a paso hasta que en el recipiente de congelación solo permanece el preparado de la capa leucocitaria. El sistema está en relación tecnológicamente directa con los procedimientos de acuerdo con la invención y con los recipientes de separación de acuerdo con la invención según las distintas configuraciones. Por tanto, básicamente también se puede utilizar sin el paso de la determinación del valor de hematocrito previo y la

manipulación del volumen en la sección inferior del recipiente de separación, particularmente cuando está provisto de un recipiente para la recolección de eritrocitos.

5 Especialmente preferido es un sistema cuya introducción de la sangre comprende un recipiente colector de sangre. Aquí se puede en un primer momento envasar el anticoagulante, el cual se mezcla más tarde con la sangre extraída. Además, se puede en un paso posterior, lavar la conducción de sangre al recipiente colector de sangre mediante el anticoagulante y de tal forma transportar las últimas gotas de sangre al recipiente colector de sangre. La sangre extraída se recoge de esta forma sin pérdidas. Cuando se finaliza la recolección de sangre se puede desunir el conducto de adición de forma estéril para que la cánula y el recipiente del anticoagulante del sistema reducido se puede transportar al banco de sangre. Allí se cuelga el sistema en un estativo. Aquí también se presenta como ventajoso el recipiente colector de sangre puesto que posteriormente se puede llenar el recipiente de separación en una sección de toma de muestra. Con la intención de construir un sistema cerrado tras el cierre del recipiente de recolección de sangre y, según el caso, la necesaria adición de HES se remite a la descripción del procedimiento y del recipiente de separación.

10 Existen diversas posibilidades para construir y ampliar de forma ventajosa los conocimientos de la presente invención. Para ello, se remite por un lado a la reivindicación 1 de las reivindicaciones clasificadas y por otro a la explicación que sigue a continuación de cinco ejemplos de realización de recipientes de separación y dos ejemplos de realización del sistema de acuerdo con la invención mediante el dibujo. En conexión con las explicaciones de los ejemplos enumerados de la invención también se aclaran en general las construcciones y ampliaciones preferidas de la teoría. En el dibujo se muestra

15 Fig. 1 en representación esquemática, el recipiente de separación de acuerdo con la invención según un primer ejemplo de realización, donde el recipiente de congelación se acopla a la sección central,

20 Fig. 2 en representación esquemática, una vista de un primer ejemplo para un sistema de acuerdo con la invención con un dispositivo para la adición de sangre, de un recipiente de separación de acuerdo con un segundo ejemplo de realización, donde el recipiente de congelación se conecta al recipiente de separación y posibilidades adicionales de adición de plasma sanguíneo y HES por un lado, así como DMSO por otro en el momento de la extracción de sangre del cordón umbilical,

25 Fig. 3 en representación esquemática de un recipiente de separación de acuerdo con la invención de un tercer ejemplo de realización, donde el recipiente de congelación se conecta al recipiente de separación y donde existen posibilidades de adición de DMSO y HES,

30 Fig. 4 en representación esquemática de un recipiente de separación de acuerdo con la invención según un cuarto ejemplo de realización, donde el recipiente de congelación se conecta al recipiente de separación y está prevista la adición del material completo para reducir el volumen incorporado de la sección inferior,

35 Fig. 5 en representación esquemática, una vista de un segundo ejemplo de sistema de acuerdo con la invención con un dispositivo de entrada para la sangre, recipiente de separación de acuerdo con un quinto ejemplo de realización y dispositivos de adición adicionales, donde el recipiente de congelación se puede separar a través de la sección central del recipiente de separación - en el momento inmediatamente posterior a la extracción de sangre del cordón umbilical,

40 Fig. 6 en representación esquemática, una vista del sistema de acuerdo con la Fig. 5, donde cánulas, dispositivos de adición de anticoagulante y sección de toma de muestra están separados de forma estéril y se empieza a llenar el recipiente de separación con sangre del recipiente colector de sangre,

45 Fig. 7 en representación esquemática, una vista del sistema de acuerdo con Fig. 6, donde los recipientes de HES y sangre están separados de forma estéril y se incorpora al sistema un vaso de centrifugado,

50 Fig. 8 en representación esquemática, una vista del sistema de acuerdo con la Fig. 7, tras la centrifugación,

55 Fig. 9 en representación esquemática, una vista del sistema de acuerdo con la Fig. 8, donde la sección inferior está separada de forma estéril y la capa leucocitaria de la sección central se hace fluir a otro compartimento del recipiente de congelación,

60 Fig. 10 en representación esquemática, una vista en planta del sistema de la Fig. 9, pero con un dispositivo de entrada de DMSO desoldado, en lo que concierne a la adición de DMSO mediante una jeringa,

65 Fig. 11 en representación esquemática, una vista en planta del sistema de la Fig. 10, pero con conducción de DMSO estéril desoldada, concerniendo la distribución de la mezcla de capa leucocitaria, plasma sanguíneo y DMSO en todos los compartimentos del recipiente de congelación mediante matrices y

Fig. 12 en representación esquemática, una vista en planta del sistema de la Fig. 10, pero con conducción de aire estéril desoldada y un conducto de conexión estéril separada así como la opción de separación del recipiente de congelación en dos partes.

5 Las Fig. 1 a 8 muestran un recipiente de separación 1 para una centrifuga de sangre con una sección inferior 2 para la recepción de eritrocitos 64, con una sección central 3 para la recepción de la capa leucocitaria 65 y una sección superior 4 para la recepción de plasma sanguíneo 66, donde la sección central 3 presenta un corte transversal de pequeña dimensión en comparación con las secciones superior e inferior 2, 4, donde las secciones 2, 3, 4 son conectables fluidicamente y donde la sección inferior 2 se puede separar de la sección central 3.

10 De acuerdo con la invención, la sección inferior 2 en relación a su volumen de admisión tras la centrifugación el volumen de envasado esperado de eritrocitos 64 es de tal forma ajustable que el volumen de envasado esperado en su mayor parte de la sección inferior 2 se puede admitir por completo y en este sentido el límite de fase 5 entre eritrocitos 64 y capa leucocitaria 65 discurre en una zona cercana a la sección central 3 de la sección inferior 2.

15 En el recipiente de separación 1 de acuerdo con el primer y segundo ejemplo de realización del recipiente de separación 1, se prevé una escala vertical 6 a través de todas las secciones 2, 3, 5 para la determinación del volumen total la sangre a introducir. En la Fig. 2 se muestra un primer ejemplo de un sistema de acuerdo con la invención que comprende un dispositivo para la adición de sangre 8, mediante el cual la sangre llega al recipiente de separación. No solamente se controla la cantidad de sangre mediante la escala 6, sino también el volumen exacto de la adición de la sustancia HES, en la Fig. 2 a través del dispositivo de entrada 10, respectivamente depósito 10. En las Fig. 3 y 4 se añade HES mediante el aprovechamiento de la gravedad a partir del depósito 10. En la sección inferior 2 se prevé una escala horizontal 7 para el pre-ajuste del volumen de admisión de la sección inferior 2 de acuerdo con el volumen de envasado esperado de eritrocitos 64 tras la centrifugación.

25 En las Fig. 3 y 4 que muestran el tercer y cuarto ejemplo de realización del recipiente de separación 1 de acuerdo con la invención se imprimen los valores de volumen en el recipiente de separación 1. Aquí ya se encuentran predeterminados los volúmenes en las secciones 2, 3 y 4. Curiosamente se muestra en el tercer ejemplo de realización que la sección inferior 2 se divide en tres compartimentos 2a, 2b, 2c, con lo que se puede ampliar el volumen cuando se abren las válvulas de interrupción que hay en el interior y que no están indicadas en la cercanía. En el quinto ejemplo de realización del recipiente de separación 1 no se muestran las escalas en las secciones inferior y central en aras de simplificar la representación.

35 Para adecuar el volumen de admisión de la sección inferior al volumen de envasado esperado de eritrocitos 64 se puede instalar unos dispositivos de sujeción para reducir el volumen de admisión en la sección inferior 2 gracias a las cavidades 11 de acuerdo con las Fig. 1 y 2. En el quinto ejemplo de realización se consigue de acuerdo con la Fig. 6 una separación de las secciones no imprescindibles mediante un cordón de soldadura 56. En los ejemplos de realización primero y quinto es conveniente prever un recipiente de captura 49 para los eritrocitos 64 en exceso, en el caso de que el límite de fase 5 sea inesperadamente alto en la sección central 3 y no – como es deseable – esté en la cercanía de la sección inferior 2. También la extracción de pequeñas cantidades de eritrocitos 64 puede ser de ayuda para la correcta construcción y llenado del recipiente de congelación 12.

45 El recipiente de separación 1 de acuerdo con la Fig. 3 presenta en la sección inferior 2 compartimentos conectables fluidicamente 2a, 2b, 2c para el incremento del volumen de admisión. Para la reducción del volumen de admisión se pueden desoldar los compartimentos 2b y 2c.

50 Una reducción del volumen de admisión de la sección inferior 2 tiene lugar de acuerdo con la Fig. 4 tal que en el dispositivo de entrada 42 se provee de material de relleno, el cual está conectado fluidicamente a la sección inferior 2 y mediante el cual se puede introducir este material de relleno en la misma para reducir el volumen. El material de relleno permanece inerte en el fondo en forma de bolitas.

55 El recipiente de separación 1 está fabricado a partir de dos láminas superpuestas con áreas tridimensionales profundamente embutidas para la formación de las diferentes secciones 2, 3, 5 y según el caso el recipiente de congelación 12 y una zona ciega 43 entre ambos, donde preferentemente la zona ciega 43 es plana y está soldada. La sección superior 5 e inferior 2 presentan superficies inclinadas hacia la sección central 3. En el borde de la zona ciega 43 del recipiente de separación 1 se encuentran previstos elementos de sujeción 36 para asegurar el recipiente de separación 1 para una utilización estable, el cual se puede emplear en un recipiente de centrifuga 59. Los elementos de sujeción 36 están en la forma de aberturas de paso, en las cuales se pueden sujetar las pinzas de laboratorio de un estativo 53, como por ejemplo se muestra en la Fig. 6.

60 Todos los recipientes de separación 1 comprenden un recipiente de congelación 12. En el primer y quinto ejemplo de realización el recipiente de congelación 12 es parte integral de la sección central 3. Cuando la sección central 3 se llena con la capa leucocitaria 65 deseada, en el primer ejemplo de realización se abre la zona 40 que hasta el momento permanecía cerrada para que se unan la sección central 3 y el recipiente de congelación 12 inicialmente a través del compartimento 12a y para que en un primer momento la capa leucocitaria se expanda por el

compartimento 12a del recipiente de congelación. La abertura de la zona 40 se consigue tras la centrifugación y cuando las secciones superior e inferior 2, 4 se separan efectivamente de la sección central 3: para ayudar a la separación de las secciones superior e inferior 2, 4 se prevén cavidades 9 en el primer ejemplo de realización en la zona ciega 43, mediante las cuales se puede introducir un dispositivo de sujeción. Cuando el recipiente de congelación 12 está lleno según se desee tras la abertura de la zona 40 con la capa leucocitaria 65 y según el caso otras sustancias, se cierra éste y se separa parcialmente a lo largo de una línea de perforación 44 de la zona ciega 43, parcialmente recortada o desoldada.

Las figuras 2 a 4 muestran un recipiente de congelación 12 el cuál se acopla al recipiente de separación 1 y con el cual se puede conectar fluidicamente. En el segundo hasta el cuarto ejemplo de realización se dispone el recipiente de congelación 12 en la sección superior 4 del recipiente de separación 1 - aquí se llevan a cabo dos centrifugaciones en sentido contrario.

Los cuatro primeros ejemplos de realización el recipiente de congelación 12 presenta compartimentos 12a, 12b, y en la Fig. 2 12c, 12d, 12e conectables fluidicamente, entre los cuales se encuentran incorporados una o varias nervaduras 13. Dependiendo de la cantidad de capa leucocitaria en la sección central 3 se puede separar en la Fig. 2 por ejemplo el compartimento 12e del recipiente de congelación 12 para reducir el volumen de admisión. En la reducción del volumen de admisión se debe tener en cuenta la adición sustancias adicionales. En el quinto ejemplo de realización, particularmente según la Fig. 9, el recipiente de congelación 12 presenta los compartimentos 12a, 12b, 12c y 12d, donde el compartimento 12a equivale a la sección central 3 del recipiente de separación 1.

En la sección inferior 2 se prevé una junta conectable de forma estéril para la adición de sangre. En los primeros cuatro ejemplos de realización se conduce HES a través de la conducción de HES 22 a través de la junta 14 o 38 a la sección inferior 2. En el quinto ejemplo de realización se introduce HES en un recipiente colector de sangre 46 previamente conectado.

La figura 2 muestra el recipiente de separación 1 integrado en el sistema de acuerdo con la invención en el punto de extracción de sangre del paciente, comprendiendo la introducción de la sangre, la posterior centrifugación y preparación de la capa leucocitaria en el recipiente de congelación 12, así como la eliminación paso a paso de todos los componentes del sistema hasta el recipiente de congelación 12. El dispositivo de entrada de sangre señalado como 8 comprende dos cánulas 15 para la extracción de sangre del cordón umbilical 16, el cual presenta a su vez un recubrimiento de látex esterilizado y perforable el cual no se encuentra señalado en la cercanía. Las cánulas 15 forman a partir de una pieza en Y 17 los extremos finales de un conducto de conexión 18. Con 19 se señala una protección de cánula para proteger la segunda cánula señalada como 15. En el conducto de conexión 18 se prevén dos piezas en Y 17 adicionales, las cuales conectan mediante el conducto de conexión 18 a un dispositivo de entrada 20 para anticoagulante contra la coagulación de la sangre. En el extremo final opuesto de las cánulas 15 desemboca el conducto de conexión 18 en otra pieza en Y 21, mediante la cual se consigue la adición a través de la junta 14 en el recipiente de separación 1.

Mediante la segunda junta de la pieza en Y 21 se dirige la conducción de HES 22 del depósito 10, y respectivamente al dispositivo de entrada 10 dirigiendo HES a la junta 14. El otro extremo de la conducción de HES 22 desemboca en otra pieza en Y 23, la cual se dirige mediante un conducto de conexión 24 a una jeringa 25, con la cual tiene lugar el transporte de la sustancia y, dado el caso, el proceso de mezcla y dosificación, y que también es responsable del movimiento, el bombeo de DMSO y plasma sanguíneo 66.

En las Fig. 3 y 4 HES se suministra directamente a través de su propia junta 38 en la sección inferior.

El recipiente de congelación 12 en los dos primeros ejemplos de realización del recipiente de separación 1 se une a través de el conducto de conexión 28 indirectamente con un dispositivo de entrada 26 para DMSO, el cual en la Fig. 2 comprende una ampolla rompible 27 con DMSO y un filtro de partículas 41 para retener la rotura. Mediante otra pieza en Y 29, una pieza de conducción de conexión 30, la pieza en Y 23 y el conducto de conexión 24 se forma una conexión fluidica a la jeringa 25, la cual está en conexión con el dispositivo de entrada 26 para DMSO a través de un conducto de conexión 31 y mediante el ajuste apropiado de la válvula selectora 32 el DMSO se puede transferir al recipiente de congelación por el movimiento del pistón. También se prevé en el quinto ejemplo de realización una válvula selectora 32.

En las figuras 3 y 4 la conexión del recipiente de congelación 12 al dispositivo de entrada para DMSO se realiza igualmente mediante un conducto de conexión 28, el cual se dirige a la jeringa 25 con la válvula selectora 32. La conexión 31 en ese punto dirige a un vial perforable 33 con DMSO, el cual se perfora mediante una cánula que no se encuentra señalada en la cercanía.

La sección superior 4 del recipiente de separación 1 está conectada en la Fig. 2 con un dispositivo de extracción para la extracción de plasma sanguíneo. El dispositivo de extracción se representa mediante la jeringa 25, la cual a través del conducto de conexión 34, la pieza en Y 29, el tubo 30, la pieza en Y 23, el conducto de conexión 24 y la válvula selectora 32 se conecta con la sección superior 4. El dispositivo de entrada 10 para HES, el dispositivo de

5 entrada 26 para DMSO y la jeringa 25 junto con todos los conductos de conexión 28, 24, 31, conducto de HES 22, pieza de conducto de conexión 30, piezas en Y 23, 29 y las abrazaderas 35 para la interrupción de la conexión fluidica así como el recipiente de separación 1 y el recipiente de congelación 12 así como, según el caso, el dispositivo de entrada 42 para el material de relleno en la Fig. 4 son elementos constitutivos de un sistema cerrado. El cierre del sistema se consigue tras el llenado del recipiente de separación 1 con sangre a través del conducto de conexión 18 y la junta 14.

10 La unidad del sistema se construye de tal modo que todos los componentes, el recipiente de separación 1, la jeringa 25, el dispositivo de entrada de DMSO 26, el dispositivo de entrada 10 para HES, el recipiente de congelación 12, según el caso, el dispositivo de entrada 42 de material de relleno (Fig. 4), según el caso, el recipiente de recogida 49 de eritrocitos (Fig. 1), según el caso, el dispositivo de compensación de presión 39 (Fig. 3 a 11) se esterilizan y colocan en un envase recubierto/revestido 45. Por un lado, el envase 45 recubre una sustancia - como sangre, sus componentes, HES -, por otro, la jeringa 25, la válvula selectora 32, la ampolla rompible 27, el filtro de partículas 41 y en su caso, el vial perforable 33 (Fig. 3, 4). Los conductos de conexión 28, 24, 31, el conducto de HES 22 y el conducto de conexión 30 se conectan de forma estéril entre ellos y con los recipientes 45 correspondientes de la jeringa 25, del dispositivo de entrada 26 de DMSO, del depósito y del dispositivo de entrada 10 para HES, del recipiente de separación 1 y del recipiente de congelación 12. La jeringa 25, la válvula selectora 32 y la ampolla rompible 27, según el caso, el vial perforable 33 son manipulables desde el exterior sin necesidad de abrir el envase 45, o sea, manteniendo las paredes del envase 45. En el recipiente de separación 1 construido en el envase 45 hay presentes elementos de soporte 37 para estabilizar la sección central 3. El aire sobrante en la jeringa 25 en el envase recubierto con forma de bolsa 45 se evacúa a través de la válvula selectora 32. En la Fig. 5 se indica mediante líneas de puntos dispositivos de sujeción, los cuales permiten separar uno de otro las secciones 2, 3, 4 y el recipiente de congelación, lo cual es particularmente obligado en el caso de recipiente de congelación 12 y sección superior 3 tras la primera centrifugación y lo que también es necesario tras la centrifugación al menos entre la sección inferior 2 y la sección central 3 para evitar mezclas no deseadas.

20 La jeringa 25 de acuerdo con la Fig. 3 y 5 así como según la Fig. 5 hasta 10 transporta, bombea y dosifica solo DMSO, según el caso, contenido en una mezcla crio-protectora. Se prevé igualmente que todos los componentes estén recubiertos por el envase 45, tal que todos los componentes encerrados en el interior del sistema cerrado estén libres entre ellos de contaminación. A través de la válvula selectora 32 se libera el aire excedente en las figuras 3 y 4 de un dispositivo de compensación de presión 39. En el quinto ejemplo de realización, sin embargo, la válvula selectora 32 y el filtro redondo 50 no se encuentran recubiertos por un envase 45, aunque están sellados de forma estéril del exterior.

35 Tampoco el dispositivo de entrada 8 para la sangre ofrece mucha superficie de contacto para el intercambio con el exterior. También se conectan de forma estéril con el conducto de conexión 18 ambos dispositivos de entrada 20 para anticoagulante de acuerdo con las Fig. 2, 5 contenidos en los envases 45. El único punto débil son las cánulas 15, las cuales hasta la extracción de sangre del cordón umbilical 16 son un sistema cerrado que se abre por un espacio breve de tiempo por la perforación del recubrimiento de látex. Con 19 se designa una protección para las cánulas, la cual antes y después de su utilización protege al personal técnico médico de lesiones por las propias cánulas 15.

40 Un quinto ejemplo resulta a partir de las figuras 5 a 12 que muestra tanto el recipiente de separación 1 de acuerdo con la invención así como el sistema de acuerdo con la invención según un segundo ejemplo.

45 La Fig. 5 muestra el sistema tal y como se presenta tras la extracción de sangre del cordón umbilical que solo se muestra en la Fig. 2. El sistema contiene como en la Fig. 2 la entrada de sangre, la posterior centrifugación/fraccionado y la posterior preparación de la capa leucocitaria en el recipiente congelador así como la eliminación paso a paso de todos los componentes del sistema hasta en último lugar el recipiente congelador 12. El dispositivo de entrada para la sangre marcado como 8 comprende dos cánulas 15 para la extracción de sangre del cordón umbilical que no se muestra aquí, un dispositivo de entrada 10 para HES, un recipiente colector de sangre 46 y una sección de toma de muestra 47 con un número de identificación en relación al paciente.

50 Las cánulas 15 conforman partiendo de una pieza en Y 17 el extremo final de un conducto de conexión 18. También se prevén dos piezas en Y 17 adicionales en el conducto de conexión 18 y las cuales se conectan al conducto de conexión 18 a través del dispositivo de entrada 20 para anticoagulante contra la coagulación de la sangre. Primeramente se dirigen 17 ml de anticoagulante del dispositivo de entrada de anticoagulante 20 superior en el recipiente colector de sangre 46. La adición se realiza mediante la abrazadera de tubo 35 en la junta superior 51 del recipiente colector de sangre 46. Después se realiza la punción del cordón umbilical 16 y la introducción de la sangre en el recipiente colector de sangre 46. El transporte es posible mediante la acción de bombeo de la sangre, la cual se puede promover colocando el sistema por debajo del punto de punción de tal forma que se puede aprovechar la acción de la gravedad. Tras el llenado casi por completo del recipiente colector de sangre 46, se realiza una segunda adición de 10 mL de anticoagulante del dispositivo de entrada inferior 20, con el que se limpia el conducto de conexión 18 y toda la sangre del cordón umbilical, sin pérdida apreciable, va a parar al recipiente colector de sangre 46. Tras finalizar el llenado del recipiente colector de sangre 46, se desolda poco después de forma estéril el

conducto de conexión 18 del dispositivo de entrada 10 de HES con lo que se eliminan las cánulas 15 y los dispositivos de entrada de anticoagulante 20. El sistema está ahora cerrado y - aunque se retiren más componentes del sistema - y no volverá a quedar abierto hasta que alguien necesite la capa leucocitaria 65 del recipiente congelador 12. El ahora sistema reducido se transporta desde el hospital al banco de sangre.

5 En el banco de sangre el sistema con excepción de la jeringa 25 se sujeta a un estativo 53 mostrado en la Fig. 6 por las fijaciones 36 colgando del depósito 45 y se abre la junta 52 del recipiente colector de sangre 46 para llenar con sangre la sección de toma de muestra 47 marcada con un número de identificación 48. Para el llenado de la sección de toma de muestra 47 con sangre, ésta se prensa, o se purga de aire, mediante una prensa de rodillos convencional en dirección a la junta 52. De esta forma la sección de toma de muestra 47 prensada succiona completamente la sangre del recipiente colector de sangre 46. Por tanto, la toma de muestra se realiza sin abrir el sistema. Primeramente se practica una liberación del aire por un conducto mediante prensa de rodillos. Tras el llenado de la sección de toma de muestra 47 con sangre se cierra la junta 52 y se desolda la sección de toma de muestra 47 para introducir la sangre del mismo en una centrífuga 54 mostrada en la Fig. 7 y determinar el valor de hematocrito, de lo cual se concluye que se deja extraer el volumen en el paquete y el espacio necesario en la sección inferior 2 para su manipulación.

10 El sistema de acuerdo con la invención se muestra en la Fig. 6 en un punto tras realizar la manipulación de la capacidad en la sección inferior 2. En la sección inferior 2 en lo sucesivo solo se prevé el volumen entre las nervaduras soldadas 56 para la manipulación de la capacidad de admisión de los eritrocitos 64 a obtener en la inminente centrifugación.

15 En la Fig. 6 ya se ha empezado el llenado del recipiente de separación 1 con sangre 55 partiendo del recipiente colector de sangre 46 y su junta abierta 52 así como igualmente con el conducto de conexión marcada con 18 a través de la sección inferior 2 y la junta en allí situada 14. El recipiente colector de sangre 46 se vacía y se llena de aire a través de la junta abierta 51 superior con respecto un conducto de aire 57, la cual proviene del recipiente de separación 1. Tiene lugar casi una circulación, donde el aire del recipiente de separación 1 con el incremento del llenado con sangre a partir del recipiente colector de sangre 46 se desplaza a éste último. El conducto de aire 57 está conectada con la sección superior 4 y se cierra mediante abrazaderas de tubo 35 cuando la sangre del recipiente colector de sangre 46 que proviene a través del conducto de conexión 18 llega al borde superior de la sección superior 4. Flechas con la etiqueta "air" explicitan la dirección del flujo de aire en el conducto de aire 57.

20 De la Fig. 6 se concluye que en el quinto ejemplo de realización la jeringa 25 se puede emplear también mediante la bomba 58, lo cual especialmente juega un papel en la adición de DMSO. El llenado de la jeringa 25 con DMSO se realiza, por contra, manualmente. Además, el recipiente de separación 1 en sus secciones 2, 3, 4 y el recipiente congelador 12 se marcan con el número de identificación 48 y se tiene a disposición un dispositivo presurizado 39 para el recipiente congelador 12, así como un recipiente de captura 49 para un eventual exceso de eritrocitos 64 tras la centrifugación.

25 Después del llenado con sangre 55 del recipiente de separación 1, el conducto de aire 57 permanece aún abierto y se produce también una conexión fluidica entre el dispositivo de entrada 10 para HES y el recipiente colector de sangre 46 que mientras se ha vaciado a través del conducto de HES 22, el cual por su parte permanece conectado fluidicamente con el recipiente de separación 1. HES también llega igualmente al recipiente de separación 1 a través del recipiente colector de sangre 46, el conducto de conexión 18, la junta 14 y la sección inferior 2, arrastrando a su paso todos los restos de la valiosa sangre 55. Cuando finaliza la adición de HES se cierra el recipiente de separación 1 mediante las abrazaderas de tubo 35. El sistema se reduce incluso más al desoldar de forma estéril el recipiente colector 46 y con el mismo también el dispositivo de entrada 10 para HES que está en la cercanía de la conexión del conducto de aire 57 y el conducto de conexión 18.

30 En la Fig. 7 se muestra que el sistema remanente se lleva a un recipiente de centrífuga 59. El recipiente de centrífuga 59 presenta dos recipientes internos 60 y 61. El recipiente interno 61 integra la jeringa recubierta 25, la bomba 58 y el dispositivo de entrada 26 para DMSO. El recipiente interno 60 se puede rellenar y cerrar con material de relleno (sólido o líquido) para conseguir equilibrar el peso. Las superficies externas una frente a otra de los recipientes interiores 60, 61 conforman una admisión ajustada a la conformación del recipiente de separación 1 y permiten además el alojamiento del dispositivo de presurización 39 y del recipiente receptor 49, cuya junta 62 está cerrada mediante una abrazadera de tubo 35 durante la centrifugación. El recipiente de centrífuga 59 se cierra con una tapa que no se representa aquí, de tal forma que no se dañe la sección superior 4. Finalmente se lleva el recipiente de centrífuga a la centrifugadora 54 y se centrifuga.

35 En la Fig. 8 se representa la retirada del sistema tras la centrifugación de la centrifugadora 54 y se sujeta de nuevo al estativo 53 respectivamente se cuelga de la base 63. El límite de fase se marca con 5 y se extiende transversalmente a través de la sección central 3, un poco por debajo de la sección central 3, por encima del límite de fase se extiende la capa leucocitaria 65, por encima el plasma sanguíneo 66. La zona por debajo del límite de fase 5 y la sección inferior 2 están de por sí llenas con eritrocitos 64, pero los cuales en la Fig. 8 a través de la sección inferior 2 partiendo de la sección central 3 se liberan en el recipiente receptor 49 para eritrocitos 64, para

mantener la zona del recipiente congelador 12 en gran parte libre de eritrocitos 64. La capacidad del recipiente receptor 49 está fijada aquí a 30 mL y está estimada por exceso a la cantidad esperada de eritrocitos 64 - representado aquí por una trama - de la sección central 3. En la Fig. 8 también se libera una parte de los eritrocitos 64 en el recipiente receptor 49, tal que los eritrocitos 64 en el recipiente de separación 1 solo se encuentren en la sección inferior 2 y el recipiente congelador 12 con la sección central 3 integrada así como la sección superior 4 con el plasma sanguíneo 66 se puedan conducir a los siguientes pasos de trabajo.

La sección inferior marcada con el número de identificación 48 y el recipiente receptor 49 se separan de forma estéril en el siguiente paso del resto del sistema. El recipiente separado 1 se compone de un recipiente 45, el cual presenta láminas superpuestas y diferentes cámaras, las cuales se pueden separar y conectar unas de otras e incluso presenta una zona ciega 43. Las zonas ciegas se forman a partir de secciones de láminas unidas superpuestas - sin cámara - y permiten una separación, desoldado fácil y estéril del recipiente de separación 1. La conexión de la sección central 3 con la sección inferior 2 se cierra en todo caso de forma estéril, sin que el sistema llegue a estar abierto.

En la Fig. 9 se muestra que la sección inferior 2 se separa de forma estéril y la capa leucocitaria 65 de la sección central 3 que a su vez forma el compartimento 12a del recipiente congelador 12, se transfiere a otro compartimento 12b del recipiente congelador 12. Para ello se abre el cierre 67 entre los compartimentos 12a y 12b, y se desplaza la capa leucocitaria 65 al compartimento 12b merced al plasma sanguíneo 66 proveniente de la sección superior 4. Se ilustran la capa leucocitaria 65 mediante un tramado que asciende hacia la derecha y el plasma sanguíneo 66 mediante un tramado que asciende hacia la izquierda. Para que el aire atrapado en el interior no sea un obstáculo se abre levemente el cierre 68 tal que el aire se evacúe a través del compartimento 12c en el conducto de aire 69. En el quinto ejemplo de realización presentado el conducto de conexión 69 marcada con el número de identificación 48 desemboca igualmente en el compartimento 12d del recipiente congelador 12. Desde aquí el aire desplazado a través del conducto de aire 70 puede entrar en el dispositivo presurizado 39, el cual presenta un volumen de admisión determinado para el aire desplazado del recipiente congelador 12.

Cuando los compartimentos 12a y 12b se llenan completamente con capa leucocitaria 65 y plasma sanguíneo 66 se cierra la conexión entre la sección superior 4 y la sección inferior 3, respectivamente, el compartimento 12a, se suelda y se separa la sección superior 4 completamente. En este momento se realiza una mezcla de capa leucocitaria 65 y plasma sanguíneo 66 y una distribución entre los compartimentos 12a, 12b y 12c. La distribución se puede llevar a cabo manualmente. Esto se favorece aquí mediante un dispositivo de agitación 71. El conducto de conexión 69 está cerrado.

Cuando ha tenido lugar la distribución de la mezcla de capa leucocitaria 65 y de plasma sanguíneo 66, lo cual se ilustra en la Fig. 10 mediante un tramado de cruces en los compartimentos 12a, 12b y 12c, se añade DMSO mediante la jeringa 25 y la bomba 58. Previamente, la aguja 25 se llena manualmente con DMSO a partir de la ampolla rompible 27 mediante la elevación del pistón y con ello se acciona desde el exterior a través de las paredes del recipiente recubierto 45. La ampolla rompible 27 se rompe seguidamente en el interior del dispositivo de entrada 26 para DMSO y se desplaza hacia arriba para la extracción con la aguja 25 tal que el fondo de la ampolla rompible 27 alcance el extremo del conducto de DMSO 72. Se prevén escápulas 73 en el interior del dispositivo de entrada 26 para DMSO, las cuales son flexibles pero al mismo tiempo suficientemente estables para fijar la ampolla rompible 27 que se desplaza hacia arriba. Las abrazaderas 74, 75 están retiradas y la jeringa 25 absorbe el DMSO a través el conducto de DMSO 72 y a través de la abertura adecuada en la válvula selectora 32. Un filtro redondo 50 contiene los añicos de la ampolla rompible 27. Tras este procedimiento se separa de forma estéril el dispositivo de entrada 26 para DMSO del sistema restante. También aquí se asegura que no se produzca una abertura del sistema para que de este modo se puede trabajar en un laboratorio normal en vez de en una cara sala blanca.

En la Fig. 10 se ilustra el resto del sistema tras la separación del sistema de entrada 26 para DMSO. Se muestra que el DMSO acaba en el compartimento 12c del recipiente congelador 12 a través del conducto de DMSO 72. En el quinto ejemplo de realización no se utiliza DMSO en su forma pura, sino una mezcla al 50% de DMSO y una solución al 10% en agua de "DEXTRAN 40". La jeringa 25 actúa conjuntamente con la bomba 58 para el llenado del recipiente congelador 12, lo que asegura un proceso de llenado lento que dura aprox. 10 minutos.

En la Fig. 10 se ilustra además que el DMSO - aquí dentro de la mezcla - seguidamente termina en el compartimento 12c. El aire se desplaza del compartimento 12d a través del conducto de conexión 69 y termina desde aquí en el dispositivo presurizado 39. El recipiente congelador 12 está colocado en un dispositivo de agitación 71 refrigerado, el cual asegura que el DMSO se reparta de forma homogénea por los tres compartimentos 12a, 12b y 12c.

La Fig. 11 muestra el desoldado estéril del conducto de DMSO 72 que no es necesaria en la Fig. 10. El sistema contiene todavía el recipiente congelador 12 con el conducto de conexión 69, el conducto de aire 70 y el dispositivo presurizado 39, el cual está colocado en el estativo 53. El recipiente congelador 12 está colocado en el dispositivo de agitación 71. En los compartimentos 12a, 12b y 12c se coloca una matriz 76, la cual adapta su forma en la parte inferior a los compartimentos 12a, 12b, 12c y la cual se ha medido de tal forma que parte de la mezcla de capa

leucocitaria 65, plasma sanguíneo 66 y DMSO sea desplazada a través del conducto de conexión 69 al compartimento 12d aún vacío. En los compartimentos 12a, 12b, 12c se ejerce presión desde arriba y se llena el compartimento 12d. El aire desplazado termina a través del conducto de aire 70 en el dispositivo presurizado 39.

5 Tras el reparto de la mezcla de capa leucocitaria 65, plasma sanguíneo 66 y DMSO y el llenado homogéneo del recipiente congelador 12, se retira la matriz 76 y se desolda de forma estéril el conducto de aire 70 del
10 compartimento. En la Fig. 12 se muestra además que el conducto de conexión 69 se separa de forma estéril y que los extremos están cerrados de forma estéril. Asimismo, en la Fig. 12 se ilustra la segmentación del recipiente congelador en 2 partes. Una primera parte comprende el compartimento 12d y una segunda comprende los
15 compartimentos 12a (sección central 3), 12b, 12c. Las dos partes pueden almacenarse en diferentes bancos de sangre y son clasificables merced a sus números de identificación. La mezcla de capa leucocitaria se puede extraer cómodamente y sin riesgo de contaminación a través de una junta recubierta estéril que no se muestra en la cercanía y la misma presenta dos piezas en ambas partes. En las Fig. 7 y 8 las dos juntas están construidas de tal
forma que en relación a las partes, que comprenden los compartimentos 12a, 12b, 12c, una abre en el
compartimento 12b y otra en el compartimento 12c. El resto de conductos de conexión 69 se pueden utilizar para la
extracción de muestra.

20 De cara a otras características no mostradas en las figuras se remite a la parte de descripción general. Particularmente, los ejemplos de realización mostrados en las Fig. 1 a 4 igualmente los dispositivos presurizados previstos - no representados aquí - gracias a los cuales el aire se mantiene en el sistema y no tiene lugar ningún intercambio con el exterior.

Finalmente se indica que los conocimientos de la presente invención no se limitan a los ejemplos de realización
25 divulgados en la presente.

REVINDICACIONES

- 5 1. Un método para la separación de sangre, donde se obtienen las diferentes fracciones de sangre, específicamente eritrocitos, capa leucoditaria y plasma sanguíneo,
- 10 donde la sangre se introduce en un recipiente de separación y entonces se centrifuga en diferentes secciones conectadas fluidicamente del recipiente de separación dispuestas una encima de la otra, específicamente una sección superior que recibe el plasma, una sección central para la recepción de la capa leucocitaria y una sección inferior para la recepción de los eritrocitos,
- 15 donde a partir del valor de hematocrito de la sangre suministrada se determina el futuro volumen de envasado de los eritrocitos a ser centrifugados, donde la capacidad de la sección inferior se adapta al volumen de envasado esperado de los eritrocitos después de la centrifugación tal que el límite de fase formado entre la capa leucocitaria y los eritrocitos durante la centrifugación se posiciona en una región de la sección central del recipiente de separación que es adyacente a la sección inferior,
- 20 y donde la cantidad de sangre suministrada se introduce en el recipiente de separación en un volumen exacto, teniendo en cuenta el volumen de envasado esperado de los eritrocitos, caracterizado por que después de la centrifugación, la sección inferior (2) se separa de la sección central (3), y por que la sección central (3) forma parte de un recipiente congelador (12) que durante la centrifugación se separa de la otra región del recipiente congelador (12), y por que después de la centrifugación, se produce la conexión a la región previamente separada del recipiente congelador (12) y la capa leucocitaria pasa, al menos en parte, al recipiente congelador (12) entero.
- 25 2. Un método para la separación de sangre, donde se obtienen diferentes fracciones de sangre, específicamente eritrocitos, capa leucoditaria y plasma sanguíneo,
- 30 donde la sangre se introduce en un recipiente de separación y entonces se centrifuga en diferentes secciones conectadas fluidicamente del recipiente de separación dispuestas una encima de la otra, específicamente una sección superior que recibe el plasma, una sección central para la recepción de la capa leucocitaria y una sección inferior para la recepción de los eritrocitos, donde a partir del valor de hematocrito de la sangre suministrada se determina el futuro volumen de envasado de los eritrocitos a ser centrifugados,
- 35 donde la capacidad de la sección inferior se adapta al volumen de envasado esperado de los eritrocitos después de la centrifugación tal que el límite de fase formado entre la capa leucocitaria y los eritrocitos durante la centrifugación se posiciona en una región de la sección central del recipiente de separación que es adyacente a la sección inferior,
- 40 y donde la cantidad de sangre suministrada se introduce en el recipiente de separación en un volumen exacto, teniendo en cuenta el volumen de envasado esperado de los eritrocitos,
- 45 caracterizado por que después de la centrifugación se separa la sección inferior (2) de la sección central (3), y por que después de la centrifugación y tras la separación de la sección inferior de la sección central se establece una conexión fluidica entre el recipiente congelador (12) que está asociado con el recipiente de separación (1) y se puede conectar fluidicamente al mismo y a la sección central (3), y la capa leucocitaria (65) pasa desde la sección central (3) al recipiente congelador (12).
- 50 3. El método de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, caracterizado por que otra sustancia, en particular una solución de almidón hidroxietílico (HES), se añade a la sangre previamente a la centrifugación.
- 55 4. El método de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado por que la capacidad del recipiente congelador (12) se adapta a la cantidad visible de capa leucocitaria después de la centrifugación, teniendo en cuenta, si es necesario, la adición de al menos otra sustancia, en particular dimetilsulfóxido (DMSO), plasma sanguíneo, o una mezcla de los mismos, y esta adaptación ocurre en particular mediante la separación de compartimentos del recipiente congelador (12).
- 60 5. El método de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado por que la sangre se introduce en el recipiente de separación (1) vía conector del recipiente de separación conectable de forma estéril (14), por que las otras sustancias se añaden al recipiente de separación (1) o al recipiente congelador (12) vía conexiones estériles, por que el recipiente de separación (12), y todo el resto de dispositivos de eliminación y/o de entrada que tienen un depósito y/o funciones de mezcla y/o transporte y/o medición están conectados unos con otros de forma estéril y conforman un sistema cerrado, y por que todos los componentes están conectados unos con otros de forma estéril o su conexión se interrumpe de forma estéril y se separan unos de otros de forma completamente estéril.

6. El método de acuerdo con la reivindicación 5, caracterizado por que un dispositivo de entrada (8) para sangre es desconectado y separado de forma estéril después de que el recipiente de separación (1) se halla llenado y previamente a la centrifugación.
- 5 7. El método de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado por que dispositivos de
eliminación y/o entrada (45) que tienen un depósito y/o funciones de mezcla y/o transporte y/o medición para las
sustancias DMSO (26, 27), plasma sanguíneo (30), HES (10) donde sea necesario, un dispositivo presurizado (39)
donde sea necesario, un receptáculo para eritrocitos (49) donde sea necesario, son añadidos junto con el recipiente
de separación al recipiente de centrifuga (59) y tras la centrifugación son separados gradualmente hasta que solo
10 quede el recipiente congelador (12).
8. El método de acuerdo con la reivindicación 7, caracterizado por que el recipiente congelador preparado que
resta se suministra para su utilización, siendo dividido en al menos dos compartimentos donde sea necesario.
- 15 9. Un recipiente de separación para una centrifuga de sangre, particularmente para llevar a cabo el método de
acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 8, que tiene una sección inferior (2) para la recepción de eritrocitos (64),
una sección central (3) para la recepción de la capa leucocitaria (65), y una sección superior (4) para la recepción del
plasma sanguíneo (66), donde la sección central (3) tiene una dimensión de sección transversal más pequeña que la
sección superior e inferior (2, 4), donde las secciones (2, 3, 4) están fluidicamente conectadas, y donde la sección
20 inferior (2) es separable de la sección central (3), donde la capacidad de la sección inferior (2) se puede adaptar al
volumen de envasado esperado de eritrocitos (64) después de la centrifugación tal que el volumen de envasado
esperado se puede acomodar en su mayor parte completamente en la sección inferior (2) y tal que a través de la
misma el límite de fase (5) entre eritrocitos (64) y capa leucocitaria (65) discurre en una región de la sección central
(3) que es adyacente a la sección inferior (2),
25 caracterizado por que el recipiente de separación (1) incluye un recipiente congelador (12), y por que el recipiente
congelador (12) incluye integralmente la sección central (3) del recipiente de separación (1), y por que la capacidad
del recipiente congelador (12) se puede adaptar al rendimiento esperado de la capa leucocitaria (65) centrifugada
desde la sección central (3), y donde sea necesario, la adición de al menos otra sustancia.
- 30 10. Un recipiente de separación para una centrifuga de sangre, particularmente para llevar a cabo el método de
acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 8, que tiene una sección inferior (2) para la recepción de eritrocitos (64),
una sección central (3) para la recepción de la capa leucocitaria (65), y una sección superior (4) para la recepción del
plasma sanguíneo (66), donde la sección central (3) tiene una dimensión de sección transversal más pequeña que la
sección superior e inferior (2, 4), donde las secciones (2, 3, 4) están fluidicamente conectadas, y donde la sección
35 inferior (2) es separable de la sección central (3), donde la capacidad de la sección inferior (2) se puede adaptar al
volumen de envasado esperado de eritrocitos (64) después de la centrifugación tal que el volumen de envasado
esperado se puede acomodar en su mayor parte completamente en la sección inferior (2) y tal que a través de la
misma el límite de fase (5) entre eritrocitos (64) y capa leucocitaria (65) discurre en una región de la sección central
(3) que es adyacente a la sección inferior (2),
40 caracterizado por que el recipiente de separación (1) incluye un recipiente congelador (12), por que el recipiente
congelador (12) está asociado con el recipiente de separación (1) y se puede conectar fluidicamente al mismo, por
que la sección inferior (2), la sección central (3) y la sección superior (4) son tridimensionales desde un principio, y
por que el recipiente congelador (12) está conectado de forma estéril a un dispositivo de entrada (26) para
45 dimetilsulfóxido (DMSO) y una jeringa (25), donde la jeringa (25) asumen una función de transporte, almacenaje y/o
mezcla, y por que el recipiente de separación (1), el recipiente congelador (12), el dispositivo de entrada (26) para
DMSO y la jeringa (25) forman parte de un sistema cerrado, donde los componentes individuales están contenidos
en el interior de recipientes (45), los cuales actúan como coberturas estériles y no permiten ningún intercambio con
el ambiente exterior, y donde los componentes individuales están conectados de forma estéril y se pueden separar
50 de forma estéril.
11. El recipiente de separación de acuerdo con las reivindicaciones 9 o 10, caracterizado por que el recipiente
de separación (1) tiene un receptáculo (49) para eritrocitos (64) que está conectado en particular de forma estéril al
conector (14) y se puede separar del mismo, particularmente de forma estéril, después de la centrifugación y tras
55 cualquier recepción necesaria de eritrocitos (64).
12. El recipiente de separación de acuerdo con las reivindicaciones 10 o 11, caracterizado por que la capacidad
del recipiente congelador (12) se puede adaptar al rendimiento esperado de capa leucocitaria centrifugada (65)
desde la sección central (3) y donde sea necesario, la adición de al menos otra sustancia.
- 60 13. El recipiente de separación de acuerdo con una de las reivindicaciones 9 a 12, caracterizado por que el
recipiente de separación (1) se conecta a un dispositivo de entrada (8) para sangre previamente a la centrifugación,
particularmente de forma estéril, y en particular vía el conector (14), donde, después del llenado con sangre del
recipiente de separación (1) y antes de la centrifugación, el dispositivo de entrada (8) para sangre se puede separar
del recipiente de separación, particularmente de forma estéril.
- 65

- 5 14. El recipiente de separación de acuerdo con la reivindicación 13, caracterizado por que el recipiente de separación (1) está conectado a un dispositivo de entrada (10) para HES, particularmente de forma estéril, y en particular vía un conector (14, 38), donde, después de que el recipiente de separación haya sido llenado con HES, el dispositivo de entrada (10) para HES se puede separar del recipiente de separación, particularmente de forma estéril.
15. El recipiente de separación de acuerdo con una de las reivindicaciones 9 a 14, caracterizado por que el recipiente de separación (1) incluye un dispositivo presurizado (39, 46) para aire o gas inerte.
- 10 16. El recipiente de separación de acuerdo con una de las reivindicaciones 9 a 15, caracterizado por que el dispositivo de entrada (8) incluye un recipiente colector de sangre (46) que en caso necesario también funciona como elemento igualador de la presión, y por que el dispositivo de entrada (10) para HES está conectado al recipiente colector de sangre (46), particularmente de forma estéril, donde, después de que el recipiente de separación (1) se ha llenado con HES vía el recipiente colector de sangre (46), el dispositivo de entrada (10) para HES se puede separar del recipiente colector de sangre (46), particularmente de forma estéril.
- 15 17. El recipiente de separación de acuerdo con una de las reivindicaciones 9 a 16, caracterizado por que se provee un filtro preferiblemente redondo entre el dispositivo de entrada (26) para DMSO y la jeringa (25).
- 20 18. El recipiente de separación de acuerdo con una de las reivindicaciones 14 a 17, caracterizado por que el dispositivo de entrada (10) para HES, donde sea necesario, el recipiente colector de sangre (46) del dispositivo de entrada (8) para sangre, son componentes de un sistema cerrado, donde los componentes individuales están incluidos dentro de los recipientes (45) los cuales actúan como coberturas estériles y no permiten ningún intercambio con el ambiente exterior, y donde los componentes individuales están conectados de forma estéril y se pueden separar de forma estéril.
- 25 19. El recipiente de separación de acuerdo con una de las reivindicaciones 9 a 18, caracterizado por que se aplica al menos un número de identificación (48) a las secciones inferior, central y superior (2, 3, 4) del recipiente de separación (1), donde sea necesario muestrear una sección (47).
- 30 20. El recipiente de separación de acuerdo con una de las reivindicaciones 9 a 19, caracterizado por que la sección inferior (2), la sección central (3) y la sección superior (4) del recipiente de separación (1) tienen una capacidad de 500 mL.
- 35 21. Un sistema para el llenado de un recipiente congelador con una fracción de sangre obtenida tras la centrifugación, específicamente capa leucoditaria, y para la preparación de la capa leucocitaria con el propósito de la crio-preservación en el recipiente congelador, utilizando un recipiente de separación de acuerdo con una de las reivindicaciones 9 y 11 a 20 no en conjunción con la reivindicación 10 y para llevar a cabo el método de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 y 3 a 8 no en conjunción con la reivindicación 2, donde se provee un dispositivo de entrada (8) para sangre, un recipiente de separación (1) de acuerdo con una de las reivindicaciones 9 y 11 a 20 no en conjunción con la reivindicación 10, y un recipiente congelador (12),
- 40 donde el dispositivo de entrada (8) para sangre incluye al menos un suministro de anticoagulante (20) y una sección de toma de muestra (47) y está conectado de forma estéril al recipiente de separación (1),
- 45 donde el dispositivo de entrada (8) para sangre se puede separar de forma estéril del recipiente de separación (1) después de que el recipiente de separación (1) se haya llenado y antes de la centrifugación,
- 50 donde el recipiente de separación (1) tiene una sección inferior (2), una sección central (3) y una sección superior (4), donde la sección central (3) se puede transformar en un recipiente congelador (12) después de la centrifugación, con la eliminación de las secciones inferior y superior (2, 4),
- 55 donde la sección central (3) o el recipiente congelador (12) está conectado de forma estéril a una jeringa recubierta (25), a un dispositivo de entrada (26) para DMSO y un dispositivo presurizado (39),
- 60 donde la jeringa recubierta (25), el dispositivo de entrada (26) para DMSO y el dispositivo presurizado (39) se pueden separar de forma estéril del recipiente congelador (12) después de que la capa leucocitaria haya sido preparada en el recipiente congelador (12).
- 60 22. El sistema de acuerdo con la reivindicación 21, caracterizado por que el dispositivo de entrada (8) para sangre (55) incluye un recipiente colector de sangre (46).
- 65 23. El sistema de acuerdo con la reivindicación 21 o 20, caracterizado por que, después de cerrar el recipiente colector de sangre (46) o el recipiente de separación (1) del dispositivo de entrada (8) para sangre, se provee un sistema cerrado.

24. El sistema de acuerdo con la reivindicación 23, caracterizado por que el sistema incluye un dispositivo de entrada (10) para HES que está conectado de forma estéril al recipiente de separación (1), donde sea necesario, vía un recipiente colector de sangre (46), y que después de que el recipiente de separación (1) haya sido llenado con HES se puede separar del mismo de forma estéril.
- 5

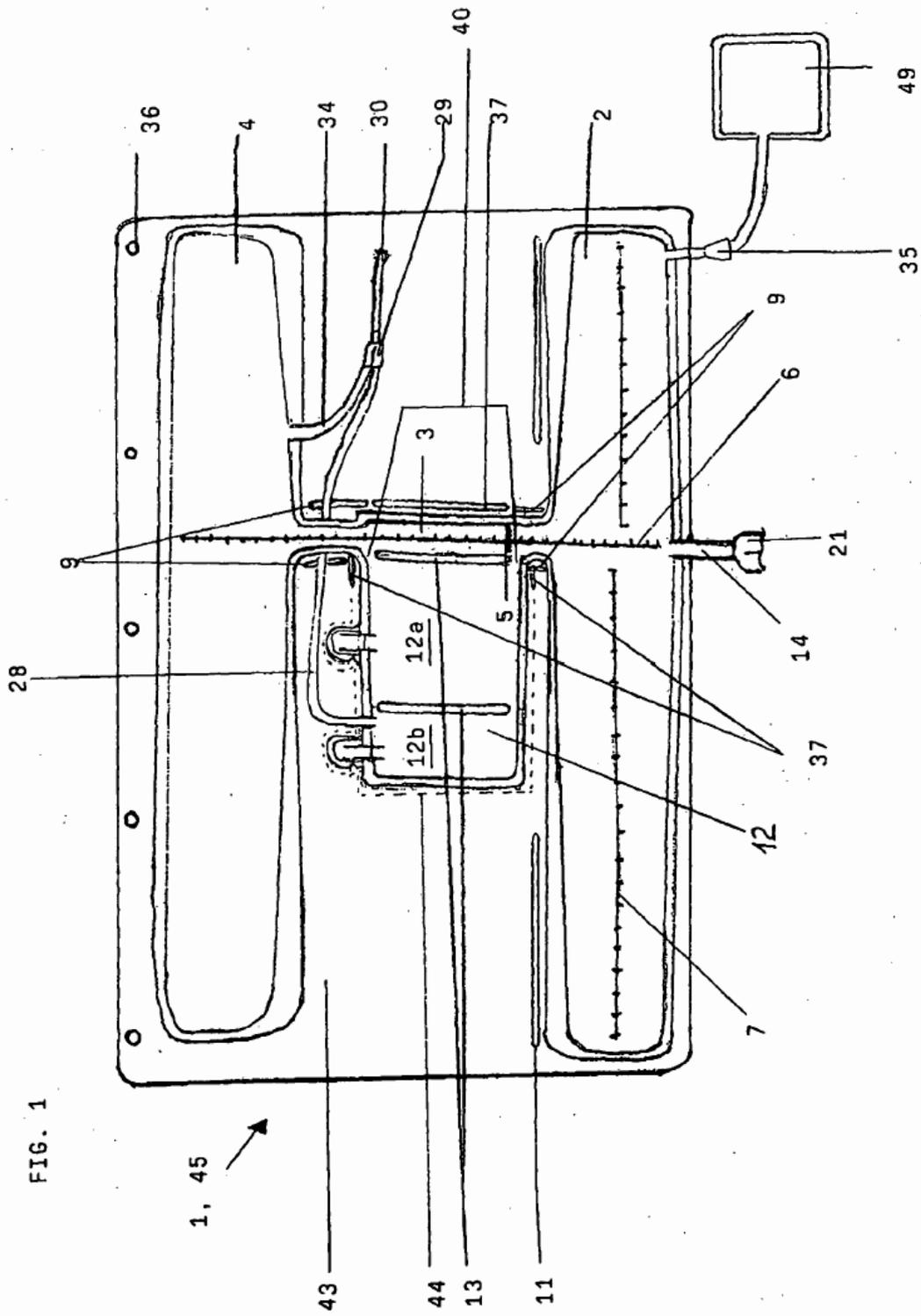
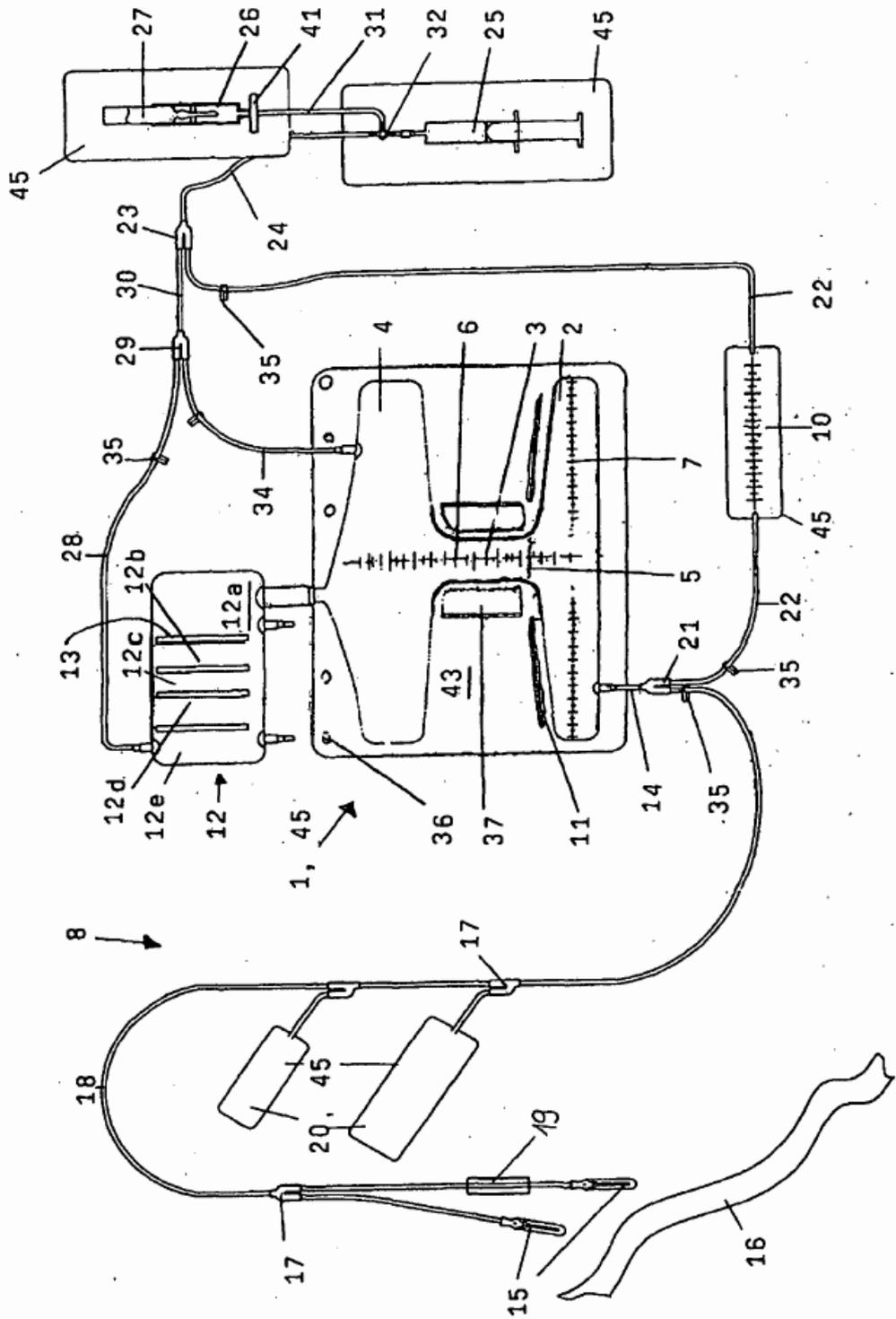


FIG. 2



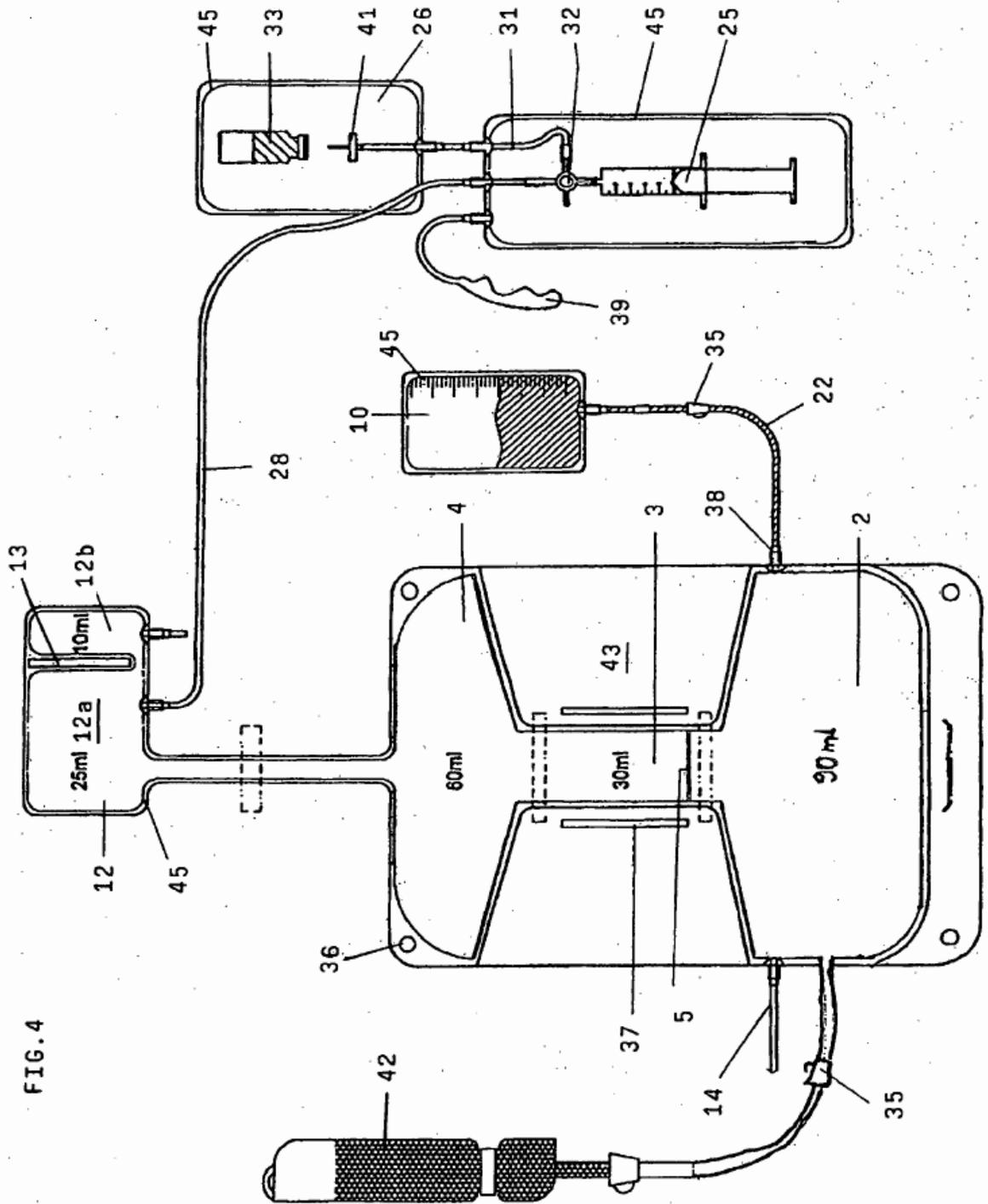


FIG. 4

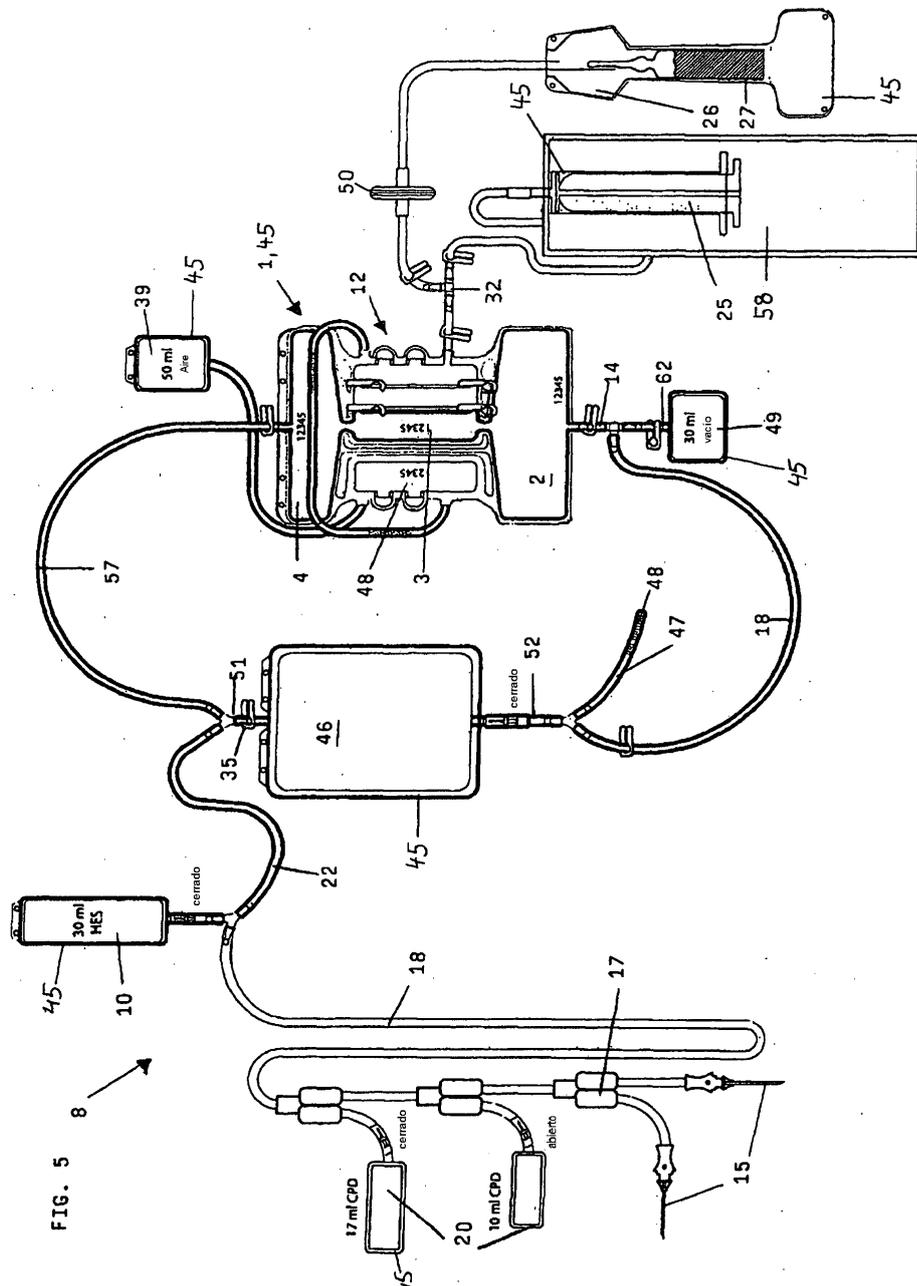


FIG. 5

8

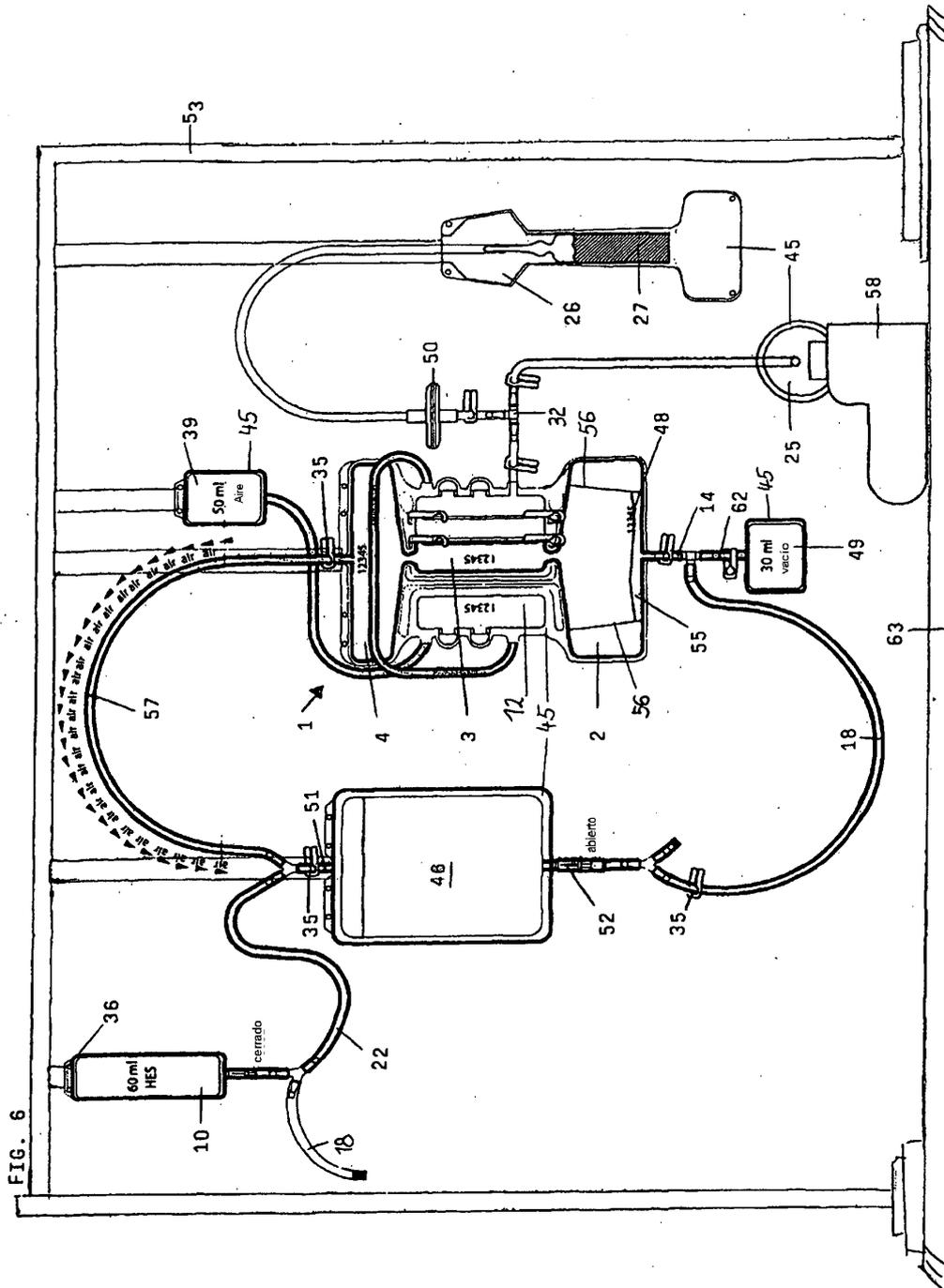


FIG. 6

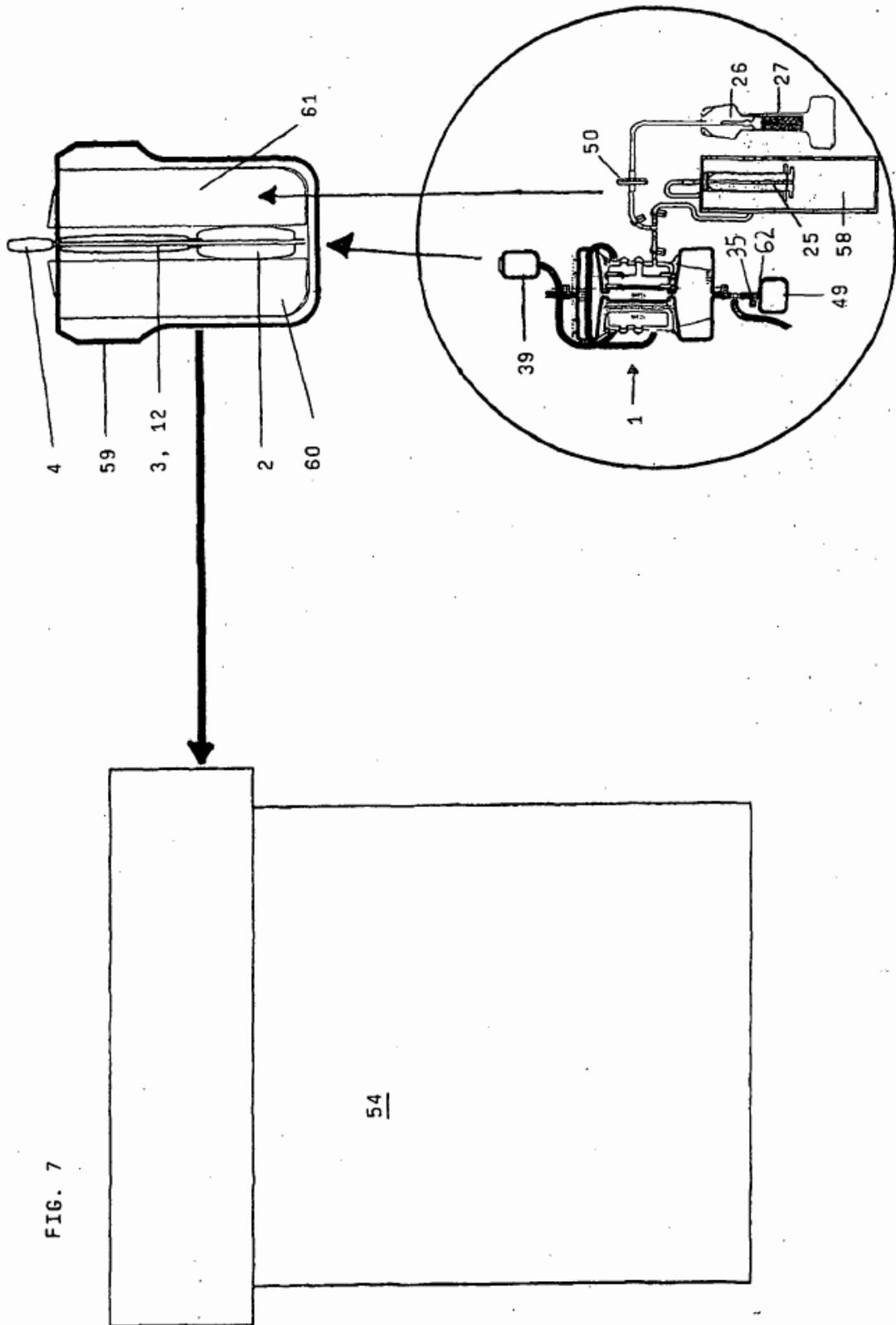


FIG. 8

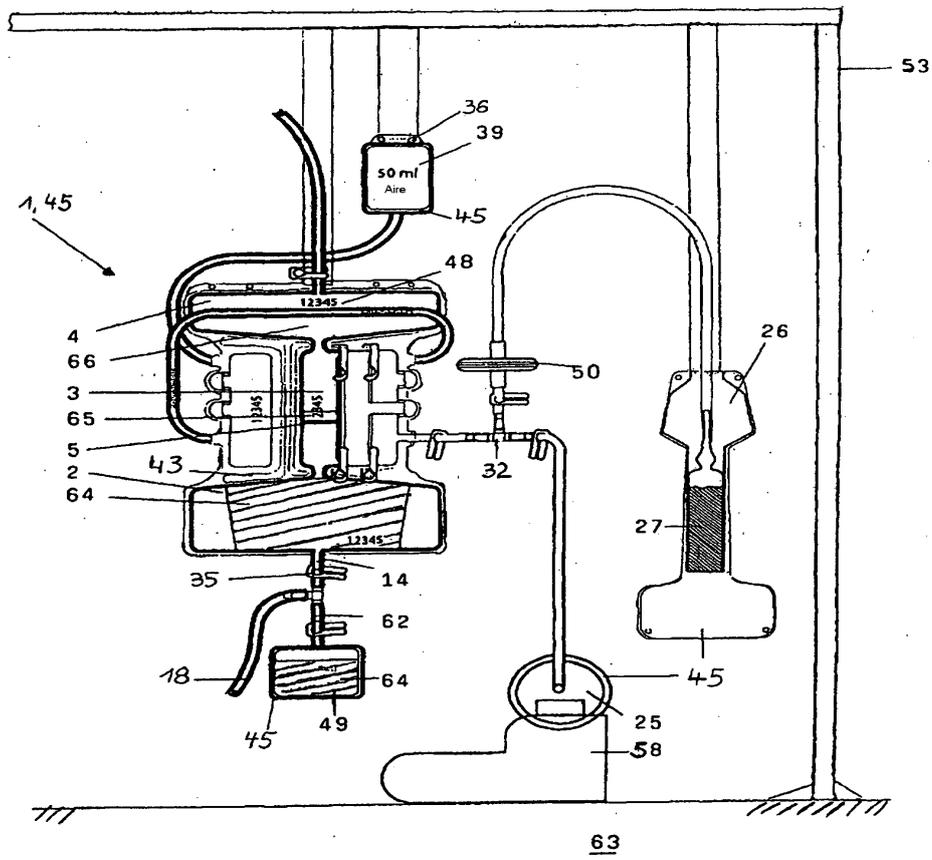


FIG. 9

