

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 736 224**

51 Int. Cl.:

F04B 43/12 (2006.01)

C12M 1/26 (2006.01)

A01N 1/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.02.2012** **PCT/US2012/025926**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.08.2012** **WO12115955**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.02.2012** **E 12749724 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.06.2019** **EP 2678415**

54 Título: **Sistema de llenado para proporcionar concentraciones y volúmenes uniformes y sus métodos**

30 Prioridad:

22.02.2011 US 201161445235 P

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

27.12.2019

73 Titular/es:

**PROMETHERA BIOSCIENCES SA (100.0%)
Watson & Crick Hill, Rue Granbonpré 11
1435 Mont Saint Guibert, BE**

72 Inventor/es:

**AUSTIN, CHRISTOPHER D.;
WHELTON, PATRICIA M. y
SHERWOOD, SONYA OLABISI AMELIA MEHEUX**

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 736 224 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 llenado para proporcionar concentraciones y volúmenes uniformes y sus métodos

5 Antecedentes de la invención

Campo de la invención

10 La presente invención se refiere en general a dispositivos y métodos para preparar, en un sistema cerrado, una suspensión celular para almacenamiento.

Descripción de la técnica relacionada

15 Con los últimos avances en trasplante celular, ingeniería de tejidos y tecnologías genéticas, la célula viva se está convirtiendo en una importante herramienta terapéutica en varios tratamientos médicos. La disponibilidad y eficacia de los tratamientos médicos que impliquen la administración de células vivas depende de la conservación y almacenamiento exitosos de las células vivas.

20 Las células pueden permanecer viables durante meses o años a temperaturas criogénicas (por ejemplo, temperaturas por debajo de unos -100 °C). Tales temperaturas criogénicas no son generalmente letales para las células. En cambio, el daño celular y la muerte celular a menudo ocurren cuando las células se preparan y se enfrían. Por lo tanto, el almacenamiento de células a temperaturas criogénicas que luego son adecuadas (viables) para su uso en tratamientos médicos es posible cuando las temperaturas criogénicas se pueden obtener sin incurrir en daños fatales a las células.

25 Las dos causas principales del daño fatal a las células durante el enfriamiento son (1) la formación de cristales de hielo dentro de las células, y (2) la pérdida de agua del interior de la célula por ósmosis. Si la congelación se lleva a cabo lentamente, el hielo tenderá a formarse fuera de la célula en lugar de dentro. Con un enfriamiento adicional, el agua del interior de la célula pasará por ósmosis a través de la membrana celular para agregar al crecimiento cristales de hielo extracelulares. Al salir de la célula, grandes concentraciones de solutos, a menudo fatales, se quedan en el interior de la célula. Por lo tanto, el enfriamiento rápido suele ser fatal para la célula debido a la formación de hielo intracelular; el enfriamiento lento suele ser fatal debido a las altas concentraciones de soluto dentro de la célula.

35 Con frecuencia, se usan diversos crioprotectores para evitar la formación de hielo y/o retrasar el inicio de la formación de hielo a la temperatura más baja posible. Dichos crioprotectores conocidos en la técnica son típicamente glicerol, dimetilsulfóxido (DMSO), etilenglicol, propilenglicol, acetato de trimetilamina y otros solutos de alto peso molecular capaces de unirse fuertemente al hidrógeno con el agua. Desafortunadamente, muchos crioprotectores son tóxicos para las células bajo ciertas condiciones, por ejemplo, exposición al crioprotector durante un cierto período de tiempo a una cierta temperatura. Por ejemplo, el DMSO es tóxico para las células expuestas al mismo por períodos de aproximadamente 30 minutos o más a temperaturas superiores a 4 °C.

45 Desafortunadamente, los dispositivos y métodos actuales para la crioconservación celular no permiten la crioconservación rápida y eficiente de múltiples preparaciones celulares de concentraciones y volúmenes uniformes.

50 El documento US 2011/020856 A1 describe un dispositivo de perfusión con un alojamiento de receptáculo con una pluralidad de recipientes de muestra y una bomba peristáltica multicanal para controlar el flujo de solución a través de los recipientes de muestra. El documento US 7618584 B2 describe un sistema cerrado estéril para criopreservar sangre y otros fluidos corporales; se sugiere el uso de una bomba para controlar el flujo de los fluidos. El documento WO 9935495 A2 describe la criopreservación de células cultivadas con un sistema cerrado estéril, resuspendida en criosolución y dispensada por bomba peristáltica desde un depósito partes alícuotas en crioviales.

Sumario de la invención

55 La presente invención es un sistema de llenado cerrado y estéril para preparar una pluralidad de recipientes que tienen una suspensión celular biológicas para crioconservación, que comprende: un recipiente de inicio que contiene un material de inicio que comprende células biológicas para que sean distribuidas como una suspensión de concentración y volumen uniformes en una pluralidad de recipientes; al menos un crioprotector para ser mezclado con el material de inicio; un sistemas de líneas de fluido que tiene una pluralidad de líneas de fluido; la pluralidad de recipientes; una jeringa; y una bomba peristáltica multicanal que tiene una cabeza de bomba, en el que el recipiente de inicio está conectado al sistema de líneas de fluido y cada recipiente de la pluralidad de recipientes está conectada a una línea de fluido de la pluralidad de líneas de fluido para formar un sistema cerrado en el que un fluido puede fluir del recipiente de inicio a través del sistema de las líneas de fluido hasta cada recipiente de la pluralidad de recipientes, en el que el recipiente de inicio incluye un puerto de entrada y un puerto de salida para transferencia aséptica del fluido dentro y fuera del recipiente de inicio y un puerto bidireccional, en el que el recipiente de inicio está conectado a una primera línea de fluido, y dicha primera línea de fluido está conectada a la

pluralidad de líneas de fluido a través de al menos un multiconector, en el que la jeringa está conectada a la primera línea de fluido a través de un puerto bidireccional para empujar el fluido o mover gas dentro y fuera de las líneas de fluido, y en el que cada una de las líneas de fluido de la pluralidad de las líneas de fluido se aplica con cada canal en la cabeza de bomba de manera que el funcionamiento de la bomba peristáltica multicanal ayude al flujo de fluido por el sistema de líneas de fluido y cada línea de fluido de la pluralidad de las líneas de fluido comprende un regulador de flujo de fluido para regular el flujo en cada una de dichas líneas de fluido, y en el que la bomba peristáltica multicanal puede ser accionada en una dirección hacia adelante o una dirección hacia atrás.

En algunas realizaciones, el sistema de llenado comprende además un sistema informático que tiene un programa informático y un controlador que automáticamente, de acuerdo con el programa informático, acciona la bomba peristáltica, orienta y/o agita el recipiente de inicio, el sistema de líneas de fluido y/o la pluralidad de recipientes basados en información recibida de uno o más sensores.

En algunas realizaciones, el recipiente de inicio comprende un material de inicio que contiene una biomolécula, preferiblemente células hepáticas, para distribuirse como una suspensión en la pluralidad de recipientes. El sistema cerrado comprende un crioprotector que se mezcla con un material de inicio o se agrega a la pluralidad de recipientes. Los componentes que forman el sistema cerrado están hechos de materiales biocompatibles. En algunas realizaciones, la pluralidad de líneas de fluido están hechas de silicona curada con platino. En algunas realizaciones, el sistema de la invención comprende además un segundo sistema de líneas de fluido que tiene una segunda pluralidad de líneas de fluido que pueden aplicarse en una segunda cabeza de bomba de una segunda bomba peristáltica.

La presente invención proporciona un método para preparar una pluralidad de recipientes que tienen una suspensión celular biológicas en el que las concentraciones de las células en la pluralidad de recipientes son sustancialmente similares o iguales y los volúmenes de la suspensión en la pluralidad de recipientes son sustancialmente similares o iguales, lo que comprende: obtener un sistema cerrado y estéril como se divulga en el presente documento, proporcionar un material de inicio que tiene una suspensión celular biológicas en el recipiente de inicio, aplicar la pluralidad de líneas de fluido en una cabeza de bomba de una bomba peristáltica, accionar la bomba peristáltica en una dirección hacia adelante para hacer que el material de inicio fluya desde el recipiente de inicio a la pluralidad de recipientes, y opcionalmente agregar un aditivo al material de inicio. En algunas realizaciones, el método comprende además eliminar un exceso de fluido de la pluralidad de recipientes accionando la bomba peristáltica en una dirección inversa para hacer que el exceso de fluido fluya desde la pluralidad de recipientes hacia el recipiente de inicio. En algunas realizaciones, el método comprende además sellar y separar la pluralidad de recipientes.

Tanto la descripción general anterior como la siguiente descripción detallada son solo ejemplos y explicativas y pretenden proporcionar una explicación adicional de la invención según se reivindica. Los dibujos adjuntos se incluyen para proporcionar una comprensión adicional de la invención y se incorporan y constituyen parte de esta especificación, ilustran varias realizaciones de la invención y, junto con la descripción, sirven para explicar los principios de la invención.

Descripción de los dibujos

Esta invención se entiende adicionalmente por referencia a los dibujos en los que:

La figura 1 muestra esquemáticamente un sistema de relleno de ejemplo de acuerdo con la presente invención.

Las figuras 2A y 2B muestran esquemáticamente recipientes de inicio de ejemplo de acuerdo con la presente invención.

La figura 3 muestra esquemáticamente un sistema de líneas de fluido de acuerdo con la presente invención.

La figura 4 muestra esquemáticamente un recipiente de la pluralidad de recipientes de acuerdo con la presente invención.

La figura 5 muestra esquemáticamente una bomba peristáltica de acuerdo con la presente invención.

Descripción detallada del invento

La presente invención proporciona dispositivos, sistemas y métodos para preparar una pluralidad de recipientes que tienen una suspensión celular, en los que las concentraciones son concentraciones uniformes, es decir, las concentraciones del sólido en la pluralidad de recipientes son sustancialmente similares o iguales, y los volúmenes de la suspensión son volúmenes uniformes, es decir, los volúmenes de la suspensión en los recipientes son sustancialmente similares o iguales. Como se usa en el presente documento, una concentración "sustancialmente similar" significa que las concentraciones del sólido en los recipientes difieren en no más del 10%, preferiblemente no más del 5%, más preferiblemente no más del 2,5%, lo más preferiblemente no más del 1%. Como se usa en el

presente documento, un volumen "sustancialmente similar" significa que los volúmenes de la suspensión en los recipientes difieren en no más del 10%, preferiblemente no más del 5%, más preferiblemente no más del 2,5%, más preferiblemente no más del 1%. Las células pueden ser de cualquier origen, por ejemplo, bacterianos, mamíferos, insectos, animales, humanos, etc., y pueden ser recombinantes, cultivados o aislados de una fuente natural. En algunas realizaciones, las células son células hepáticas, células madre, eritrocitos, leucocitos y similares. En algunas realizaciones, la suspensión comprende más de un tipo de sólido, por ejemplo, células hepáticas y células madre.

Los componentes de los dispositivos y sistemas de la presente invención se proporcionan como un sistema cerrado. Como se usa en el presente documento, un "sistema cerrado" se refiere a la cavidad interna de una estructura que está aislada selectivamente del entorno externo por una o más paredes de los componentes que forman la estructura. Como se usa en el presente documento, "aislado selectivamente" significa que una sustancia deseada puede introducirse activamente en la cavidad interna y/o eliminarse activamente de la cavidad interna sin exponer la cavidad interna a sustancias distintas de la sustancia deseada. Un sistema cerrado puede ser un sistema cerrado y estéril. Como se usa en el presente documento, "un sistema cerrado y estéril" se refiere a un sistema cerrado que se ha esterilizado y/o un sistema cerrado que está sustancialmente libre de uno o más contaminantes biológicos. Como se usa en el presente documento, un sistema cerrado que está "sustancialmente libre de contaminantes biológicos" puede contener uno o más contaminantes biológicos en cantidades que generalmente no producen efectos nocivos y perjudiciales. En algunas realizaciones, uno o más de los componentes de los dispositivos y sistemas de la presente invención se proporcionan como componentes individuales, cada uno de los cuales es un sistema cerrado, que puede unirse entre sí para formar un sistema cerrado. En estas realizaciones, los componentes se unen preferiblemente usando métodos y dispositivos conocidos en la técnica que evitan la introducción de contaminantes en los mismos. En algunas realizaciones, una junta entre componentes se forma usando métodos y dispositivos conocidos en la técnica que dan como resultado que la junta se selle herméticamente. En algunas realizaciones, algunas o todas las juntas están herméticamente selladas.

De acuerdo con la presente invención, se usa una bomba peristáltica multicanal para dispensar un sólido de un material de inicio desde un recipiente de inicio a través de una pluralidad de líneas de fluido desde una cabeza de bomba a una pluralidad de recipientes. Bombas peristálticas multicanal, tales como las disponibles comercialmente de: Cole-Parmer, Vernon Hills, IL; Ismatec (por ejemplo, bomba de rodillos de 16 canales), Wertheim-Mondfeld Alemania; Watson Marlow, Inc., Wilmington, MA; y similares pueden emplearse de acuerdo con la invención como se divulga en el presente documento. La cabeza de bomba puede ser una cabeza de bomba apilable o de cartucho conocido en la técnica.

En algunas realizaciones, un material de inicio que contiene las células se proporciona en uno o más recipientes de inicio. Como se usa en el presente documento, un "recipiente" se refiere a una estructura en la que una sustancia, como un fluido y/o un sólido, puede estar contenida allí durante un período de tiempo deseado. En algunas realizaciones, uno o más recipientes de la presente invención tienen paredes flexibles. En algunas realizaciones, uno o más recipientes son semirrígidos y/o rígidos. Los recipientes de la presente invención pueden ser de cualquier forma y tamaño. En algunas realizaciones, la forma y el tamaño de un recipiente dado son adecuados para una acción dada que se realizará en el recipiente. Los expertos en la técnica pueden seleccionar fácilmente formas y tamaños de recipientes que sean adecuados para una acción o acciones dadas que se realizarán en el recipiente. Ejemplos de recipientes disponibles comercialmente incluyen: recipientes de recogida Fenwal y bolsas BLOOD-PACK® (Fenwal, Inc., Lake Zurich, IL); bolsas de CRYOCYTE® (Baxter, Deerfield, IL); paquetes de transferencia PEDI-PAK® (Genesis BPS, Hackensack, NJ); recipientes MINI-PLASCO® (B. Braun, Melsungen, Alemania); y similares.

En algunas realizaciones, el material de inicio puede ser la propia suspensión, es decir, la suspensión que contiene las células que se dispensa en la pluralidad de recipientes sin ningún procesamiento previo, por ejemplo, mezclada con uno o más ingredientes adicionales. En algunas realizaciones, el material de inicio que contiene las células puede ser de una sola fuente o una pluralidad de fuentes (es decir, una mezcla combinada). En algunas realizaciones, el sólido en el material de inicio se concentra o diluye primero a una concentración deseada. En algunas realizaciones, se agregan uno o más aditivos al material de inicio y, en estas realizaciones, la mezcla es una suspensión que contiene las células. En algunas realizaciones, uno o más aditivos se agregan antes, durante y/o después de que el material de inicio se agregue a la pluralidad de recipientes. Los aditivos incluyen cualquier compuesto o composición que se desee incluir en la suspensión para cualquier propósito dado, por ejemplo, procesamiento o almacenamiento de la suspensión adicional. El aditivo puede ser una composición prefabricada de una pluralidad de ingredientes o un único ingrediente. Por ejemplo, el aditivo puede ser un medio de congelación conocido en la técnica y/o comercialmente disponible en la técnica o el aditivo puede ser un único ingrediente tal como un crioprotector, por ejemplo, etilenglicol, propilenglicol, glicerol, dimetilsulfóxido (DSMO), sacarosa, etc.

Como se usa en el presente documento, una "línea de fluido" se refiere a una estructura a través de la cual puede fluir un fluido. Aunque una línea de fluido es capaz de contener una sustancia en ella, de manera que una línea de fluido es un recipiente, como se define en el presente documento, una "línea de fluido" se refiere a una estructura a través de la cual fluye un fluido que tiene un volumen de corte transversal que es más pequeño que el volumen del corte transversal de la estructura a partir de la cual se origina el fluido y que el volumen del corte transversal de la estructura a la que fluye el fluido. En otras palabras, un volumen en corte transversal de un recipiente es más grande

que el de una línea de fluido conectada al mismo. Una o más líneas de fluido en los dispositivos de la presente invención pueden ser flexibles y/o semirrígidas. Las líneas de fluido de la presente invención pueden tener una o más formas de corte transversal deseadas. En algunas realizaciones, una o más líneas de fluido de los dispositivos de la presente invención tienen una forma de corte transversal redonda. En algunas realizaciones preferidas, una o más líneas de fluido tienen forma tubular. En algunas realizaciones preferidas, una o más líneas de fluido son tubos flexibles hechos de un material biocompatible. Una línea de fluido, de acuerdo con la presente invención, puede ser una parte integral de uno o más recipientes o un componente separado y distinto que se une a un recipiente del dispositivo. En algunas realizaciones, una o más líneas de fluido de la presente invención están hechas de silicona curada con platino.

Una o más líneas de fluido de un recipiente de inicio entregan el material de inicio a la cabeza de bomba de la bomba peristáltica multicanal. Cuando se emplea una pluralidad de líneas de fluido, la pluralidad de líneas de fluido puede proporcionarse en un alojamiento. La línea de fluido del recipiente inicial se ramifica hacia múltiples líneas de fluido que luego se conectan a la cabeza de bomba. En algunas realizaciones, las líneas de fluido de dos o más recipientes de inicio entregan el material de inicio a la cabeza de bomba.

En algunas realizaciones, la bomba peristáltica incluye rodillos que ruedan a través de las líneas de fluido y, por lo tanto, limitan la distorsión del tubo y aumentan la precisión del flujo. En algunas realizaciones, el mecanismo de accionamiento de flujo de la bomba peristáltica es reversible, de manera que el flujo de fluido hacia y desde la cabeza de bomba puede invertirse. Por ejemplo, en lugar de bombear fluido a la pluralidad de recipientes, el mecanismo de impulsión de flujo puede invertirse de manera que el fluido de la pluralidad de recipientes fluya hacia la cabeza de bomba.

En algunas realizaciones, una línea de fluido puede estar conectada a un recipiente y/o a más líneas de fluido. La conexión puede ser una conexión directa, por ejemplo, un componente conectado directamente a otro componente en una junta, o una conexión indirecta, por ejemplo, un conector de línea de fluido, entre los componentes. Como se usa en el presente documento, un "conector de línea de fluido" es una estructura que proporciona una conexión sellada, preferiblemente herméticamente sellada, entre los componentes conectados. Un conector de línea de fluido de la presente invención puede ser un conector bidireccional, es decir, un conector que permite la comunicación fluida desde un primer componente en un primer lado del conector a un segundo componente en un segundo lado del conector y viceversa, o un conector unidireccional, es decir, un conector que permite la comunicación fluida en una sola dirección, por ejemplo, desde un primer lado del conector a un segundo lado del conector. En algunas realizaciones, al menos un conector de línea de fluido puede ser un conector uno a uno, es decir, un conector de línea de fluido que permite que solo dos componentes estén conectados directamente entre sí. En algunas realizaciones, al menos un conector de línea de fluido puede ser un multiconector, es decir, un conector de línea de fluido que contiene una pluralidad de puntos de conexión capaces de conectar una pluralidad de componentes (por ejemplo, una o más líneas de fluido y/o uno o más recipientes), en el que uno o más componentes de la pluralidad de líneas de fluido pueden o no estar conectados a una o más líneas de fluido adicionales. Los conectores pueden emplear una amplia variedad de mecanismos de seguridad, incluidos, entre otros, mecanismos de bloqueo luer, mecanismos de ajuste a presión, conjuntos roscados macho/hembra y similares. En algunas realizaciones, el conector de línea de fluido puede ser un conector de punta tal como un conector de punta Benjamix por B. Braun, Melsungen, Alemania. Ejemplos de líneas de fluido disponibles comercialmente y conectores de líneas de fluido incluyen válvulas de paso de tres vías DISCOFIX® (B. Braun, Melsungen, Alemania); conjuntos de transferencia de plasma (Baxter, Deerfield, IL); conectores en Y con puntos de inyección abiertos (Genesis BPS, Hackensack, NJ); y similares.

De acuerdo con la presente invención, una o más de las líneas de fluido pueden contener un regulador de flujo de fluido. En algunas realizaciones, un conector de línea de fluido también puede ser un regulador de flujo de fluido. Como se usa en el presente documento, un "regulador de flujo de fluido" es una estructura capaz de regular el flujo de un fluido. Un regulador de flujo de fluido puede ser capaz de permitir un flujo de fluido no restringido o evitar completamente que un fluido fluya desde un lado del regulador de flujo de fluido al otro lado del regulador de flujo de fluido. En algunas realizaciones, un regulador de flujo de fluido puede restringir algo, pero no todo el flujo de fluido. En algunas realizaciones, donde el regulador de flujo de fluido restringe parte del flujo de fluido, pero no la totalidad, el regulador de flujo de fluido también puede permitir el flujo de fluido no restringido y/o evitar por completo que el fluido fluya desde un lado del regulador de flujo de fluido al otro lado del regulador de flujo de fluido.

Un regulador de flujo de fluido puede posicionarse dentro de la cavidad interna de la línea de fluido y puede proporcionarse como parte integral de las paredes interiores de la línea de fluido o como un componente separado y distinto que se une a las paredes interiores de la línea de fluido. Alternativamente, un regulador de flujo de fluido puede posicionarse externamente a lo largo de la línea de fluido y puede o no estar unido de manera desmontable a las paredes exteriores de la línea de fluido. Un regulador de flujo de fluido de la presente invención puede ser un regulador bidireccional, es decir, un regulador que regula el flujo de fluido desde un primer componente en un primer lado del regulador a un segundo componente en un segundo lado del regulador y viceversa, o un regulador unidireccional, es decir, un regulador que regula el flujo de fluido en una sola dirección, por ejemplo, desde un primer lado del regulador a un segundo lado del regulador. Un regulador de flujo de fluido puede ser de cualquier forma o tamaño deseado, siempre y cuando realice su función deseada. Los expertos en la técnica pueden determinar

fácilmente tales formas y tamaños para un flujo de fluido deseado, o la falta de éste. En algunas realizaciones, pueden colocarse múltiples reguladores de flujo de fluido sobre o en una línea de fluido dada. En algunas realizaciones, se proporcionan dos reguladores de flujo de fluido como un par de reguladores a lo largo de una línea de fluido. Los reguladores de flujo de fluido que pertenecen a un par de reguladores pueden ser del mismo tamaño, forma, material y/o tipo o diferente. Además, el par de reguladores puede posicionarse dentro de la cavidad interna de la línea de fluido o posicionarse externamente. Alternativamente, un regulador de flujo de fluido puede posicionarse dentro de la cavidad interna de la línea de fluido y el otro regulador de flujo de fluido puede posicionarse externamente a lo largo de la línea de fluido.

Se puede usar un regulador de flujo de fluido, solo o en pares, para aislar y/o separar un componente, como un recipiente, de un sistema cerrado (a) sin fugas ni exponer los contenidos del componente al entorno externo, y (b) sin exponer el sistema cerrado restante al entorno externo "sellando" la parte de la línea de fluido entre el par de reguladores de flujo de fluido usando los reguladores de flujo de fluido para evitar cualquier flujo de fluido entre ellos y luego cortando la línea de fluido entre el par de reguladores de flujo de fluido. Alternativamente, una o más partes de la línea de fluido que conectan el componente que se va a separar y/o eliminar de un sistema cerrado se pueden sellar permanentemente, "aislando" así el componente del sistema cerrado y, opcionalmente, el componente se puede "separar" del sistema cerrado cortando la línea de fluido entre dos sellos permanentes o en algún lugar en medio de un solo sello permanente usando métodos y dispositivos conocidos en la técnica. En algunas realizaciones, la formación de un sello permanente da como resultado tanto el aislamiento como la separación del componente. Por ejemplo, se puede aplicar calor a una parte de la línea de fluido de manera que la línea de fluido se sella térmicamente mientras que una porción se derrite, cortando así la línea de fluido y sellando permanentemente los extremos de la línea de fluido que se desconectan. Tales métodos pueden usarse al finalizar el proceso de distribución para almacenar el recipiente de almacenamiento. Ejemplos de reguladores de flujo de fluido disponibles comercialmente incluyen abrazaderas deslizantes (Fenwal, Inc., Lake Zurich, IL); abrazaderas de sujeción (Halkey-Roberts Corp., Saint Petersburg, FL); válvulas de paso en línea; y similares.

Al menos se proporciona un puerto de acceso que permite el acceso dentro y/o fuera de uno o más componentes, por ejemplo, recipientes o líneas de fluido. En algunas realizaciones, al menos un puerto puede ser un puerto uno a uno, es decir, un puerto que permite solo un único punto de acceso entre, dentro y/o fuera de un componente dado. En algunas realizaciones, al menos un puerto puede ser un puerto múltiple, es decir, un puerto que contiene una pluralidad de puntos de acceso dentro y/o fuera de un componente dado. En algunas realizaciones, se proporcionan al menos un puerto de entrada y al menos un puerto de salida. Como se usa en el presente documento, un "puerto de entrada" es una estructura a través de la cual se puede introducir activamente una sustancia deseada en un sistema cerrado sin exponer al sistema cerrado a sustancias distintas de la sustancia deseada. Como se usa en el presente documento, un "puerto de salida" es una estructura a través de la cual una sustancia deseada puede distribuirse activamente de un dispositivo a otro o eliminarse de un sistema cerrado sin exponer al sistema cerrado a sustancias distintas de la sustancia deseada.

Un puerto de la presente invención puede ser un puerto bidireccional, es decir, un puerto que permite el acceso tanto dentro como fuera de un sistema cerrado, o un puerto unidireccional, es decir, un puerto que permite el acceso en una sola dirección. Un puerto puede ser un puerto multiusos, es decir, una estructura que permite el acceso repetido a un sistema cerrado y/o el acceso repetido desde un sistema cerrado. Alternativamente, un puerto puede ser un puerto de un solo uso, es decir, una estructura que se puede usar solo una vez para permitir el acceso de una sola vez y/o el acceso de una sola vez desde un sistema cerrado. Por ejemplo, un puerto de un solo uso puede sellarse permanentemente y cerrarse por su uso o después de su uso. Un puerto, de acuerdo con la presente invención, puede proporcionarse como parte integral de un recipiente o una línea de fluido. Alternativamente, un puerto puede ser un componente separado y distinto que está conectado directamente a un recipiente o una línea de fluido en una junta o indirectamente conectado al recipiente o la línea de fluido a través de un conector de línea de fluido. En algunas realizaciones, un puerto también puede ser un conector de línea de fluido, es decir, puede usarse como un puerto o un conector de línea de fluido que conecta un componente adicional al mismo. Ejemplos de puertos disponibles comercialmente incluyen: cerraduras Luer selladas (Halkey-Roberts Corp., St. Petersburg, FL); sellado de tabiques de goma; dispositivos PEDI-PAK® Pedi-Syringe Filter™ (Genesis BPS, Hackensack, NJ); y similares. En algunas realizaciones, el puerto puede ser un puerto estéril que permita la transferencia de fluido aséptico. En algunas realizaciones, el puerto se mantiene estéril hasta que se une un conector de línea de fluido al mismo. En algunas realizaciones, el puerto es un puerto de punta y el conector de línea de fluido es un conector de punta.

Los dispositivos y sistemas de la presente invención contienen una o más jeringas. Las jeringas se usan para eliminar un líquido, por ejemplo, aire o una parte alícuota de la suspensión, de uno o más componentes. Las jeringas también se pueden usar para desplazar un fluido dentro de uno o más componentes.

Los componentes (es decir, recipientes, líneas de fluido, conectores de líneas de fluido, reguladores de flujo de fluido, puertos y jeringas) de los dispositivos de la presente invención pueden estar hechos de plástico, vidrio, metales y similares, y combinaciones de los mismos. Normalmente, algunos o todos los componentes de los dispositivos de la presente invención están hechos de uno o más materiales que son compatibles con la suspensión dada. Los componentes están hechos preferiblemente de materiales que son biocompatibles con una suspensión

celular dada y reactivos usados para procesar la suspensión celular dada, por ejemplo, aditivos. Como se usa en el presente documento, una cosa, como una composición o un material, o un proceso realizado sobre la cosa, se denomina "biocompatible" cuando la cosa o el proceso no tiene un efecto tóxico o perjudicial en un biomaterial dado que se va a procesar, los reactivos que se usarán para procesar el biomaterial dado, el biomaterial procesado resultante, el sujeto particular a tratar, bajo las condiciones de exposición al mismo, y las acciones que se realizarán al respecto. Normalmente, los métodos y dispositivos de la presente invención y/o los métodos y dispositivos que se usan de acuerdo con la presente invención son biocompatibles. Un "material biocompatible" es un material que no tiene un efecto tóxico o perjudicial en un biomaterial dado, reactivos que se usarán para procesar el biomaterial dado, el biomaterial procesado resultante, el sujeto particular a tratar, bajo las condiciones de exposición al mismo, y las acciones que se realizarán al respecto. Dichos biomateriales pueden o no cumplir uno o más de los diversos estándares de biocompatibilidad requeridos por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos.

Configuraciones de ejemplo

La figura 1 muestra esquemáticamente un sistema 1 de llenado de acuerdo con la presente invención que puede usarse para preparar una pluralidad de recipientes que tienen concentraciones y volúmenes uniformes de una suspensión, tal como una suspensión celular. Como se muestra, el sistema 1 de llenado comprende un recipiente 100 de inicio, un sistema 200 de líneas de fluido (que incluye conectores de línea de fluido), una pluralidad de recipientes 300 y una bomba peristáltica 400. El sistema 1 de llenado es un sistema cerrado.

La figura 2A muestra esquemáticamente un recipiente 100 de inicio de acuerdo con la presente invención. El recipiente 100 de inicio puede ser de cualquier forma, tamaño o volumen deseado. En algunas realizaciones, el recipiente de inicio tiene un volumen total que es lo suficientemente grande como para permitir la mezcla efectiva de un volumen deseado de un material de inicio. Como se muestra en la figura 2A, el recipiente 100 de inicio incluye un puerto 101 de entrada y un puerto 102 de salida. Preferiblemente, el puerto 101 de entrada y el puerto 102 de salida están configurados para permitir la transferencia aséptica de un fluido dentro y fuera del recipiente 100 de inicio. También se muestra un puerto bidireccional 103. El puerto bidireccional 103 permite la adición de un fluido al recipiente 100 de inicio y la eliminación de un fluido del recipiente 100 de inicio. Los puertos 101, 102 y 103 permiten la adición o eliminación de un material del recipiente de inicio, por ejemplo, la adición de un material de inicio de una o más fuentes y aditivos en el recipiente de inicio y/o la eliminación de aire y partes alícuotas de la suspensión del recipiente de inicio. En algunas realizaciones, el recipiente 100 de inicio puede tener una pluralidad de puertos de entrada 101. En algunas realizaciones, el recipiente 100 de inicio puede no tener un puerto 101 de entrada. En tales realizaciones, el material de inicio ya puede estar provisto en el recipiente 100 de inicio. Por ejemplo, el material de inicio está preempaquetado en el recipiente de inicio y luego las líneas de fluido se conectan al puerto 102 de salida.

Como se muestra en la figura 2A, los puertos 102 y 103 tienen conectores 104a y 104b de línea de fluido (como conectores con punta (con un luer en el extremo exterior) que se conecta a una válvula de paso), respectivamente, unidos al mismo y el conector 104b de línea de fluido tiene un regulador 104c de flujo de fluido. En algunas realizaciones, uno o más de los conectores de la línea de fluido también puede ser un regulador de flujo de fluido. En algunas realizaciones, los puertos pueden tener una sección de una línea de fluido conectada a los mismos con el otro extremo de la sección de la línea de fluido estando sellado herméticamente. La figura 2A muestra el puerto 101 que tiene una sección de una línea 105 de fluido conectada al mismo que está herméticamente sellada en su extremo libre. En algunas realizaciones, tales secciones de líneas de fluido pueden unirse con otra línea de fluido en condiciones que no introducen un contaminante en ellas para agregar componentes o materiales adicionales al recipiente 100 de inicio. En algunas realizaciones, una parte de una sección de una línea de fluido, por ejemplo, la línea 105 de fluido puede eliminarse para probar o analizar la sustancia en ella. En algunas realizaciones, las líneas de fluido también pueden contener puertos para obtener una muestra de la sustancia en las mismas. La figura 2A muestra la sección de una línea 105 de fluido que tiene un puerto 106.

Como se muestra en la figura 2A, una jeringa 107 está conectada al puerto bidireccional 103 con el conector 104b de línea de fluido y el regulador 104c de flujo de fluido. La jeringa 107 se puede usar para dispensar una sustancia tal como un aditivo en el recipiente de inicio. La jeringa 107 se puede usar para eliminar una parte alícuota de la suspensión del recipiente de inicio. En algunas realizaciones, la jeringa se usa para agregar o eliminar aire del sistema cerrado. En algunas realizaciones, el conector 104b de línea de fluido (que conecta la jeringa 107 al puerto bidireccional 103) puede ser un regulador de flujo de fluido, como una válvula de paso en línea. En algunas realizaciones, el conector 104b de línea de fluido puede ser un conector de punta. En algunas realizaciones, el regulador 104c de flujo de fluido está ausente. En algunas realizaciones, la jeringa 107 puede estar conectada directamente al puerto 103.

Mientras que la realización expuesta en la figura 2A hace una distinción entre el puerto 101 de entrada, el puerto 102 de salida y el puerto bidireccional 103, en otras realizaciones, estos puertos pueden o no ser bidireccionales. De manera similar, uno o más de estos puertos pueden ser integrales con el recipiente de inicio en lugar de ser componentes separados que están unidos herméticamente al recipiente de inicio.

Como se muestra en la figura 2 A, el recipiente 100 de inicio también puede incluir un componente 108 de seguridad, tal como una abertura o un gancho, que permite que el recipiente 100 de inicio esté orientado de manera segura de una manera deseada, por ejemplo, orientado de manera que el puerto 102 de salida esté en la parte superior o inferior del recipiente 100 de inicio. El componente 108 de seguridad puede configurarse para unirse a una estructura física tal como un gancho de manera que la orientación deseada del recipiente de inicio se fije al unirse a la estructura física. El componente 108 de seguridad del recipiente 100 de recogida no está limitado solo a una abertura. El componente 108 de seguridad puede ser cualquier cosa, por ejemplo, una horquilla, un gancho, un adhesivo, etc., que permita que el recipiente de inicio se fije a una estructura física deseada.

La figura 2B muestra esquemáticamente una realización alternativa de un recipiente de inicio de acuerdo con la presente invención. Como se muestra en la figura 2B, la jeringa 107 está conectada a la línea 201 de fluido conectada al puerto 102. El regulador 109 de flujo de fluido es opcional.

La figura 3 muestra esquemáticamente un sistema de líneas 200 de fluido que conectan el recipiente de inicio a la pluralidad de recipientes. Como se muestra en la figura 3, el sistema de líneas 200 de fluido comprende una pluralidad de líneas 201, 201a, 201b, 203 de fluido, conectores 202, 205a, 205b de flujo de fluido, reguladores 204, 206 de flujo de fluido, accesorios 207, jeringa 208 y puerto 209. El puerto 209 se puede usar para eliminar una parte alícuota para la prueba y/o agregar un aditivo al mismo. Como se muestra en la figura 3, la línea 201 de fluido está conectada a un multiconector 204 que conecta la línea 201 de fluido a las líneas 201a y 201b de fluido. La línea 201a de fluido está conectada al multiconector 202a y la línea 201b de fluido está conectada al multiconector 202b. Los multiconectores 202a y 202b conectan las líneas 201a y 201b de fluido, respectivamente, a una pluralidad de líneas 203 de fluido. Aunque se puede usar una variedad de líneas de fluido diferentes, en algunas realizaciones, la forma y la longitud del corte transversal de cada línea 203 de fluido es sustancialmente similar o la misma. En algunas realizaciones, cada segmento de la línea de fluido (por ejemplo, 201a, 203, etc.) puede estar hecho del mismo material o diferente al de la línea 201 de fluido. En realizaciones en las que segmentos de líneas de fluido están conectados para formar el sistema de líneas 200 de fluido, cada segmento puede conectarse directa o indirectamente a un componente dado. Por ejemplo, la línea 203 de fluido puede estar conectada directamente al multiconector 202a o puede estar conectada indirectamente a la misma por medio de un conector de línea de fluido como un luer.

En algunas realizaciones, el regulador 204 de flujo de fluido es un regulador de flujo de fluido en línea y la línea 201 de fluido es una pieza. En algunas realizaciones, la línea 201 de fluido es dos piezas que están conectadas por el regulador 204 de flujo de fluido. De manera similar, en algunas realizaciones, el regulador 205a (y/o 205b) de flujo de fluido es un regulador de flujo de fluido en línea y la línea 201a (y/o 201b) de fluido es una pieza. En algunas realizaciones, la línea 201a (y/o 201b) de fluido son dos piezas que están conectadas por el regulador 205a (y/o 205b) de flujo de fluido. En algunas realizaciones, el regulador 205a (y/o 205b) de flujo de fluido está ausente.

Los multiconectores 202, 202a y 202b pueden conectar una línea de fluido a cualquier número deseado de líneas de fluido. Por ejemplo, el multiconector 202a puede conectar la línea 201a de fluido a 2 líneas de fluido o 10 líneas de fluido. Alternativamente, uno o más de los multiconectores 202, 202a y 202b pueden ser un conector de línea de fluido uno a uno. En otras palabras, se puede emplear cualquier combinación de cualquier número de líneas de fluido y cualquier número de multiconectores siempre que el número de líneas de fluido que forman la pluralidad de líneas 203 de fluido sea al menos el mismo número de recipientes que se van a llenar con la suspensión. En realizaciones en las que el número de líneas 203 de fluido es mayor que el número de recipientes que se va a llenar con la suspensión, el flujo de fluido en las líneas de fluido adicionales puede evitarse, por ejemplo, mediante un regulador de flujo de fluido. Mientras que la realización ejemplificada en la figura 3 emplea una combinación de líneas de fluido y multiconectores para formar un sistema ramificado de líneas de fluido, se puede usar una sola línea de fluido que se ramifica en una pluralidad de líneas de fluido en lugar de multiconectores.

Los reguladores 205a, 205b y 206 de flujo de fluido se pueden usar para controlar el flujo de fluido. Por ejemplo, cuando no se desea el flujo al multiconector 202b, se puede activar el regulador 205b de flujo de fluido. Las líneas 201 de fluido son las líneas de fluido que conducen a la pluralidad de recipientes 300. Como se indicó anteriormente, si el número de recipientes que se van a llenar es menor que el número de líneas 203 de fluido, uno o más reguladores 206 de flujo de fluido se pueden aplicar para detener el flujo de fluido en las líneas de fluido adicionales. Los reguladores 204, 205a, 205b y 206 de flujo de fluido pueden aplicarse para evitar el flujo de fluido de los recipientes. Alternativamente, cuando se desee, los reguladores 204, 205a, 205b y 206 de flujo de fluido pueden aplicarse para permitir el flujo de fluido desde los recipientes. Por ejemplo, se puede hacer que el aire que se acumula en los recipientes fluya desde los recipientes hacia el recipiente de inicio. El regulador 204 de flujo de fluido, que es preferiblemente un regulador de flujo de fluido en línea tal como una válvula de paso, se puede aplicar de manera que el aire se pueda eliminar de la línea 201 de fluido usando la jeringa 208. Los reguladores 205a, 205b y 206 de flujo de fluido pueden ser abrazaderas de sujeción, abrazaderas de rodillos y similares, o una combinación de ellas. Aunque todos los reguladores de flujo de fluido de un dispositivo de acuerdo con la presente invención no necesitan ser los mismos, cuando se usan diferentes tipos de reguladores de flujo de fluido, se prefiere que los reguladores de flujo de fluido sean capaces de regular el flujo de fluido de manera que el flujo de fluido en las líneas 203 de fluido sea sustancialmente similar o igual.

Los accesorios 207 se usan para unir la pluralidad de líneas 203 de fluido a la cabeza de bomba de la bomba peristáltica. Los accesorios 207 pueden estar unidos a la pluralidad de líneas 203 de fluido corriente arriba o corriente abajo de los reguladores 206 de flujo de fluido. Cada línea de fluido actúa igualmente por la cabeza de bomba de la bomba peristáltica.

5 En algunas realizaciones, la jeringa 208 se puede usar para empujar fluido en las líneas de fluido en los recipientes. Por ejemplo, cuando no hay más líquido en el lado del recipiente de inicio de la cabeza de bomba, para empujar el líquido en el lado del recipiente de la cabeza de bomba, se puede usar un líquido en la jeringa 208 para empujar el fluido en el lado del recipiente de la cabeza de bomba en los recipientes. En algunas realizaciones, la jeringa 208 se puede usar para eliminar una muestra del fluido en las líneas de fluido para su análisis. En algunas realizaciones, la jeringa 208 se puede usar para mover un gas, tal como aire, dentro y fuera de las líneas de fluido.

15 La figura 4 muestra esquemáticamente uno de los recipientes en la pluralidad de recipientes 300. Como se muestra en la figura 3, un recipiente 300a contiene un puerto 301 al que se puede conectar una línea de fluido. El puerto 301 puede ser una parte integral del recipiente 300a. El puerto 301 puede o no tener un conector 302 de línea de fluido conectado al mismo. El recipiente 300a puede tener uno o más puertos adicionales 303. Se puede usar un puerto 303 para eliminar la suspensión del recipiente 300a. Los recipientes que pertenecen a la pluralidad de recipientes 300a pueden ser de cualquier forma o tamaño. En algunas realizaciones, los recipientes que pertenecen a la pluralidad de recipientes 300a tienen la misma forma y tamaño. En algunas realizaciones, la suma del volumen de los recipientes es al menos igual al volumen total de la suspensión. En algunas realizaciones, el recipiente 300a está compuesto de uno o más materiales biocompatibles conocidos en la técnica. En algunas realizaciones, los recipientes 300 pueden soportar temperaturas de aproximadamente -180 °C sin romperse o agrietarse.

25 En algunas realizaciones, el puerto 301 y/o el conector 302 de línea de fluido pueden sellarse permanentemente después de que el recipiente 300a se haya llenado con la suspensión. En algunas realizaciones, una porción de una línea de fluido conectada al puerto 301 o el conector 302 de línea de fluido pueden dejarse unidos al mismo y sellarse permanentemente después de que el recipiente 300a se haya llenado con la suspensión. En algunas realizaciones, el recipiente 300a puede incluir una cámara secundaria que está o puede estar aislada de su cámara primaria. El recipiente 300a puede incluir además uno o más puertos para acceder a la suspensión en el mismo para, por ejemplo, probar la suspensión en una fecha posterior. En algunas realizaciones, los puertos 301 y 302 son puertos de uso múltiple. En algunas realizaciones, el recipiente 300a puede carecer de un puerto 303 y, en cambio, el puerto 301 se puede usar tanto para agregar la suspensión en el recipiente 300a como para eliminar la suspensión del recipiente 300a.

35 La figura 5 muestra esquemáticamente una bomba peristáltica 400 de acuerdo con la presente invención en la que la cabeza 401 de bomba es una cabeza de bomba de casete multicanal que tiene una pluralidad de líneas de fluido aplicadas en ella. De acuerdo con la presente invención, la bomba peristáltica 400 comprende una cabeza 401 de bomba, un rotor accionado por motor 402 y rodillos. En algunas realizaciones, los rodillos del rotor accionado por motor 402 se pueden girar en una dirección hacia adelante y en una dirección hacia atrás. Los rodillos empujan y eliminan simultáneamente el fluido en una línea de fluido aplicada en la cabeza 401 de bomba hacia los recipientes cuando el rotor accionado por motor 402 funciona hacia adelante o hacia el recipiente de inicio cuando el rotor accionado por motor 402 funciona en la posición inversa. En particular, cuando un rodillo del rotor accionado por motor 402 se aplica a la superficie de una línea de fluido, el fluido se comprime hasta el punto de cerrar la porción que está en contacto con el rodillo, forzando así al fluido delante de la porción cerrada hacia adelante mientras succiona el fluido detrás de la parte cerrada hacia adelante. En algunas realizaciones, la aplicación de las líneas de fluido en la cabeza 401 de bomba no rompe el sistema cerrado. El rotor accionado por motor puede ser controlado por un sistema de control. El sistema de control puede incluir una interfaz 403 de usuario que permite el funcionamiento de la bomba peristáltica 400 y la entrada de ciertos parámetros, como la dirección, las revoluciones por minuto, el tiempo de funcionamiento y similares. El sistema de control también puede emplear un sensor para funciones automáticas, como determinar la presencia de la suspensión en las líneas de fluido aplicadas en la cabeza 401 de bomba y modificar sus parámetros de funcionamiento en consecuencia. Por ejemplo, el sensor puede alertar al sistema de control cuando la suspensión no está contenida en las líneas de fluido aplicadas en la cabeza 401 de bomba y luego el sistema de control puede detener el funcionamiento de bombeo o invertir la rotación del rotor accionado por motor 402 para mover un fluido de los recipientes hacia la cabeza 401 de bomba.

55 En algunas realizaciones, el recipiente de inicio y/o la pluralidad de recipientes se proporcionan sobre (o en) uno o más soportes que son capaces de ajustar las elevaciones relativas de los recipientes y/o agitar los recipientes. En algunas realizaciones preferidas, los componentes en el lado derecho de la cabeza de bomba tienen una capacidad de volumen máxima que es igual o sustancialmente similar a los componentes en el lado izquierdo de la cabeza de bomba. Por ejemplo, cuando las capacidades de volumen máximo son las mismas, el lado izquierdo se llena hasta su capacidad máxima con un fluido, y el lado derecho está completamente vacío, el volumen total del fluido se puede mover y contener completamente por los componentes en el lado correcto. En algunas realizaciones preferidas, la capacidad de volumen máxima del recipiente o recipientes de inicio es igual o sustancialmente similar a la suma total de la de la pluralidad de recipientes. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el recipiente de inicio tiene una capacidad de 1 L y la pluralidad de recipientes consta de 10 recipientes, cada uno de los cuales es capaz de contener 100 mL.

Conjunto de ejemplo

Los dispositivos y sistemas de llenado de acuerdo con la presente invención se pueden ensamblar y accionar usando métodos conocidos en la técnica. En realizaciones preferidas, los sistemas de llenado de acuerdo con la presente invención son sistemas cerrados y estériles. Tales sistemas cerrados y estériles pueden fabricarse ensamblando todos los componentes individuales en un entorno estéril, como un gabinete de seguridad biológica (BSC). Alternativamente, porciones de un sistema de llenado, por ejemplo, el recipiente inicial, el sistema de líneas de fluido y una pluralidad de recipientes, se pueden ensamblar como sistemas cerrados y estériles en un entorno estéril y luego unirse, formando así un sistema cerrado y estéril que está sustancialmente libre de contaminantes biológicos, usando métodos conocidos en la técnica. En estas realizaciones, los sistemas cerrados y estériles pueden unirse entre sí mientras se encuentran en un entorno estéril o en condiciones que pueden no ser estériles usando métodos y dispositivos conocidos en la técnica que evitan la introducción de contaminantes en ellos. Como se explica en el presente documento, las "condiciones que pueden no ser estériles" incluyen entornos clínicos (por ejemplo, consultorios médicos, quirófanos, ambulancias, etc.) y entornos no clínicos (por ejemplo, edificios no médicos, lugares de residencia, el entorno exterior, etc.). Tales "condiciones que pueden no ser estériles" pueden, de hecho, ser estériles o asépticas, pero la persona que ensambla el sistema desconoce el estado estéril o aséptico de las condiciones bajo las cuales se ensambla el sistema de llenado.

Por ejemplo, un recipiente de inicio (por ejemplo, 100, figura 2A o 2B), un sistema de líneas de fluido (por ejemplo, 200, figura 3), y una pluralidad de recipientes (por ejemplo, 300, figura 4) están ensambladas en un entorno estéril que puede ser igual o diferente. El recipiente de inicio y la pluralidad de recipientes se ensamblan para tener al menos una línea de fluido conectada al mismo. Luego, los extremos libres (es decir, los extremos que no están unidos a otro componente) de las líneas de fluido del recipiente de inicio, el sistema de líneas de fluido y la pluralidad de recipientes se sellan herméticamente para formar tres sistemas separados, estériles y cerrados. Se puede usar un dispositivo de sellado disponible comercialmente, tal como el dispositivo Hematron III (Fenwal, Inc., Lake Zurich, IL) para sellar herméticamente los extremos de las líneas de fluido. Por ejemplo, los extremos libres de las líneas de fluido del recipiente de inicio, por ejemplo, la línea 105 de fluido y una línea de fluido unida al conector 104a de línea de fluido están herméticamente selladas en el entorno estéril para formar un primer sistema cerrado y estéril. De manera similar, los extremos libres de las líneas de fluido del sistema de líneas de fluido, por ejemplo, las líneas 201 y 203 de fluido están herméticamente selladas en el entorno estéril para formar un segundo sistema estéril y cerrado. Del mismo modo, el extremo libre de cada línea de fluido unida a cada recipiente de la pluralidad de recipientes, por ejemplo, las líneas de fluido conectadas al conector 302 de línea de fluido están herméticamente selladas en el entorno estéril para formar un tercer sistema cerrado y estéril.

Luego, los tres sistemas estériles y cerrados se unen para formar un sistema estéril y cerrado, de manera que el recipiente de inicio, el sistema de líneas de fluido y la pluralidad de recipientes estén en comunicación fluida usando métodos y dispositivos conocidos en la técnica que conectan los extremos libres de las líneas de fluido entre sí sin introducir cantidades significativas de contaminantes biológicos. Un ejemplo de un dispositivo adecuado disponible comercialmente es el sistema de soldadura de tubos estériles TSCD® disponible en Terumo (Eschborn, Alemania). Cuando se usa un dispositivo de este tipo, los sistemas estériles y cerrados no necesitan estar conectados entre sí en un entorno estéril. Sin embargo, se observa que cuando todos los componentes del recipiente de inicio, el sistema de líneas de fluido y la pluralidad de recipientes se ensamblan en un entorno estéril y el recipiente de inicio y la pluralidad de recipientes están conectados al sistema de líneas de fluido en el entorno estéril, los extremos libres de las líneas de fluido no necesitan estar herméticamente sellados y luego unirse entre sí usando métodos y dispositivos conocidos en la técnica que conectan los extremos libres de las líneas de fluido entre sí sin introducir cantidades significativas de contaminantes biológicos.

Una vez que el recipiente de inicio, el sistema de líneas de fluido y la pluralidad de los recipientes se unen y forman un sistema cerrado, el sistema cerrado, en particular la pluralidad de líneas de fluido conectadas a la pluralidad de recipientes están conectadas a una cabeza de bomba (por ejemplo, 401, figura 5) de una bomba peristáltica (por ejemplo, 400, figura 5) para formar un sistema de llenado de acuerdo con la presente invención. En algunas realizaciones preferidas, la conexión de la cabeza de bomba a la pluralidad de las líneas de fluido no rompe el sistema cerrado.

En algunas realizaciones, el material de inicio puede estar ya presente en el recipiente de inicio antes de conectar el recipiente de inicio a otros componentes del sistema de llenado. En algunas realizaciones, el material de inicio se puede agregar al recipiente de inicio después del ensamblaje de un sistema cerrado (por ejemplo, la conexión al sistema de líneas de fluido) o el ensamblaje del sistema de llenado. En algunas realizaciones, un aditivo, como un crioprotector (por ejemplo, DMSO), se puede proporcionar en un recipiente que está separado del recipiente de inicio, pero que puede estar en comunicación fluida con el recipiente de inicio. Por ejemplo, el flujo de fluido entre el recipiente de inicio y el recipiente que tiene el aditivo puede estar restringido por un regulador de flujo de fluido. Luego, cuando se agrega el aditivo al material de inicio, se desactiva el regulador de flujo de fluido y se hace que el aditivo fluya hacia la cámara de inicio y luego se mezcla con el material de inicio en la cámara de inicio.

Funcionamiento de ejemplo

Una vez que el material de inicio está presente en el recipiente de inicio y la pluralidad de líneas de fluido conectadas a la pluralidad de recipientes están conectadas a la cabeza de bomba, la bomba peristáltica puede activarse en la dirección hacia adelante de manera que el material de inicio (o la suspensión) comience a fluir a través del sistema de líneas de fluido hacia la pluralidad de recipientes. Un aditivo puede agregarse al recipiente de inicio o agregarse al sistema cerrado a través de uno o más puertos de entrada en el sistema de líneas de fluido o uno o más puertos de entrada de la pluralidad de recipientes. En algunas realizaciones preferidas, el aditivo se agrega al recipiente de inicio y se mezcla con el material de inicio en el mismo para proporcionar la suspensión que se va a agregar a la pluralidad de recipientes. En algunas realizaciones preferidas, se agregan cantidades iguales de aditivo a cada uno de los recipientes de la pluralidad de recipientes, antes, durante y/o después de que se proporcione el material de inicio en la pluralidad de recipientes, en los que el material de inicio y el aditivo se mezclan para proporcionar la suspensión.

Cuando se desea un flujo de fluido en un sistema de llenado de acuerdo con la presente invención, el componente desde el cual debe fluir el fluido se coloca preferiblemente más alto que el componente al que fluye el fluido para minimizar las fuerzas gravitacionales que actúan contra la bomba peristáltica. Por ejemplo, cuando el fluido debe fluir desde el recipiente de inicio a la pluralidad de recipientes, el recipiente de inicio se coloca preferiblemente en una elevación que es más alta que la pluralidad de recipientes. En algunas realizaciones, la porción del sistema de líneas de fluido en la que el fluido fluye hacia la cabeza de bomba se eleva por encima de la porción del sistema de líneas de fluido en la que el fluido fluye fuera de la cabeza de bomba. Cuando se debe invertir la dirección del flujo de fluido, las elevaciones relativas de los componentes del sistema de llenado se pueden cambiar de manera acorde, de manera que el componente desde el cual debe fluir el fluido se coloque preferiblemente más alto que el componente hacia el cual debe fluir el fluido para minimizar las fuerzas gravitacionales que actúan contra la bomba peristáltica. Cuando no se desea el flujo de fluido (por ejemplo, la eliminación de aire de la pluralidad de recipientes), los componentes del sistema de llenado pueden colocarse en la misma elevación, o el componente o componentes que comprenden el fluido pueden colocarse a una elevación más baja que los otros componentes. En algunas realizaciones, los reguladores de flujo de fluido pueden ser aplicados para evitar el flujo de fluido de una porción a otra porción del sistema de llenado. En algunas realizaciones, todas las vías de flujo de fluido desde el recipiente de inicio a cada recipiente de la pluralidad de recipientes tienen la misma forma y tamaño, es decir, volumen, de manera que las velocidades de flujo de fluido a través de las vías de flujo de fluido son sustancialmente similares o iguales y, por lo tanto, dan como resultado concentraciones y volúmenes similares o iguales de la suspensión que se entrega a la pluralidad de recipientes.

Como la acción de la bomba peristáltica puede causar un efecto de vacío en una porción de un sistema de llenado de acuerdo con la presente invención y, por lo tanto, hacer que las paredes de la porción del sistema de llenado se colapsen y formen un sello temporal que evita el flujo de fluido, una o más recipientes adicionales que contienen un fluido, por ejemplo, una jeringa que contiene aire, puede colocarse en comunicación fluida a lo largo de una o más vías de flujo de fluido del sistema cerrado. Luego, cuando las paredes de una porción del sistema de llenado se colapsan por el efecto de vacío de la bomba peristáltica, el fluido del recipiente adicional (por ejemplo, el aire de una jeringa) aguas arriba de las paredes colapsadas se puede inyectar en la vía de flujo de fluido para aliviar el efecto de vacío y romper el sello temporal y por lo tanto permitir que pase el flujo de fluido. En algunas realizaciones, el fluido del recipiente adicional es aire. En algunas realizaciones, el fluido en el recipiente adicional es una sustancia inerte, es decir, una sustancia que no reacciona o se disuelve en el material de inicio o la suspensión.

Un fluido tal como el aire presente en el recipiente de inicio, el sistema de líneas de fluido y/o la pluralidad de recipientes se pueden eliminar de estas ubicaciones usando uno o más recipientes vacíos, por ejemplo, una jeringa vacía, en comunicación fluida con el componente del que se va a eliminar el fluido. El recipiente vacío puede ser igual o diferente al recipiente que previamente contenía el fluido para romper el sello temporal causado por el efecto de vacío de la bomba peristáltica como se describe anteriormente. Por ejemplo, el aire en uno o más de la pluralidad de recipientes puede eliminarse de ellos orientando el recipiente de manera que un puerto del recipiente esté ubicado en la porción superior donde se encuentra el aire, pasando el aire desde el recipiente a través de los puertos hacia una línea de fluido conectada a la misma, y luego eliminar el aire de la línea de fluido usando una jeringa unida a la misma para extraer el aire. En algunas realizaciones, el recipiente vacío, por ejemplo, la jeringa, puede estar conectada, directa o indirectamente, al componente, por ejemplo, el recipiente, del cual debe eliminarse el fluido. En algunas realizaciones, después de que se elimine el fluido, el puerto del recipiente se cierra o se sella de manera que el fluido no pueda fluir nuevamente hacia el recipiente. En algunas realizaciones, el recipiente vacío, por ejemplo, la jeringa está conectada a una línea de fluido o un recipiente (del cual se debe eliminar el fluido) mediante un conector de línea de fluido que también es un regulador de flujo de fluido y después de que se elimina el fluido, el regulador de flujo de fluido se aplica para evitar que el fluido fluya de nuevo en el recipiente. En algunas realizaciones, el aire de la pluralidad de recipientes se evacua de la pluralidad de recipientes usando la bomba peristáltica de manera que el aire se extrae de la pluralidad de recipientes hacia el sistema de líneas de fluido hacia la cabeza de bomba. En algunas realizaciones, el aire en el sistema de líneas de fluido y/o la pluralidad de recipientes fluye hacia el recipiente de inicio. En algunas realizaciones, el aire puede eliminarse del sistema de líneas de fluido y/o la pluralidad de recipientes a intervalos periódicos. Por ejemplo, después de que parte de la suspensión se haya entregado a la pluralidad de recipientes, parte o todo el aire en la pluralidad de recipientes se puede eliminar como se describió anteriormente, por ejemplo, revertir la acción de la bomba peristáltica, luego,

después de que se entregue más suspensión a la pluralidad de recipientes, revertir la acción de la bomba peristáltica nuevamente para eliminar una parte o la totalidad del aire en la pluralidad de recipientes, y repetir según sea necesario hasta que la pluralidad de los recipientes se llena con el volumen deseado de la suspensión (y la cantidad de aire deseada, si corresponde). En algunas realizaciones, una parte alícuota de un material, por ejemplo, la suspensión, el material de inicio o el aditivo en el sistema cerrado se pueden eliminar para realizar pruebas usando un recipiente vacío como se describe anteriormente.

En algunas realizaciones, un segundo recipiente de inicio y una segunda bomba peristáltica conectados a un segundo sistema de líneas de fluido que están conectadas a la pluralidad de recipientes pueden usarse para entregar un segundo material de inicio, que puede ser un aditivo o una segunda suspensión (que puede o no ser la misma que la primera suspensión) a la pluralidad de recipientes. El segundo material de inicio puede entregarse a la pluralidad de recipientes antes, durante y/o después de la entrega del primer material de inicio o la primera suspensión. La pluralidad de recipientes puede agitarse durante y/o después de la entrega de los primeros/segundos materiales de inicio/suspensión para asegurar una mezcla completa en los mismos.

El funcionamiento de los dispositivos y sistemas de llenado de acuerdo con la presente invención puede ser manual o automatizado. En algunas realizaciones, uno o más sensores que detectan la presencia o ausencia de un fluido pueden colocarse en una o más ubicaciones, por ejemplo, en una o más líneas de fluido de la pluralidad de líneas de fluido conectadas a la pluralidad de recipientes, en uno o más recipientes (recipiente de inicio y pluralidad de recipientes), en la cabeza de bomba de la bomba peristáltica, etc. El fluido detectado por los sensores puede ser un líquido como el material de inicio y/o la propia suspensión, un gas como el aire, o ambos. En algunas realizaciones, se emplean sensores que son capaces de detectar y distinguir entre dos o más sustancias. Cuando un sensor detecta la presencia de una sustancia, por ejemplo, aire, en una ubicación no deseada dentro del sistema de relleno, el sistema de relleno proporciona una notificación, como un pitido, una luz o una lectura en una pantalla de interfaz de usuario, de los mismos. Un operador puede entonces eliminar manualmente la sustancia de la ubicación no deseada como se describe anteriormente. Alternativamente, el sistema de llenado se puede conectar a un sistema informático y controlador que automáticamente, de acuerdo con un programa informático dado, acciona la bomba peristáltica, orienta y/o agita el recipiente de inicio, el sistema de líneas de fluido y/o la pluralidad de recipientes basándose en información recibida de los sensores. El controlador puede ser igual o diferente al sistema de control de la bomba peristáltica.

Una vez que la pluralidad de recipientes se llena como se desea, cada recipiente de la pluralidad puede sellarse, preferiblemente herméticamente, separarse del sistema de líneas de fluido y almacenarse hasta su uso posterior. En algunas realizaciones, los recipientes se almacenan en su soporte o soportes usados mientras se llenan los recipientes con la suspensión. En algunas realizaciones, los soportes contienen compartimentos individuales en los que se sujeta cada recipiente. En algunas realizaciones, los compartimentos individuales están unidos entre sí de manera extraíble, de manera que un compartimento individual que contiene un recipiente puede separarse de los mismos. La bomba peristáltica puede ser eliminada, esterilizada y reutilizada. En algunas realizaciones, el recipiente de inicio y el sistema de líneas de fluido se usan solo una vez.

En algunas realizaciones, todo el sistema de llenado funciona a una temperatura preestablecida, por ejemplo, en una habitación a 4 ° C u otra temperatura deseada. En algunas realizaciones, uno o más componentes del sistema de llenado pueden llevarse a una temperatura deseada, por ejemplo, preenfriados a 4 ° C antes del funcionamiento. En algunas realizaciones, el material de inicio y/o el aditivo se pueden llevar a una temperatura deseada antes de accionar el sistema de llenado. En algunas realizaciones, uno o más soportes que contienen el recipiente de inicio y/o la pluralidad de recipientes pueden llevarse a una temperatura deseada antes del funcionamiento del sistema de llenado. En algunas realizaciones, uno o más soportes que contienen el recipiente de inicio y/o la pluralidad de recipientes pueden mantenerse a una temperatura deseada antes, durante y/o después del funcionamiento del sistema de llenado. En algunas realizaciones, los soportes pueden contener elementos de enfriamiento y/o calentamiento incorporados dentro de las paredes de los soportes. En realizaciones en las que se emplean múltiples soportes, las temperaturas de los soportes pueden ser iguales o diferentes. Además, la temperatura de un soporte dado puede modificarse antes, durante y/o después del funcionamiento del sistema de llenado.

Sistema y funcionamiento de ejemplo para proporcionar múltiples suspensiones celulares para la criopreservación

Antes de la presente invención, el uso de una pluralidad de líneas de fluido para llenar por gravedad una pluralidad de recipientes de una suspensión celular generalmente tomó casi aproximadamente 30 minutos después de que el material de inicio que contenía las células se mezclara con un conservante en el recipiente de inicio. Con tales métodos y dispositivos, asegurar que cada recipiente de la pluralidad de recipientes contenía volúmenes y concentraciones uniformes de la suspensión celular fue un desafío y, en general, no es factible en condiciones donde las células no deben ponerse en contacto con el criopreservador por períodos de aproximadamente 30 minutos o más.

En algunas realizaciones preferidas, un sistema de llenado de acuerdo con la presente invención se usa para proporcionar múltiples suspensiones celulares para la criopreservación. En algunas realizaciones, las células de las

suspensiones celulares son células hepáticas. En algunas realizaciones, las células hepáticas son de uno o más donantes y las suspensiones celulares deben trasplantarse en uno o más sujetos que están siendo tratados.

- 5 En algunas realizaciones, el material de inicio que contiene las células hepáticas se mezcla con un crioprotector, por ejemplo, DMSO, en el recipiente de inicio, antes o después, preferiblemente después del ensamblaje (y justo antes del funcionamiento) del sistema de llenado de acuerdo con la presente invención. El crioprotector se proporciona en forma de una composición que comprende albúmina de suero humano (HSA), hidroxietil almidón (HES) y DMSO. En algunas realizaciones, la composición y el material de inicio se mezclan en una relación de volumen 1: 1.
- 10 Una vez que la suspensión celular (es decir, la mezcla del material de inicio y el crioprotector debe distribuirse a la pluralidad de recipientes, cualquier regulador de flujo de fluido se abre y la bomba peristáltica se activa para mover el fluido desde el recipiente de inicio hacia la pluralidad de recipientes. Después de que parte o la totalidad de la suspensión celular se entrega a la pluralidad de recipientes, el funcionamiento de la bomba peristáltica se invierte de manera que el aire en la pluralidad de recipientes y/o la pluralidad de líneas de fluido se puedan eliminar de la
- 15 misma como se describió anteriormente. Una vez que el volumen deseado de la suspensión celular se entrega a la pluralidad de recipientes y la cantidad deseada de aire se ha eliminado de los mismos, los recipientes se pueden sellar, preferiblemente herméticamente, y separar de la pluralidad de líneas de fluido.
- 20 En algunas realizaciones, el crioprotector se puede agregar a la pluralidad de recipientes después de que el material de inicio se haya agregado al mismo, se eliminará la necesidad de mezclar el material de inicio y el crioprotector antes del funcionamiento de la bomba peristáltica y se reducirá el tiempo que las células se exponen al crioprotector a temperaturas superiores a 4 ° C. En algunas realizaciones, el material de inicio, el crioprotector (o la composición que contiene el crioprotector) y/o uno o más componentes del sistema de llenado (por ejemplo, el recipiente de inicio, la pluralidad de recipientes, etc.) se enfrían a una temperatura que oscila entre aproximadamente 2 y 8 ° C
- 25 antes de accionar el sistema de llenado. Alternativamente, el funcionamiento del sistema de llenado se realiza en una habitación fría con una temperatura que oscila entre aproximadamente 2 y 8 ° C.
- 30 De acuerdo con la presente invención, los sistemas, dispositivos y métodos de la presente invención permite la distribución concurrente de concentraciones y volúmenes uniformes (por ejemplo, 60 ml en cada recipiente) de suspensión celular en múltiples recipientes (por ejemplo, 2 o más, preferiblemente aproximadamente 4-16) en aproximadamente en 1-23 minutos, preferiblemente aproximadamente en 1-18 minutos, más preferiblemente aproximadamente en 1-13 minutos, y lo más preferiblemente aproximadamente 8 minutos o menos después de la adición del crioprotector a la suspensión celular.

REIVINDICACIONES

1.- Un sistema de llenado cerrado y estéril para preparar una pluralidad de recipientes que tienen una suspensión celular biológicas para crioconservación, que comprende

5 un recipiente (100) de inicio que contiene un material de inicio que comprende que comprende células biológicas para ser distribuidas como una suspensión de concentración uniforme y volumen en una pluralidad de recipientes (300);

10 al menos un crioprotector para ser mezclado con el material de inicio;

un sistema de líneas (200, 201, 203) de fluido que tiene una pluralidad de líneas (203) de fluido;

la pluralidad de recipientes (300); y

15 una bomba peristáltica multicanal (400) que tiene una cabeza (401) de bomba;

20 en el que el recipiente (100) de inicio está conectado al sistema de líneas (200) de fluido y cada recipiente (300) de la pluralidad de recipientes (300) está conectado a una línea (203) de fluido de la pluralidad de líneas (203) de fluido para formar un sistema cerrado en el cual un fluido puede fluir desde el recipiente (100) de inicio a través del sistema de líneas (200, 201, 203) de fluido a cada recipiente (300) de la pluralidad de recipientes (300);

25 en el que el recipiente (100) de inicio incluye un puerto (101) de entrada y un puerto (102) de salida para la transferencia aséptica de un fluido dentro y fuera del recipiente (100) de inicio y un puerto bidireccional (103);

en el que el recipiente (100) de inicio está conectado a la línea (201) de fluido, y dicha línea (201) de fluido está conectada a la pluralidad de líneas (203) de fluido a través de al menos un multiconector (202a, 202b);

30 en el que una jeringa (107, 208) está conectada a la línea (201) de fluido a través de un regulador (204) de flujo de fluido o al recipiente (100) de inicio a través del puerto bidireccional (103) para empujar el fluido o mover gas dentro y fuera de las líneas de fluido;

35 en el que cada una de dichas líneas (203) de fluido de la pluralidad de líneas (203) de fluido se aplica con cada canal en la cabeza (401) de bomba de manera que el funcionamiento de la bomba peristáltica multicanal (400) ayude al flujo de fluido a través del sistema de líneas (203) de fluido y cada línea (203) de fluido actúa igualmente por la cabeza (401) de bomba de la bomba peristáltica (400);

40 en el que cada línea (203) de fluido de la pluralidad de líneas (203) de fluido comprende un regulador (206) de flujo de fluido para regular el flujo en cada líneas (203) de fluido; y

en el que la bomba peristáltica multicanal (400) funciona en una dirección hacia adelante o una dirección hacia atrás.

45 2.- El sistema de llenado de la reivindicación 1, y que comprende además un sistema informático que tiene un programa informático, y un controlador que automáticamente, de acuerdo con el programa informático, acciona la bomba peristáltica (400), orienta y/o agita el recipiente (100) de inicio, el sistema de líneas (200) de fluido y/o la pluralidad de recipientes (300) basándose en información recibida de uno o más sensores.

50 3.- El sistema de la reivindicación 1, en el que el material de inicio comprende células hepáticas, para ser distribuidas como una suspensión en la pluralidad de recipientes (300).

4.- El sistema de la reivindicación 1, que comprende además un segundo sistema de líneas (200) de fluido que tiene una segunda pluralidad de líneas (203) de fluido que se pueden aplicar en una segunda cabeza (401) de bomba de una segunda bomba peristáltica (400).

55 5.- Un método para preparar una pluralidad de recipientes (300) que tiene una suspensión celular biológicas en el que las concentraciones de las células en la pluralidad de recipientes (300) son sustancialmente similares o iguales y los volúmenes de la suspensión en la pluralidad de recipientes (300) son sustancialmente similares o iguales, que comprende

60 obtener un sistema cerrado y estéril de acuerdo con la reivindicación 1,

proporcionar un material de inicio de una suspensión celular biológicas en el recipiente (100) de inicio;

aplicar la pluralidad de líneas (203) de fluido en una cabeza (401) de una bomba peristáltica (400),

65

accionar la bomba peristáltica (400) en una dirección hacia adelante para hacer que el material de inicio fluya desde el recipiente (100) de inicio a la pluralidad de recipientes (300), y

agregar al menos un crioprotector al material de inicio.

- 5 6.- El método de la reivindicación 5, y que comprende además eliminar un exceso de fluido de la pluralidad de recipientes (300) accionando la bomba peristáltica (400) en una dirección inversa para hacer que el exceso de fluido fluya desde la pluralidad de recipientes (300) hacia el recipiente (100) de inicio.
- 10 7.- El método de la reivindicación 5, y que comprende además sellar y separar la pluralidad de recipientes (100).

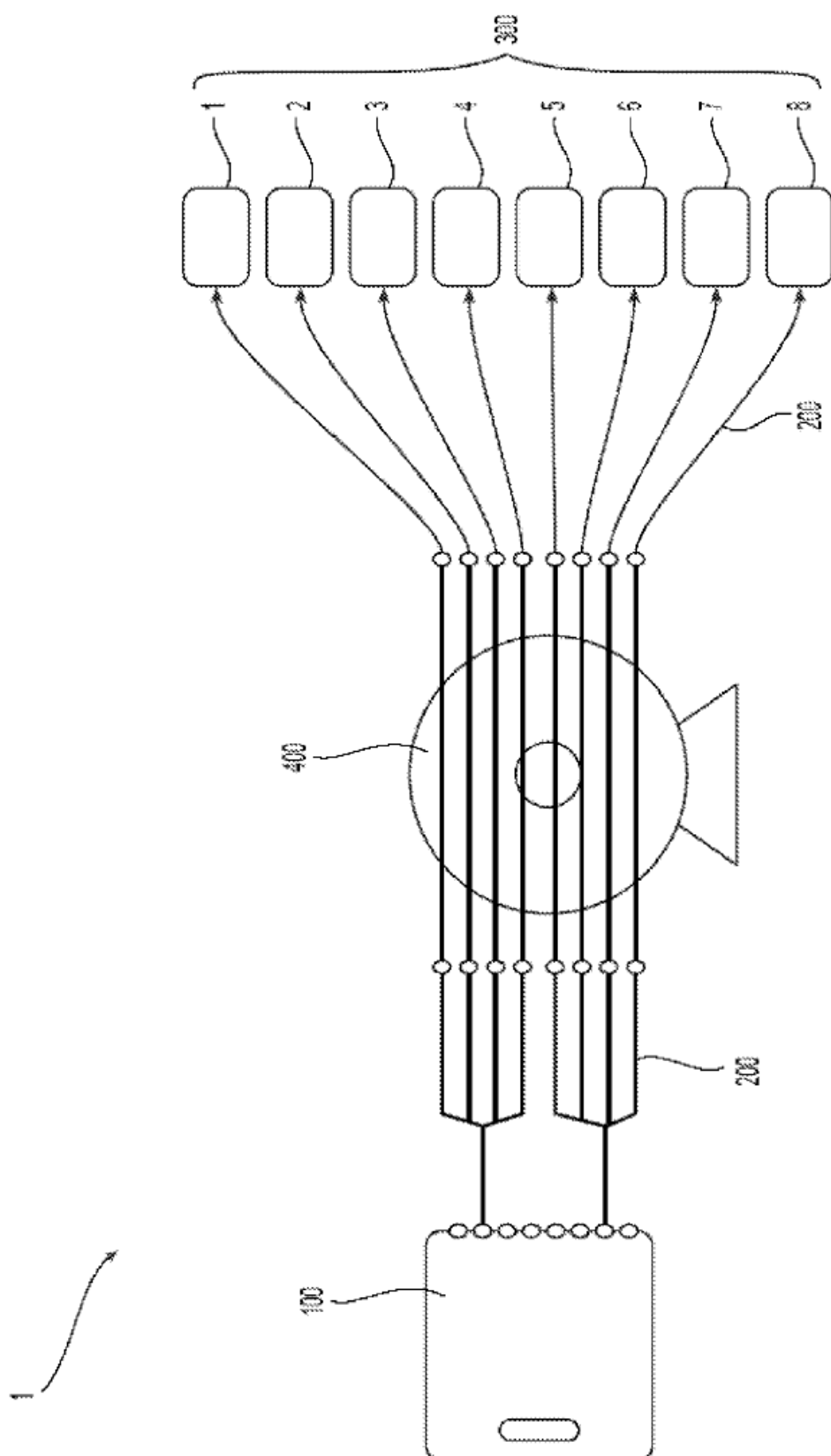


Fig. 1

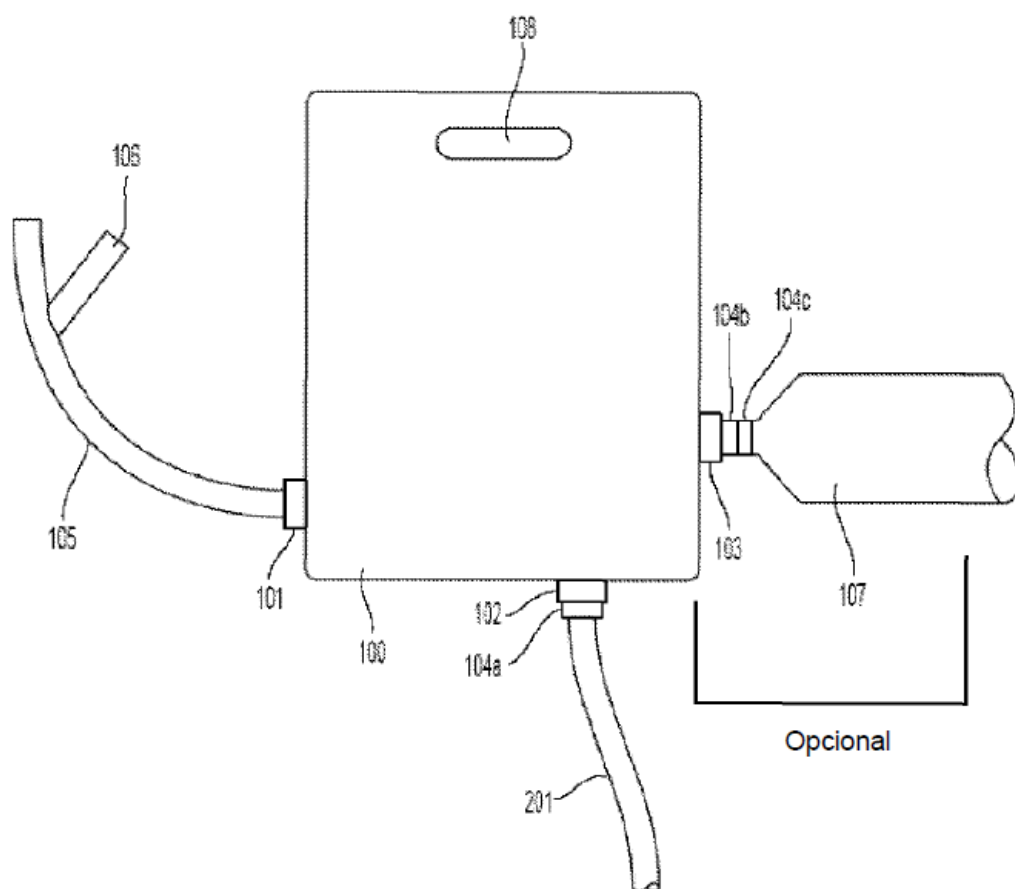
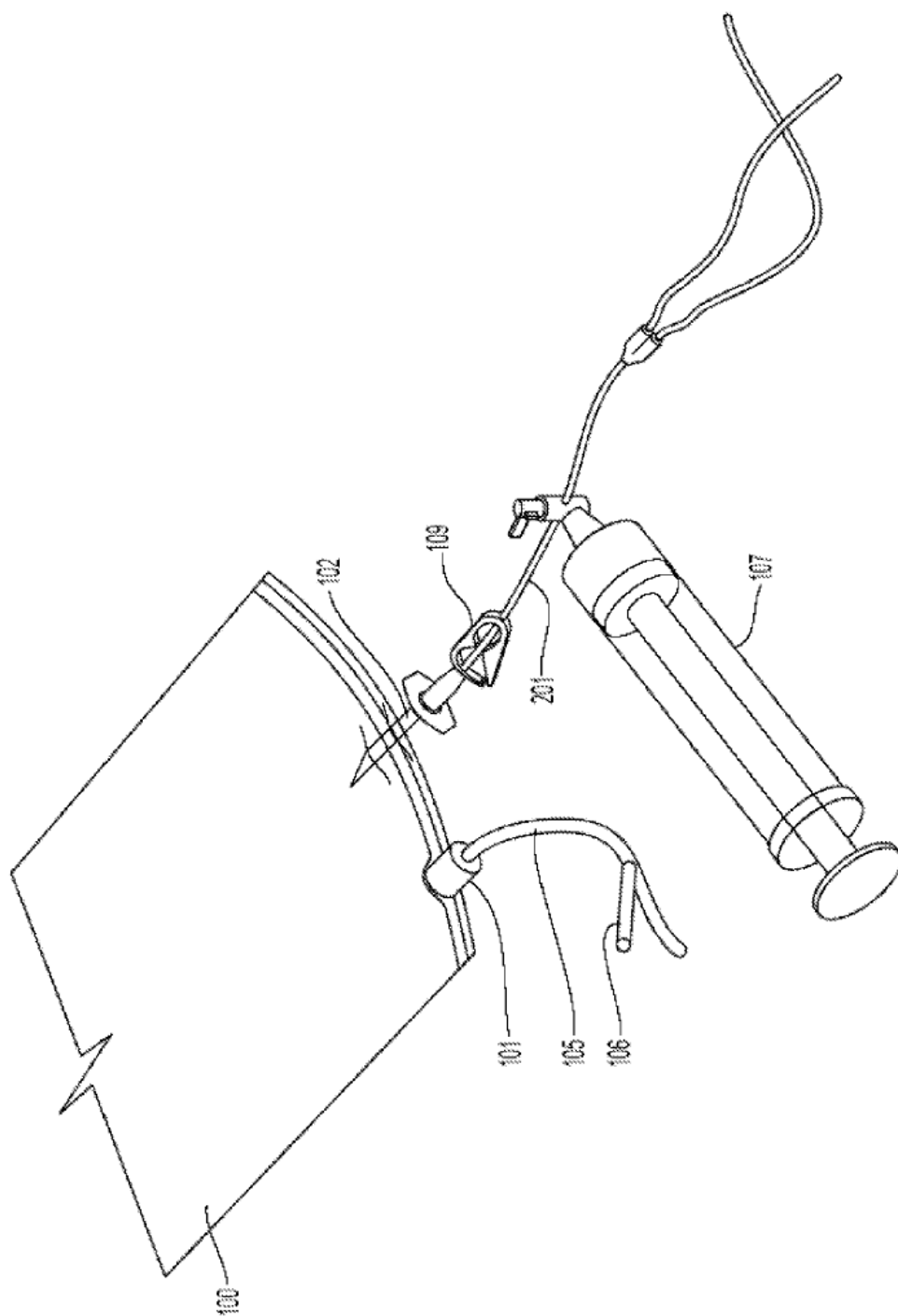


Fig. 2A



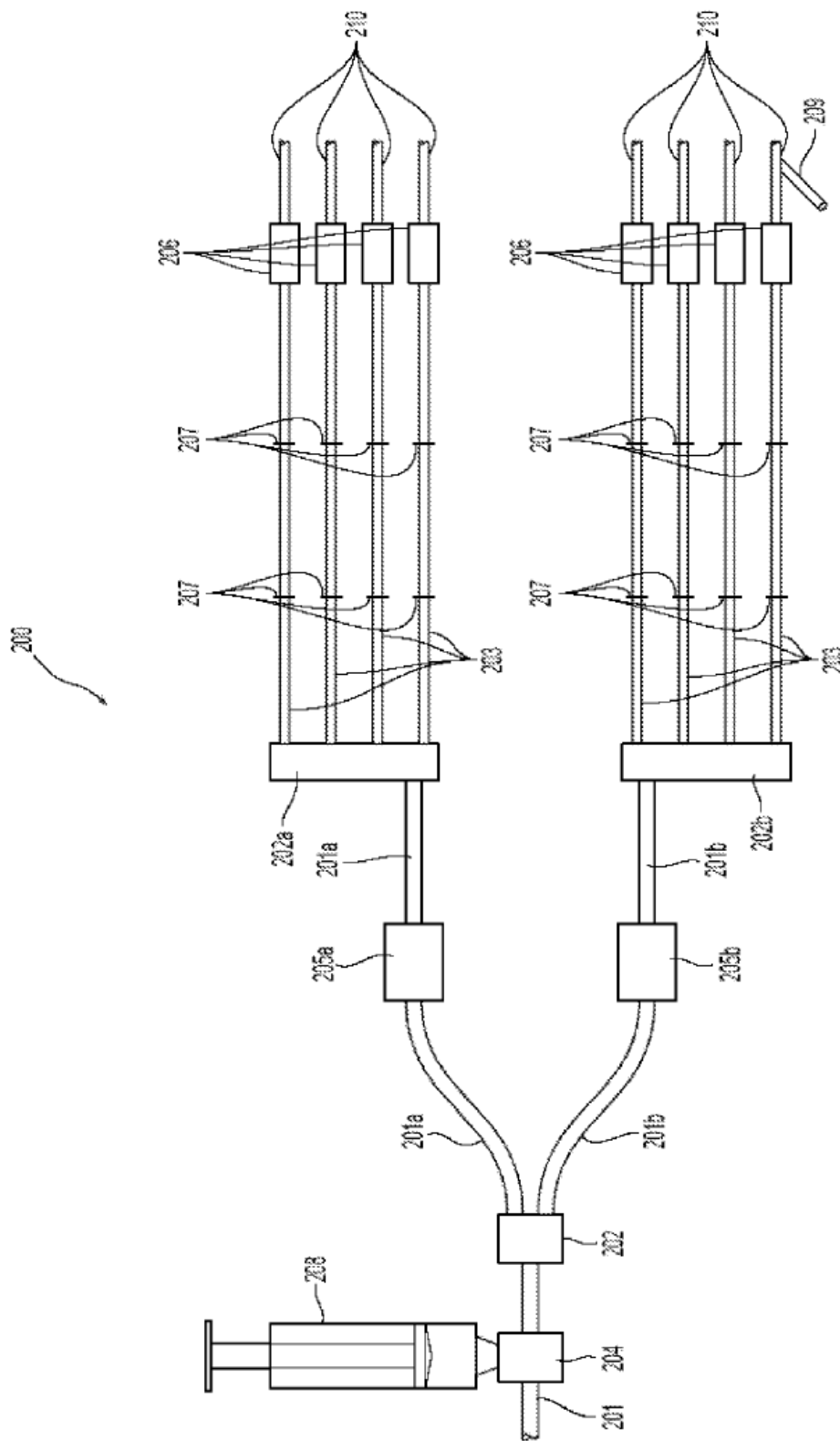


Fig. 3

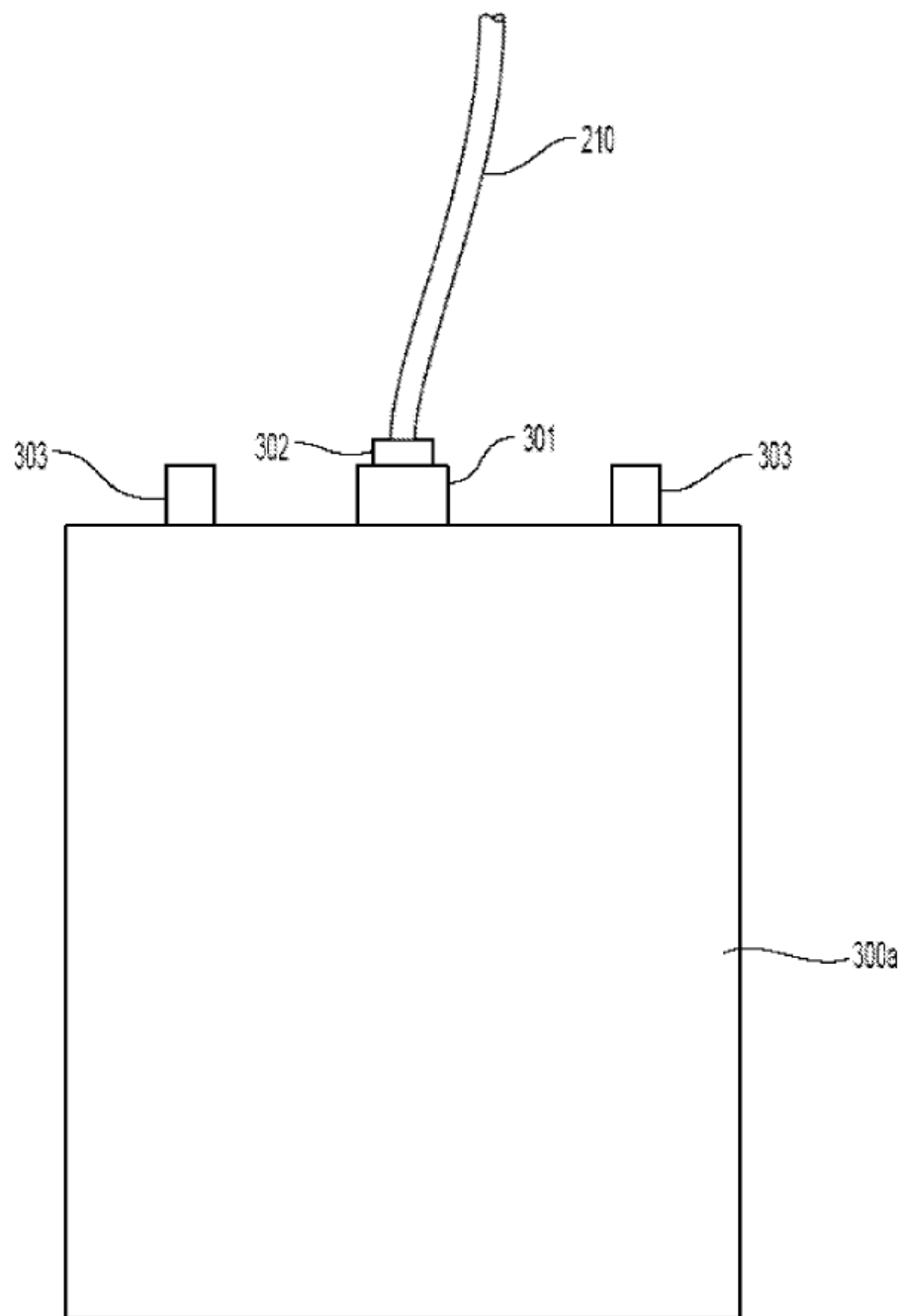


Fig. 4

