

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 676 828**

51 Int. Cl.:

B01F 11/00 (2006.01)

B01F 15/06 (2006.01)

A61M 1/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.09.2013 PCT/IB2013/058403**

87 Fecha y número de publicación internacional: **13.11.2014 WO14181158**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.09.2013 E 13799102 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.05.2018 EP 2994223**

54 Título: **Sistema de mezcla para mezclar muestras biológicas con aditivos**

30 Prioridad:
07.05.2013 WO PCT/IB2013/053652

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
25.07.2018

73 Titular/es:
**BIOSAFE S.A. (100.0%)
Route du Petit-Eysins 1
1262 Eysins, CH**

72 Inventor/es:
**CAMISANI, JULIEN PIERRE y
WARIDEL, OLIVIER**

74 Agente/Representante:
ELZABURU, S.L.P

ES 2 676 828 T3

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

DESCRIPCIÓN

Sistema de mezcla para mezclar muestras biológicas con aditivos

Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere a un sistema de mezcla automatizado y, en particular, a un sistema capaz de mezclar de forma segura, suave, homogénea y eficiente, muestras biológicas tales como sangre entera, sangre de placenta / cordón umbilical, médula ósea, producto de aféresis o fracción vascular estromal (FVS) contenidas en una bolsa flexible de recolección, congelación, almacenamiento o transferencia, especialmente durante la adición de un compuesto organosulfurado como dimetil sulfóxido (DMSO) u otros aditivos biológicos. Durante toda la duración del proceso, el sistema automatizado mantiene muestras biológicas a una temperatura estabilizada.
- 10 Es probable que tales procedimientos se realicen en entornos hospitalarios y laboratorios médicos o biológicos. Los tipos típicos de manipulación de sangre o de muestras biológicas son: preparación para el almacenamiento a largo plazo, descongelación después del almacenamiento a largo plazo, preparación antes del trasplante, expansión del cultivo celular, manipulaciones del tejido adiposo, u otras aplicaciones similares.

Antecedentes de la invención

- 15 El papel de las células madre en trasplantes o terapias celulares de medicina regenerativa se está expandiendo rápidamente. Dentro del campo del trasplante, la estrategia terapéutica actual exige que las células progenitoras se criopreserven para prácticamente todos los trasplantes autólogos y muchos alogénicos. El proceso de criopreservación es importante para todos los tipos de recolección de células madre y, a lo largo de los años, las técnicas de congelación y descongelación han demostrado ser eficientes y tener la capacidad de almacenamiento a largo plazo con una alta tasa de supervivencia de células biológicas.
- 20

Proceso de Criopreservación

- El proceso de criopreservación consiste en almacenar un fluido biológico en nitrógeno en fase líquida o vapor a, de forma general, -196°C en congeladores mecánicos. La velocidad de congelación es controlada y las células madre concentradas se congelan a una velocidad típica de 1 – 2 °C / min.
- 25 Con el fin de congelar y almacenar las células concentradas a las temperaturas mencionadas, es necesario añadir un compuesto organosulfurado tal como dimetil sulfóxido (DMSO) a la muestra biológica. En criobiología, el crioprotector DMSO se usa para preservar órganos, tejidos y suspensiones celulares mediante la prevención del daño por congelación a las células vivas. Este inhibe la formación de cristales intra y extracelulares y, por lo tanto, la muerte celular.
- 30 Sin aditivos crioprotectores, hasta el 90% de las células congeladas quedarían inactivas. En general, se agrega una mezcla de un 25% de DMSO a las células madre hematopoyéticas antes de la criopreservación.

- En un entorno estandarizado como un banco de sangre de cordón umbilical o en un entorno hospitalario después de una recolección de aféresis autóloga, existe una necesidad de añadir un crioprotector antes del almacenamiento a largo plazo en nitrógeno en fase líquida o vapor. En general, se añade un DMSO enfriado estéril a la bolsa de sangre en el transcurso de 10 – 15 minutos. Mientras que la muestra biológica debería mantenerse a una temperatura estable, el DMSO debe añadirse gradualmente para proteger las células del estrés osmótico dañino debido a las altas concentraciones de DMSO y para evitar una reacción exotérmica que se produce a medida que la solución concentrada de DMSO se mezcla con la solución celular. Además, es importante asegurar que el DMSO o el aditivo biológico se mezclan de forma homogénea con la bolsa de sangre o la muestra biológica durante la adición para asegurar un efecto protector eficiente durante la criopreservación.
- 35
- 40

- Necesidades externas para la preparación de la criopreservación, muchas aplicaciones requieren aditivos a ser mezclados con muestras biológicas. Por ejemplo, en terapia celular o en laboratorios de investigación, a menudo los productos concentrados celulares deben mezclarse con soluciones de medio de cultivo para células en proliferación, o lavar o diluir productos celulares enriquecidos con tampones de lavado tales como cloruro de sodio (NaCl) o soluciones de lactato de Ringer. En esta configuración, de nuevo existe la necesidad de garantizar una mezcla gradual, suave y homogénea adecuada bajo temperatura estabilizada controlada.
- 45

- Otra posible aplicación es descongelar muestras criopreservadas. Hoy en día, la mayoría de las unidades de sangre de cordón alogénica y unidades de aféresis autóloga se descongelan usando una técnica de baño en agua estándar, que consiste en colocar bajo agua a 37 °C, bolsas de sangre retiradas del nitrógeno en fase líquida o vapor. En este método, el agua es el vector de transferencia térmica a la bolsa y, por lo tanto, tiene un riesgo potencial de contaminación microbiológica. Por lo tanto, es deseable tener un sistema repetible capaz de descongelar muestras usando un sistema de templado en seco mediante el mantenimiento a 37°C o a una temperatura predefinida, estabilizada, para asegurar una descongelación eficiente, por el cual una bolsa de sangre se mezcla suavemente durante toda la duración del proceso.
- 50

De este modo, se reduce el riesgo de contaminación microbiológica y no se somete al producto a la variabilidad del operador durante la agitación mecánica de las bolsas dentro del agua.

5 Dentro del campo del almacenamiento en bancos de fracción vascular estromal, son necesarias muchas etapas para extraer el tejido adiposo de un paciente, digerir y procesar la grasa hasta que la fracción vascular estromal se concentra con células madre mesenquimales y está lista para su almacenamiento en el banco. Dentro de estas etapas, el tejido adiposo, en general, debería lavarse con una solución de tampón de lavado tal como el lactato de Ringer o el cloruro de sodio, y debe digerirse el adipocito a una temperatura estabilizada de 37 °C con enzimas colagenasas. Por lo tanto, sería deseable proporcionar un sistema automatizado capaz de programar una temperatura estabilizada, bombear aditivos en el tejido adiposo y asegurar una mezcla homogénea y suave de muestras biológicas.

10 Hoy en día, el proceso de mezcla sigue siendo muy dependiente del operador y sigue existiendo una necesidad generalizada de proporcionar un sistema automatizado capaz de asegurar una mezcla segura, eficiente y homogénea, especialmente cuando se añaden aditivos biológicos a productos sanguíneos u otros tipos de muestras biológicas.

Estado de la técnica

15 Las tecnologías de mezcla más comunes para muestras biológicas hoy en día son las técnicas de agitación o un movimiento mecánico del brazo que interactúa con la muestra biológica.

El dispositivo Coolmix™ de Biosafe S.A. es un dispositivo de mezcla automática que permite la preparación de células madre para la criopreservación. El sistema usa un mecanismo de mezcla por medio de un brazo mecánico que se mueve hacia arriba y hacia abajo, por lo que se crea un movimiento de vórtice cuando una superficie de la bolsa es presionada por el brazo metálico.

20 Los sistemas conocidos adolecen de las limitaciones de que pueden producir movimientos rápidos o una alta aceleración gravitacional de las células o de los productos manipulados y existe el riesgo de fricción mecánica o sacudidas bruscas de las células o de los productos manipulados, y la personalización de los dispositivos es difícil.

25 El documento WO 88 / 06896 divulga un dispositivo para mezclar muestras biológicas contenidas en bolsas de almacenamiento flexibles a temperatura controlada, que se encuadra en la definición general de la parte precharacterizante de la reivindicación 1. Ésta se refiere a la mezcla de productos sanguíneos a una temperatura de almacenamiento de 4 °C con una solución salina a alta temperatura. Los productos sanguíneos y la solución salina están suspendidos en recipientes flexibles desde paredes laterales verticales separadas entre sí con una pared de separación vertical intermedia que soporta unas bolsas de aire inflables. Las bolsas de aire controlan la mezcla de los productos sanguíneos y de la solución salina, seguida por la transferencia de la solución salina al recipiente de productos sanguíneos.

Divulgación de la invención

35 Como se establece en las reivindicaciones, la invención propone un sistema automatizado mejorado para garantizar una mezcla segura, suave, homogénea y eficiente de bolsas de recolección, congelación, almacenamiento o transferencia que contienen sangre o solución biológica, especialmente durante la inyección de un compuesto organosulfurado como dimetil sulfóxido. (DMSO) u otros aditivos biológicos.

Según con un aspecto principal de la invención, se proporciona un dispositivo para mezclar muestras biológicas contenidas en bolsas flexibles de recolección, congelación, almacenamiento o transferencia (en lo sucesivo "bolsas de almacenamiento") a temperatura controlada, que comprende:

- a) un soporte para soportar una bolsa de almacenamiento que contiene una muestra biológica a ser mezclada;
- 40 b) medios para impartir un desplazamiento a una muestra en una bolsa de almacenamiento sobre el soporte para mezclar la muestra; y
- c) medios de control de temperatura para mantener las muestras a una temperatura controlada durante la mezcla, en el cual

45 dichos medios para impartir un desplazamiento a una muestra comprenden por lo menos una bolsa capaz de inflarse / desinflarse que, cuando se infla, hace contacto con la superficie de una parte de una bolsa de almacenamiento para presionar de forma progresiva la bolsa de almacenamiento y desplazar las muestras contenidas hacia otra parte de la bolsa de almacenamiento.

El dispositivo según la invención está caracterizado por que:

- el soporte es una placa de base sobre la cual puede colocarse una bolsa de almacenamiento,
- 50 - la bolsa capaz de inflarse / desinflarse se coloca por debajo de una cubierta que se ajusta sobre el soporte, estando colocada la bolsa capaz de inflarse / desinflarse sobre la ubicación de una bolsa de almacenamiento soportada y por debajo de la cubierta,

la cubierta está montada de forma pivotante sobre el soporte entre una posición cerrada y una posición abierta, y

el dispositivo comprende además medios para bloquear la cubierta en la posición cerrada sobre el soporte para evitar que la cubierta se abra como resultado del inflado de la bolsa capaz de inflarse / desinflarse durante el mezclado.

5 Otros aspectos de la invención se establecen en las reivindicaciones.

La invención concierne también al aparato completo de mezclado y a la instrumentación capaz de mezclar, de forma suave y homogénea, una bolsa pequeña o grande, o dos bolsas, o varias bolsas al mismo tiempo.

10 Se proporciona un sistema de mezcla compuesto por una o varias bolsas de aire neumáticas en contacto con bolsas de muestras biológicas de sangre. Las bolsas de aire se inflan y desinflan a varias frecuencias y con perfiles adaptados dependiendo de los tipos de bolsas de sangre, volumen y sensibilidad de ambos productos a ser mezclados. Esta acción da como resultado la compresión de la muestra biológica sobre una superficie definida con una fuerza distribuida.

15 La presente invención proporciona a los entornos hospitalarios, laboratorios médicos y biológicos, un sistema automatizado capaz de mezclar de manera suave muestras y, a diferencia de los agitadores existentes, garantiza que no se produzcan movimientos rápidos ni grandes aceleraciones gravitacionales de células o productos manipulados. La técnica utilizada con la presente invención es la aplicación de una presión suave sobre una superficie predefinida que es bastante grande, lo que da como resultado la creación de un efecto de vórtice eficiente que garantiza una mezcla homogénea de la muestra.

20 La presión llevada a cabo por una bolsa de aire inflada asegura una fuerza distribuida a lo largo del área de la superficie, lo que da como resultado una mezcla suave y homogénea de la muestra biológica, con menor riesgo de fricción mecánica o sacudidas bruscas de las células o productos manipulados.

25 Además, el dispositivo de la invención puede alojar una variedad de tamaños de bolsas utilizadas para manipulaciones. La presente invención cubre una amplia gama de bolsas de sangre o biológicas de diferentes tamaños, ya sea mediante el diseño de bolsas de aire neumáticas de acuerdo con los tamaños de bolsa específicos necesarios a ser manipulados, o mediante la integración de un conjunto de bolsas de aire con el fin de cubrir una amplia gama de tamaños de bolsa. Las bolsas de aire neumáticas también se pueden inflar y desinflar con un perfil personalizado adaptado a tamaños específicos de bolsas de sangre.

30 Las técnicas de fabricación de bolsas basadas en aire también son técnicas de bajo costo en comparación con los mecanismos complejos de sacudimiento o movimiento mecánico. Para las bolsas de aire, generalmente se usan los elastómeros como el poliuretano termoplástico o el cloruro de polivinilo (PVC) y se fabrican por métodos termoplásticos convencionales.

Una bolsa

35 Tomando como ejemplo una bolsa de congelación que contiene 20 ml de muestras biológicas, véase el documento WO 2009/138966 (*Biosafe*), el movimiento de mezcla se realiza presurizando y despresurizando con aire comprimido una bolsa de aire que tiene una membrana de silicio resistente.

40 La función de la bolsa de mezcla es proporcionar un movimiento vertical de empuje y atracción transmitido a la bolsa que se va a mezclar. Al comprimir con una fuerza distribuida sobre una superficie extendida, se crea un paso estrecho que da como resultado la creación de un buen efecto de vórtice que asegura una mezcla eficiente y homogénea. Las bolsas de dos compartimentos, por diseño, ya tienen un paso estrecho que une el compartimiento más pequeño y el más grande. Este paso estrecho también crea el efecto de vórtice deseado.

El aire se suministra desde un sistema neumático accionado por electroválvulas y una bomba neumática. Al hacerlo de este modo, es posible controlar la velocidad de inflado y desinflado y la velocidad de movimiento de la bolsa de aire, lo que garantiza una mezcla optimizada de las muestras biológicas.

45 El cuerpo del dispositivo tiene, de forma típica, un plato de aluminio, sobre el cual se colocan bolsas de criopreservación u otros tipos de bolsas. Las bolsas biológicas están limitadas mecánicamente por una placa de cubierta que contiene una bolsa de aire para la mezcla.

Un plato de aluminio que forma un soporte del dispositivo se fija en la parte superior de un conjunto de elementos Peltier dimensionados para proporcionar al dispositivo suficiente capacidad de enfriamiento o calentamiento.

50 También se proporciona aislamiento térmico alrededor del elemento Peltier. Entonces, se intercambia calor con el resto del dispositivo a través de un intercambiador de calor y un sistema de refrigeración de flujo de aire.

Bolsas múltiples

El sistema puede diseñarse para ser capaz de mezclar dos o varias bolsas crioresistentes al mismo tiempo. Varias bolsas neumáticas basadas en aire podrían inflarse o desinflarse de manera sincrónica o asincrónica de acuerdo con

las necesidades del mercado. Para controlar el sistema neumático, se usa una bomba neumática central con varias electroválvulas para controlar por separado cada bolsa de aire.

Bolsas grandes

5 El sistema también puede mezclar una gran colección de bolsas: bolsas de congelación, almacenamiento o transferencia. El movimiento de mezcla es asegurado por dos o múltiples bolsas de aire neumáticas. Si se usan dos bolsas de aire verticales para empujar y atraer, estas podrían colocarse a cada lado de la muestra biológica. Al presionar suavemente una superficie lateral a la vez, y al alternar ambos lados, el fluido se moverá de un lado al otro lado de la bolsa. De este modo, la muestra biológica mezclada con aditivo se mezcla homogéneamente durante toda la duración del proceso.

10 Se pueden usar rebordes de compresión opcionales para asegurar la creación de un buen vórtice para bolsas de gran volumen. Los rebordes pueden usarse para sostener apretadas bolsas grandes sobre una línea definida en la bolsa, creando virtualmente dos compartimentos vinculados con un pequeño paso estrecho, o para estrechar el ancho de la bolsa en el medio, por ejemplo, creando un paso estrecho todo a lo largo.

Breve descripción de los dibujos

15 Las características, aspectos y ventajas de la presente invención se harán más evidentes a partir de la siguiente descripción detallada cuando se toma en conjunto con los dibujos adjuntos, en los cuales:

la Figura 1 es un diagrama que muestra el principio de mezcla de bolsas biológicas mediante el inflado o desinflado de bolsas de aire;

20 la Figura 2A es una vista esquemática en sección transversal vertical que muestra el principio de mezcla de una muestra biológica, que muestra la bolsa neumática desinflada;

la Figura 2B es una vista en sección transversal vertical esquemática que muestra el principio de mezcla de una muestra biológica que muestra la bolsa neumática inflada;

la Figura 3A es una vista esquemática que muestra el principio de mezcla homogénea y el efecto de vórtice de una bolsa pequeña de un solo compartimento;

25 la Figura 3B es una vista esquemática que muestra el principio de mezcla homogénea y el efecto de vórtice de una bolsa pequeña de compartimento doble;

la Figura 4A es una vista en sección transversal vertical esquemática que muestra el principio de mezcla homogénea de una bolsa de sangre de gran volumen en un modo de espera con las bolsas de aire desinfladas;

30 la Figura 4B es una vista en sección transversal vertical esquemática que muestra el principio de mezcla homogénea de una bolsa de gran volumen cuando el lado izquierdo de la bolsa de sangre es presionado por una bolsa de aire inflada, creando un vórtice y un efecto de movimiento hacia el lado derecho;

la Figura 4C es una vista en sección transversal vertical esquemática que muestra el principio de mezcla homogénea de una bolsa de gran volumen cuando el lado derecho de la bolsa de sangre es presionado por una bolsa de aire inflada, creando un vórtice y un efecto de movimiento hacia el lado izquierdo;

35 la Figura 5A es una vista esquemática que muestra el principio de mezcla homogéneo y el efecto de vórtice de una bolsa de transferencia grande y la Figura 5B muestra una variante;

la Figura 6 es un diagrama de bloques que muestra una configuración del sistema de mezcla de fluidos según una realización de la presente invención;

40 la Figura 7 es un diagrama de flujo que ilustra una secuencia del proceso de bombeo y mezcla del sistema según la presente realización;

las Figuras 8A y 8B muestran gráficas de diferentes frecuencias de inflado / desinflado;

la Figura 9 es una vista en perspectiva general de una realización de un dispositivo según la invención con su soporte visible cuando la cubierta está en una posición abierta;

45 las Figuras 10A y 10B muestran una configuración posible para ajustar bolsas de criogenización grandes y pequeñas en una placa de base; y

la Figura 11 es una vista esquemática de una construcción de un almacén.

Descripción detallada

En lo sucesivo, se describirá en detalle una realización de la presente invención con referencia a los dibujos. En la realización descrita a continuación, se explicará por medio de ejemplos un sistema de mezcla automática para fluidos biológicos.

5 La Figura 1 es un diagrama que muestra el principio de mezcla de bolsas biológicas mediante el inflado o desinflado de bolsas con aire. Como se muestra en la Figura 1, el sistema de mezcla automática está compuesto por una placa de base 105 con, por ejemplo, una bolsa de almacenamiento de sangre 104 colocada sobre ella. Por encima, hay una tapa 101 que soporta una bolsa neumática 102. Cuando se infla a bolsa neumática 102 como se indica con 103, la bolsa neumática aplica una presión homogénea sobre la bolsa de sangre 104; cuando la bolsa neumática 102 está desinflada no está en contacto con la bolsa de sangre 104.

10 La Figura 2A es una vista esquemática en sección transversal vertical que muestra el principio de un sistema de mezcla automática que utiliza una bolsa neumática. Aquí, una placa de base 212 tiene una muestra biológica (sangre) 216, 217 colocada sobre ella. Cuando la cubierta 211 está cerrada, un reborde de compresión 215 crea un paso estrecho 218 para el fluido biológico. La bolsa de sangre se puede descomponer en tres partes: un pequeño depósito 216, el paso estrecho 218 y un gran depósito 217.

15 En la posición ilustrada, la bolsa de aire neumática 214 está desinflada y no está en contacto con la bolsa de sangre. Esto sucede cuando el sistema está en espera o después de una fase de inflado.

La bolsa neumática 214 está controlada por aire ambiente o aire comprimido procedente de un sistema neumático conectado a través de un tubo neumático 213.

20 La Figura 2B es una vista en sección transversal vertical esquemática que muestra el principio de mezcla de una muestra biológica mediante el inflado de la bolsa neumática 214.

Para alcanzar esta posición, el aire comprimido suministrado desde un sistema neumático es conducido a través del tubo de aire 221 con el objetivo de inflar la bolsa de aire 222. Una vez que la bolsa de aire está inflada, la membrana de la bolsa de aire está en contacto con el pequeño depósito de la bolsa de sangre 225 y se aplica homogéneamente una presión distribuida sobre la superficie del depósito pequeño 223.

25 El fluido biológico se mueve al depósito de gran volumen 224 con una presión incrementada debido al paso estrecho 226. Un efecto de vórtice asegurará una mezcla buena y homogénea debido al paso estrecho, a la forma de la bolsa y al diseño del reborde de compresión.

30 La Figura 3A es una vista esquemática que muestra el principio de mezcla homogénea y el efecto vórtice de una bolsa pequeña de un solo compartimento 302 colocada sobre una placa de base 301. La bolsa de aire de inflado / desinflado 305 se ve prácticamente desde arriba, como se indica en líneas discontinuas.

35 Cuando se necesita mezclar una bolsa pequeña de un solo compartimento, es necesario un reborde de compresión 306, y éste crea un paso estrecho 304, creando en la práctica un depósito pequeño y grande a ambos lados. Cuando se infla la bolsa de aire 305 y está en contacto con el depósito pequeño virtual, el fluido se mueve hacia el depósito grande a través del paso estrecho 304 y se crea un efecto de vórtice 303. Este efecto de vórtice asegura una mezcla biológica eficiente.

Este efecto de vórtice es importante para asegurar una mezcla homogénea y suave cuando se mezcla la muestra, y especialmente mientras se bombea un aditivo a la bolsa 302 mediante un tubo de entrada 307.

40 La Figura 3B es una vista esquemática que muestra el principio de mezcla homogénea y el efecto de vórtice de una pequeña bolsa de compartimento doble 312 colocada sobre una placa de base 311. Una bolsa de aire de inflado / desinflado 315 se ve prácticamente desde arriba, como se indica en líneas discontinuas.

45 Cuando se necesita mezclar una bolsa pequeña de compartimento doble mediante la estructura de la bolsa, ya existe un paso estrecho 314 y el reborde de compresión 316 no es necesario. Cuando la bolsa de aire 315 está inflada y en contacto con el depósito pequeño, el fluido se mueve al depósito grande a través del paso estrecho 314 y se crea un efecto de vórtice 313. Este efecto de vórtice es importante para asegurar un mezclado homogéneo y suave cuando se mezcla la muestra, y especialmente mientras se bombea un aditivo hacia la bolsa 312 mediante un tubo de entrada 317.

La Figura 4A es una vista en sección transversal vertical esquemática que muestra el principio de mezcla homogénea de una bolsa de sangre de gran volumen. La placa de base universal está representada por 401, y la cubierta por 400.

La bolsa de sangre de gran volumen está en la práctica separada en un depósito izquierdo 406 y uno derecho 407, por la intermediación de un canal estrecho 409 creado por los rebordes de compresión 408 sobre la placa de base 401 y la cubierta 400. Los dos depósitos de volumen virtuales pueden tener volúmenes equivalentes o diferentes, dependiendo de la forma de la bolsa o del volumen a mezclar.

- 5 Un sistema neumático está compuesto por dos bolsas neumáticas izquierda 404 y derecha 405 y por dos tubos de aire izquierdo 402 y derecho 403, respectivamente, conectados a un dispositivo neumático. En la posición ilustrada, las bolsas de aire 404, 405 no están en contacto con la bolsa de sangre.

10 La Figura 4B es una vista en sección transversal vertical esquemática que muestra el principio de mezcla homogénea de una bolsa de gran volumen cuando el lado izquierdo de la bolsa de sangre 414 es presionado por una bolsa de aire inflada 412, creando un movimiento del fluido y un efecto de vórtice desde el depósito izquierdo 414 hacia el depósito derecho 413. En esta configuración, el aire comprimido proviene del tubo de aire 410 e infla la bolsa de aire izquierda 412. La bolsa de aire derecha 415 está desinflada y no está en contacto con la bolsa de sangre.

15 La Figura 4C es una vista en sección transversal vertical esquemática que muestra el principio de mezcla homogénea de una bolsa de gran volumen cuando el lado derecho de la bolsa de sangre 424 es presionado por una bolsa de aire inflada 423, creando un movimiento del fluido y un efecto de vórtice del fluido desde el depósito derecho 424 hacia el depósito izquierdo 425. En esta configuración, el aire comprimido proviene del tubo de aire 421 e infla la bolsa de aire derecha 423. La bolsa de aire izquierda 422 está desinflada y no está en contacto con la bolsa de sangre.

20 La Figura 5A es una vista esquemática que muestra el principio de mezcla homogénea y el efecto de vórtice de una bolsa de transferencia grande 502 colocada sobre la placa de base 501. Una superficie de bolsa de aire inflado / desinflado 503 se ve prácticamente desde arriba, como se indica en líneas discontinuas. Con el fin de crear dos depósitos virtuales separados, son necesarios rebordes de compresión 506 y crear un paso estrecho 504 para el fluido. Cuando se infla con aire una bolsa de aire, esta empuja el volumen equivalente de fluido sobre el otro depósito a través del paso estrecho 504. Durante la fase de inflado de una bolsa de aire lateral 503, el fluido que pasa a través del paso estrecho 504 crea un efecto de vórtice 505 sobre el otro lado de la bolsa de sangre. Una vez que la bolsa de aire 503 está completamente inflada sobre un lado, esta se desinfla y se infla la otra bolsa de aire lateral creando el mismo efecto de vórtice sobre el otro lado de la bolsa de sangre. Un movimiento alternativo asegura una mezcla homogénea de la bolsa de sangre. Este efecto de vórtice es importante para asegurar una mezcla homogénea, especialmente mientras se bombea un aditivo hacia la bolsa mediante un tubo conector 507.

30 La Figura 5B es una vista esquemática que muestra una variante de la creación de un efecto de vórtice en una bolsa de transferencia grande. Este efecto de vórtice se crea al estrechar el paso entre dos lados de la bolsa en todo el ancho de la bolsa. La placa de base 511 tiene la bolsa de sangre grande 512 colocada sobre ella. Una superficie 513 de bolsa de aire inflada / desinflada se ve prácticamente desde arriba, como se indica en líneas de puntos.

35 Con el fin de crear dos depósitos virtuales separados, unos rebordes de compresión 514 forman un paso ligeramente apretado entre dos lados de la bolsa y el paso estrecho 516 de fluido. Cuando se infla una bolsa de aire lateral, esta estará en contacto con una superficie lateral, empujando al fluido hacia el otro depósito a través del paso estrecho 516. Durante la fase de inflado de una superficie 513, el fluido en movimiento a través del paso estrecho creará un efecto de vórtice sobre el otro lado de la bolsa de sangre 515. Como se muestra en la Figura 5A, se crea un efecto de vórtice cuando se infla un lado, y un movimiento alternativo asegura una mezcla homogénea de la bolsa de sangre 512. Este efecto de vórtice es importante para asegurar una mezcla homogénea y suave cuando se mezcla la muestra, y especialmente cuando se bombea un aditivo hacia la bolsa por un tubo conector 517.

La Figura 6 es un diagrama de bloques que muestra una configuración del sistema de mezcla de fluidos según la presente realización. Como se muestra en la Figura 6, el sistema está compuesto por un conjunto de bolsas de aire neumáticas de diferentes tamaños 110, y un sistema automatizado 100 que controla el flujo de aire en las bolsas neumáticas con componentes electrónicos apropiados.

45 Se utiliza una plataforma versátil con un conjunto de varias bolsas de aire con el fin de cubrir un amplio rango de formas y volúmenes de bolsas de sangre. Las bolsas de aire A1 111 y A2 112 tienen el mismo tamaño y se usan para mezclar simultáneamente dos bolsas pequeñas de compartimentos. Las bolsas de aire B 113 y C 114 son dos bolsas neumáticas más grandes capaces de mezclar ambos lados de una bolsa de sangre grande.

50 El sistema de control principal 100 (Figura 6) incluye una fuente de alimentación 120 para suministrar energía eléctrica a la CPU principal y al sistema, una unidad de procesamiento central (CPU) 121 y una memoria 126 para controlar y monitorizar el sistema de mezcla. Este incluye un sistema neumático con válvulas de solenoide 115 – 116 – 117 – 118 y una bomba neumática 124, controladores electrónicos 122 y sensores de presión de realimentación 125, un control térmico 134 con controlador 133 y sensores térmicos de realimentación 135, y finalmente bombas peristálticas 131 – 132 y un controlador 130 para agregar aditivos a las bolsas de sangre.

El sistema neumático es controlado por la CPU 121 que determina qué bolsa se debe inflar o desinflar y con qué frecuencia y perfil. Las instrucciones proporcionadas a la CPU 121 se almacenan en la porción de memoria 126. Una primera acción es el control de la bomba 124 a través de un circuito de accionamiento 122 para generar aire comprimido para las bolsas de aire. Varias válvulas 115 – 118 son controladas a través de un circuito de accionamiento 123 y tienen la función de inflar o desinflar cada bolsa por separado. La válvula 118 es la válvula principal que controla el flujo de aire a todas las bolsas de aire. La válvula de solenoide 115 controla simultáneamente las bolsas de aire A1 111 y A2 112. Esas dos bolsas son infladas o desinfladas al mismo tiempo para mezclar dos bolsas pequeñas de forma sincrónica. Las válvulas de solenoide 116 y 117 controlan respectivamente dos bolsas de aire más grandes 113, 114 de forma separada para mezclar ambos lados de una bolsa de sangre de gran volumen. Un movimiento alternativo asegura la mezcla de bolsas grandes. Un sensor de presión 125 monitoriza constantemente el sistema neumático y proporciona información a la CPU 121 para la gestión del control.

Un sistema de control térmico asegura una temperatura estabilizada para las bolsas de muestras biológicas. Está compuesto por un control térmico 134 accionado por la electrónica 133. El sensor de temperatura 135 proporciona información a la CPU 121 para controlar el sistema térmico.

Dos bombas peristálticas 131 – 132 se implementan también en el sistema. Están controladas por el circuito 130 de accionamiento de la bomba y se utilizan para bombear fluidos aditivos hacia las bolsas de sangre. Se necesitan dos bombas peristálticas cuando se usan simultáneamente dos bolsas de volumen.

La Figura 7 es un diagrama de flujo que ilustra un flujo del proceso de bombeo y mezcla del sistema según la presente realización. El programa según este diagrama de flujo se almacena previamente en una porción de memoria 126, y el proceso de mezcla se lleva a cabo a medida que la CPU 121 lee este programa desde la porción de memoria 126 y ejecuta las instrucciones secuencialmente.

Como se muestra en la Figura 7, cuando se enciende la alimentación y se inicia una aplicación, se inicializa el sistema en S100. Cuando el sistema está listo para ejecutar instrucciones, una primera acción es estabilizar la temperatura a un valor predeterminado en S101. Una vez que la temperatura se estabiliza y se inserta correctamente una bolsa biológica en el dispositivo, puede comenzar el proceso de mezcla S102 así como el bombeo del aditivo biológico. Durante el proceso de mezcla, las bolsas de aire se inflan constantemente en S103 y se desinflan en S104. El inflado de las bolsas se realiza por medio de aire comprimido y se detiene cuando un umbral de presión alcanza un nivel prescrito. El desinflado de la bolsa es realizado mediante una válvula de escape y se detiene cuando se alcanza un segundo umbral de presión.

Durante la fase de mezclado y bombeo, hay un control S105 que comprueba si se ha alcanzado un volumen deseado de aditivo o un límite de tiempo. Si no se han alcanzado las limitaciones, el proceso continúa y la bolsa de aire se infla S103 y desinfla S104 secuencialmente.

Al final del proceso se ha añadido suficiente fluido de aditivo a la bolsa de sangre o se ha alcanzado un límite de tiempo de mezcla. En este estado S106, las bombas peristálticas 132, 132 y la bolsa de mezcla detienen su funcionamiento y entonces el proceso finaliza.

A continuación se describen ejemplos típicos de mezcla de bolsas.

Una bolsa de pequeño volumen (por ejemplo, de 87 x 66 mm) que contiene una muestra biológica (por ejemplo, de 20 ml) se mezcla mediante una pequeña superficie empujada y atraída por una bolsa de aire. Como la superficie en contacto es pequeña, el movimiento debe ser dinámico y repetitivo. Una frecuencia media de 0.5 Hz o una mezcla cada dos segundos es adecuada. La bolsa de aire se infla a través de un sistema neumático, y una vez que se alcanza una presión máxima de, por ejemplo, 300 mBar, una válvula de fuga desinfla rápidamente la bolsa de aire. Luego, el sistema repite el mismo ciclo cada dos segundos, como se muestra en la Figura 8A.

Para mezclar un volumen grande típico de aproximadamente 100 mililitros de muestra biológica en una bolsa grande (que mide, por ejemplo, aproximadamente 240 x 145 mm), se necesita un movimiento más lento con una presión más baja. Una frecuencia media típica de 0.1 Hz, o una mezcla cada diez segundos es adecuada. La bolsa de aire se infla a través de un sistema neumático, y una vez que se alcanza una presión máxima de 100 mBar, una válvula de fuga desinfla rápidamente la bolsa de aire. Luego, el sistema repite el mismo ciclo cada diez segundos, como se muestra en la FIG. 8B.

La Figura 9 muestra una realización del dispositivo según la invención con su cubierta 930 abierta. El dispositivo comprende un armazón 920 sobre el cual está montada una placa de base 901. La placa de base 901 está adaptada para recibir dos bolsas de criogenización pequeñas o una grande y tiene unos rebordes centrales permanentes 915 para estrechar la parte media de una bolsa de criogenización grande. En la parte delantera del armazón 920 hay una

pantalla táctil 922 para controlar el funcionamiento del dispositivo. También son visibles unas bombas peristálticas 940 para suministrar aditivos durante la operación.

5 La cubierta 930 está montada de manera pivotante en el armazón 920 mediante una bisagra 931. La cubierta / armazón están provistos de medios para bloquear la cubierta 330 en una posición cerrada sobre el armazón 320, para evitar que la cubierta se abra / eleve como resultado del inflado de una bolsa de aire 952 / 933 durante la mezcla. Estos medios de bloqueo se pueden activar manual o automáticamente para bloquear y desbloquear antes y después de la mezcla.

10 Como se muestra, en este ejemplo, la cubierta 930 soporta dos juegos de bolsas de aire grandes 932 y pequeñas 933. Ambas, las bolsas de aire grandes 932 y las bolsas de aire pequeñas 933, se ajustan a cada lado del reborde permanente 915 sobre el soporte 901. Entre cada bolsa de aire grande 932 y cada bolsa de aire pequeña 933 sobre la cubierta 930 hay un espacio 935 para ajustar los rebordes extraíbles que pueden ser colocados y quitados por el operador y que convenientemente pueden mantenerse en su lugar de forma magnética contra la cubierta metálica 930.

15 Detrás del armazón 920 hay un marco vertical con dos postes 950 cuya altura es apenas mayor que la parte superior de la cubierta 930 cuando esta está abierta, como se muestra.

Las Figuras. 10A y 10B muestran configuraciones posibles para ajustar bolsas de criogenización grandes y pequeños en una placa de base 1001 dada que mide, por ejemplo, 240 x 145 mm.

20 Como se muestra en la FIG. 10A, una única bolsa de criogenización grande 1002 puede cubrir prácticamente toda la placa de base 1001. En este caso, durante la mezcla, la bolsa de criogenización será dividido a través de parte de su centro por el reborde permanente 915 (Figura 9).

25 Como se muestra en la FIG. 10B, dos pequeñas bolsas de criogenización 1003 y 1004, que miden, por ejemplo, 87 x 64 mm, pueden ajustarse en la placa de base 1001. La bolsa de criogenización pequeña 1003 no está dividida, por lo que, en este caso, el operador ajustará un reborde magnético extraíble en 935 (Figura 9) para forman una constricción a través de una parte del ancho de la bolsa de criogenización pequeña 1003. Por otra parte, la bolsa de criogenización pequeña 1004 ya tiene una división integrada en la que sus dos caras están soldadas entre sí, por lo que no es necesario colocar un reborde extraíble.

30 La Figura 11 ilustra una vista lateral del interior de la parte inferior del armazón 1120. La parte frontal del dispositivo está a la izquierda de la Figura 11 y su parte posterior, a la derecha. El armazón 1120 está montado sobre unas patas 1122 y 1124 de longitud desigual, lo que proporciona al dispositivo una inclinación de unos pocos grados, con la parte delantera inferior.

35 Sobre la parte superior del armazón 1120 hay una placa de base inclinada 1101 apoyada sobre dos elementos Peltier 1126 que, a su vez, se apoyan sobre un disipador de calor 1128 metálico reticulado / ranurado. El disipador de calor 1128 se coloca sobre un ventilador 1130 que, cuando se hace funcionar, elimina el aire caliente del disipador de calor. El aire entra desde abajo y sale desde los lados. La temperatura deseada para la placa de base 1101 y, por lo tanto, para las muestras que se mezclan, puede ser establecida por el operador.

Usando la pantalla táctil 922, el operador también puede establecer el tiempo de mezcla y la frecuencia de inflado / desinflado, así como el posible suministro de un aditivo.

REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo para mezclar muestras biológicas contenidas en bolsas almacenamiento flexibles (104) a temperatura controlada, en el cual las bolsas de almacenamiento flexibles (104) pueden servir, además de almacenamiento, para la recolección, almacenamiento congelado o transferencia de muestras biológicas, comprendiendo el dispositivo::
- 5
- a) un soporte (105) para soportar una bolsa de almacenamiento (104) que contiene una muestra biológica a ser mezclada;
 - b) medios para impartir un desplazamiento a la muestra en la bolsa de almacenamiento (104) sobre el soporte (105) para mezclar la muestra; y
 - 10 c) medios de control de temperatura para mantener la muestra a una temperatura controlada durante la mezcla, en el cual
 - d) dichos medios para impartir desplazamiento a la muestra comprenden por lo menos una bolsa capaz de inflarse / desinflarse (102, 103) que, cuando se infla, hace contacto con la superficie de una parte de la bolsa de almacenamiento (104) para presionar, de forma progresiva, la bolsa de almacenamiento (104) y desplazar las muestras contenidas hacia otra parte de la bolsa de almacenamiento (104);
- 15 caracterizado por que:
- el soporte (105) es una placa de base (105) sobre la cual puede colocarse la bolsa de almacenamiento (104),
 - la bolsa capaz de inflarse / desinflarse (102, 103) se coloca por debajo de una cubierta (101) que se ajusta sobre el soporte (105), estando colocada la bolsa capaz de inflarse / desinflarse (102, 103) sobre la ubicación de la bolsa de almacenamiento (104) soportada y por debajo de la cubierta (101), la cubierta (101) está montada de forma pivotante sobre el soporte (105) entre una posición cerrada y una posición abierta, y
 - el dispositivo comprende además medios para bloquear la cubierta (101) en la posición cerrada sobre el soporte (105) para impedir que la cubierta se abra como resultado del inflado de la bolsa capaz de inflarse / desinflarse (102, 103) durante el mezclado.
- 20
- 25 2. El dispositivo según la reivindicación 1, que comprende además medios para suministrar un aditivo a la muestra biológica en una bolsa de almacenamiento (104) colocada sobre el soporte (105), antes y / o durante la mezcla.
3. Dispositivo según la reivindicación 1 o 2, que comprende además un reborde que se proyecta desde la cubierta (101) y / o desde el soporte (105) para constreñir una bolsa de almacenamiento (104) sobre el soporte (105).
- 30 4. El dispositivo según la reivindicación 3, que comprende por lo menos un reborde extraíble que puede fijarse de manera extraíble sobre la cubierta (101) y / o sobre el soporte (105).
5. El dispositivo según la reivindicación 3 o 4, en el cual el soporte (105) está configurado para recibir una bolsa de almacenamiento grande (104) o dos bolsas de almacenamiento pequeñas (104), teniendo el soporte y / o la cubierta (101) un reborde que constriñe una parte media de la bolsa de almacenamiento grande cuando está colocada, y sobre cualquiera de los dos lados del cual se pueden colocar las bolsas de almacenamiento pequeñas (104).
- 35 6. El dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el cual los medios de control de temperatura comprenden al menos un elemento Peltier situado por debajo del soporte (105) por encima de un disipador de calor.
7. Un método para mezclar muestras biológicas en bolsas de almacenamiento flexibles (104) en un dispositivo según cualquier reivindicación precedente, mantenido a temperatura controlada en el dispositivo, que comprende la impartición de desplazamiento a una muestra en una bolsa de almacenamiento (104) mediante el inflado y desinflado de forma repetida de una bolsa de aire capaz de inflarse / desinflarse (102, 103), de manera tal que, cuando la bolsa de aire capaz de inflarse / desinflarse (102, 103) está inflada, esta contacta con la superficie de una parte de una bolsa de almacenamiento (104) para presionar de forma progresiva la bolsa de almacenamiento (104) y desplazar la muestra contenida hacia otra parte de la bolsa de almacenamiento (104), en el cual, durante dicho inflado de la bolsa capaz de inflarse / desinflarse (102, 103) la cubierta (101) del dispositivo se mantiene en su posición cerrada mediante dichos medios para bloquear a la misma.
- 40 8. El método de la reivindicación 7, en el cual el aditivo es suministrado a la muestra contenida en la bolsa de almacenamiento (104) durante la mezcla.
- 45 9. Uso del dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 1 – 6 para mezclar muestras biológicas seleccionadas de entre sangre completa, sangre de placenta / cordón umbilical, médula ósea, producto de aféresis o fracción vascular estromal (SVF).
- 50

FIG.1

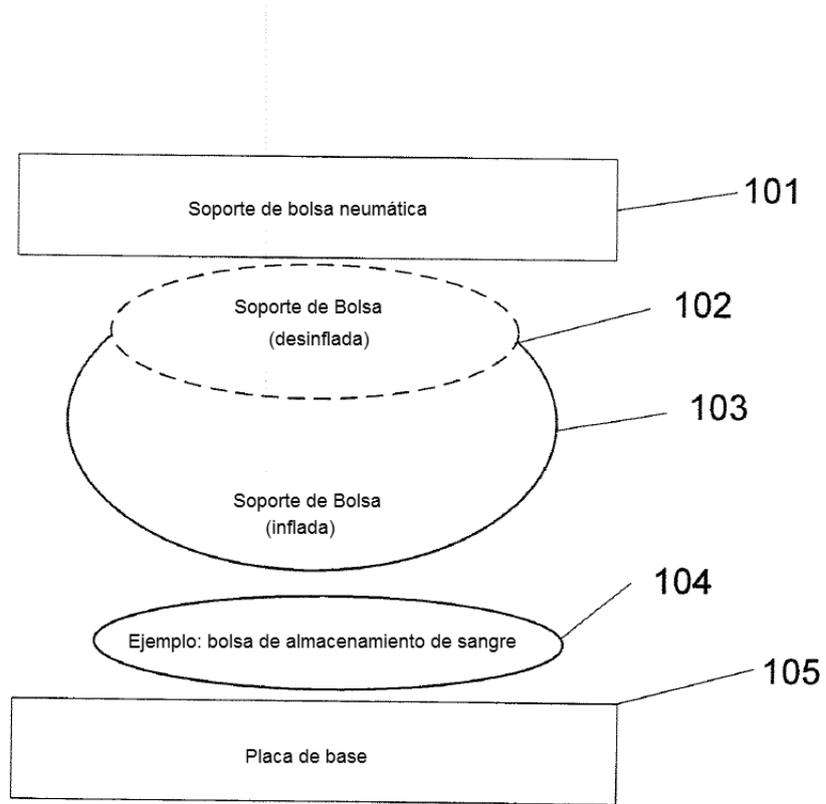


FIG.2A

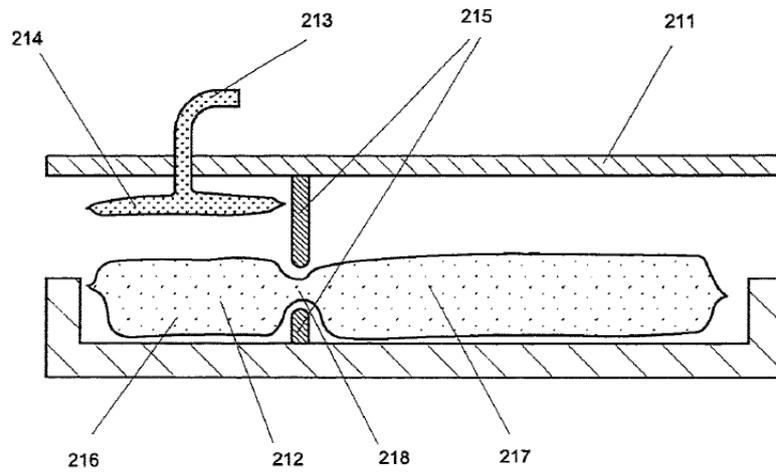


FIG.2B

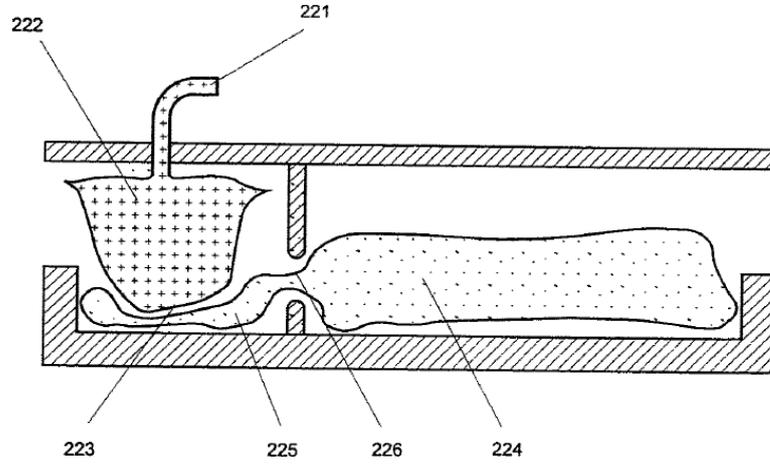


FIG.3A

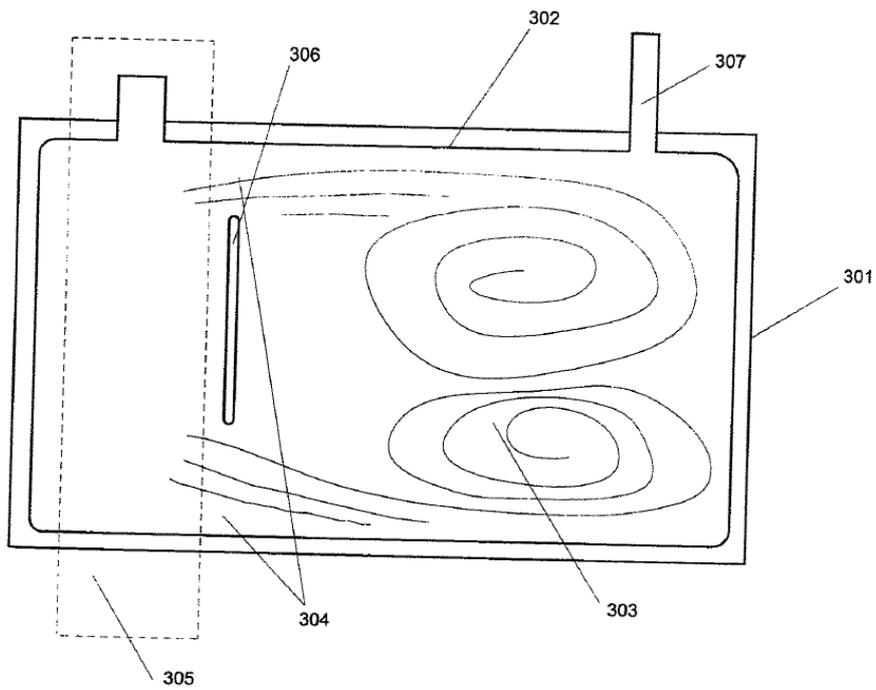


FIG.3B

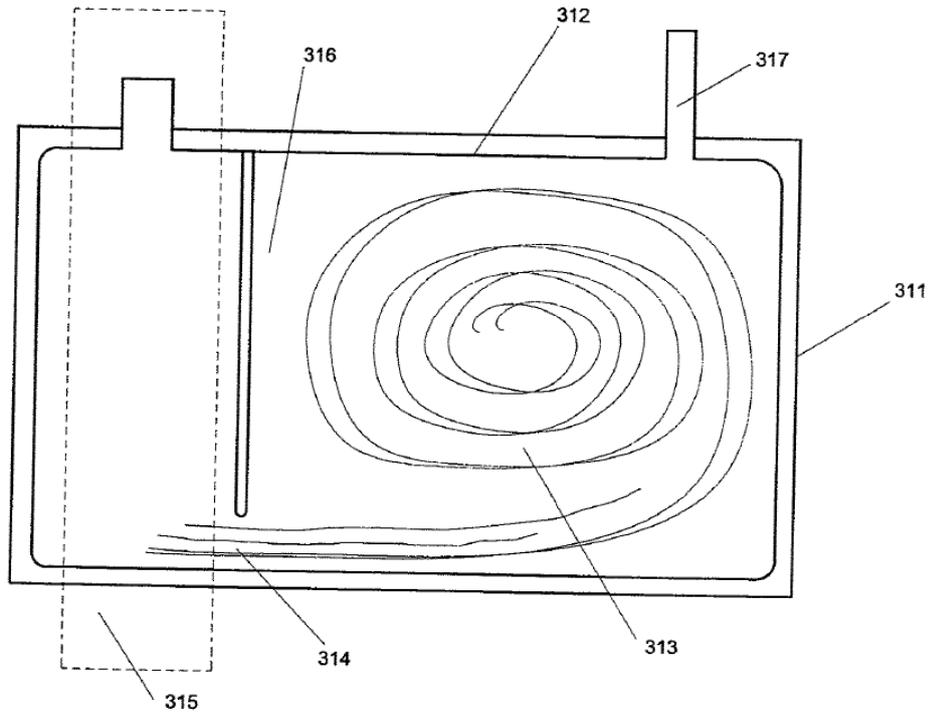


FIG.4A

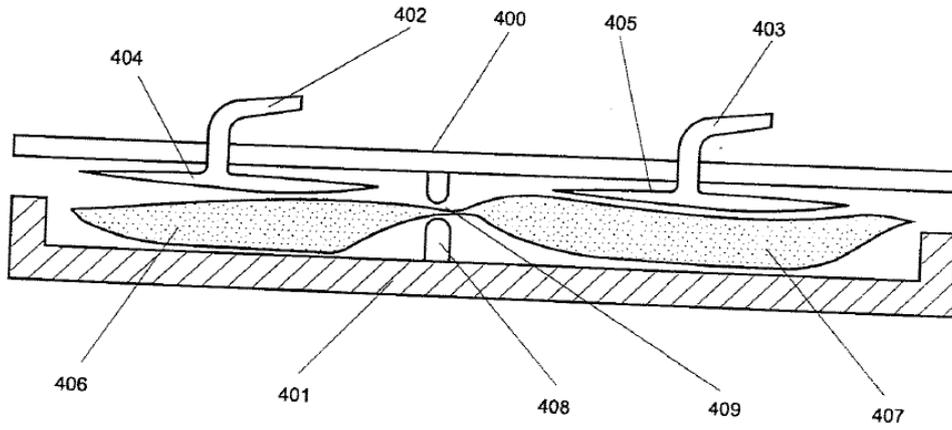


FIG.4B

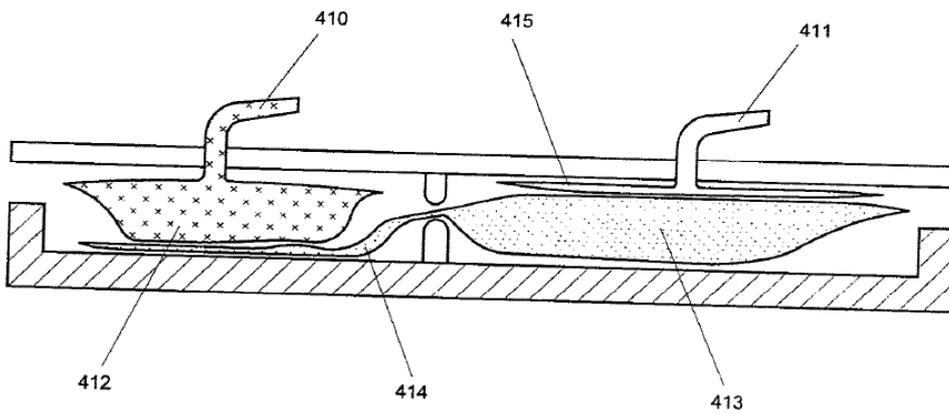


FIG.4C

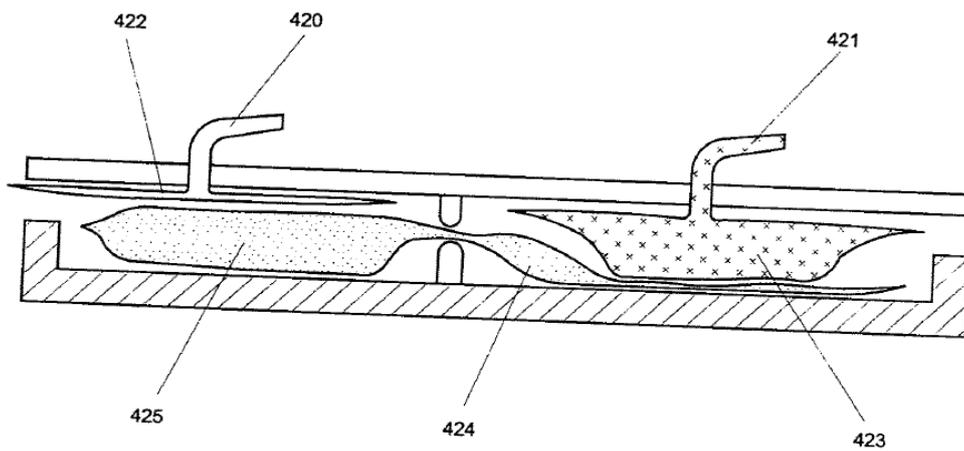


FIG.5A

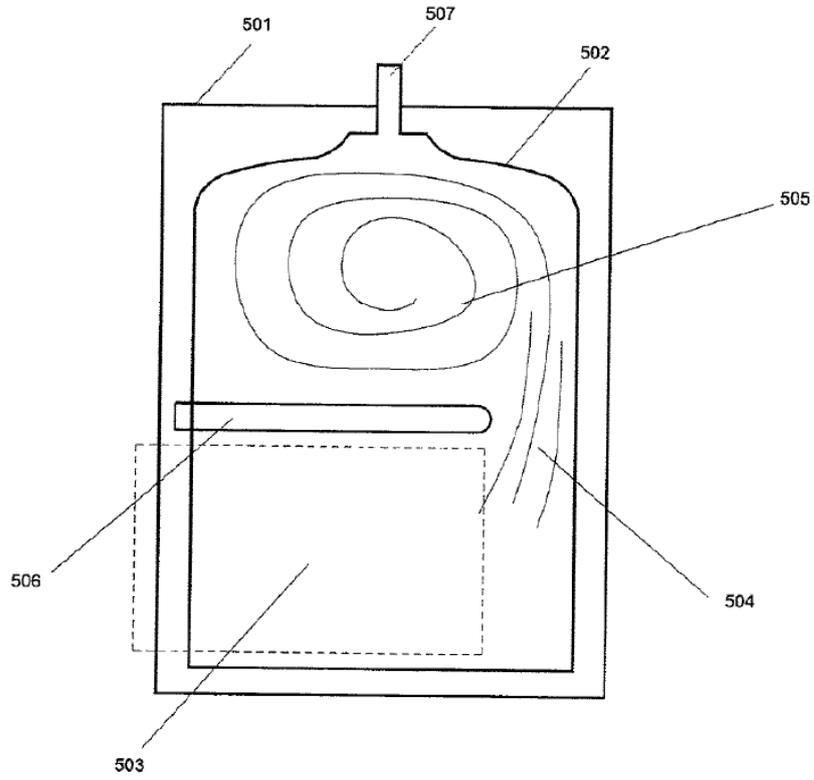


FIG. 5B

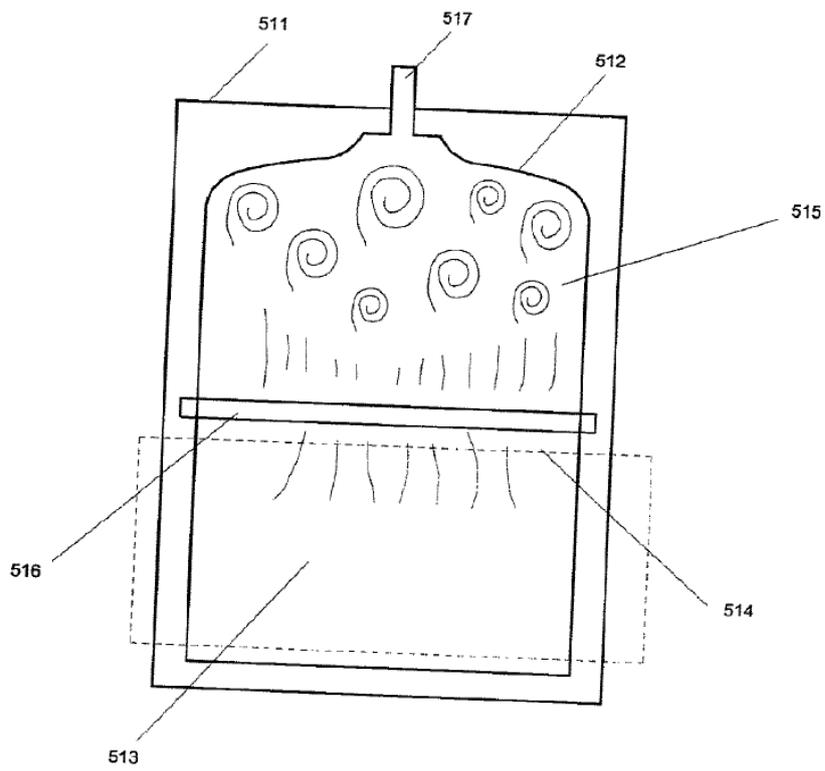


FIG.6

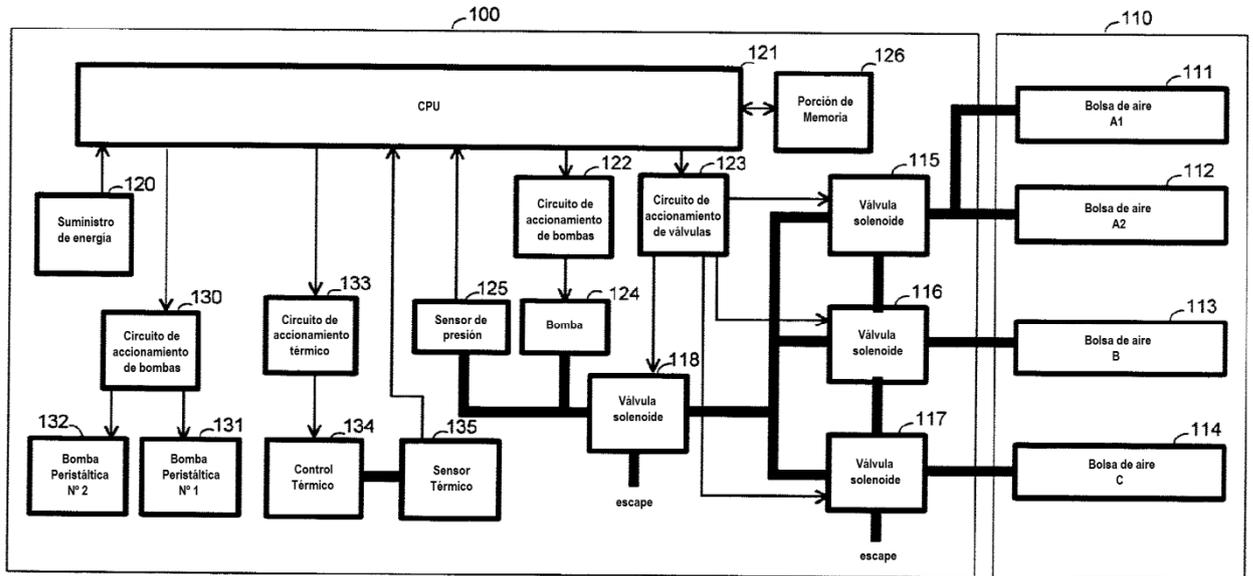


FIG.7

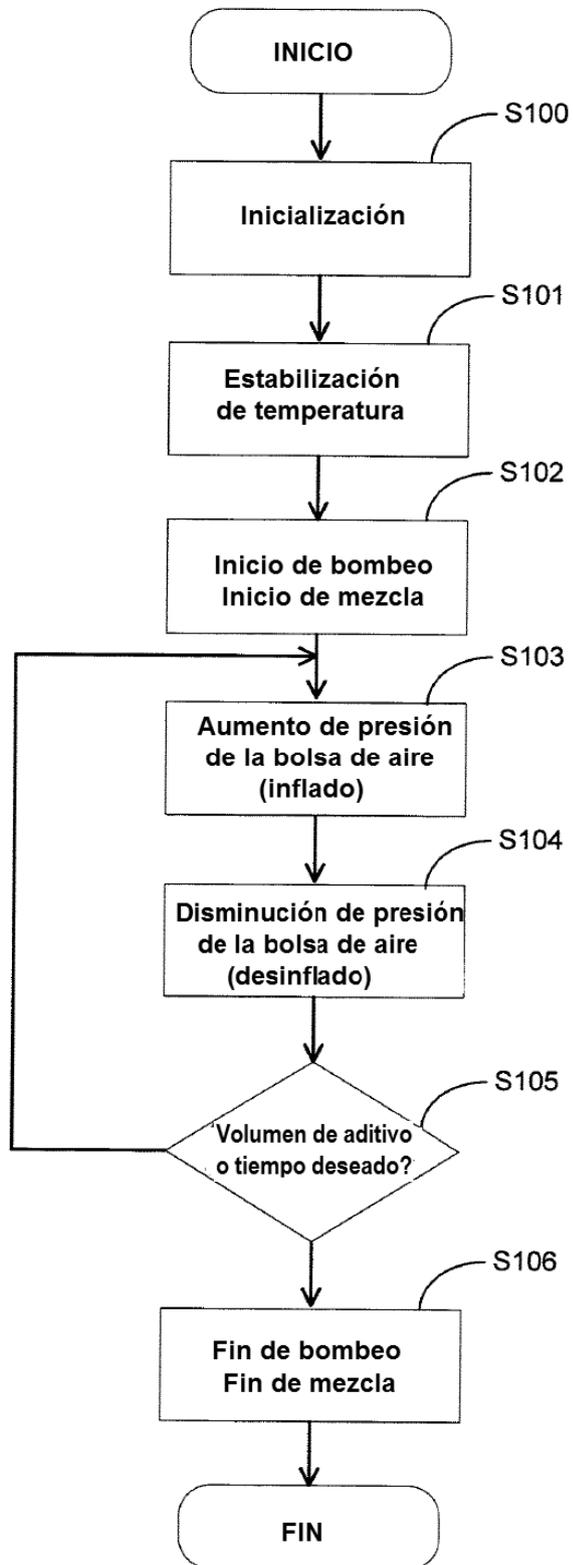


FIG. 8A

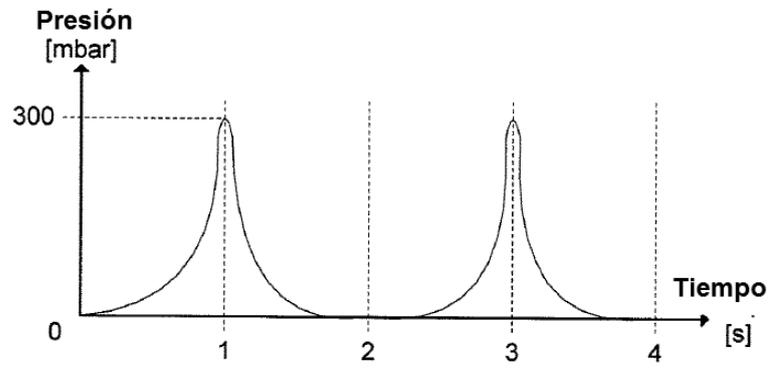


FIG. 8B

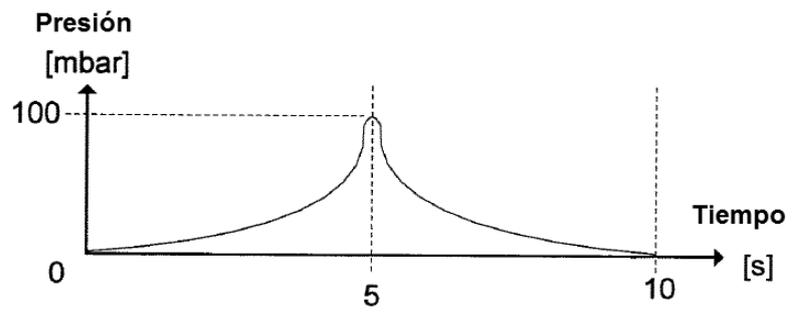


FIG. 9

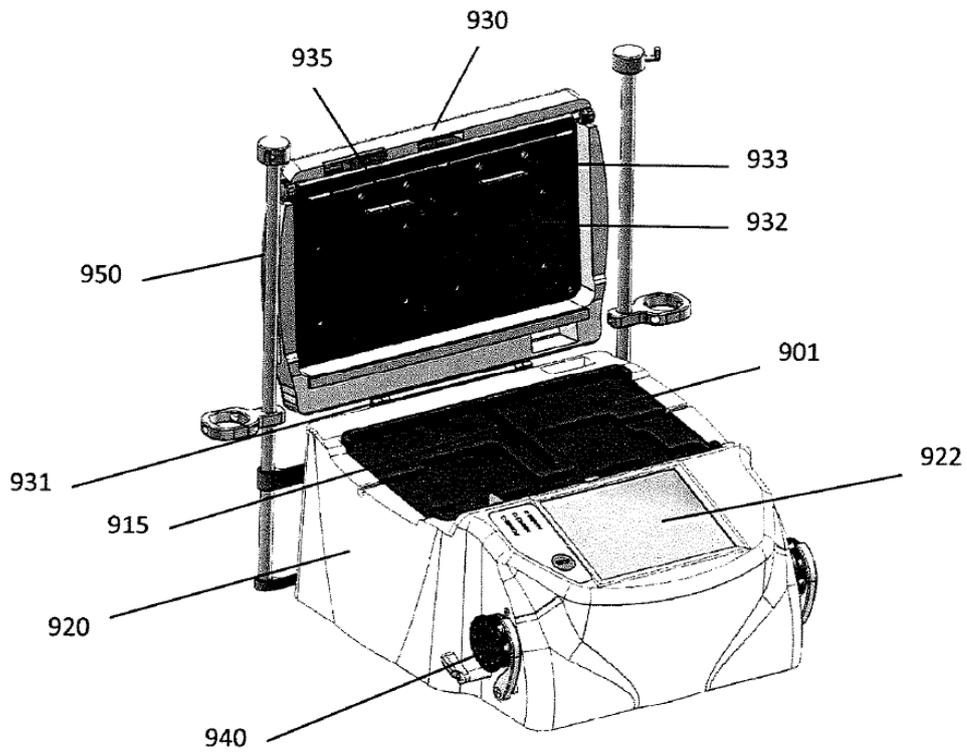


FIG. 10A

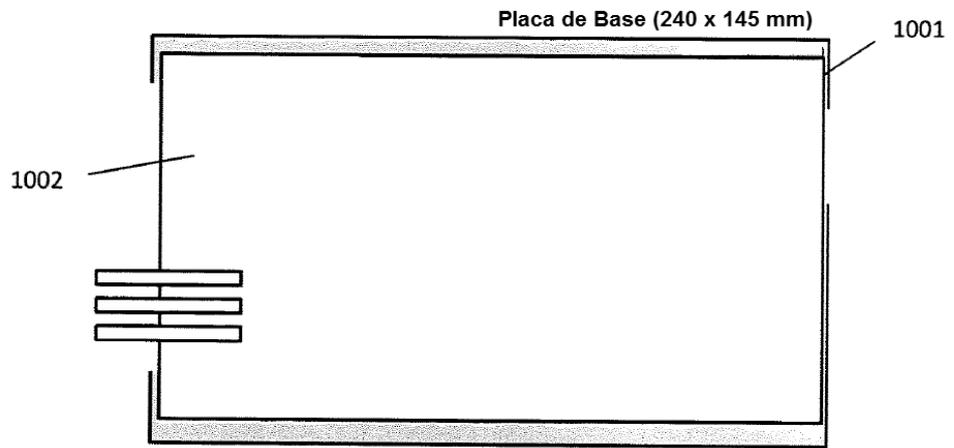


FIG 10B

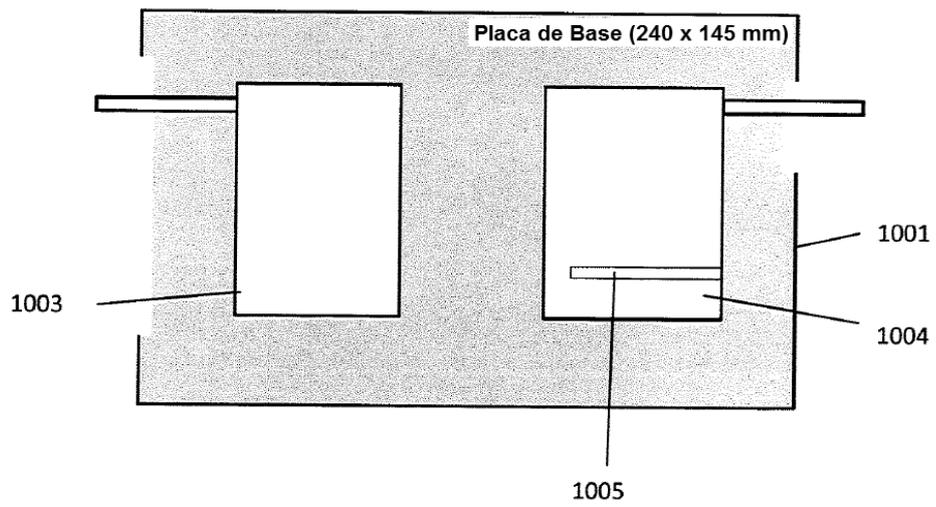


FIG. 11

