

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 606 538**

51 Int. Cl.:

B01L 3/00 (2006.01)

C12M 1/20 (2006.01)

B65D 1/34 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.06.2002 PCT/US2002/18426**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.12.2002 WO02102963**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.06.2002 E 02741972 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.09.2016 EP 1397213**

54 Título: **Bandeja de alimentación para aparato para pruebas dotado de múltiples pocillos**

30 Prioridad:

14.06.2001 US 298240 P

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

24.03.2017

73 Titular/es:

**EMD MILLIPORE CORPORATION (100.0%)
290 Concord Road
Billerica, MA 01821, US**

72 Inventor/es:

**PITT, ALDO, M.;
DESILETS, KENNETH y
RISING, DONALD**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 606 538 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Bandeja de alimentación para aparato para pruebas dotado de múltiples pocillos

Antecedentes del invento

- Este invento se refiere a una bandeja de alimentación para alojar un medio nutriente utilizado con un aparato para pruebas dotado de múltiples pocillos para promover interacciones de fluidos tales como mediante el crecimiento de células en un líquido nutriente dentro de una multiplicidad de pocillos. Más particularmente, este invento se refiere a dicha bandeja de alimentación de un aparato para pruebas dotado de múltiples pocillos que permite añadir o retirar líquido de la bandeja de alimentación del aparato para pruebas dotado de múltiples pocillos sin perturbar a un material en el aparato dotado de múltiples pocillos para prueba tal como las células dentro de los pocillos.
- En la actualidad, un aparato para pruebas dotado de múltiples pocillos para probar muestras incluye una placa filtrante con múltiples pocillos, una bandeja de alimentación, una placa receptora con múltiples pocillos y una tapa. Los pocillos de la placa filtrante con múltiples pocillos incluyen un miembro tubular con un extremo abierto al que se fija una membrana tal como una membrana microporosa. Los miembros tubulares se pueden insertar en una bandeja de alimentación que contiene un medio nutriente de tal manera que las células contenidas en los pocillos se puedan fijar a la membrana y crecer en la misma. Las células se alimentan a medida que los nutrientes pasan desde el medio nutriente a través de la membrana y llegan a las células a una tasa controlada por el gradiente de concentración de los nutrientes desde el medio hasta las células. El medio nutriente contenido en la bandeja de alimentación se rellena periódicamente para mantener el crecimiento de las células. Es conveniente efectuar el relleno del medio nutriente rápidamente y de manera que evite el daño a las membranas y a las células.
- Una vez que se ha alcanzado el nivel previsto de crecimiento de las células en las membranas de los pocillos, se puede utilizar la placa filtrante con múltiples pocillos en métodos de ensayo convencionales. Estos métodos de ensayo en general se efectúan mediante el posicionamiento de las membranas y las células en la placa filtrante con múltiples pocillos en los pocillos de la placa receptora con múltiples pocillos, tal como una placa receptora con 96 pocillos situada por debajo de la placa filtrante con múltiples pocillos o una placa receptora que tiene el mismo número de pocillos en coincidencia con la placa filtrante/de células. Los pocillos de la placa receptora con múltiples pocillos contienen una composición líquida a ensayar. La composición que se va a ensayar se difunde en las células y luego a través de la membrana. Los productos líquidos resultantes contenidos dentro de los pocillos de la placa filtrante con múltiples pocillos o en los pocillos de la placa receptora con múltiples pocillos se ensayan luego para determinar la capacidad de la composición que se esté ensayando para penetrar la barrera de células.
- Después de que las células han crecido de manera satisfactoria y la bandeja de alimentación ha de ser reemplazada por la placa receptora con múltiples pocillos, es deseable minimizar el transporte del medio nutriente a la placa receptora con múltiples pocillos para minimizar de ese modo la dilución de la composición que se esté ensayando. Por lo tanto, es conveniente extraer cualesquiera gotitas de medio nutriente retenidas sobre las superficies inferiores de las membranas después de que se haya retirado la placa filtrante con múltiples pocillos del medio nutriente en la bandeja de alimentación.
- Un componente importante en el proceso de descubrimiento y desarrollo de fármacos es la determinación de la absorción oral y biodisponibilidad de los compuestos nuevos. Con el fin de realizar esta evaluación en un ensayo rentable, con elevada producción y sensible, es ideal usar un dispositivo *in vitro* con una multitud de pocillos que contengan células, una pequeña cantidad de material de ensayo, y automatización. Clásicamente, la determinación de las características de absorción oral *in vitro* se realiza usando una línea definida de células epiteliales y midiendo la tasa aparente de transporte del fármaco a través de un mono-estrato de las células. Más recientemente, es posible clasificar/ordenar la tasa pasiva de transporte de los posibles fármacos candidatos usando una barrera de membrana artificial. Los valores generados a partir de estos experimentos *in vitro* son métodos valiosos para la selección sistemática de los fármacos candidatos con mayores probabilidades de resultados satisfactorios mucho tiempo antes de que se valide la tasa de absorción oral mediante mediciones *in vivo*. Un experimento típico para determinar las características de absorción de fármacos de un compuesto químico conocido o desconocido se realiza del modo siguiente. El dispositivo con múltiples pocillos se siembra con células epiteliales en la parte más alta del filtro en un medio de nutrientes definido. El mismo medio se añade también a la bandeja de alimentación de un solo pocillo situada debajo y en contacto de fluidos con el dispositivo que contiene las células. Se deja que las células proliferen y se diferencien durante un número de días. El medio nutriente se reemplaza periódicamente con medio fresco para reponer los nutrientes agotados y retirar las células residuales y las células muertas. Al término de un período de crecimiento, las células y el dispositivo con múltiples pocillos se lavan suavemente con un tampón isotónico para retirar el medio nutriente residual y de proteínas. En este momento, la placa filtrante con múltiples pocillos se transfiere a la placa receptora con múltiples pocillos y los productos químicos a ensayar se introducen, o bien al compartimiento situado por encima del estrato de células, o bien por debajo del soporte de células y filtro en la bandeja receptora con múltiples pocillos. La cámara opuesta se llena con un tampón exento de fármaco y el dispositivo con múltiples pocillos se incuba durante cierto período de tiempo, típicamente a 37° Centígrados, con agitación. Si se desean múltiples puntos de tiempo, se puede conseguir la toma de muestras de cualquier compartimiento sin separar el dispositivo. La cantidad de fármacos/productos químicos que se transporta a través

de la barrera de células se puede determinar mediante una variedad de métodos analíticos, pero típicamente se determina por LC/MS/MS (Cromatografía de líquidos/Espectroscopia de masas/Espectroscopia de masas).

Por consiguiente, sería deseable proveer una bandeja de alimentación que facilite rellenar el medio nutriente en una bandeja de alimentación rápidamente y de modo que conserve la integridad de las membranas y células situadas en la membrana.

El documento US 5801055 A divulga una bandeja de alimentación adaptada para retener una composición líquida y para soportar una placa filtrante que tiene una multiplicidad de pocillos. La bandeja de alimentación tiene una superficie de fondo plano y paredes periféricas escalonadas que rodean la superficie de fondo de modo que define una gran depresión en la cual las membranas de la multiplicidad de pocillos de una placa filtrante pueden sumergirse en un baño común. Un número de nervios verticales están conectados al fondo y a las paredes periféricas para añadir resistencia a la placa.

Los documentos US 4927604 A y US 4427415 A respectivamente divulgan colectores de drenaje para extracción al vacío de membranas filtrantes de una placa filtrante con múltiples pocillos ubicados sobre la parte superior del colector. Las superficies de fondo de los colectores están inclinadas hacia una conexión de tubería.

El documento FR 2548685 A divulga otro colector de drenaje que tiene una pared de fondo básicamente plana en canales longitudinales y un canal de recolección angosto lateral separado inclinado hacia una salida de líquido.

El documento WO 98/35013 A divulga una placa con múltiples pocillos con una agrupación de pocillos individuales, en donde los pocillos individuales de la agrupación pueden tener una pared de fondo inclinada o en ángulo.

El presente invento provee una bandeja de alimentación como se define en la reivindicación 1 y un aparato de prueba con múltiples pocillos que incluye dicha bandeja de almacenamiento. En las reivindicaciones dependientes se definen realizaciones preferidas.

Compendio del invento

En la presente memoria se describirá el invento con referencia al crecimiento y uso de células sobre una membrana posicionada y sujeta al fondo de cada uno de una multiplicidad de pocillos. Sin embargo, se entenderá que el presente invento no necesita usarse en conjunción con células. Otros usos representativos incluyen filtración, diálisis y operaciones similares.

El presente invento provee una bandeja de alimentación para retener un medio nutriente que puede ser un líquido o un gel, para su uso en un aparato para pruebas con múltiples pocillos. La bandeja de alimentación promueve el relleno rápido del medio nutriente mientras evita el daño a las membranas aseguradas a una multiplicidad de pocillos o el daño a las células posicionadas sobre la membrana. La bandeja de alimentación comprende una superficie de fondo inclinada para el medio nutriente rodeada por paredes que retienen el medio nutriente sobre la superficie de fondo inclinada. La superficie de fondo se inclina de modo que el medio nutriente puede ser suministrado a la bandeja de alimentación en un punto alto de la superficie de fondo inclinada y de este modo el medio nutriente puede retirarse de la superficie de fondo en un punto bajo de la superficie de soporte inclinada. Previendo dicha bandeja de alimentación, el medio nutriente puede ser suministrado a la bandeja de alimentación de una manera que asegura la determinación de cuándo el medio nutriente agotado es de manera sustancial completamente retirado de la bandeja de alimentación. La bandeja de alimentación también permite añadir y retirar el medio nutriente al mismo tiempo.

En una realización, la bandeja de alimentación incluye una pluralidad de protuberancias tales como vástagos asegurados a y que se extienden desde la superficie de fondo, estando una o más protuberancias posicionadas adyacentes a cada pocillo que se extiende hacia la bandeja de alimentación. Las protuberancias desplazan parte del volumen del medio nutriente, reduciendo así la cantidad de medio nutriente necesario para llenar la bandeja de alimentación hasta el nivel deseado. Hay previsto un medio de guía para posicionar los pocillos en contacto con una protuberancia cuando se retiran de la bandeja de alimentación de modo que cualquier gotita líquida que se extiende desde la superficie de fondo de la membrana es guiada por la protuberancia de vuelta hacia la bandeja de alimentación. Por lo tanto, la protuberancia provee un medio para retirar el líquido en exceso de la membrana que diluiría una solución líquida en los pocillos de una placa receptora con múltiples pocillos utilizada posteriormente en conjunción con la placa filtrante con múltiples pocillos.

En otra realización, el uso de uno o más deflectores, ya sea formados como parte del fondo de la bandeja de alimentación o formados por separado y libremente asentados sobre la bandeja de alimentación pueden utilizarse para controlar el movimiento o derrame del líquido en la bandeja durante la manipulación.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es una vista en perspectiva superior de la bandeja de alimentación de este invento.

La Figura 2A es una vista lateral de la bandeja de alimentación de la Figura 1.

La Figura 2B ilustra el ángulo de inclinación de una superficie de la bandeja de alimentación de este invento.

La Figura 3A es una vista superior en despiece ordenado de un aparato para pruebas dotado de múltiples pocillos que utiliza la bandeja de alimentación de este invento.

5 La Figura 3B es una vista transversal parcial de un pocillo y agujero de acceso del aparato para prueba con múltiples pocillos de la Figura 3A.

La Figura 4 es una vista en perspectiva de una realización alternativa de la bandeja de alimentación de este invento.

La Figura 5 es una vista en perspectiva de una realización alternativa de la bandeja de alimentación de este invento.

La Figura 6 es una vista en perspectiva de una bandeja alternativa de este invento.

La Figura 7 es una vista en perspectiva de una realización alternativa de la bandeja de alimentación de este invento.

10 Las Figuras 8A-D son una vista de arriba abajo de distintas disposiciones alternativas de la realización de la Figura 7.

Descripción de realizaciones específicas

15 Aunque el presente invento se describe con referencia a efectuar el crecimiento de células en una multiplicidad de pocillos, se entenderá que el presente invento es aplicable a manipulaciones que involucren áreas de acceso para introducir o retirar un líquido con el fin de efectuar el tratamiento deseado, por ejemplo diálisis o la separación por difusión al mismo tiempo que se evita el movimiento de las membranas en los pocillos.

20 Con referencia a las Figs. 1 y 2, la bandeja de alimentación 10 de este invento incluye paredes 12, 14, 16 y 18 y superficie de fondo 20 para albergar un medio nutriente líquido o en gel. La superficie de fondo 20 incluye dos subsecciones de la superficie 22 y 24 separadas por un trayecto de drenaje 21. Las subsecciones de la superficie 22 y 24 están inclinadas hacia abajo desde las paredes 16 y 12 en la dirección ejemplificada por las flechas 28 y 26 hacia el trayecto de drenaje 21. El trayecto de drenaje 21 provee un flujo de fluido desde el área 32 de introducción de líquido sobre la superficie 20 al área 30 de drenaje de líquido como se ejemplifica por la flecha 33. Se describirá a continuación más específicamente un método para introducir y extraer líquido de la bandeja de alimentación 10 con referencia a la Figura 3A. La bandeja de alimentación 10 también se provee con rebajos 46 y 47 en la Figura 1
25 que se describirá más específicamente a continuación con referencia a la Figura 3A.

Se entenderá que aunque la superficie de fondo de las Figs. 1 y 2A es la configuración preferida de este invento, se puede utilizar cualquier superficie inclinada que dirija líquido desde un área de introducción de líquido a un área de drenaje de líquido de la superficie de soporte.

30 Con referencia a la Figura 2B, el ángulo de inclinación, α , del trayecto de drenaje 21 a la horizontal 34 puede variar de un lugar a otro y es típicamente de entre aproximadamente 20 grados cerca del área de introducción de líquido 32 y aproximadamente horizontal cerca del área de drenaje de líquido 30, preferiblemente entre aproximadamente 5 grados y aproximadamente horizontal, aunque el trayecto de drenaje 21 podría tener el mismo ángulo, α , en toda su longitud. Aunque el ángulo, α , puede ser mayor de 20 grados, no es deseable ya que se requerirían volúmenes de medio nutriente mayores de lo necesario para sumergir las membranas 43 (Figura 3B) de la placa filtrante con
35 múltiples pocillos 40. Las subsecciones de superficie 22 y 24 pueden cortar las paredes circundantes 12, 14, 16 y 18 a cualquier altura, pero preferiblemente cortar las paredes a una altura común de modo que las intersecciones se encuentren en un plano horizontal. El ángulo de inclinación, α , de las subsecciones de superficie 22 y 24 variará necesariamente dependiendo de la profundidad local del trayecto de drenaje 21 y de la distancia desde una pared al trayecto de drenaje 21, pero típicamente es al menos 2 grados y preferiblemente al menos 5 grados. Además, un
40 ángulo, α , menor de 2 grados aumentaría innecesariamente el tiempo de drenaje del medio nutriente de la bandeja de alimentación 10.

El uso de una bandeja de alimentación 10 se ejemplifica con referencia a las Figs. 3A y 3B. Como se muestra en las Figs. 3A y 3B, la bandeja de alimentación 10 está posicionada por debajo de una placa filtrante con múltiples pocillos 40 que incluye una multiplicidad de pocillos 42, tal como 96 pocillos. Diferentes multiplicidades de pocillos pueden utilizarse según se desee, tal como 6, 8, 24 o 384 pocillos que son comúnmente utilizados en la industria hoy en día para varias pruebas. Una membrana porosa 43 está asegurada al fondo de cada uno de los pocillos 42. Alternativamente, como es bien conocido en la técnica una única lámina de membrana puede sellarse a través del fondo, la placa y las áreas fuera de los pocillos son hechas no porosas, cubiertas tal como por una capa de fondo de plástico moldeada por inyección o se retiran. En uso, la bandeja de alimentación 10 se provee con una
50 profundidad de medio nutriente de modo que las membranas 43 de las paredes 42 se sumergen en el medio nutriente. Cada uno de los pocillos 42 tiene asociado con él un agujero de acceso 45 que permite el acceso a un pocillo de una placa receptora con múltiples pocillos (no se muestra) que reemplaza la bandeja de alimentación durante una etapa de ensayo de muestra posterior. La placa receptora con múltiples pocillos (no se muestra) se provee con el mismo número de pocillos que el número de pocillos 42 en la placa filtrante 40 con múltiples pocillos.
55 Los pocillos de la placa receptora con múltiples pocillos están conformados para albergar los pocillos 42 de la placa

filtrante 40 con múltiples pocillos y una jeringuilla, cánula, pipeta o similar que se extiende a través de agujeros de acceso 45 de la placa filtrante 40 con múltiples pocillos.

La placa filtrante 40 con múltiples pocillos puede estar provista con cuatro patas 44 que ajusten en los rebajos 51 de la bandeja de alimentación 10 para de ese modo proveer la estabilidad mecánica de la placa filtrante 40 con múltiples pocillos. Las patas 44 sirven también para posicionar las membranas 43 en el fondo de los pocillos 42 con el fin de evitar el contacto con la superficie del fondo 20, para promover de ese modo el contacto de líquido con la membrana 43. La bandeja de alimentación 10 también está provista con rebajos 46 y 47 en donde encajan los vástagos 48 y 49. Los vástagos 48 y 49 están posicionados asimétricamente en la bandeja de alimentación 10 de modo que el pocillo 42a está siempre posicionado en la posición izquierda superior de la agrupación de pocillos y de este modo el pocillo 42b está siempre posicionado en la posición derecha inferior de la agrupación de pocillos. Esta posición asegura que un pocillo siempre pueda ser correctamente identificado de acuerdo con su posición. Los vástagos 48 y 49 también posicionan pocillos 42 de la placa filtrante 40 con múltiples pocillos en las posiciones deseadas. El medio nutriente puede rellenarse a través de la abertura 52 en una placa filtrante 40 con múltiples pocillos. El medio nutriente puede drenarse de la bandeja de alimentación 10 a través de la abertura 50. El relleno y drenaje pueden efectuarse con un dispositivo de manipulación de líquido tal como una jeringuilla, una cánula, pipeta o similar. Ya que el área de drenaje 30 está posicionada en el punto más bajo de la superficie 20, el drenaje completo puede efectuarse fácilmente. Alternativamente, el drenaje y relleno pueden efectuarse simultáneamente sin necesidad de mover la placa filtrante 40 con múltiples pocillos con respecto a la bandeja de alimentación 10 o inclinar todo el aparato para pruebas con múltiples pocillos. Debería entenderse que el medio nutriente puede tanto ser introducido como retirado de la bandeja de alimentación 10 a través de la abertura 50 sin necesidad de la abertura 52. Sin embargo, el uso de la abertura 52 permite el drenaje y relleno simultáneos. La tapa removible 56 se utiliza para mantener la esterilidad dentro de los pocillos 42 y minimizar la evaporación del medio nutriente.

Con referencia a la Figura 4, se ilustra una bandeja de alimentación alternativa 23 de este invento. Esta realización está provista con vástagos 60 que se extienden desde la superficie interna y de soporte de la bandeja de alimentación 23 entre y junto a los pocillos de la placa filtrante con múltiples pocillos. Como se muestra, los vástagos 60 se extienden desde la superficie 20 a una posición donde pueden desplazar el medio nutriente entre los pocillos 42. El propósito de este desplazamiento es reducir la cantidad de medio nutriente necesaria para llenar la bandeja de alimentación 23 a los niveles deseados. La bandeja de alimentación 23 también comprende superficies inclinadas 22 y 24 que efectúan el flujo de líquido en las direcciones de las flechas 27 y 29 y en la dirección de la flecha 31 en el área de drenaje 30.

Con referencia a la Figura 5, los vástagos 60 de la bandeja de alimentación de la Figura 4 son reemplazados en la bandeja de alimentación 70 con protuberancias de pared guía 72 que son posicionadas para desplazar líquido entre los pocillos 42 de la manera establecida anteriormente con referencia a la Figura 4. Las protuberancias 72 incluyen aberturas 74 que dirigen líquido al área de drenaje 30 desde la cual el líquido puede ser retirado con una jeringuilla convencional, cánula, pipeta o similar. La superficie de fondo 71 también se inclina de la misma manera que se muestra en la Figura 3A.

Con referencia a la Figura 6, la bandeja de alimentación 80 está provista con las paredes 12, 14, 16 y 18 así como un trayecto de drenaje 21. Las secciones de superficie 82 y 84 están provistas con los trayectos 86 y 88 que están posicionados por debajo de las secciones de superficie 82 y 84 para proveer drenaje del medio nutriente al trayecto de drenaje 21 y luego al área de drenaje de líquido 30.

En una realización alternativa, la bandeja de alimentación puede tener una superficie de fondo inclinada que se inclina desde la pared 18 hacia la pared 14 y área de drenaje 30.

En una realización alternativa del presente invento, se pueden utilizar uno o más deflectores para reducir el movimiento o derrame del líquido en la bandeja de alimentación, especialmente durante la manipulación, por seres humanos o equipo robótico. La Figura 7 muestra dicha realización.

En esta realización, se muestra el uso de cuatro deflectores 100. Los deflectores 100 están unidos al fondo 102 de la bandeja de alimentación 104. Preferiblemente están formados como parte de la bandeja de alimentación 104 tal como mediante moldeado por inyección junto con la bandeja cuando es fabricada aunque pueden añadirse como un elemento separado que es o bien unido a los lados o fondo de la bandeja o bien se deja descansar libremente en el fondo de la bandeja. Como se muestra, los deflectores están dispuestos en un patrón a modo de cruz y están separados y son distintos entre sí. Como se muestra, también cada uno está formado en un patrón "S" repetitivo u ondulado. Alternativamente, los deflectores 100 pueden ser rectos o curvilíneos o en forma de cruz (elementos con aspecto de X) o similares siempre que sean capaces de realizar su función mientras permiten que la placa filtrante con múltiples pocillos (no se muestra) encaje en la bandeja de alimentación 104 y permita que el fluido en la bandeja de alimentación 104 fluya de modo que no ocurran zonas muertas. Como se muestra, los deflectores 100 no tocan las paredes laterales de la bandeja 104. Podrían hacerlo si se deseara. Preferiblemente cuando tocan las paredes laterales, hay uno o más agujeros pasantes formados en el deflector, preferiblemente a lo largo de su borde inferior para permitir movimiento de fluido sin impedimentos a lo largo de las paredes.

La altura de dicho o dichos deflectores 100 no es crítica siempre que sea suficiente para ayudar a reducir la cantidad de movimiento del líquido en la bandeja de alimentación 104 mientras es manipulada. Típicamente, uno puede tener la altura de deflector entre 20% y 100% de la profundidad del líquido en la bandeja 104. En otra realización la altura de los deflectores es entre 35% y 80% de la profundidad del líquido en la bandeja 104. Alternativamente, la altura de los deflectores es entre 50% y 75% de la profundidad del líquido en la bandeja 104.

El número de deflectores no es crítico. En una realización, se prefiere que sólo se utilice un deflector, ya sea que discorra al menos parcialmente en longitud o en el ancho de la bandeja. En otra realización, se prefiere que se utilicen al menos dos deflectores, en alguna dirección transversal definida entre ellos. En dicha realización, los dos deflectores pueden estar a aproximadamente 25 grados a 90 grados con respecto a la dirección del otro de modo que aseguren que el movimiento del líquido sea controlado tanto en las direcciones de longitud de la bandeja como de ancho de la bandeja.

La Figura 8A muestra un arreglo alternativo de los deflectores en la realización de la Figura 7. En esta Figura, se utilizan los deflectores rectos 100 en lugar del diseño de deflectores ondulados de la Figura 7. En la Figura 8B, se muestra el uso de una serie de deflectores repetitivos 100. Aquí, los deflectores se muestran como una serie de patrones en "X" distribuidos en el fondo de la bandeja de alimentación. La Figura 8C muestra el uso de una serie de deflectores 100 dispuestos en una relación en paralelo y separados entre sí y cada deflector 100 se extiende hacia afuera de la misma pared lateral. En la Figura 8D se muestra un único deflector que se extiende sustancialmente a lo largo de la bandeja de alimentación.

Aquellos deflectores 100 que podrían extenderse a través de la superficie inclinada de la bandeja de alimentación preferiblemente tienen uno o más agujeros pasantes en ellos adyacentes a su superficie de fondo con la placa de modo que permitan un flujo sin impedimentos a lo largo de la inclinación. Alternativamente, en aquellos deflectores que están formados por separado, los deflectores son fabricados de modo que sólo tocan el fondo de la bandeja en un punto lejos de las inclinaciones de modo que el fluido puede fluir bajo los deflectores.

En otra realización, los deflectores pueden utilizarse en lugar de los vástagos o protuberancias descritos anteriormente como el medio para permitir que se retire el líquido en exceso del fondo de la placa de células durante su retirada de la bandeja de alimentación. En esta realización (no se muestra), los deflectores deberían ser de una altura similar a la del vástago o protuberancias descritos anteriormente. Además, el número de deflectores utilizados debería ser suficiente para asegurar que todos los pocillos de la placa de células reciban suficiente fuerza para quitar cualesquiera gotitas sin perturbar las células que crecen en la placa.

REIVINDICACIONES

1. Una bandeja de alimentación (10; 23; 70; 80; 104) adaptada para retener una composición líquida para cultivar células, filtración, diálisis y para soportar una placa filtrante que tiene una multiplicidad de pocillos que comprende:
 - una superficie de fondo inclinada (20; 71; 102) que forma un área inferior en la cual se puede introducir líquido y desde la cual se puede extraer líquido y
 - paredes (12, 14, 16, 18) que rodean dicha superficie de fondo inclinada (20, 71, 102) para encerrar dicha superficie de fondo inclinada (20; 71; 102),
 - en donde dicha superficie de fondo inclinada (20; 71; 102) comprende una pluralidad de subsecciones de superficie de fondo (22, 24; 82, 84) cada una inclinada hacia abajo desde dichas paredes (12, 14, 16, 18) a un trayecto de drenaje (21; 86, 88) conectado a dichas subsecciones de superficie de fondo (22, 24; 82, 84),
 - en donde dicha superficie de fondo inclinada (20; 71; 102) tiene un área de drenaje (30) de la cual se puede retirar líquido y un área de introducción (32) a la cual puede suministrarse líquido,
 - en donde dicha área de introducción (32) y dicha área de drenaje (30) están formadas en esquinas diagonalmente opuestas formadas en intersecciones de paredes adyacentes (12, 14, 16, 18),
 - en donde dicha área de drenaje (30) está posicionada en el punto más bajo de dicha superficie de fondo (20; 71; 102), y
 - en donde dicha área de introducción (32) y dicha área de drenaje (30) están conectadas por dicho trayecto de drenaje (21) que está inclinado con respecto al plano horizontal (34) para proveer flujo de líquido desde dicha área de introducción (32) a dicha área de drenaje (30).
2. La bandeja de alimentación de la reivindicación 1, en donde el ángulo de inclinación del trayecto de drenaje (21) con respecto al plano horizontal (34) es entre 20 grados, preferiblemente 5 grados, cerca del área de introducción (32) y cero cerca del área de drenaje (30).
3. La bandeja de alimentación de la reivindicación 1 o 2, en donde el ángulo de inclinación de las subsecciones de superficie de fondo (22, 24) con respecto al plano horizontal es al menos 2 grados, preferiblemente al menos 5 grados.
4. La bandeja de alimentación de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en donde dicha área de introducción (32) y dicha área de drenaje (30) están delimitadas por rebajos en las esquinas diagonalmente opuestas de las paredes (12, 14, 16, 18).
5. La bandeja de alimentación de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 que incluye una multiplicidad de protuberancias (60; 72; 100) que se extienden desde dicha superficie de fondo (20; 71; 102) en una dirección que es sustancialmente la misma dirección en la que dichas paredes (12, 14, 16, 18) se extienden desde dicha superficie de fondo (20; 71; 102), teniendo dichas protuberancias una longitud que permite que dichas protuberancias desplacen dicho líquido dentro de los pocillos de una placa filtrante cuando la misma es soportada sobre la bandeja de alimentación.
6. La bandeja de alimentación de la reivindicación 5, en donde dichas protuberancias comprenden vástagos (60; 72).
7. La bandeja de alimentación de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la bandeja de alimentación (104) contiene uno o más deflectores (100).
8. La bandeja de alimentación de la reivindicación 7, en donde los deflectores (100) tienen una forma seleccionada del grupo que consiste en elementos ondulados, elementos curvilíneos, elementos rectos y elementos en cruz.
9. La bandeja de alimentación de la reivindicación 7 u 8, en donde los deflectores (100) están formados separadamente y se asientan libremente en la bandeja de alimentación.
10. La bandeja de alimentación de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde dichas paredes (12, 14, 16, 18) incluyen superficies externas configuradas para soportar una placa filtrante que tiene una multiplicidad de pocillos formados de un miembro tubular al cual está unida una membrana porosa de modo que cada membrana porosa se extiende dentro de un volumen vacío por encima de dicha superficie de fondo (20; 71; 102).
11. La bandeja de alimentación de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde las paredes (12, 14, 16, 18) que rodean dicha superficie de fondo inclinada (20; 71; 102) están formadas de modo que, en uso, el líquido puede ser retenido en la bandeja de alimentación sobre la superficie de fondo inclinada (20; 71; 102) con una profundidad tal que las membranas aseguradas al fondo de cada uno de la multiplicidad de pocillos de la placa filtrante soportada sobre la bandeja de alimentación están sumergidas en el líquido.

12. Un aparato para prueba con múltiples pocillos que comprende

la bandeja de alimentación (10; 23; 70; 80; 104) de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, y

una placa filtrante (40) con múltiples pocillos soportada por las paredes de dicha bandeja de alimentación (10; 23; 70; 80; 104), comprendiendo dicha placa filtrante (40) con múltiples pocillos una multiplicidad de pocillos (42) que se extienden desde una placa, comprendiendo cada uno de dichos pocillos (42)

(a) un miembro que tiene una parte superior abierta y un fondo abierto y que se extiende desde dicha placa y

(b) una membrana porosa (43) asegurada al fondo abierto del pocillo de modo que cada una de las membranas (43) de dichos pocillos (42) esté posicionada dentro de un volumen vacío de dicha bandeja de alimentación (10; 23; 70; 80; 104) por encima de la superficie de fondo (20; 71; 102), e

incluyendo dicha placa filtrante (40) con múltiples pocillos un primer agujero de acceso (52) para introducir un líquido en dicha bandeja de alimentación (10; 23; 70; 80; 104) y un segundo agujero de acceso (50) para recuperar líquido de dicha bandeja de alimentación (10; 23; 70; 80; 104) y un agujero de acceso adicional (45) asociado con cada pocillo (42) que permite el acceso a un pocillo de una placa receptora con múltiples pocillos que reemplaza la bandeja de alimentación durante un paso de ensayo de muestra posterior.

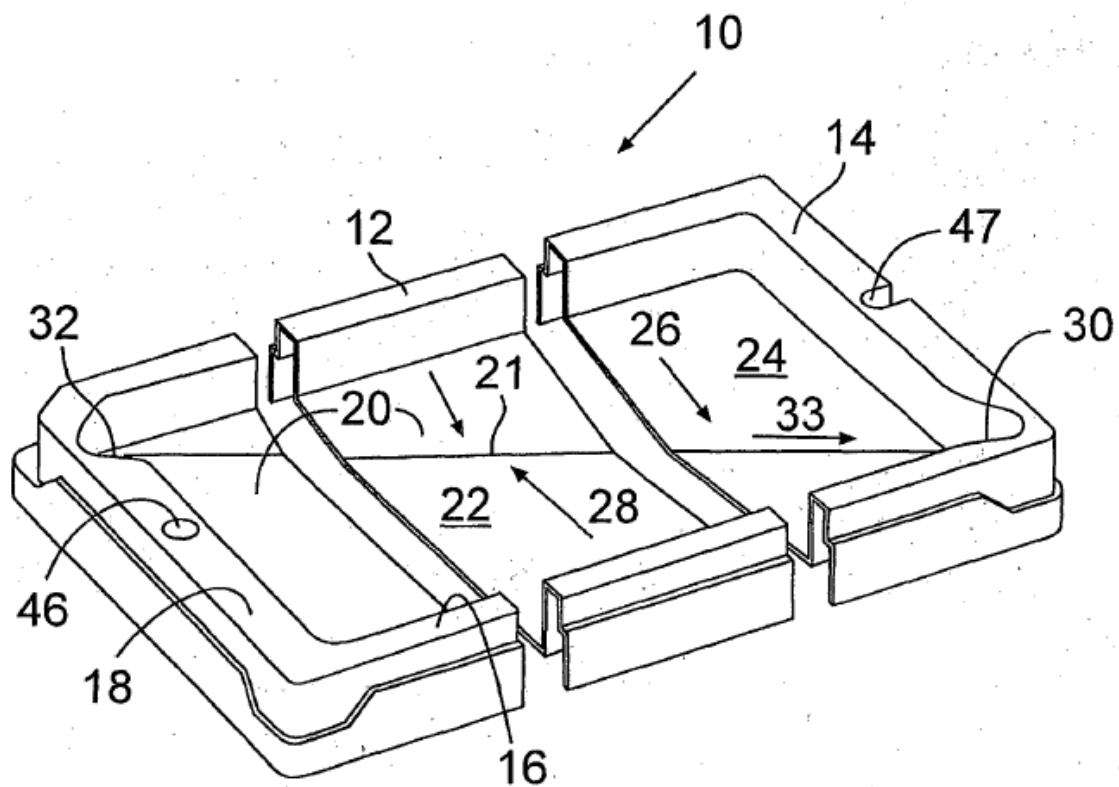


Figura 1

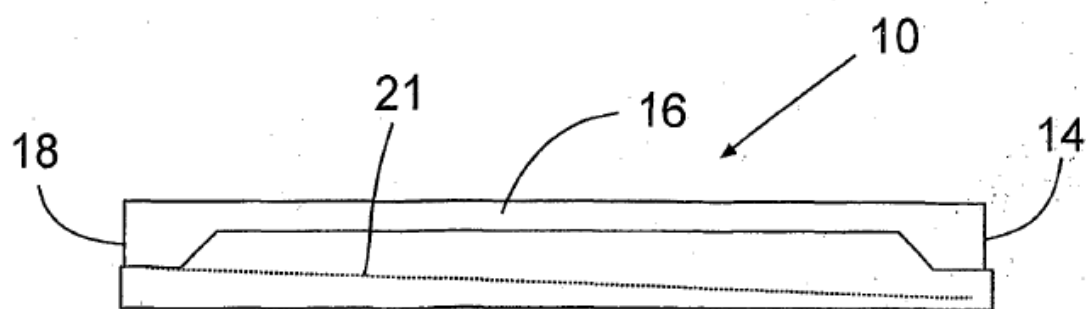


Figura 2A

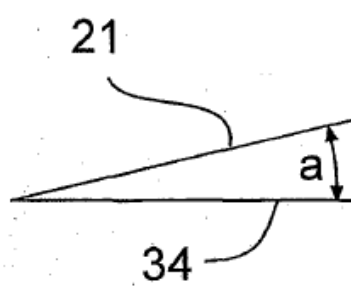
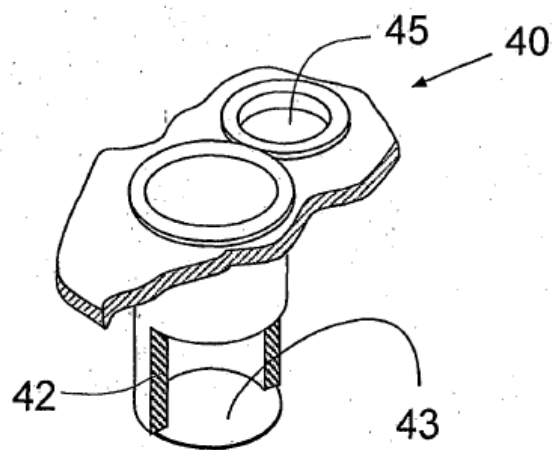
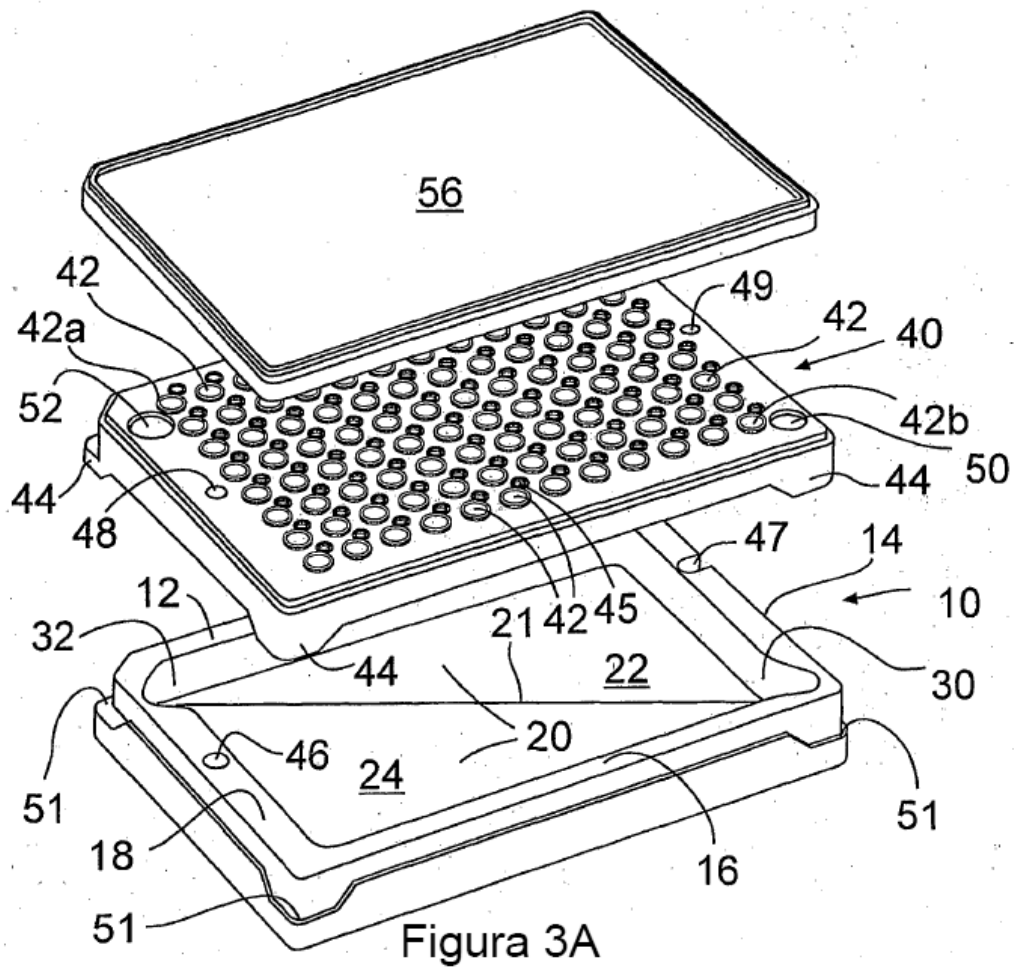


Figura 2B



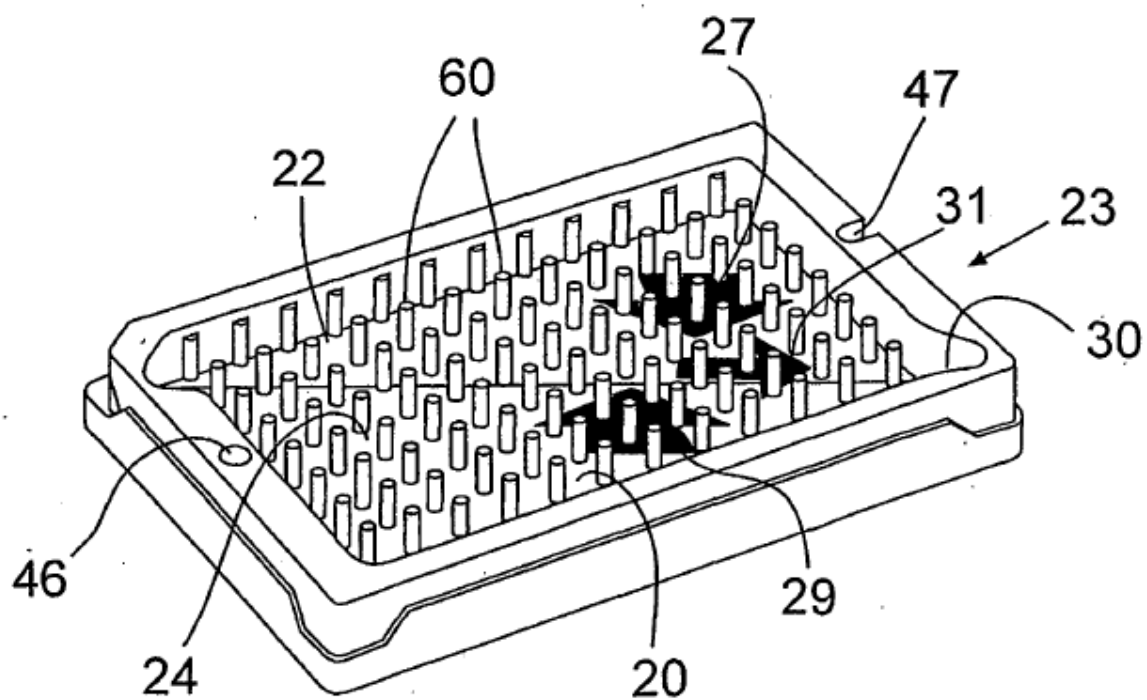


Figura 4

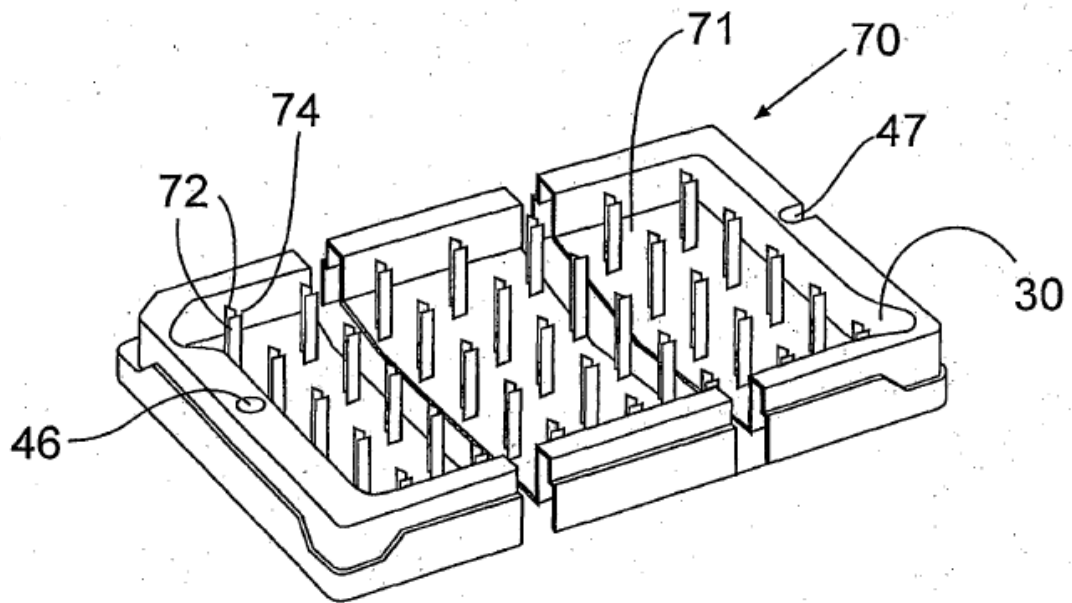


Figura 5

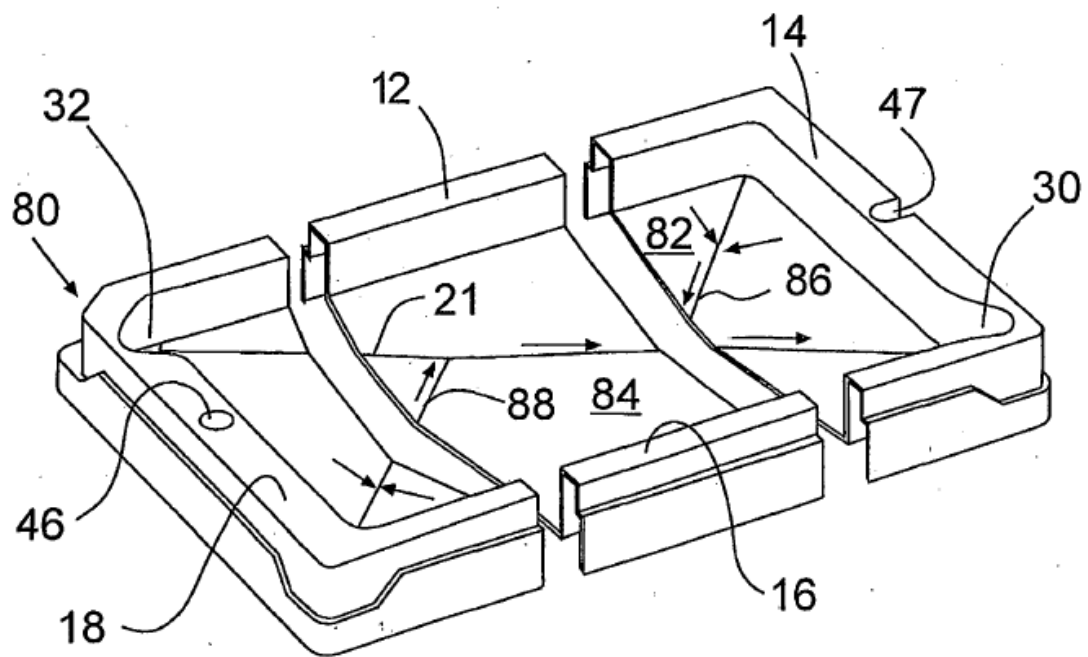


Figura 6

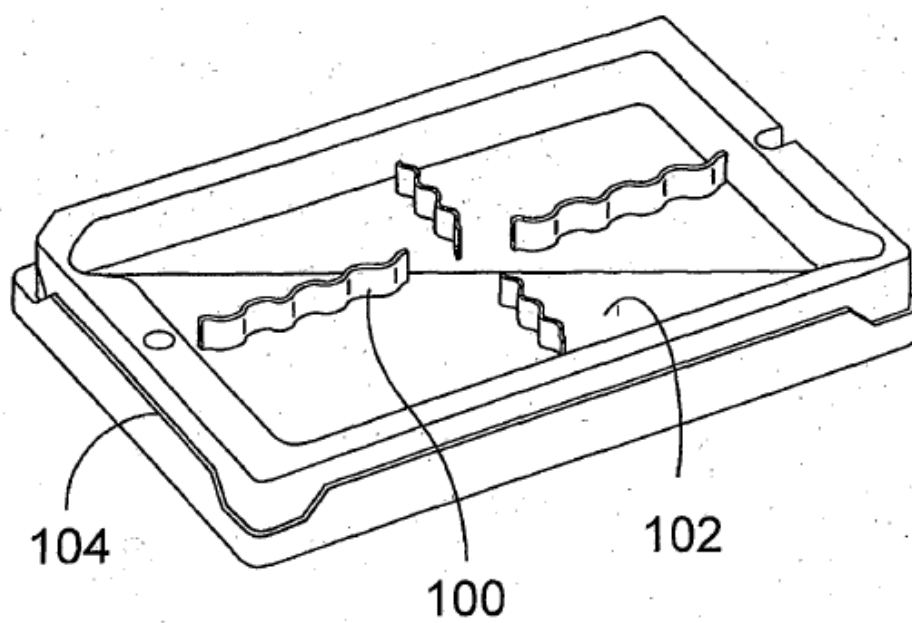


Figura 7

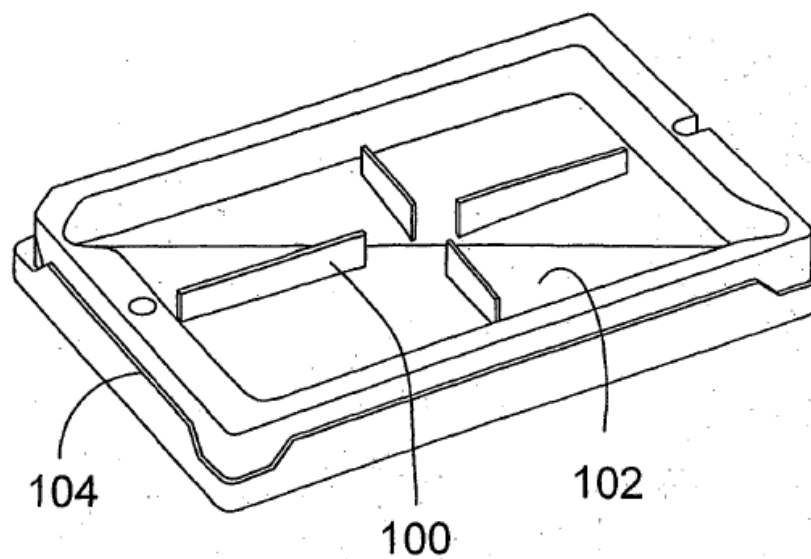


Figura 8a

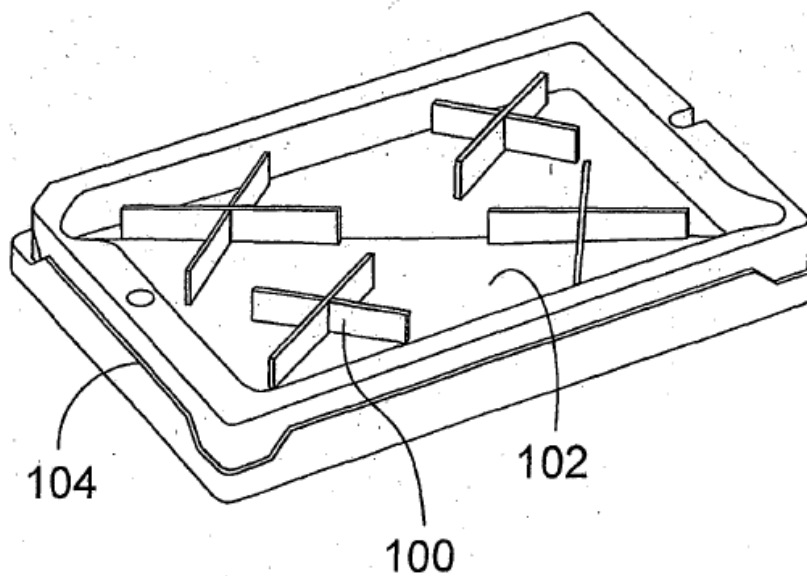


Figura 8b

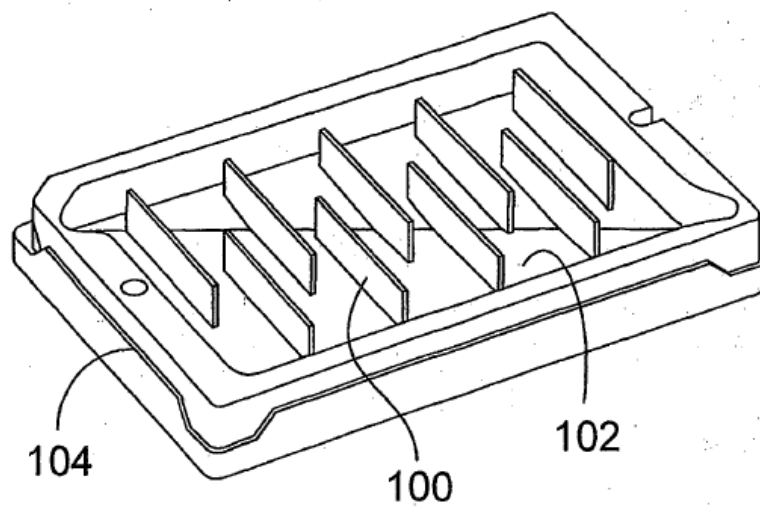


Figura 8c

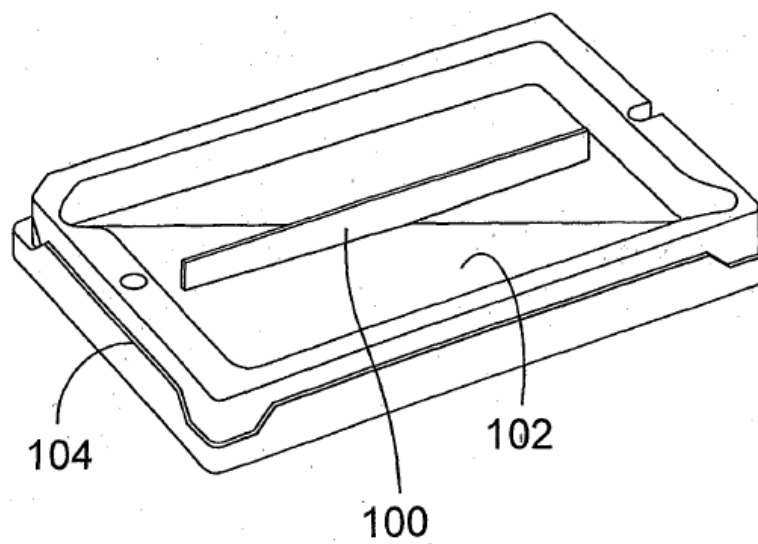


Figura 8d