

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 774 796**

51 Int. Cl.:

**A61M 1/02** (2006.01)

**A61B 5/15** (2006.01)

**A61B 5/153** (2006.01)

**A61M 39/22** (2006.01)

**A61M 39/24** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.10.2015 PCT/IB2015/058361**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.05.2016 WO16067246**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.10.2015 E 15805275 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.12.2019 EP 3212249**

54 Título: **Dispositivo médico para la preparación de un concentrado de células**

30 Prioridad:

**31.10.2014 IT TO20140897**

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

**22.07.2020**

73 Titular/es:

**ELTEK S.P.A. (100.0%)  
Strada Valenza, 5A  
15033 Casale Monferrato, IT**

72 Inventor/es:

**PIZZI, MARCO;  
ZANIN, MASSIMO;  
MORTARA, ENRICA;  
CHAPPOZ, CHADÉE y  
MAZZUCCO, LAURA**

74 Agente/Representante:

**CURELL SUÑOL, S.L.P.**

ES 2 774 796 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

Dispositivo médico para la preparación de un concentrado de células

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere en general a dispositivos médicos y se ha desarrollado en referencia particular a dispositivos que pueden utilizarse para obtener una muestra de un líquido biológico de un sujeto, preferentemente sangre medular o venosa, separarla en fracciones y obtener un concentrado de células de una de las fracciones separadas, preferentemente células estromales o células troncales.

**Técnica anterior**

Existen estudios recientes que han demostrado que el componente estromal de la médula ósea, constituido por una población celular heterogénea (células endoteliales, fibroblastos, adipocitos, osteoblastos, etc.) contiene células troncales no hematopoyéticas con capacidad de automantenimiento y diferenciación. Las células estromales, en particular las condiciones de cultivo y estimulación, presentan la capacidad de automantenimiento y diferenciación en tejido óseo, tejido cartilaginoso, tejido muscular, tejido tendinoso y tejido adiposo. Las células estromales en cultivo, generalmente denominadas células troncales mesenquimales (MSC), representan una población de células multipotentes que se encuentra en la médula ósea, en tejido adiposo y, en grado mínimo, en la sangre periférica.

Tras la centrifugación de la sangre, tal como la sangre medular, la mayoría de las células troncales mesenquimales se encuentran en una capa o fracción de separación conocida como "capa leucocitaria", que representa una fuente rica de células y proteínas que puede contribuir a optimizar las condiciones para la cicatrización. La fracción anteriormente indicada rica en células estromales o células troncales, no sólo es capaz de acelerar la migración de las células troncales hacia el sitio de reparación, sino que asimismo estimula su proliferación en el microambiente. Típicamente, la capa leucocitaria aparece como una capa amarillenta-rosa que es más gruesa cuanto mayor es el número de leucocitos presente.

La relativa facilidad de aislamiento, el elevado potencial de expansión *in vitro* y el potencial de diferenciación han permitido utilizar las células troncales mesenquimales para aplicaciones de terapia celular en el campo de la medicina reparativa y regenerativa, de medicina estética y de cirugía plástica.

Los procedimientos utilizados actualmente para la preparación de concentrados de células estromales partiendo del aspirado medular se basan en dispositivos que generalmente son caros y no son fáciles de utilizar.

Por ejemplo, se conoce un sistema de muestreo y separación de aspirado medular a partir del documento nº WO 2010/138895 A.

La solución contempla que el aspirado medular extraído del paciente se introduzca en un recipiente centrifugable, que se aloja en un inserto rígido, con una densidad con la que, tras la centrifugación apropiada del recipiente, se estratifican diferentes fracciones de la sangre medular en diferentes posiciones con respecto al inserto. En particular, después de la centrifugación, la fracción menos densa de la sangre medular, es decir, el plasma, se encuentra en la parte superior del inserto; la fracción más densa, es decir, los glóbulos rojos, se encuentra en la parte inferior del inserto, y la parte con densidad intermedia, es decir, la capa leucocitaria, se encuentra en una zona central en forma de embudo del inserto mismo.

El sistema de separación incluye, de esta manera, dos jeringas, las cuales están conectadas al recipiente centrifugable mediante un sistema de cánula y un dispositivo de válvula. El sistema de cánula presenta dos elementos huecos, que pueden girar uno respecto a otro y están provistos de orificios a diferentes alturas, para permitir el muestreo selectivo de las fracciones estratificadas dentro del recipiente centrifugable. En particular, en el caso de que se alineen determinados orificios superiores e inferiores del sistema de cánula, resulta posible muestrear la fracción menos densa (plasma) utilizando una jeringa y la fracción con densidad intermedia (capa leucocitaria) utilizando la otra jeringa. Con este fin, el dispositivo de válvula puede intercambiarse entre dos posiciones, en las que el sistema de cánula está en comunicación fluidica con una u otra jeringa.

En el dispositivo según el documento citado anteriormente, la construcción específica del recipiente centrifugable es relativamente complicada y cara, y la utilización del dispositivo globalmente resulta inconveniente, en particular con respecto al funcionamiento del sistema de cánula y el muestreo de las fracciones de la sangre medular separada.

El documento nº US 5.318.782 A da a conocer un dispositivo de separación médico con las características según el preámbulo de la reivindicación 1.

El documento nº EP3068457, publicado como el documento nº WO2015/071852, se refiere al estado de la técnica

según el art. 54(3) EPC y da a conocer un dispositivo médico para separar plasma rico en plaquetas de sangre completa.

### Sumario y objetivo de la invención

5

A partir de lo expuesto anteriormente, el objetivo de la presente invención es básicamente proporcionar un dispositivo del tipo al que se hace referencia, para la separación o el enriquecimiento de un concentrado de células partiendo de un líquido biológico, que resulta simple y económicamente ventajoso de producir, así como fiable, seguro, preciso y de uso conveniente para el operador.

10

Un objetivo auxiliar de la presente invención es proporcionar un sistema que comprende un dispositivo del tipo anteriormente indicado en el que por lo menos el muestreo de las fracciones separadas de un líquido biológico, tal como sangre o aspirado medular, puede llevarse a cabo de un modo automatizado y, por lo tanto, intrínsecamente preciso.

15

Los objetivos anteriores y otros, los cuales se pondrán más claramente de manifiesto a continuación en la presente memoria, se consiguen según la presente invención mediante un dispositivo de separación y un sistema de separación que presentan las características especificadas en las reivindicaciones adjuntas. La invención se define mediante las reivindicaciones independientes 1, 9 y 12. Las formas de realización preferidas se especifican en las reivindicaciones dependientes.

20

### Breve descripción de los dibujos

25

Se pondrán de manifiesto objetivos, características y ventajas adicionales de la invención a partir de la descripción proporcionada a continuación, haciendo referencia a los dibujos adjuntos, que se proporcionan únicamente a título de ejemplo no limitativo y en los que:

30

la figura 1 es una vista esquemática de despiece de un dispositivo médico según una forma de realización de la invención;

la figura 2 es una vista en perspectiva esquemática de algunas partes del dispositivo de la figura 1 en la condición ensamblada;

35

la figura 3 es una vista similar a la de la figura 2 con los componentes del dispositivo representado en sección transversal;

las figuras 4 y 5 son detalles de una escala ampliada de la figura 3;

40

la figura 6 es una vista en perspectiva esquemática de un aparato que puede utilizarse en combinación con un dispositivo según la invención;

la figura 7 es una vista esquemática en sección del aparato de la figura 6 con un dispositivo según la figura 2 montado en el mismo;

45

la figura 8 muestra un detalle a una escala ampliada del aparato de la figura 6, respecto particularmente al aparato en una primera condición;

la figura 9 es una vista similar a la de la figura 8 particularmente con el aparato en una segunda condición;

50

la figura 10 es una vista similar a la de la figura 6, con un dispositivo según la figura 2 montado en el aparato;

la figura 11 es una vista similar a la de la figura 10 mostrando secciones parciales de dos partes del aparato;

55

la figura 12 es un detalla a una escala ampliada de la figura 11;

la figura 13 es una vista esquemática explosionada de un dispositivo médico según una forma de realización adicional de la invención;

60

la figura 14 es una vista esquemática explosionada de un dispositivo médico según una forma de realización adicional de la invención;

la figura 15 es una vista esquemática explosionada de un dispositivo médico según una forma de realización adicional de la invención, y

65

las figuras 16 a 18 son gráficos de ejemplos de concentración de componentes sanguíneos obtenidos mediante muestreo de una capa leucocitaria obtenida utilizando el procedimiento según la invención.

**Descripción de formas de realización preferidas de la invención**

La referencia a “una forma de realización” en el contexto de la presente descripción pretende indicar que una configuración, estructura o característica particular indicada en relación a la forma de realización se encuentra comprendida en por lo menos una forma de realización. Por lo tanto, expresiones tales como “en una forma de realización” y similares que pueden encontrarse en diversos puntos de la presente descripción no se refieren necesariamente a una misma forma de realización. Además, las conformaciones, estructuras o características particulares definidas en el curso de la presente descripción pueden combinarse de cualquier manera adecuada en una o más formas de realización, incluso en maneras diferentes a las representadas. Los números de referencia y referencias espaciales (tales como “superior”, “inferior”, “tope”, “fondo”, “arriba”, “abajo”, etc.) se utilizan en la presente memoria meramente por conveniencia y, por lo tanto, no definen la esfera de protección o el alcance de las formas de realización. En las figuras, los mismos números de referencia se utilizan para designar elementos que son similares o técnicamente equivalentes entre sí.

Una posible forma de realización de un dispositivo médico para la separación o el enriquecimiento de un concentrado de células partiendo de un líquido biológico se ejemplifica esquemáticamente en la figura 1, designando globalmente el dispositivo con el número ‘1’. A continuación, se considera que el líquido que debe muestrearse y separarse en fracciones es sangre, preferentemente sangre medular, y que el dispositivo 1 se utiliza con los fines de preparación de una concentración de células estromales o células troncales, es decir, la capa leucocitaria de la sangre separada, por ejemplo para aplicaciones regenerativas y/o aplicaciones de renovación y/o reparación fisiológica de tejidos en contextos clínicos especializados.

El dispositivo según la invención preferentemente comprende componentes desechables proporcionados en un envase estéril. Muy preferentemente, el dispositivo comprende todos los componentes necesarios para obtener una muestra de sangre medular de un paciente y evitar la coagulación de la misma, separar la muestra en sus fracciones y obtener un concentrado o fracción enriquecida. En términos más generales, el dispositivo permite el tratamiento de un líquido en un sistema cerrado, es decir, bajo condiciones que evitan cualquier contaminación del líquido mismo procedente del exterior durante las diversas etapas operativas.

En el ejemplo ilustrado, el dispositivo 1 comprende por lo menos un recipiente 2 para recoger el líquido que debe tratarse, por ejemplo sangre o aspirado medular; un recipiente de tratamiento 3, en particular para la centrifugación de sangre o aspirado medular; un recipiente 4 para recibir una primera fracción del líquido y un recipiente 5 para recibir una segunda fracción del líquido.

En una forma de realización preferida, el dispositivo 1 incluye un recipiente 6 para la adición de un anticoagulante y por lo menos un dispositivo para el muestreo de sangre. En el ejemplo representado, el recipiente 6 comprende una jeringa, mientras que el dispositivo de muestreo puede ser de diversos tipos. La figura 1 ilustra con este fin dos versiones alternativas de los dispositivos de muestreo  $K_1$  y  $K_2$  de un tipo que es conocido por sí mismo. El dispositivo  $K_1$  es un dispositivo para la biopsia medular, por ejemplo incluye una aguja de biopsia y una aguja Jamshidi provista de un mandril, mientras que el dispositivo  $K_2$  comprende una aguja para el muestreo venoso con un tubo correspondiente asociado para la conexión al recipiente 2. En otras formas de realización, el dispositivo  $K_2$  para el muestreo de sangre venosa puede consistir en una aguja hipodérmica simple, que puede estar directamente asociada al recipiente 2, tal como se indica posteriormente en la presente memoria. El recipiente 6 y/o el dispositivo  $K_1$  o  $K_2$  no forma parte necesariamente del dispositivo 1 y preferentemente no se preensamblan sobre otras partes indicadas en la presente memoria.

Cada uno de los recipientes 2, 3, 5 y 6 presenta una conexión, preferentemente de un tipo Luer, que define un orificio para la entrada y/o salida de líquido: estos elementos de unión están designados, respectivamente, por 2a, 3a, 5a y 6a. Asociado por el contrario al recipiente 4 se encuentra un tubo flexible 4a, por ejemplo moldeado con el recipiente mismo, preferentemente proporcionado junto por lo menos un elemento de unión y/o unos medios de válvula, indicados a continuación en la presente memoria.

En la forma de realización preferida, los recipientes 2, 3, 5 y 6 están constituidos por recipientes de volumen variable, preferentemente jeringas, cada una de las cuales comprende un barril que define el elemento de unión correspondiente y un émbolo desplazable en el barril. Muy preferentemente, el émbolo de la jeringa 3 está constituido de dos partes que pueden separarse una de otra, y específicamente una cabeza de émbolo y un vástago de émbolo.

El recipiente 4 es preferentemente un recipiente generalmente flexible y/o compresible, en particular un recipiente bolsa, por ejemplo con una capacidad de 30 ml, hecho, por ejemplo, de material plástico polimérico, tal como PP, PE, PET o un elastómero. Preferentemente, asociado al tubo 4a del recipiente 4 se encuentra un conector, por ejemplo un conector Y provisto de una zona 4b que puede perforarse con una aguja, tal como una membrana elastomérica.

Las diversas jeringas del dispositivo 1 pueden acoplarse de una manera liberable con una línea de conexión

hidráulica, preferentemente que comprende uno o más tubos flexibles transparentes, por ejemplo realizados en PVC, poliuretano o algún otro elastómero. Preferentemente, operativo en dicha línea de conexión se encuentran medios de válvula, en particular seleccionados de medios de cierre y medios de desvío de flujo, que operan o son operables para permitir y/o evitar, y/o desviar un flujo de líquido por determinadas ramas de la línea misma, tal como emergerá posteriormente en la presente memoria. Los medios de válvula comprenden una válvula desviadora, designada como 7, preferentemente de un tipo mecánico, es decir con un elemento de control que pueda operarse manualmente y/o mecánicamente, preferentemente sin ninguna conexión eléctrica. La válvula 7 presenta tres maneras de conexión con el recipiente de tratamiento 3, con el primer recipiente de recogida 4 y con el segundo recipiente de recogida 5, respectivamente. En la forma de realización ejemplificada, dicha válvula está constituida por una llave de paso de tres vías, con un elemento de perilla o control 7a, preferentemente que comprende relieves radiales o lóbulos.

Preferentemente, los medios de válvula comprenden además una o más válvulas operadas automáticamente, incluyendo válvulas de cierre automático o autocierre, las cuales pueden estar por lo menos en parte integradas en conexiones separables o conectores hidráulicos correspondientes, o alternativamente dispersadas en proximidad de estos elementos de unión o conectores.

La línea de conexión anteriormente indicada incluye una primera rama de línea, que preferentemente comprende un tubo flexible transparente 10a, con un primer extremo que puede estar asociado al elemento de unión 3a de la jeringa 3, y un segundo extremo que puede estar asociado a una de las dos vías de la válvula 7. Una segunda rama de línea, que comprende preferentemente además un tubo flexible, está representada por el tubo 4a que establece una segunda vía de la válvula 7 en comunicación fluidica con el recipiente 4. A la tercera vía de la válvula 7, por el contrario, el elemento de unión 5a de la jeringa 5 puede conectarse directamente o con interposición de un tubo respectivo. Tal como puede advertirse, la rama de la línea representada por el tubo 4a está diseñada para la conexión de líquidos del recipiente 4 únicamente, es decir, no presenta bifurcaciones intermedias activas.

El dispositivo 1 preferentemente presenta una estructura modular, es decir, comprende una pluralidad de partes o módulos que están conectados separablemente entre sí para permitir la extracción de los mismos según la etapa operativa de utilización del dispositivo 1. Preferentemente, el dispositivo 1 contempla una configuración inicial en la que todos los módulos proporcionados están asociados entre sí y esterilizados, en particular definiendo un dispositivo en el que el interior de todos los componentes, tales como los recipientes, así como las líneas de conexión y los medios de válvula correspondientes, son estériles y están protegidos frente a cualquier contaminación procedente del exterior, permitiendo el mantenimiento de una condición de esterilidad de la sangre y sus fracciones separadas o concentradas, durante las diversas etapas operativas de utilización del dispositivo 1. Tal como se ha mencionado anteriormente, el recipiente 6 y el dispositivo de muestreo  $K_1$  o  $K_2$  no están necesariamente preensambladas en las otras partes del dispositivo 1.

En el ejemplo, los módulos anteriormente indicados incluyen un primer módulo A, que comprende la jeringa 3 y la parte correspondiente de la línea 10a, y un segundo módulo B, que comprende el recipiente 4 y la parte correspondiente de línea 4a. La jeringa 5 puede considerarse, a su vez, un tercer módulo del dispositivo 1 en la medida que está acoplado a la línea de conexión mediante la tercera vía correspondiente de la válvula 7. La válvula 7 puede pertenecer a cualquiera de los módulos, aunque preferentemente pertenece al módulo A, que incluye la jeringa 3.

Preferentemente, proporcionado en la interfaz entre los módulos del dispositivo 1, se encuentran conectores hidráulicos, preferentemente que comprenden por lo menos dos partes, que pueden estar acoplados mecánicamente entre sí de una manera hermética a los líquidos y que están diseñados para proporcionar tanto una conexión hidráulica entre los módulos, permitiendo el paso del líquido, y una conexión mecánica entre los módulos, para los fines de una manipulación conveniente del dispositivo 1. Los conectores son preferentemente del tipo separable o liberable, en particular para permitir la separación conveniente de los módulos en cuestión, por ejemplo los conectores de tornillo o roscados, o conectores de algún otro tipo de liberación rápida. En referencia al ejemplo representado, designado como 11 es uno de dichos conectores liberables, operativamente fijado entre los módulos A y B.

Se proporciona por lo menos una válvula que se hace funcionar automáticamente 12, configurada para permitir el flujo unidireccional desde la válvula 7 a lo largo de la rama 4a y después cerrar automáticamente el paso hacia la válvula 7 a fin de evitar cualquier contaminación procedente del exterior en el caso de la separación de las dos partes del conector 11 (una de dichas partes - designada 11a, proporcionando de esta manera el elemento de unión para el recipiente 4). Tal como se observará, puede integrarse una válvula de este tipo en una parte del conector 11 en la rama 4a corriente abajo de la válvula 7. En una forma de realización tal como la ejemplificada, la válvula desviadora 7 pertenece al módulo A, mientras que la válvula 12 pertenece al módulo B.

En la forma de realización ilustrada, el elemento de unión 3a de la jeringa 3 puede estar asociado a un conector 13 con el que se conecta un extremo del tubo 10a. El conector 13 en este caso es un conector con varios elementos de unión, en particular un conector T, que define un elemento de unión de conexión 14 para el elemento de unión 2a de la jeringa 2, tal como se pondrá de manifiesto más claramente después. Preferentemente, proporcionado

dentro del conector 13 se encuentra una válvula accionada automáticamente, que permite el flujo desde el elemento de unión 13 hasta la rama de la línea 10a y evita, por otra parte, cualquier reflujo en la dirección contraria. La válvula accionada automáticamente anteriormente indicada no se muestra en la figura 1, en la medida en que está integrada en el elemento de unión 14. La válvula o válvulas accionadas automáticamente contempladas por el dispositivo 1 están configuradas como válvulas unidireccionales o de no retorno.

Uno o más módulos de la estructura del dispositivo 1 pueden comprender además por lo menos un elemento de cierre adicional en por lo menos una rama de una línea de conexión correspondiente, tal como, por ejemplo, una o más válvulas de abrazadera, una de las cuales se designa como 15 y, en aras de la simplicidad, se denominada posteriormente en la presente memoria como "abrazadera" y se fija en el tubo 10a corriente abajo del conector 13.

Como se ha mencionado anteriormente, en una forma de realización, por lo menos una válvula accionada automáticamente del dispositivo 1 está integrada por lo menos en parte en un conector o conexión hidráulico. Preferentemente, una de dichas válvulas accionadas automáticamente comprende un elemento de apertura/cierre y un elemento elástico, tal como un muelle, preferentemente un muelle espiral. El elemento elástico que produce el cierre automático del elemento de apertura/cierre preferentemente presenta una fuerza predefinida o calibrada, por ejemplo para impedir el movimiento del elemento de apertura/cierre en presencia de valores de presión diferentes de los predefinidos (tal como una válvula que no se abre con valores de presión negativa en una cara del elemento de apertura/cierre y/o de una presión en la cara opuesta superiores a un valor predefinido). La válvula accionada automáticamente realiza la función de parar automáticamente cualquier flujo durante determinadas etapas de utilización del dispositivo 1 o de cerrar automáticamente un tramo respectivo de línea de conexión, en particular para evitar cualquier fuga de líquido y/o contaminación procedente del exterior.

En la figura 2, el dispositivo 1 está representado en una condición en la que el elemento de unión 2a de la jeringa 2 está acoplado con el elemento de unión 14, que es preferentemente un elemento de unión de un tipo Luer. La figura 3 ilustra la misma condición del dispositivo 1, con los diversos componentes representados en sección transversal.

La figura 4 es un detalle de la figura 3, que muestra una posible forma de realización del conector 13, fijado entre el tubo 10a y el elemento de unión 3a de la jeringa 3, donde la orientación lateral o de derivación del conector forma el elemento de unión 14. Tal como se ha mencionado anteriormente, en una forma de realización preferente, el elemento de unión 13 o el conector 14 integra o presenta asociado una válvula accionada automáticamente. En el ejemplo representado, presente dentro del cuerpo del elemento de unión 14 (o del conector 13) se encuentra un elemento de apertura/cierre 14a que es instado elásticamente de manera que cierra el paso internamente al elemento de unión 14, por ejemplo mediante un muelle 14b o algún otro elemento elástico. En presencia de un flujo de presión adecuada procedente del elemento de unión 14, el elemento de apertura/cierre 14a puede retroceder, superando la reacción elástica del muelle 14b. Por otra parte, en ausencia de un flujo procedente del elemento de unión 14, el muelle 14b mantiene el elemento de apertura/cierre 14a en la posición en que cierra el paso internamente al elemento de unión 14. Preferentemente, la fuerza del muelle 14b, el peso del elemento de apertura/cierre 14a y su disposición están predefinidos de manera que mantienen el elemento de apertura/cierre 14a en una posición de cierre asimismo durante las etapas de centrifugación del recipiente 3 (en otras palabras, por lo tanto, la fuerza del muelle es suficiente para superar la fuerza ejercida por el peso del elemento de apertura/cierre durante la centrifugación). Preferentemente, los elementos de la válvula 14 están dispuestos a lo largo de un eje que es sustancialmente ortogonal o transversal al eje del recipiente 3 y este último, en las etapas de centrifugación, está fijado en una centrífuga de manera que su eje se encuentra sustancialmente en la dirección de la fuerza centrífuga.

Preferentemente, el sistema de apertura/cierre 14a-14b está conformado de manera que, en presencia de un sujeto procedente del elemento de unión 3a de la jeringa 3 hacia el tubo 10a, la presión del líquido contribuirá a mantener el sistema mismo en su posición de cierre, ilustrada en la figura 4.

A partir de la figura 5 se apreciará cómo, en la forma de realización ilustrada, la construcción de la válvula accionada automáticamente 12 es básicamente similar a la de la válvula 14a-14b que se acaba de describir, las enseñanzas del cual se considera por lo tanto como asimismo referidas a la válvula 12. En este caso, el muelle 12b de la válvula 12 tiende a mantener el elemento de apertura/cierre 12a correspondiente en la posición para el cierre de la rama de la línea corriente debajo de la vía 7b de la válvula desviadora, mientras que en presencia de un flujo de presión adecuada, el elemento de apertura/cierre 12a puede retroceder, contrarrestando la acción del muelle 12b. Preferentemente, asimismo en este caso, la fuerza del muelle 12b y el peso del elemento de apertura/cierre 12a y su disposición, preferentemente con elementos de la válvula 12 dispuestos a lo largo de un eje transversal al eje de la jeringa 3, están predefinidos de tal manera que mantienen el elemento de apertura/cierre 12a en la posición de cierre asimismo durante las etapas de centrifugación. Asimismo en este caso, el elemento de apertura/cierre 12a está preferentemente conformado de manera que en presencia de un posible flujo en una dirección contraria (respecto de la rama 4a de la línea), la presión del líquido contribuirá a mantener el elemento de apertura/cierre mismo en su posición de cierre, ilustrado en la figura 5.

La estructura ilustrada para la válvula 12 y/o la válvula 14a-14b, en este caso sustancialmente una válvula

unidireccional, o válvula de no retorno, o válvula de cierre automático (o válvula de autocierre), debe entenderse únicamente a título de ejemplo, dado que dicha válvula puede presentar cualquier estructura adecuada para el propósito, por ejemplo con un sistema de apertura/cierre constituido por una membrana elásticamente deformable, diseñada para abrir y cerrar un orificio o provista en el centro con un orificio diseñado para abrir elásticamente al actuar sobre la membrana un flujo o una presión en una dirección y diseñada para cerrarse elásticamente al cesar dicho flujo o presión, o alternativamente cerrarse al actuar sobre la membrana un flujo o una presión en la dirección contraria. Una membrana de este tipo preferentemente está hecha de elastómero y/o presenta una elasticidad suficiente para realizar funciones similares a las del muelle 14b, 12b anteriormente indicado.

Nuevamente en la figura 5, es visible la válvula desviadora 7, con una disposición sustancialmente en T de las vías 7b, 7c y 7d, es decir, con las vías 7c y 7d fijadas en 180° una respecto a otra, y la vía 7b fijada en 90° respecto a las vías 7c y 7d. La vía 7b está conectada al tubo 10a, mientras que la vía 7c define directamente o está asociada a una unión rápida para conectar con el elemento de unión 5a de la jeringa 5. En una posible forma de realización, la vía 7c define o presenta asociada un elemento de unión de un tipo Luer para conectar con la jeringa 5; alternativamente, pueden contemplarse otros tipos de acoplamiento (acoplamiento de tornillo, acoplamiento de bayoneta, acoplamiento de presión).

Según una variante no representada, asociado a la vía 7c se encuentra una válvula de cierre automático similar a la válvula 12, en particular con el fin de cerrar o mantener cerrada la vía 7c al separar la jeringa 5. El elemento de apertura/cierre de dicha válvula puede mantenerse abierto por la presencia de la jeringa 5 y/o abrirse con el impulso de un líquido en movimiento, tal como la capa leucocitaria o el plasma.

La vía 7d de la válvula 7 incluye o presenta asociado una parte respectiva del conector 11, que preferentemente es un conector roscado o de presión. La otra parte del conector 11, por el contrario, está asociada o definida en el cuerpo de la válvula 12 y/o está conectada al tubo 4a. Operativa dentro de la válvula 7 se encuentra un elemento de apertura/cierre o desvío 7e, que puede activarse mediante el elemento de control 7a, en particular mediante rotación. En el ejemplo, debido a que la válvula 7 es una válvula a tres vías, el elemento de apertura/cierre 7e preferentemente define un canal en T; este canal puede, por otra parte, ser de algún otro tipo, por ejemplo un canal en Y (tres tramos de canal orientados a 120° unos respecto a otros) o un canal en L (sólo dos tramos de canal a 90° uno respecto al otro).

Como se ha mencionado anteriormente, el recipiente de tratamiento 3 es preferentemente una jeringa, por lo tanto, con una estructura rígida, que comprende un cuerpo de recipiente o barril generalmente alargado, designado como 3b en la figura 3, y un émbolo, asociado de una manera desplazable con el barril 3b. Tal como puede observarse en la figura 3, el émbolo incluye un vástago de émbolo 3c y una cabeza de émbolo 3d. La cabeza de émbolo 3d se conecta deslizadamente de una manera hermética a los líquidos dentro del barril 3b, definiendo en el mismo una cámara para la recogida de la sangre medular, que se encuentra en comunicación con el orificio 3a. El vástago de émbolo 3c es desplazable en el barril 3b para desplazar la cabeza de émbolo 3d y de esta manera variar el volumen de la cámara de recogida de manera que se introduce el líquido en la misma o se expulsa de la misma correspondientemente.

El vástago 3c y la cabeza 3d del émbolo se acoplan separable o liberablemente acoplados entre sí, mediante una disposición de acoplamiento que preferentemente comprende unos primeros medios de acoplamiento, en un extremo distal del vástago, y unos segundos medios de acoplamiento, en una cara de la cabeza del émbolo opuesta al orificio 3a. La disposición de acoplamiento anteriormente indicada puede ser de cualquier tipo conocido en el campo, por ejemplo con un acoplamiento de bayoneta, un acoplamiento roscado o, en general, una disposición en la que el acoplamiento y el desacoplamiento del vástago y la cabeza se obtenga mediante el movimiento angular del primer respecto al segundo. En una forma de realización preferente de la invención, la disposición anteriormente indicada se obtiene según la solicitud de patente italiana n° TO2013A000924, presentada a nombre del presente solicitante. En una solución de dicho tipo, la liberación de vástago 3c y cabeza 3d del émbolo, es decir, la liberación de dichos primeros y segundos medios de acoplamiento, puede obtenerse operando una barra de maniobra, designada como 3e en las figuras, montada deslizadamente en un asiento axial correspondiente del vástago 3c.

En una forma de realización preferida, por lo menos una etapa del método de separación o enriquecimiento se lleva a cabo con ayuda de un aparato automatizado, en particular para controlar automáticamente el funcionamiento hacia adelante de la cabeza del émbolo 3d de la jeringa 3, el accionamiento de la válvula 7 y la detección del paso de la capa leucocitaria por el tubo 10a.

Una posible forma de realización de un aparato automatizado se ejemplifica esquemáticamente en las figuras 6 a 12, en las que el aparato se designa globalmente como 60. En el caso ejemplificado, el aparato 60 lleva a cabo las funciones de separar de una manera automatizada la fracción de plasma pobre respecto de las demás fracciones separadas de sangre o aspirado medular, aislando después la fracción total de células troncales o estromales, es decir, la capa leucocitaria, respecto de los glóbulos rojos.

El aparato 60 presenta una estructura de soporte de carga o cuerpo 61, provista de un soporte 62 para alojar y/o

5 posicionar y/o accionar la jeringa 3. En el ejemplo representado, dicho soporte 62 está localizado en la parte frontal y está configurado para fijar la jeringa 3 verticalmente, es decir, con el elemento de unión 3a hacia arriba. En el ejemplo, el soporte 62 incluye una ranura o asiento 62a para recibir una pestaña 3b' del barril 3b de la jeringa 3 (figura 1), de la que el vástago 3c correspondiente ha sido extraído previamente, tal como se ha mencionado anteriormente. Dentro de una parte hueca del soporte 62 y desplazable en ella se encuentra un elemento de accionamiento 63a, visible por ejemplo en la figura 7, diseñado para desplazar de una manera controlada la cabeza de émbolo 3d de la jeringa 3. Tal como puede apreciarse en la figura 7, el elemento de accionamiento 63a pertenece a una estructura 63 que es desplazable verticalmente en direcciones opuestas con respecto a la base 61a y que se acciona mediante un accionador 64. El accionador 64 puede ser, por ejemplo, un motor eléctrico con eje de tornillo 64a, al que está asociado, por ejemplo mediante una voluta 64b, la estructura 63, de manera que esta última puede desplazarse verticalmente de una manera guiada; en el ejemplo, la estructura 63 presenta una parte configurada sustancialmente como una pendiente, acoplada con una guía vertical correspondiente 64c.

15 La posición de la estructura 63, y por lo tanto el elemento de accionamiento 63a, puede controlarse mediante sensores adecuados que forman parte del sistema de control del aparato, que se designa globalmente como 65, o alternativamente están conectados al mismo. El sistema de control 65, el programa o software del cual supervisa el funcionamiento general del aparato 60, incluye medios de control adecuados, por ejemplo un circuito lógico programable (CLP) o un circuito electrónico con microcontrolador y medios de interfaz de usuario, por ejemplo una pantalla 65a de tipo táctil, para introducir los comandos y parámetros de funcionamiento requeridos.

20 Preferentemente, el aparato 60 incluye además un dispositivo 67 para alojar un sistema de sensor electromagnético u óptico, preferentemente un sensor de transparencia u opacidad, y/o para los medios de válvula del dispositivo 1. Preferentemente, el dispositivo 67 asimismo está predispuesto para llevar a cabo funciones de posicionamiento y soporte de elementos del dispositivo 1, tales como, por ejemplo, el tubo 10a (para los fines de la detección electromagnética u óptica) y/o la válvula 7 y/o la válvula 12 y/o la jeringa 5.

30 El sistema de sensor anteriormente mencionado, designado como 68 en las figuras 11 y 12, incluye por lo menos un emisor y por lo menos un receptor de radiación electromagnética, por ejemplo luz. En una forma de realización, se proporciona un emisor de una señal a una longitud de onda predefinida y un receptor diseñado para detectar la señal anteriormente indicada y/o sus variaciones. Preferentemente, el sistema de sensor está concebido para transmitir la señal electromagnética por un tramo de una línea o tubo del dispositivo 1 que es transparente a la señal anteriormente indicada, en donde la señal varía en el extremo receptor (por ejemplo, resulta atenuada o, en cualquier caso, alterada) según la composición del flujo en el tubo. Por ejemplo, la presencia o paso de una cantidad o concentración más grande de sustancias o partículas dadas en el líquido (tal como glóbulos rojos y/o blancos y/o células troncales y/o plaquetas) en el tramo de tubo fijo entre el transmisor y el receptor evita o atenúa, o en cualquier caso varía, el paso de la señal entre el transmisor y el receptor; esta variación de la señal indica por lo tanto la composición del flujo.

40 Alternativamente, el sistema de sensor 68 está concebido para transmitir una señal electromagnética o de luz que resulta desviada y/o refractada y/o reflejada por lo menos en parte por la presencia de sustancias o partículas en el líquido. Tal como en el caso anterior, el paso de una composición diferente o una cantidad o concentración más grande de sustancias o partículas dadas en el líquido en el tramo anteriormente indicado de tubo determina una refracción y/o reflexión diferente de la señal que puede detectarse en el extremo receptor, que indica, por ejemplo, la transición entre diferentes capas o fracciones.

45 El sistema de sensor asimismo puede preorganizarse para la detección del color del flujo, por ejemplo basándose en la detección de la absorción de la luz por parte de sustancias o partículas presentes en el líquido.

50 El soporte 67 está conformado de manera que define un paso o asiento 67a (visible en, por ejemplo, la figura 9) en el que puede insertarse o posicionarse un tramo del tubo 10a. En dicho asiento 67a montado preferentemente en partes en ángulo u opuestas, se encuentran el emisor (por ejemplo, un diodo emisor de luz o LED) y receptor anteriormente indicados (por ejemplo, un fotorresistor o un fototransistor). Preferentemente, se proporcionan dos sensores ópticos en secuencia o en serie uno respecto a otro, tal como un par de emisores en secuencia y un par de receptores correspondientes en secuencia, designados como 68a y 68b en la figura 12. La distancia entre los emisores, por una parte, y los receptores, por otra parte, es decir, la distancia entre dos sensores ópticos en secuencia, está predefinida y puede ser, por ejemplo, de aproximadamente 10 mm.

60 En una forma de realización, tal como puede apreciarse en las figuras 8 y 9, el soporte 67 comprende una carcasa 67b que define el asiento vertical 67a asociado al cual se encuentra una tapa móvil 67c. Preferentemente, la tapa 67c está articulada con la carcasa 67b mediante una bisagra 67d, muy preferentemente con un eje verticalmente rotatorio 67e. Preferentemente, se proporcionan medios para impulsar y/o mantener la tapa 67c en una posición cerrada respectiva, es decir, una posición en la que por lo menos una parte de la parte trasera de la tapa misma se sitúa contra una parte correspondiente de la parte frontal de la carcasa 67b, en particular en el asiento 67a. Estos medios pueden, por ejemplo, comprender un muelle integrado en la bisagra 67d. Otra posibilidad es proporcionar uno o más imanes permanentes asociados a uno de entre la tapa 67c y la carcasa 67b, que sean capaces de atraer uno o más elementos ferromagnéticos asociados al otro de tapa 67c y carcasa 67b.

Preferentemente, la tapa 67c está conformada de manera que empuja y/o posiciona un tramo correspondiente del tubo 10a dentro del asiento 67a en una posición correspondiente al sistema de sensor 68. En el ejemplo ilustrado, con este propósito, la cara de la tapa 67c orientada hacia el asiento 67a se proporciona con un relieve conformado, representado esquemáticamente y designado como 67f en la figura 9.

5

En una forma de realización, un soporte 67, que integra o no integra el sistema de sensor óptico, está conformado asimismo para definir medios de soporte y/o posicionamiento para la válvula 7, que pueden estar asociados o definidos por la carcasa 67b, y/o asociados o definidos por la tapa 67c. Dos de tales soportes se designan como 67g y 67h en las figuras 8 y 9. Preferentemente, los medios de soporte, tales como los soportes 67g y 67h, están configurados para proporcionar soportar a la válvula 7 y/o mantenerla en posición durante las operaciones sobre la misma, tales como el movimiento de su elemento de control 7a.

10

En una forma de realización, un soporte 67, que integra o no integra el sistema de sensor óptico y/o los medios de soporte de la válvula 7, se conforma para definir los medios de soporte y/o posicionamiento para la jeringa 5 y/o para el elemento de unión correspondiente 5a. Los medios de soporte anteriormente indicados para la jeringa 5 puede estar asociados o definidos por la carcasa 67b y/o la tapa 67c.

15

Uno de los soportes anteriores puede ser, por ejemplo, el elemento anteriormente indicado en relieve 67h asociado a la tapa 67c, que puede estar configurado ventajosamente para soportar (además) el elemento de unión 5a y/o por lo menos una parte terminal de la jeringa 5, tal como puede observarse en, por ejemplo, la sección transversal de la figura 11.

20

Un elemento de soporte y/o posicionamiento adicional 67i para la jeringa 5 puede observarse en las figuras 9 y 10, asociado o definido por la carcasa 67b de manera que se acopla y/o proporciona soporte a la carcasa de la jeringa 5 en una posición intermedia de la misma y/o en una posición opuesta al elemento de unión 5a (la representación del elemento 67i ha sido omitida en las figuras 11 y 12).

25

Preferentemente, los soportes 67h y 67i están configurados para proporcionar soporte y/o mantener la jeringa 5 en una posición sustancialmente horizontal, aunque pueden, sin embargo, configurarse alternativamente para mantener la jeringa 5 en una posición en ángulo o vertical diferente, en particular en el caso de que se fije un tubo flexible entre la jeringa 5 y la válvula 7.

30

Haciendo referencia nuevamente a la figura 7, en una forma de realización preferida, operativo dentro del elemento accionador 63a se encuentra un sensor 69, por ejemplo un microinterruptor, utilizado por el sistema 65 con el propósito de controlar la posición del elemento 63. En particular, el sensor 69 presenta la función de detectar el contacto mecánico entre la parte superior del elemento 63a y la cabeza de émbolo 3d de la jeringa 3, al elevar el elemento 63a mediante el sistema de accionamiento correspondiente.

35

Preferentemente, por lo menos una parte del elemento de sensor 69 contribuye a transmitir el movimiento o impulso del accionador 64 al elemento 63a.

40

En una forma de realización ventajosa, asimismo se proporciona un sistema de accionamiento adicional, controlado por el sistema de control 65 del aparato 60 para el control de una manera automatizada el accionamiento de la válvula 7 entre por lo menos algunas de sus posibles posiciones operativas.

45

Con este fin, el elemento de control 7a de la válvula 7 puede conformarse para el acoplamiento con un elemento de accionamiento correspondiente, preferentemente proporcionado con un asiento con una forma que es por lo menos en parte complementaria a la del elemento de control. Un ejemplo de dicho sistema de accionamiento adicional puede observarse en la figura 12, en el que, designado como 77, se encuentra un elemento rotatorio, al que puede acoplarse el elemento de control 7a de la válvula 7. El elemento de accionamiento 77 puede operarse mediante un accionador correspondiente 78, visible en la figura 7, tal como un motor eléctrico con eje giratorio. En el ejemplo ilustrado, el eje del motor 78 impulsa, mediante un acoplamiento de engranaje 78a, un vástago 78b, asociado al cual se encuentra el elemento 77. El elemento giratorio 77 presenta preferentemente un asiento o ranura 77a (figura 9) diseñada para recibir por lo menos parcialmente el elemento de control 7a por lo menos en la medida en que resulta posible imponer una rotación al mismo. En el ejemplo, dicho asiento 77a constituye una cavidad y es por lo menos en parte complementario al elemento de control 7a de la válvula 7, que se proporciona preferentemente con relieves radiales o lóbulos y/o presenta una forma que permite operarlo manualmente o de una manera automatizada. Resultan evidentemente posibles otras formas de realización útiles para obtener la rotación del elemento de control 7a mediante el elemento giratorio 77.

50

55

60

Preferentemente, al inicio de un ciclo de funcionamiento del aparato 60, el elemento 77 presenta una posición angular en la que el elemento de control 7a de la válvula 7 puede acoplarse en el asiento 77a únicamente en el caso de que el elemento de apertura/cierre de la válvula misma se encuentra en una posición predefinida, por ejemplo una posición tal que el elemento de apertura/cierre 7e establece comunicación entre las vías 7b y 7d, es decir, comunica el recipiente 3 con el recipiente 4. Con este fin, en una forma de realización preferente, asociado al sistema de accionamiento del elemento 77 se encuentra un sistema de detección de la posición angular de

65

cualquier tipo conocido, tal como un sistema codificador, designado como 79 en la figura 7, en interconectado con el sistema de control 65.

Una posible metodología de utilización del dispositivo 1, en particular con los fines de separación y concentración de células estromales o células troncales de sangre venosa o de aspirado medular, se describe posteriormente en la presente memoria. Se considera, para este propósito, que el dispositivo 1 se suministra ya montado, o alternativamente que se encuentra montado en la condición representada en la figura 1 en el momento de utilizarlo, preferentemente en ambiente estéril. Se considera, meramente a título de ejemplo, que las jeringas 2, 3 y 5 presentan una capacidad de 60 ml, 30 ml y 10 ml, respectivamente.

Tal como se ha mencionado anteriormente, el dispositivo según la invención puede utilizarse para tratamientos que parten de aspirado medular o alternativamente para tratamientos que parten de sangre venosa, en cuyo caso el dispositivo de muestreo utilizado puede ser del tipo designado como K<sub>1</sub>, o alternativamente, del tipo designado como K<sub>2</sub>, respectivamente. En consecuencia, a continuación se describe la metodología de muestreo en referencia a los dos casos posibles de muestreo, de sangre medular y de sangre venosa.

1. La sangre medular o venosa se obtiene del paciente, con modalidades conocidas de la misma. Por ejemplo, en el caso de utilización del dispositivo K<sub>1</sub>, la aguja Jamshidi con el mandril correspondiente se introduce en la cresta ilíaca del paciente, con pequeños movimientos giratorios; una vez se ha alcanzado el hueso, se desprende el mandril de la aguja y se hace penetrar la aguja en el hueso hasta una profundidad de aproximadamente 1,5 cm.
2. Haciendo referencia de nuevo al caso del muestreo de sangre medular, el elemento de unión 2a de la jeringa 2, preferentemente humectado previamente con heparina, se acopla con el elemento de unión correspondiente de la aguja de biopsia del dispositivo K<sub>1</sub>, introducido en la cresta ilíaca. Mediante la jeringa se aspira una determinada cantidad de sangre medular, por ejemplo 25 ml. A continuación, se desconecta el elemento de unión 2a de la jeringa 2 respecto de la aguja de biopsia del dispositivo K<sub>1</sub>. Haciendo referencia, por el contrario, al caso del muestreo de sangre venosa, el elemento de unión 2a de la jeringa 2 puede acoplarse con el tubo del dispositivo K<sub>2</sub>, provisto de un elemento de unión adecuado, o alternativamente de manera directa con una aguja de muestreo hipodérmica, para el muestreo directo de sangre de una vena del paciente.
3. Con el elemento de unión 6a de la jeringa 6 se encuentra asociada una aguja estéril hipodérmica (no representada) y mediante la jeringa mista se aspira una determinada cantidad, por ejemplo 5 ml, de anticoagulante (ACD) de un recipiente correspondiente.
4. Tras la extracción previa de la aguja correspondiente, el elemento de unión 6a de la jeringa 6 que contiene el anticoagulante se acopla con el elemento de unión 14 del conector 13. Tras el cierre previo del tubo 10a mediante la abrazadera 15, se aspira el anticoagulante de la jeringa 6 mediante la jeringa 3 o por el contrario se inyecta con la jeringa 6 en el elemento de unión 14 y, por lo tanto, en la jeringa 3, en esta etapa el elemento de apertura/cierre 14a de la válvula 14a-4b se abre automáticamente. Al final de la operación, se extrae la jeringa 6 del elemento de unión 14, que se cierra nuevamente de manera automática por el elemento de apertura/cierre 14a.
5. El elemento de unión 2a de la jeringa 2, que contiene la sangre medular o venosa, se acopla con el elemento de unión 14 y el contenido de la jeringa se transfiere al interior de la jeringa 3, en la que se había recogido previamente el anticoagulante. En esta etapa, la abrazadera 15 se mantiene en la posición de cierre del tubo 10a. La sangre medular o venosa se aspira con la jeringa 2 mediante la jeringa 3 o alternativamente se inyecta con la jeringa 2 en el elemento de unión 14 y, por lo tanto, en la jeringa 3, en esta etapa el elemento de apertura/cierre 14a se abre automáticamente. Una vez se ha completado la operación de transferencia de la sangre medular o venosa de la jeringa 2 a la jeringa 3, se separa la jeringa 2 del elemento de unión 14, que se cierra nuevamente de manera automática por el elemento de apertura/cierre 14a.

En una variante, pueden repetirse operaciones similares a las operaciones 2 y 5, en cualquier caso después de llevar a cabo las operaciones 3-4, utilizando por lo menos una jeringa adicional similar a la designada como 2, en el caso en que se desee el tratamiento con la jeringa 3 una cantidad total de sangre medular o venosa superior a la capacidad de una sola jeringa 2. En este caso, la jeringa o jeringas adicionales 2 asimismo se encuentran preferentemente en un envase estéril.

Al final de la operación o de la última operación de muestreo de sangre, puede extraerse la aguja de biopsia de la piel del paciente. Después de la última transferencia de sangre medular o venosa a la jeringa 3, el elemento de unión 14, aunque ya cerrado por el elemento de apertura/cierre 14a, preferentemente se tapona con un tapón antigoteo, que asimismo se suministra junto con el dispositivo 1.

6. El vástago 3c de la jeringa 3 se libera de la cabeza correspondiente 3d y el dispositivo 1 (por lo tanto, los módulos A, B y la jeringa 5 todavía están conectados entre sí) se coloca en la gradilla de la centrífuga.

La jeringa 3 (es decir, su barril 3b con la cabeza 3d) preferentemente se introduce en la gradilla en una posición sustancialmente vertical, por ejemplo con ayuda de un soporte o adaptador correspondiente, preferentemente uno basculante o uno diseñado para variar la posición durante la centrifugación, que posiblemente está conformado para garantizar el posicionamiento asimismo de otras partes del dispositivo 1, tal como el módulo B y la jeringa 5.

Para los fines de llevar a cabo dicha etapa, la presencia de los tubos flexibles 10a y 4a (y del posible tubo flexible para la conexión de la jeringa 5 a la válvula 7) resulta ventajosa en la medida en que permiten posicionar las diversas partes según necesidad en la gradilla de la centrifuga y/o en el soporte anteriormente indicado.

A continuación, se lleva a cabo la centrifugación a una velocidad relativamente baja (por ejemplo, 1400 rpm durante 9 minutos) con el fin de causar la separación entre partes de la mezcla de sangre completa y el anticoagulante contenido en la jeringa 3, en particular para obtener una sedimentación sustancialmente en varias capas, una de las cuales comprende plasma, otra comprende la capa leucocitaria y comprendiendo la otra glóbulos rojos, como resultado de su diferente densidad o diferente peso. De esta manera, en la cámara de volumen variable del recipiente 3 se encontrará una capa de sedimento que comprende glóbulos rojos, una capa intermedia que comprende la capa leucocitaria y una capa de sobrenadante que comprende plasma y plaquetas.

Tras la centrifugación, la capa de sedimento se encuentra más próxima a la cabeza 3d del émbolo de la jeringa 3, mientras que la capa de sobrenadante está comprendida entre la capa leucocitaria y la pared del barril 3b provista del elemento de unión 3a; la capa leucocitaria está comprendida entre la capa de sedimento y la capa de sobrenadante.

7. El barril 3b de la jeringa 3 que contiene la sangre separada se acopla con el soporte 62 del aparato 60, de manera que el tubo 10a pasa a través del asiento 67a y el elemento de control 7a de la válvula 7 se encuentra en la carcasa 77a del elemento accionador 77. Para los fines de ejecución de la presente etapa, la tapa 67c del soporte 67 debe encontrarse abierto, tal como en, por ejemplo, la figura 9 o la figura 10. Tras el posicionamiento indicado, la tapa puede cerrarse nuevamente. Tras el cierre, los soportes 67g, 67h y 67i garantizan el posicionamiento del cuerpo de la válvula 7 y de la jeringa 5.

8. Tras acoplar la jeringa 3 sin su vástago 3c con el soporte 62 y tras introducir, mediante la interfaz de usuario 65a, los parámetros posiblemente requeridos y ejecutar un comando para el inicio del ciclo, el accionador 64 del aparato 60 se hace funcionar de manera que se desplace la estructura 63 desde abajo hacia arriba, por ejemplo partiendo de una posición rebajada de final de recorrido. En el caso en que la posición predefinida de la válvula 7 sea de cierre entre las vías 7b y 7d, el sistema 65 preliminarmente impulsa, mediante el sistema de accionamiento 78, 78a, 78b y el sistema de sensor correspondiente 79, la rotación del elemento 77 con el fin de llevar la válvula misma a la posición de apertura entre las vías 7b y 7d y cierre de la vía 7c.

En un determinado punto de elevación de la estructura 63, el sistema de control 65 detecta, mediante el sensor 69, el contacto entre el elemento 63a y la cabeza de émbolo 3d, adquiriendo de esta manera información respecto a la posición de la cabeza misma. La detección de dicha posición puede resultar útil, por ejemplo, para permitir en primer lugar un avance relativamente rápido del elemento 63a y después un movimiento más lento del mismo, después del contacto entre el elemento 63a y la cabeza 3d. De esta manera, el sensor 69 permite la detección de la posición de inicio de recorrido efectivo o impulso de la cabeza de émbolo 3d y, por lo tanto, la detección automática del recorrido efectivo o distancia de movimiento de la cabeza misma.

Tras el contacto, el elemento 63a a continuación empieza a producir el desplazamiento de la cabeza 3d, que asimismo puede controlarse a diferentes velocidades, por ejemplo con una etapa inicial, más rápida y una etapa final, más lenta. Durante el movimiento de la cabeza de émbolo 3d, el flujo dentro del tubo 10a es sometido a escaneo o detección por el sistema electromagnético u óptico 68, en particular para medir por lo menos una característica electromagnética u óptica (tal como la transmitancia, la refracción o la reflexión) del líquido en movimiento, preferentemente en dos puntos del tubo 10a fijados a una distancia mutua (de una manera correspondiente a la distancia entre dos sensores, tal como la distancia existente entre los emisores 68a y los receptores 68b de cada pareja). Preferentemente, la electrónica de control 65 realiza una calibración automática con respecto al valor detectado por el sistema óptica al activar el aparato 60 antes y/o después del posicionamiento del dispositivo 1 en el aparato.

Mediante el funcionamiento de la cabeza de émbolo 3d, se produce una transferencia hacia el interior del recipiente de bolsa 4 de parte del contenido de la jeringa 3. En particular, la cabeza 3d se hace avanzar de manera que transfiere el plasma solo, o una parte del mismo, desde la jeringa 3 hasta el recipiente de bolsa 4. En esta etapa, la válvula 14a-14b integrada en el conector 13 se cierra automáticamente y evita cualquier salida de plasma del elemento de unión 14, mientras que la válvula 12 es abierta automáticamente por el impulso o presión ejercida por el plasma sobre el elemento de apertura/cierre 12a.

En el momento en que el plasma empieza a fluir como resultado del impulso ejercido por el elemento 63a sobre la cabeza de émbolo 3d, el sistema óptico 68 detectar una primera variación de la característica óptica considerada

(por ejemplo, la transmitancia), al alcanzar la transición aire-plasma el sistema óptico 68 en el tubo 10a, y una segunda variación de la misma característica óptica con el paso de la capa leucocitaria, es decir, en el momento en que la transición entre plasma y capa leucocitaria alcanza el sistema óptico 68 en el tubo 10a; entonces el sistema de control 65 interrumpe el funcionamiento del accionador 63, 64 y, por lo tanto, del elemento 63a, en el momento en que ambos receptores 68b del sistema han detectado la presencia de la capa leucocitaria, o alternativamente interrumpen el funcionamiento después de un tiempo de retardo prefijado o un recorrido prefijado adicional del accionador 63, 64.

El muestreo de la señal puede llevarse a cabo, por ejemplo, a una frecuencia de aproximadamente 1 kHz, correspondiente, por ejemplo, a un desplazamiento del líquido de aproximadamente 50 µm entre un muestreo y el siguiente. En el momento en que el sistema de control 65 detecta mediante el sensor óptico 68 la segunda variación anteriormente indicada de la característica óptica considerada, que indica el inicio del flujo de la capa leucocitaria, o en cualquier caso en el momento predefinido o calculado apropiado, se opera asimismo el accionador 78 asociado al elemento 77 de manera que se gira el elemento de control 7a de la válvula 7 a fin de llevar su elemento de apertura/cierre a la posición de conexión entre las vías 7b y 7c y de oclusión de la vía 7d.

A continuación, el sistema de control 65 inicia nuevamente la operación del accionador 64 y, por lo tanto, del elemento 63a, enviando de esta manera la capa leucocitaria hacia la jeringa 5. Para los fines del control de transferencia de la capa leucocitaria hacia el interior de la jeringa 5 y/o con fines de seguridad, el sistema de sensor 68 asimismo puede detectar una tercera variación de la característica óptica considerada, en el momento en que la transición de capa leucocitaria a glóbulos rojos alcanza el sistema óptico 68 en el tubo 10a, posiblemente interrumpiendo la transferencia (por ejemplo, en el caso de que la cantidad predefinida ya haya pasado o alternativamente, con fines de seguridad, en el caso de que la cantidad de capa leucocitaria disponible sea inferior al parámetro o cantidad de capa leucocitaria fijado por el usuario para la transferencia).

Tal como puede apreciarse, entonces, el aparato 60 envía automáticamente el plasma pobre en plaquetas hacia el interior del recipiente de bolsa 4 y después la capa leucocitaria hacia el interior de la jeringa 5. La cantidad de capa leucocitaria que debe transferirse de la jeringa 3 a la jeringa 5 puede ser fijada posiblemente por el operador.

9. En este punto, tras el cierre previo de la conexión entre las vías 7b y 7c mediante giro del elemento de control 7a de la válvula 7 o mediante una posible válvula automática en el elemento de unión 7c, la jeringa 5 que contiene la capa leucocitaria puede desprenderse del resto del dispositivo 1 y utilizarse para aplicar la capa leucocitaria en el paciente.

El módulo B, que comprende la bolsa 4 que contiene el plasma, y el módulo A, que comprende la jeringa 3 que contiene el posible residuo de capa leucocitaria y los glóbulos rojos, puede separarse mediante el conector 11 y desecharse o alternativamente los contenidos respectivos pueden utilizarse para otras aplicaciones.

Las agujas desechables utilizadas preferentemente se proporcionan junto con los demás componentes del dispositivo 1 en un envase estéril.

La figura 13 ilustra una segunda versión de un dispositivo según la invención. En dicha figura, los mismos números de referencia se utilizan como los de las figuras anteriores para referirse a elementos técnicamente equivalentes a los ya indicados anteriormente. Tal como puede observarse, el dispositivo 1' de la figura 13 difiere del de las figuras 1-3 básicamente por la ausencia de las jeringas 2 y 6, el hecho de que el conector a tres vías 13 en la rama 10a de la línea se ha sustituido por un elemento de unión simple, por ejemplo de un tipo Luer, su acoplamiento liberable con el elemento de unión 3a de la jeringa 3 y la ausencia de la abrazadera 15.

A continuación se describe un posible modo de utilización del dispositivo 1'.

Para los fines del muestreo de la sangre medular o venosa del paciente, se lleva a cabo la misma operación que la indicada en el punto 1, anteriormente, utilizando el dispositivo K<sub>1</sub> o alternativamente el dispositivo K<sub>2</sub> (o, para la sangre venosa, una aguja hipodérmica).

La jeringa 3 se separa del dispositivo 1' y se acopla con su elemento de unión 3a, es una aguja estéril hipodérmica, mediante la que se aspira una cantidad de anticoagulante de un recipiente correspondiente hacia el interior de la jeringa misma. A continuación, se retira la aguja de la jeringa 3 y el elemento de unión 3a de esta última se acopla con la aguja del dispositivo K<sub>1</sub>, para el muestreo medular, o alternativamente al tubo del dispositivo K<sub>1</sub>, o directamente a una aguja hipodérmica, para el muestreo venoso.

Mediante la jeringa 3, que ahora contiene el anticoagulante, se aspira la cantidad deseada de sangre. A continuación, se separa la jeringa 3 del dispositivo K<sub>1</sub> o K<sub>2</sub> o de la aguja hipodérmica.

El vástago 3c de la jeringa 3 se libera de la cabeza 3d correspondiente y la jeringa 3 sola (es decir, su barril 3b con la cabeza 3d) se coloca en la gradilla de la centrífuga, por ejemplo mediante un adaptador o soporte correspondiente, tal como ya se ha indicado anteriormente. Por lo tanto, la cabeza 3d se mantiene dentro de la jeringa, en la posición que ha alcanzado.

Tras la centrifugación, que se lleva a cabo con las modalidades ya indicadas, la jeringa 3 que contiene la sangre medular o venosa separada se acopla con el elemento de unión 13' y el dispositivo 1' se adapta al aparato 60, con modalidades similares a las ya indicadas en el punto 7. A continuación, el procedimiento sigue modalidades similares a las indicadas en los puntos 8 y 9, anteriormente. Asimismo en este caso, los módulos A y B pueden separarse mediante el conector 11 y desecharse o utilizarse para otras aplicaciones.

La figura 14 ilustra una tercera versión de un dispositivo de separación según la invención. Asimismo en dicha figura, se utilizan los mismos números de referencia que los de las figuras anteriores para referirse a elementos que son técnicamente equivalentes a los ya indicados anteriormente.

El dispositivo 1' de la figura 14 diferente del de las figuras 1-3 básicamente en que la jeringa 6 forma parte de un módulo adicional C del dispositivo, que incluye elementos funcionales adicionales.

El módulo C comprende un filtro antibacteriano 70, con un elemento de unión de entrada (no visible) configurado para el acoplamiento con el elemento de unión de la jeringa 6, por ejemplo de un tipo Luer. Se proporciona en la salida del filtro 70 un elemento de unión de salida 70a, para los extremos de un tubo o rama de la línea 10c, el extremo opuesto del cual se conecta con la primera entrada de una bifurcación, constituida por un conector en T o un conector en Y, designado como 71. Preferentemente proporcionado a lo largo del tubo 10c se encuentra una abrazadera 15', que en este caso presenta una estructura diferente de la abrazadera 15 pero que funciona de una manera similar. Conectado con la segunda entrada del conector 71 se encuentra el extremo de un tubo o rama de la línea 10d, el extremo opuesto del cual se proporciona con un elemento de unión 72, por ejemplo de un tipo Luer, para la conexión con el dispositivo de muestreo K<sub>1</sub> o K<sub>2</sub>. Asimismo a lo largo del tubo 10d, se proporciona preferentemente una abrazadera 15'', en la presente memoria con una estructura similar a la de la abrazadera 15'.

Conectado con la salida del conector 71 se encuentra el extremo de un tubo adicional o tramo de línea 10e, el extremo opuesto del cual está conectado con un elemento de unión 12' que puede acoplarse con el elemento de unión 14 del conector 13, en la que podría encontrarse presente una válvula de autocierre, similar a la válvula 12.

A continuación se describe un posible modo de utilización del dispositivo 1''.

Para los fines de muestreo de la sangre medular del paciente, se lleva a cabo una operación sustancialmente similar a la indicada en el punto 1, anteriormente, utilizando el dispositivo de muestreo K<sub>1</sub> (muestreo medular) o el dispositivo de muestreo K<sub>2</sub> (muestreo venoso). La jeringa 6 puede suministrarse ya con anticoagulante o alternativamente, mediante la jeringa 6 se muestrea una determinada dosis de anticoagulante, de una manera similar a la que ya se ha indicado en el punto 3, anteriormente. Tras sacar la aguja de la jeringa 6, su elemento de unión 6a se acopla con el conector de entrada del filtro 70. El tubo 10a se cierra mediante la abrazadera 15, mientras que las abrazaderas 15' y 15'' se encuentran en las posiciones de apertura y cierre, respectivamente, de los tubos 10c y 10d. A continuación, se inyecta el anticoagulante mediante la jeringa 6 en la conexión 14, es decir, en la jeringa 3, o alternativamente se aspira mediante la jeringa 3.

A continuación, el elemento de unión 72 se acopla con un conector correspondiente del dispositivo K<sub>1</sub> o del dispositivo K<sub>2</sub>; asimismo en este caso, por lo tanto, se lleva a cabo el aspirado de la sangre medular o venosa mediante la jeringa 3, tirando hacia atrás del vástago correspondiente. Para los fines de ejecución de dicha etapa, las abrazaderas 15' y 15'' deben haberse llevado previamente a las posiciones de cierre del tubo 10c y apertura del tubo 10d, respectivamente. A continuación, se separa el módulo A del módulo C y del dispositivo de muestreo K<sub>1</sub> o K<sub>2</sub>, que a su vez se extrae de la piel del paciente.

En una forma de realización variante, el muestreo de la sangre medular o venosa puede llevarse a cabo utilizando una o más jeringas del tipo designado como 2 en la figura 1. En este caso, la jeringa 2 utilizada en primer lugar se acopla con el dispositivo K<sub>1</sub> o K<sub>2</sub> (o directamente con una aguja hipodérmica para el muestreo venoso) y, tras el muestreo de sangre del paciente, se acopla con el elemento de unión 72, con el fin de transferir la sangre muestreada al interior de la jeringa 3.

Una vez se ha completado la operación de muestreo, el módulo C del dispositivo 1 puede desacoplarse del módulo A mediante separación del elemento de unión 12' respecto del elemento de unión 14. En esta etapa, la posible válvula asociada al elemento de unión 12' evita la salida del tubo 10e de cualquier sangre que todavía pueda encontrarse presente en el mismo. El elemento de unión 14 preferentemente se tapone utilizando el tapón antigoteo proporcionado.

El vástago 3c de la jeringa 3 se libera de la cabeza correspondiente 3d, y los módulos A y B del dispositivo 1'' que todavía están conectados entre sí se colocan en la gradilla de la centrifuga, tal como ya se ha indicado anteriormente, en el punto 6.

El dispositivo 1'', es decir, sus módulos A y B acoplados entre sí, a continuación se incorpora en el aparato 60 con modalidades similares a las ya indicadas en el punto 7. A continuación, el procedimiento sigue modalidades

similares a las indicadas en los puntos 8 y 9, anteriormente. Asimismo en este caso, los módulos A y B pueden separarse mediante el conector 11 y desecharse o utilizarse para otras aplicaciones.

5 La figura 15 ilustra una forma de realización variante, de utilización preferente para el caso de un dispositivo 1 para el tratamiento de aspirado medular. En dicha figura, los mismos números de referencia a los de las figuras anteriores se utilizan para designar elementos técnicamente equivalentes a los ya indicados.

10 El dispositivo 1 de la figura 15 difiere del de la figura 1 básicamente por la presencia de un filtro F asociado a la jeringa 2 que presenta la función de evitar el paso hacia el recipiente de tratamiento 3 de las partículas de mayor tamaño que podrían encontrarse presentes en el aspirado medular. El filtro F puede ser relativamente grueso, con pasos para el líquido de dimensiones indicativamente comprendidas entre 100 y 200  $\mu\text{m}$ .

15 En el ejemplo ilustrado, el filtro presenta, en una cara, un elemento de unión que puede acoplarse directamente con el elemento de unión 2a de la jeringa 2 y, en la otra cara, un elemento de unión que puede acoplarse con un elemento de unión correspondiente del dispositivo 1 o un elemento de unión definido por el cuerpo de una válvula de cierre automático o válvula unidireccional 12", de un tipo similar a la válvula 12. Preferentemente, la salida del filtro o de la válvula 12" está conectada con un tubo flexible 10f, el extremo opuesto del cual se proporciona con un elemento de unión 13" que puede acoplarse separadamente con el dispositivo 1, en particular con el elemento de unión 14 del conector 13.

20 Los gráficos de las figuras 16 a 19 se refieren a ejemplos de detección de componentes sanguíneos en una capa leucocitaria obtenida de aspirado medular con dispositivos según la invención, llevando a cabo un muestreo cada 2ml. Tras la centrifugación, asimismo se encuentra presente en la capa leucocitaria una considerable cantidad de glóbulos blancos (WBC) y una dosis elevada de plaquetas, típicamente sedimentadas en una capa suprayacente a las células nucleadas.

25 El gráfico de la figura 16 destaca la función de la concentración de glóbulos blancos y células estromales o células troncales, medidas llevando a cabo el muestreo anteriormente indicado cada 2 ml; a partir del gráfico emerge cómo la primera parte de la capa leucocitaria es más rica en estas células. La concentración de leucocitos y células troncales cae siguiendo una curva exponencial a medida que se muestrean capas más profundas dentro de la jeringa 3.

30 A partir del gráfico de la figura 17 puede observarse, por el contrario, el gráfico de la concentración de células mononucleadas (monocitos), dentro de las cuales se encuentra presente el componente células troncales. Puramente a título de ejemplo, y considerando un muestreo de 50 ml de sangre más 5 ml de anticoagulante, mediante el muestreo de los primeros 8 ml de capa leucocitaria, se recoge más de 95% de las células mononucleadas y, por lo tanto, de las células troncales presentes en la misma.

35 A partir del gráfico de la figura 18, puede observarse que típicamente el porcentaje relativo de linfocitos se eleva a medida que progresa el muestreo de las capas sucesivas de la capa leucocitaria; sin embargo, asimismo en la etapa inicial, los linfocitos constituyen la fracción más grande de leucocitos. Esta característica resulta particularmente significativa para los fines de aplicaciones en las que debe maximizarse la concentración de monocitos, manteniendo en cualquier caso una concentración elevada de linfocitos. A partir del gráfico de la figura 19, puede observarse que los granulocitos siguen una función inversa, en el sentido de que su porcentaje relativo cae a medida que progresa el muestreo de las capas sucesivas de la capa leucocitaria.

40 Tal como podrá apreciarse, el sistema propuesto permite la separación efectiva de la capa leucocitaria y, según la cantidad de material muestreado, pueden obtenerse diferentes poblaciones celulares. Por lo tanto, el operador tiene la posibilidad de seleccionar la cantidad de capa leucocitaria a muestrear asimismo como función de los componentes deseados (leucocitos, monocitos, etc.). El operador asimismo tiene la posibilidad de diluir la cantidad muestreada de capa leucocitaria con plasma, mediante el desvío inmediato de una parte del plasma hacia el interior del recipiente 5 para la recogida de la capa leucocitaria en lugar de hacia el interior de la bolsa correspondiente 4, o alternativamente, mediante el muestreo posterior a partir de la bolsa 4 hacia el interior de la cual se había enviado previamente.

45 A partir de la descripción anterior, se ponen claramente de manifiesto las características de la presente invención, al igual que sus ventajas, que están representadas principalmente por la simplicidad de producción del dispositivo médico desechable propuesto, por su coste limitado, por su precisión y simplicidad de uso y manipulación, y por su seguridad.

50 La configuración modular del dispositivo resulta ventajosa asimismo en relación a la posibilidad de combinar módulos que presentan diferentes características, según los requisitos de uso. La modularidad anteriormente indicada resulta particularmente útil en las etapas de producción del dispositivo, permitiendo la producción y almacenamiento de los diversos módulos separados, que pueden ensamblarse basándose en las especificaciones del cliente. La modularidad del dispositivo evita la necesidad de almacenar dispositivos 1 en múltiples configuraciones completas, es decir, permite el almacenamiento de los diversos módulos separados, que pueden

ensamblarse y empaquetarse rápidamente según se requiera, preferentemente en un ambiente estéril, con una reducción de los costes de almacenamiento y una producción y/o transporte hasta el cliente más rápidos. Los módulos A y/o B y/o C pueden producirse por separado, ensamblarse mutuamente para obtener un dispositivo 1, que se empaqueta y esteriliza para la utilización posterior.

5

Asimismo las metodologías de separación y concentración propuestas, así como los aparatos correspondientes, resultan ventajosos, al igual que su simplicidad de implementación, efectividad y precisión.

10

El sistema propuesto permite la separación efectiva de la capa leucocitaria, proporcionando al operador la selección de la cantidad de capa leucocitaria que debe muestrear y la posibilidad, en caso necesario, de diluir con plasma la cantidad deseada de capa leucocitaria.

15

Resulta particularmente ventajosa la posibilidad de separar los módulos del dispositivo sin ningún riesgo de contaminación del líquido por el medio exterior, en particular gracias a la presencia de medios o válvulas para el bloqueo o cierre automático de los conductos, preferentemente configurados en proximidad o en los conectores hidráulicos. La posibilidad de separación de los módulos permite, además, una manipulación más conveniente del dispositivo durante las etapas de utilización del mismo y su desecho.

20

El aparato que puede utilizarse en el sistema propuesto, que asimismo resulta fácil de producir y utilizar, permite la automatización y garantiza la precisión de la operación de separación de las fracciones de la sangre venosa o del aspirado medular.

25

La válvula o válvulas que se hacen funcionar automáticamente utilizadas en el dispositivo no deben integrarse necesariamente en los elementos de unión o conectores respectivos, sino que pueden disponerse operativamente en proximidad de dichos conectores, o en una rama correspondiente de línea o tubo.

30

En una posible variante (no representada), el aparato 60 se preconfigura de manera que opere el vástago de émbolo de la jeringa 3 en lugar de únicamente su cabeza 3d. Por lo tanto, en esta forma de realización, después de llevar a cabo la centrifugación de la jeringa 3, ésta debe nuevamente proveerse del vástago correspondiente 3c, que debe acoplarse con la cabeza correspondiente 3d. En este caso, el elemento de accionamiento previamente designado como 63a del aparato 60 se sustituye por un elemento diferente, diseñado para acoplarse con el vástago 3c en su parte externa al barril 3b. Con este propósito, por ejemplo puede proporcionarse en el vástago 3c un asiento o cavidad transversal, tal como el parcialmente visible en la figura 2, referencia 3f, preferentemente un asiento pasante. En particular, el asiento 3f se localiza en una región terminal proximal del vástago del émbolo, preferentemente de manera que por lo menos una parte del asiento mismo se localice en una parte del vástago 3c que siempre se encuentra en el exterior del barril 11. En dicha variante, el aparato 60 puede preconfigurarse posiblemente para garantizar asimismo el retroceso del émbolo de la jeringa 3, por ejemplo para los fines de un muestreo automatizado del anticoagulante o de la sangre medular o venosa, por ejemplo en el caso de la utilización del dispositivo 1".

35

40

Asimismo resulta posible configurar el aparato 60 de manera que el émbolo o cabeza de émbolo de la jeringa 3 se mantenga en una posición estacionaria, desplazando por el contrario el barril correspondiente 3b en una dirección axial (por ejemplo, haciendo desplazable la parte del soporte 62 que integra el asiento 62a).

45

Según posibles formas de realización variantes, por lo menos algunas de las operaciones anteriormente indicadas, tales como las operaciones de transferencia del plasma hacia el interior del recipiente 4 y del concentrado de células estromales hacia el interior del recipiente 5, pueden llevarse a cabo sin ayuda del aparato 60. En este caso, después de la centrifugación del recipiente de tratamiento 3, a la cabeza de émbolo 3d de este último se asocia nuevamente el vástago correspondiente 3c con este último y la válvula 7, que se operan manualmente a fin de obtener las operaciones anteriormente indicadas y/o la transferencia anteriormente indicada.

50

**REIVINDICACIONES**

1. Dispositivo médico para la separación de un concentrado enriquecido con células de un líquido biológico, en particular un concentrado de células estromales o troncales de aspirado medular o sangre venosa, que comprende:
- 5 - un recipiente de tratamiento (3) para recibir y tratar el líquido biológico con el propósito de su separación en varias fracciones;
  - 10 - un primer recipiente de recogida (4), para recibir una primera fracción del líquido, en particular una fracción pobre en dichas células;
  - un segundo recipiente de recogida (5), para recibir una segunda fracción concentrada del líquido enriquecido con dichas células;
  - 15 - una válvula desviadora (7) que presenta una primera vía (7b) conectada o predispuesta para la conexión con el recipiente de tratamiento (3), una segunda vía (7d) conectada o predispuesta para la conexión con el primer recipiente de recogida (4) y una tercera vía (7c) conectada o predispuesta para la conexión con el segundo recipiente de recogida (5);
  - 20 - una primera línea (10a) para la conexión del recipiente de tratamiento (3) con la primera vía (7b) de la válvula desviadora (7), una segunda línea (4a) para la conexión del primer recipiente de recogida (4) con la segunda vía (7c) de la válvula desviadora (7) y una tercera línea para la conexión del segundo recipiente de recogida (5) con la tercera vía (7d) de la válvula desviadora (7),
  - 25 en el que el recipiente de tratamiento (3) es un recipiente de jeringa con un émbolo (3c, 3d) que presenta un vástago de émbolo (3c) asociado de una manera liberable a una cabeza de émbolo correspondiente (3d);
  - en el que la primera línea de conexión comprende un primer tubo transparente (10a), en particular un tubo transparente flexible y por lo menos una de las segunda y tercera líneas de conexión comprende preferentemente un segundo tubo flexible (4a); y
  - 30 en el que por lo menos una línea de conexión, o cada línea de conexión, comprende por lo menos un conector hidráulico respectivo (11, 13; 11, 13, 14), para la conexión separable de un tubo correspondiente (10a, 4a) con el recipiente correspondiente (3, 4, 5) y/o con la vía correspondiente (7b, 7c, 7d) de la válvula desviadora (7);
  - 35 estando caracterizado el dispositivo (1; 1'; 1'') por que por lo menos una línea de conexión, o cada línea de conexión, comprende además por lo menos una válvula de cierre automático o unidireccional (12, 14a, 14b; 12, 14a-14b, 12').
  - 40 2. Dispositivo según la reivindicación 1, en el que por lo menos una válvula de cierre automático (12, 14a, 14b; 12, 14a-14b, 12') define, o comprende, o presenta integrada en la misma por lo menos una parte de un conector hidráulico (11, 13).
  - 45 3. Dispositivo según la reivindicación 1 o 2, en el que la segunda vía (7d) de la válvula desviadora (7) comprende o presenta asociada a la misma una parte de un primer conector hidráulico (11), en el que preferentemente una dicha válvula de cierre automático (12) comprende o presenta asociada a la misma una segunda parte (11a) del primer conector hidráulico (11).
  - 50 4. Dispositivo según la reivindicación 1 o 2, en el que la tercera vía (7c) de la válvula desviadora (7) comprende o presenta asociada a la misma una parte de conector hidráulico predispuesta para el acoplamiento directo con una parte de conector hidráulico del segundo recipiente de recogida (5).
  - 55 5. Dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que:
  - un primer conector hidráulico (13) de la primera línea de conexión (10a) es un conector con varios elementos de unión; y/o
  - 60 el tubo de la primera línea de conexión (10a) presenta asociada al mismo, en un extremo del mismo opuesto a la primera vía (7b) de la válvula desviadora (7), una parte de un conector hidráulico (13, 13') que puede acoplarse con un elemento de unión del recipiente de tratamiento (3).
  - 65 6. Dispositivo según la reivindicación 5, en el que el primer conector hidráulico (13) define una primera parte de conector hidráulico, predispuesta para el acoplamiento directo con una parte de conector hidráulico del recipiente de tratamiento (3) y una segunda parte de conector hidráulico (14), predispuesta para la conexión liberable con un dispositivo de muestreo de líquido que comprende por lo menos uno de entre un dispositivo para el muestreo de líquido biológico (K<sub>1</sub>; K<sub>2</sub>; 6) y un dispositivo para el muestreo de una sustancia auxiliar (6; C), en particular un

anticoagulante.

7. Dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además por lo menos una aguja (K<sub>1</sub>; K<sub>2</sub>) para el muestreo de líquido biológico de un paciente.

8. Dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que por lo menos el recipiente de tratamiento (3), el primer recipiente de recogida (4), el segundo recipiente de recogida (5), la válvula desviadora (7) y las líneas de conexión (10a, 4a) con los conectores hidráulicos asociados y las válvulas de cierre automático están conectados entre sí y contenidos en un envase estéril.

9. Sistema para la separación de un concentrado enriquecido con células de un líquido biológico, en particular un concentrado de células estromales o troncales de aspirado medular o sangre venosa, comprendiendo el sistema un dispositivo de separación (1; 1'; 1'') según una o más de las reivindicaciones 1 a 8.

10. Sistema según la reivindicación 9, que incluye asimismo un aparato (60) que comprende:

unos primeros medios de accionamiento (63, 64) para causar de una manera automatizada un desplazamiento relativo entre un barril (3b) de un recipiente de tratamiento (3) de un dispositivo de separación (1; 1'; 1'') y por lo menos uno de entre un vástago de émbolo (3c) y una cabeza de émbolo (3d) del recipiente de tratamiento (3);

unos segundos medios de accionamiento (77, 78) para accionar de una manera automatizada una válvula desviadora (7) del dispositivo de separación (1; 1'; 1'');

unos medios de detección (68), en particular de un tipo óptico o electromagnético, configurados para detectar por lo menos una característica de un flujo que pasa en una primera línea de conexión (10a) conectada con el recipiente de tratamiento (3);

un sistema de control (65), predispuesto para controlar de una manera coordinada los primeros medios de accionamiento (63, 64) y los segundos medios de accionamiento (77, 78) según detecciones realizadas utilizando los medios de detección (68), con los propósitos del suministro controlado de una fracción pobre en dichas células del líquido biológico a un primer recipiente de recogida (4) del dispositivo de separación (1; 1'; 1'') y del suministro controlado de una fracción enriquecida con dichas células en un segundo recipiente de recogida (5) del dispositivo de separación (1; 1'; 1'').

11. Sistema según la reivindicación 10, en el que el aparato (60) comprende además por lo menos uno de entre:

- unos medios (62) para el soporte y/o posicionamiento predefinido del recipiente de tratamiento (3) del dispositivo de separación (1; 1'; 1'') con respecto a los primeros medios de accionamiento (63, 64), configurados preferentemente para mantener el recipiente de tratamiento (3) en una posición generalmente vertical;

- unos medios (67, 67a) para el soporte y/o posicionamiento predefinido de por lo menos un tramo de la primera línea de conexión (10a) del dispositivo de separación (1; 1'; 1'') con respecto a los medios de detección (68);

- unos medios (67g, 67h, 77a) para el soporte y/o posicionamiento predefinido de la válvula desviadora (7) del dispositivo de separación (1; 1'; 1'') con respecto a los segundos medios de accionamiento (77, 78);

- unos medios (67h, 67i) para el soporte y/o posicionamiento del segundo recipiente de recogida (5) del dispositivo de separación (1; 1'; 1''), configurados preferentemente para mantener el segundo recipiente de recogida (5) en una posición sustancialmente horizontal;

- unos medios sensores (69) para detectar la posición de por lo menos un elemento móvil (63) perteneciente a los primeros medios de accionamiento (63, 64); y

- unos medios sensores (79) para detectar la posición de por lo menos un elemento móvil (77) perteneciente a los segundos medios de accionamiento (77, 78).

12. Método para separar un concentrado enriquecido con células de un líquido biológico, en particular un concentrado de células estromales o troncales de un aspirado medular o sangre venosa, que comprende las etapas de:

i) proporcionar un dispositivo de separación (1; 1'; 1'') según una o más de las reivindicaciones 1 a 8;

ii) suministrar al recipiente de tratamiento (3) una mezcla que comprende el líquido biológico y una sustancia

auxiliar, en particular un anticoagulante;

- 5
- iii) someter a centrifugación la mezcla contenida en el recipiente de tratamiento (3), para separarla o estratificarla en por lo menos una capa de sedimento más próxima a la cabeza de émbolo (3d), una capa intermedia enriquecida en dichas células y una capa de sobrenadante más próxima a un orificio o abertura (3a) del recipiente de tratamiento (10);
- 10
- iv) poner o mantener en comunicación fluidica, mediante la válvula desviadora (7), el recipiente de tratamiento (3) y el primer recipiente de recogida (4);
- v) transferir desde el recipiente de tratamiento (3) hasta el primer recipiente de recogida (4) por lo menos una primera parte de la capa de sobrenadante, pobre en células, iniciando un desplazamiento de la cabeza de émbolo (3d);
- 15
- vi) poner en comunicación fluidica, mediante la válvula desviadora (7), el recipiente de tratamiento (3) y el segundo recipiente de recogida (5); y
- 20
- vii) transferir desde el recipiente de tratamiento (3) hasta el segundo recipiente de recogida (5) la capa intermedia enriquecida con dichas células, eventualmente en combinación con una segunda parte de la capa de sobrenadante.

25

13. Método según la reivindicación 12, en el que, con el propósito de llevar a cabo por lo menos las etapas v), vi) y vii), el dispositivo de separación (1; 1'; 1'') se dispone sobre un aparato (10) de un sistema según la reivindicación 10 u 11.

14. Dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que el dispositivo (1) o un módulo correspondiente comprende por lo menos uno de los siguientes:

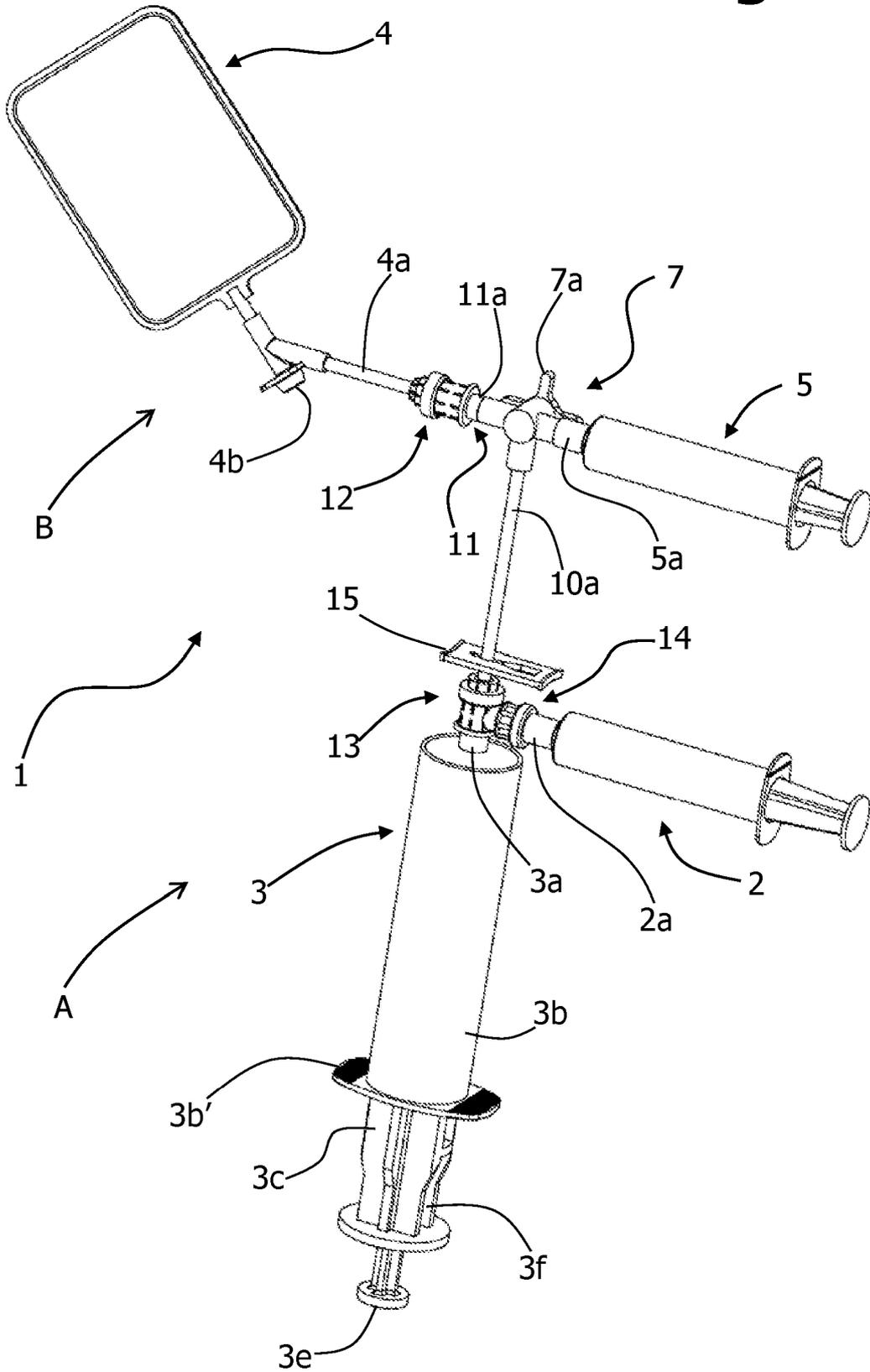
- 30
- por lo menos dos recipientes provistos de un émbolo respectivo, perteneciente cada uno a un módulo correspondiente;
  - por lo menos un recipiente de bolsa;
  - por lo menos una aguja para el muestreo de un líquido;
  - una línea o un tubo transparente por lo menos en parte;
  - por lo menos una válvula diseñada para evitar cualquier contaminación del líquido del exterior después de la separación de dos módulos;
  - por lo menos un elemento de unión o un conector liberable que presenta asociada al mismo una válvula de cierre automático;
  - por lo menos una válvula desviadora que integra o está asociada a unos medios de conexión o un conector;
  - por lo menos una válvula desviadora con unos medios integrados o asociados a la misma para la unión o conexión con por lo menos un recipiente;
  - por lo menos una abrazadera para cerrar o abrir un tubo;
  - por lo menos un filtro;
  - una pluralidad de módulos o partes que pueden separarse y/o acoplarse entre sí durante diferentes etapas de utilización del dispositivo.
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55

15. Sistema según cualquiera de las reivindicaciones 10 y 11, en el que el aparato (60) incluye por lo menos uno de entre:

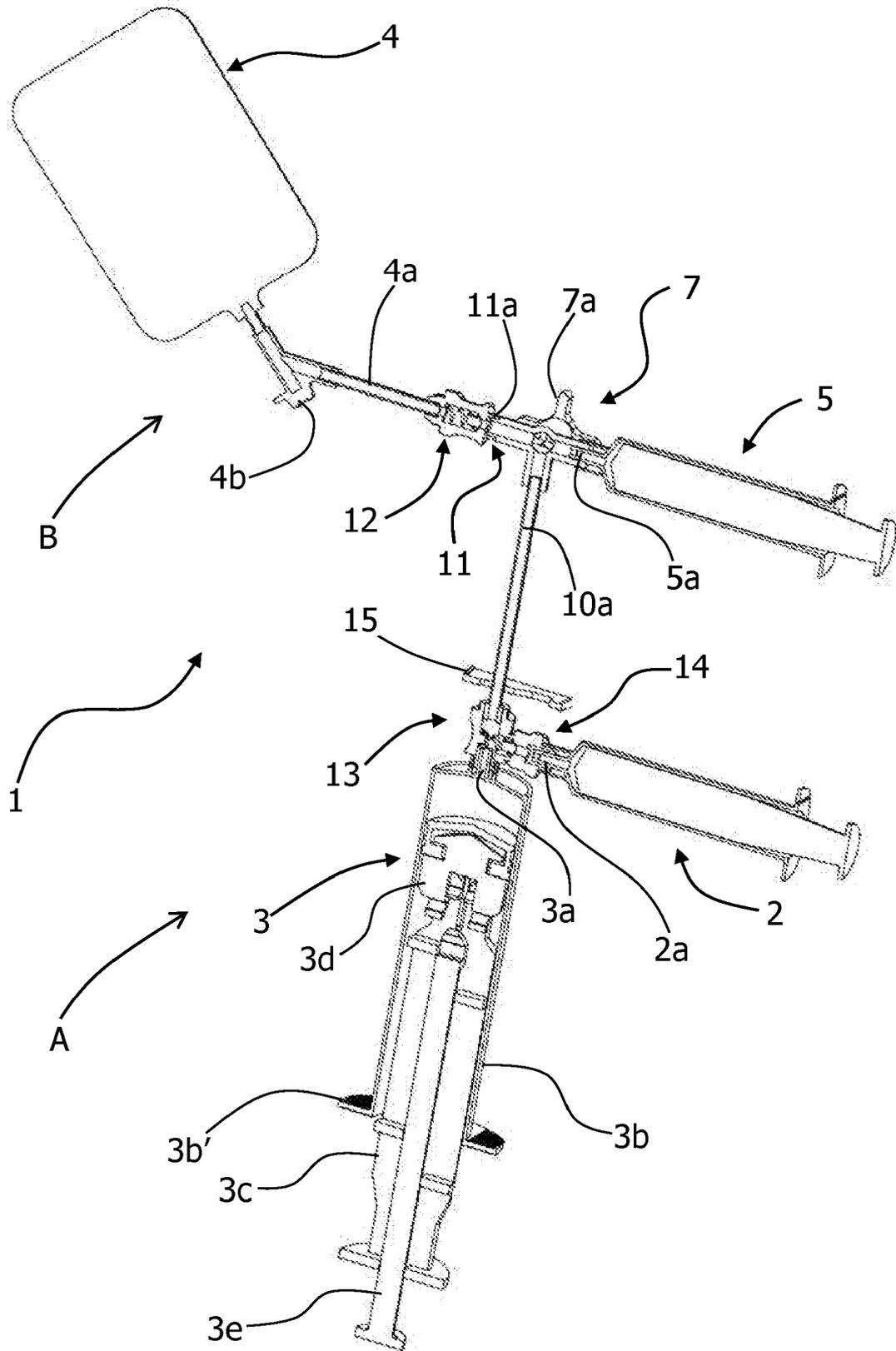
- 60
- unos medios (67c) para abrir y cerrar un dispositivo (67) para el soporte y/o posicionamiento de por lo menos una parte de un dispositivo de separación (1; 1'; 1'');
  - unos medios (67d) para la articulación de por lo menos un elemento (67c) para abrir y/o cerrar un dispositivo (67) para el soporte y/o posicionamiento de por lo menos una parte de un dispositivo de separación (1; 1'; 1'').



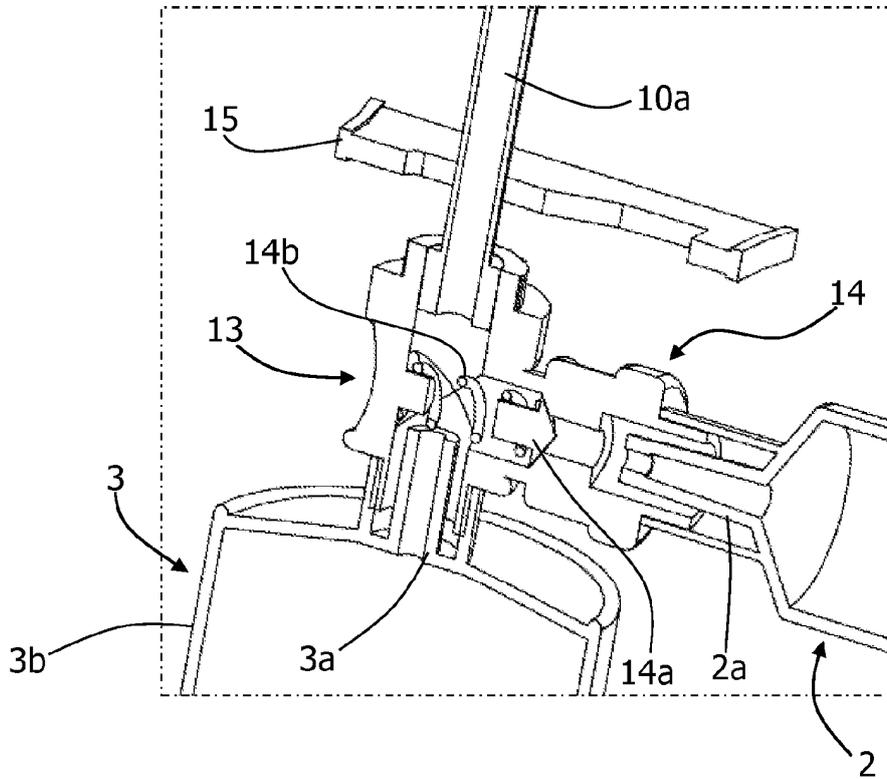
**Fig. 2**



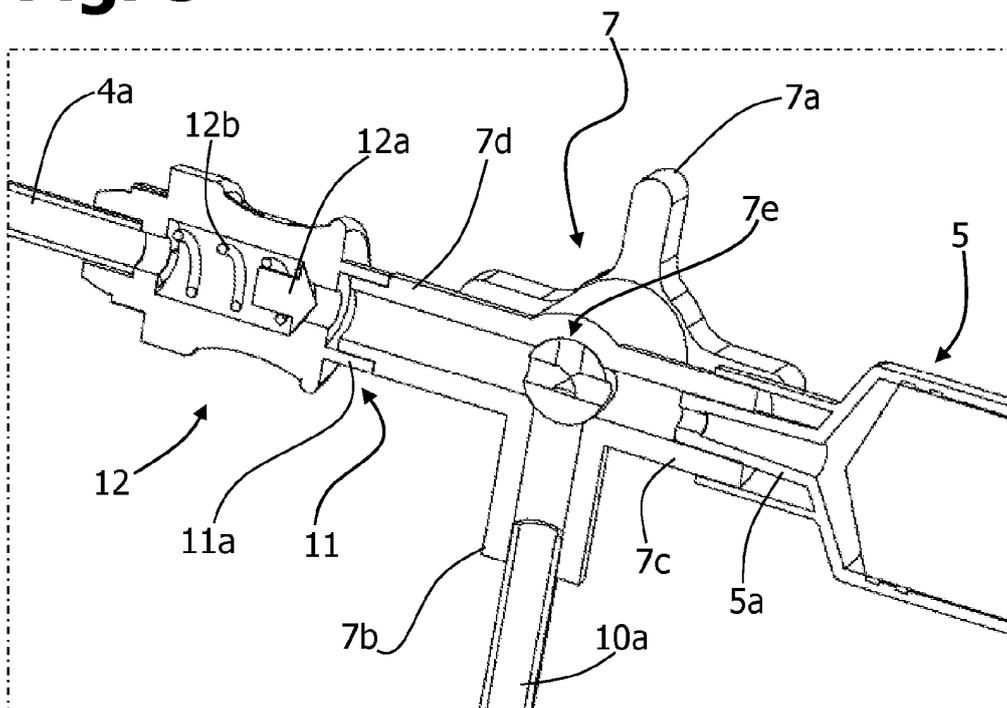
**Fig. 3**



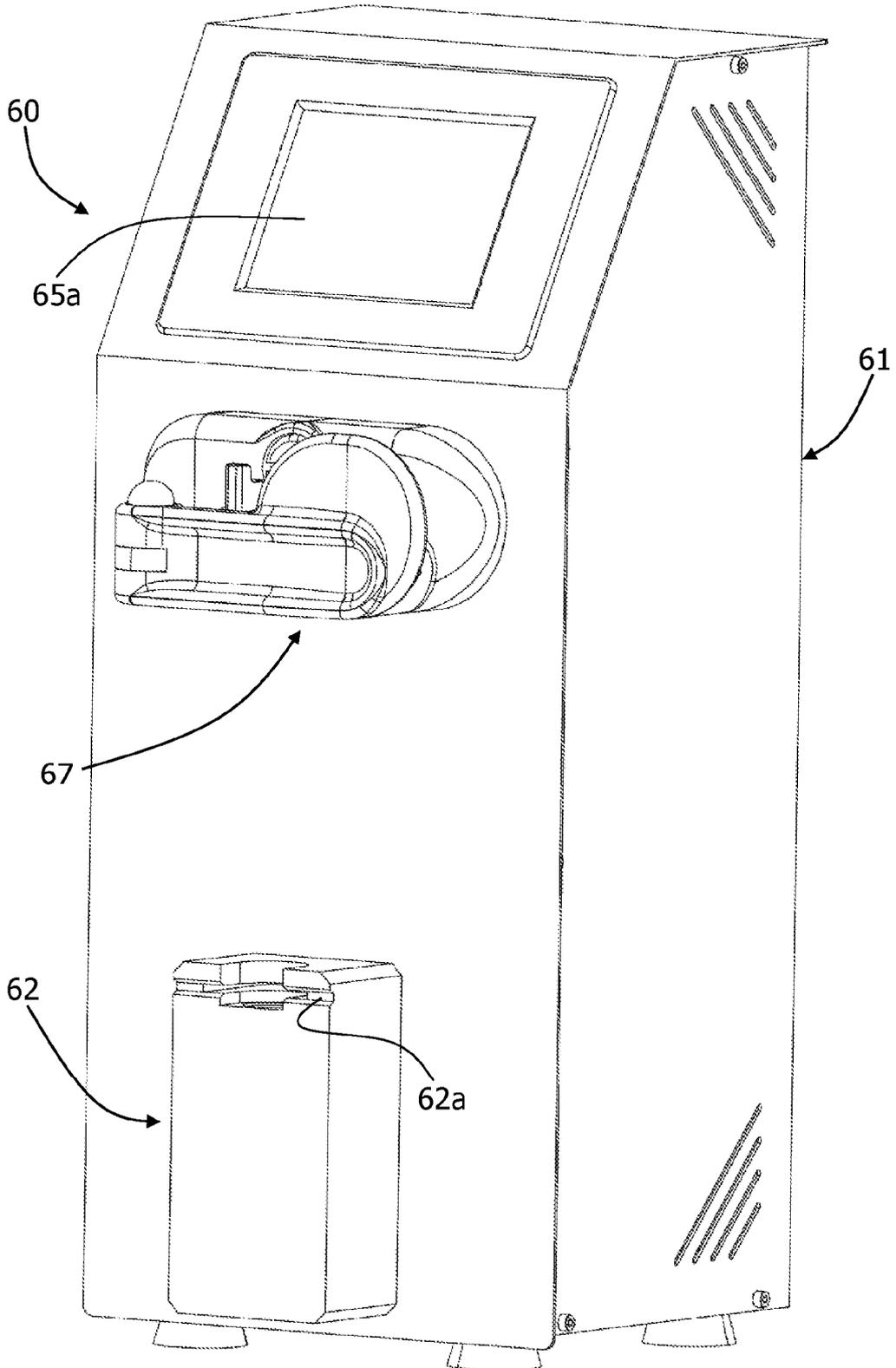
**Fig. 4**



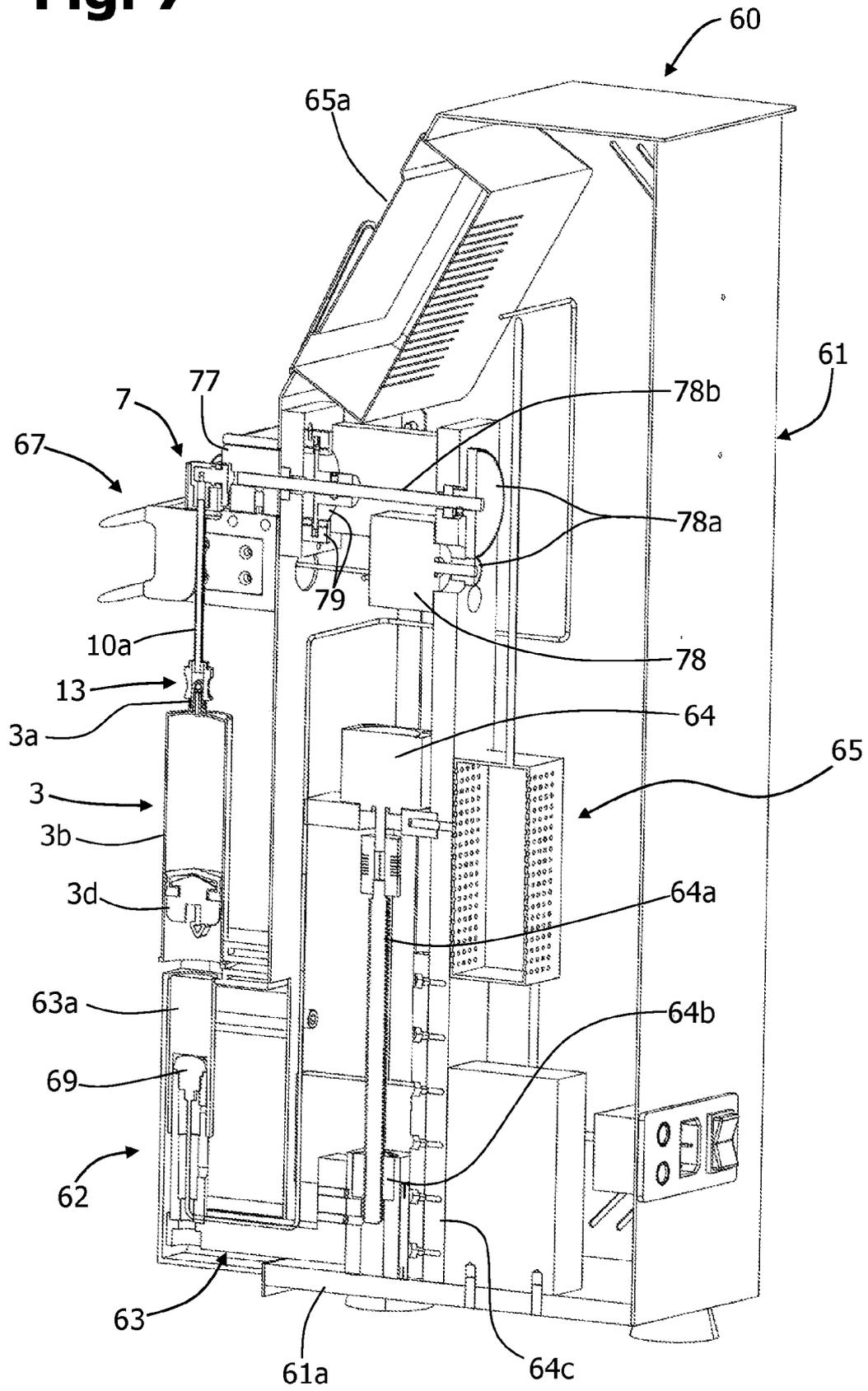
**Fig. 5**



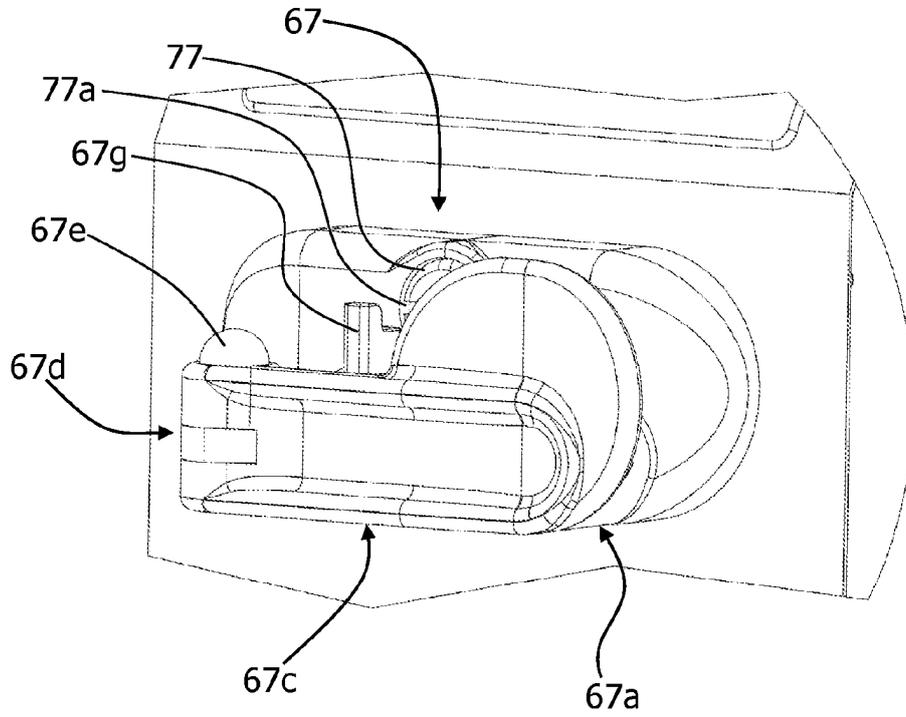
**Fig. 6**



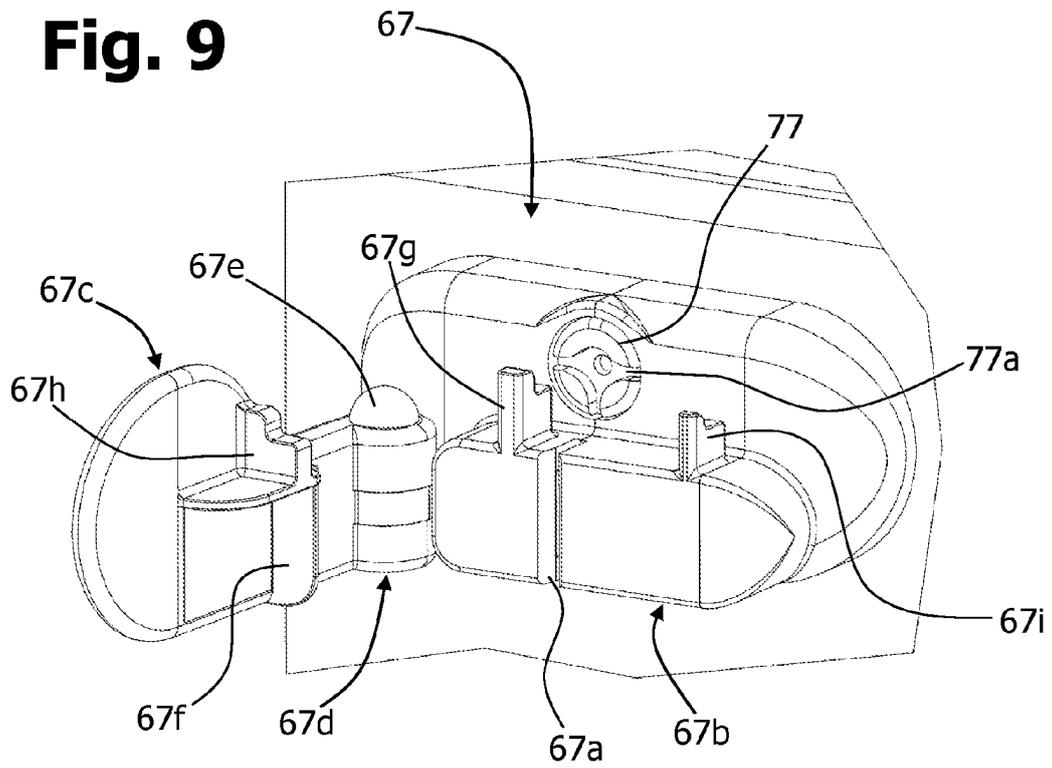
**Fig. 7**



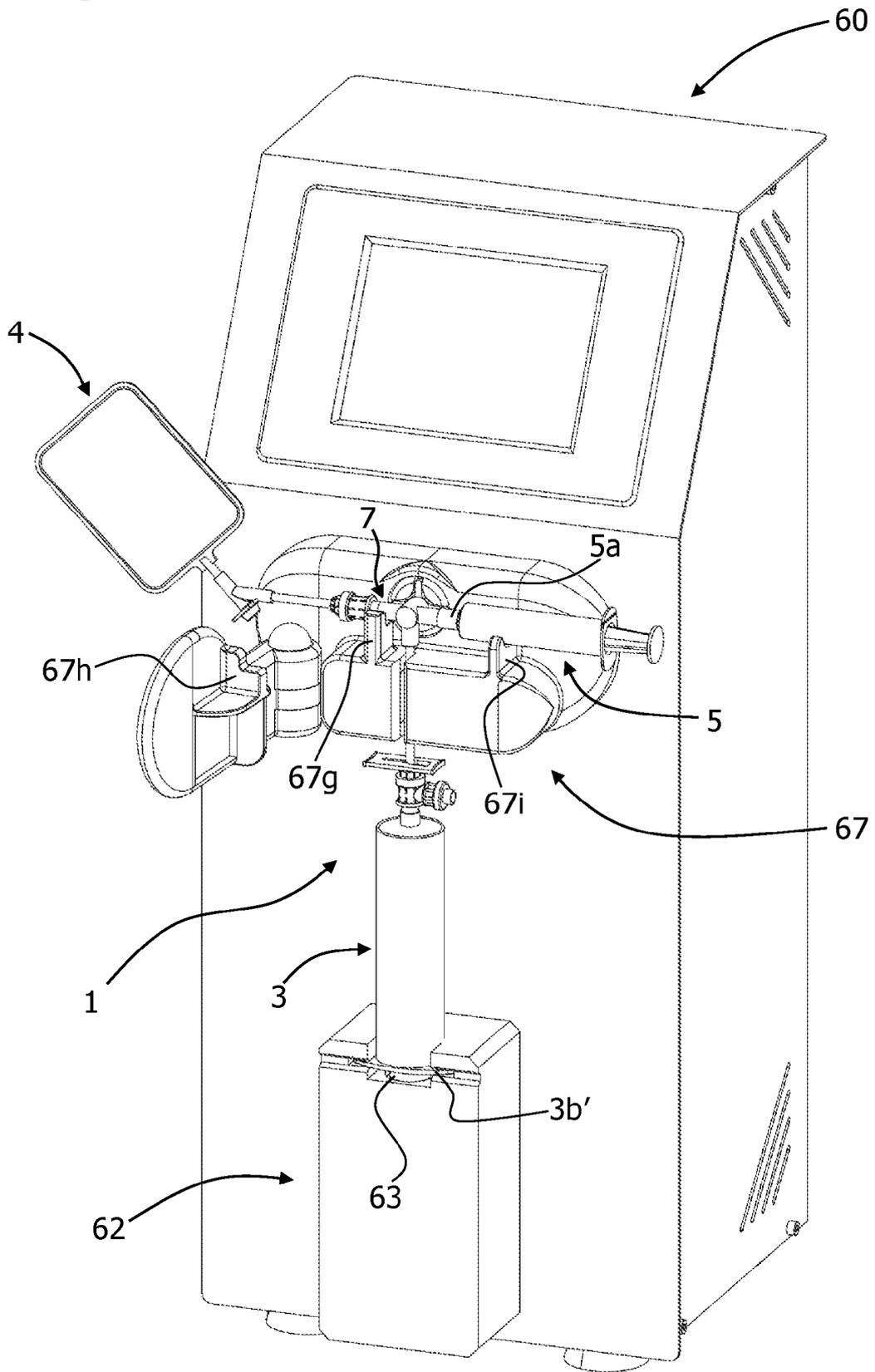
**Fig. 8**



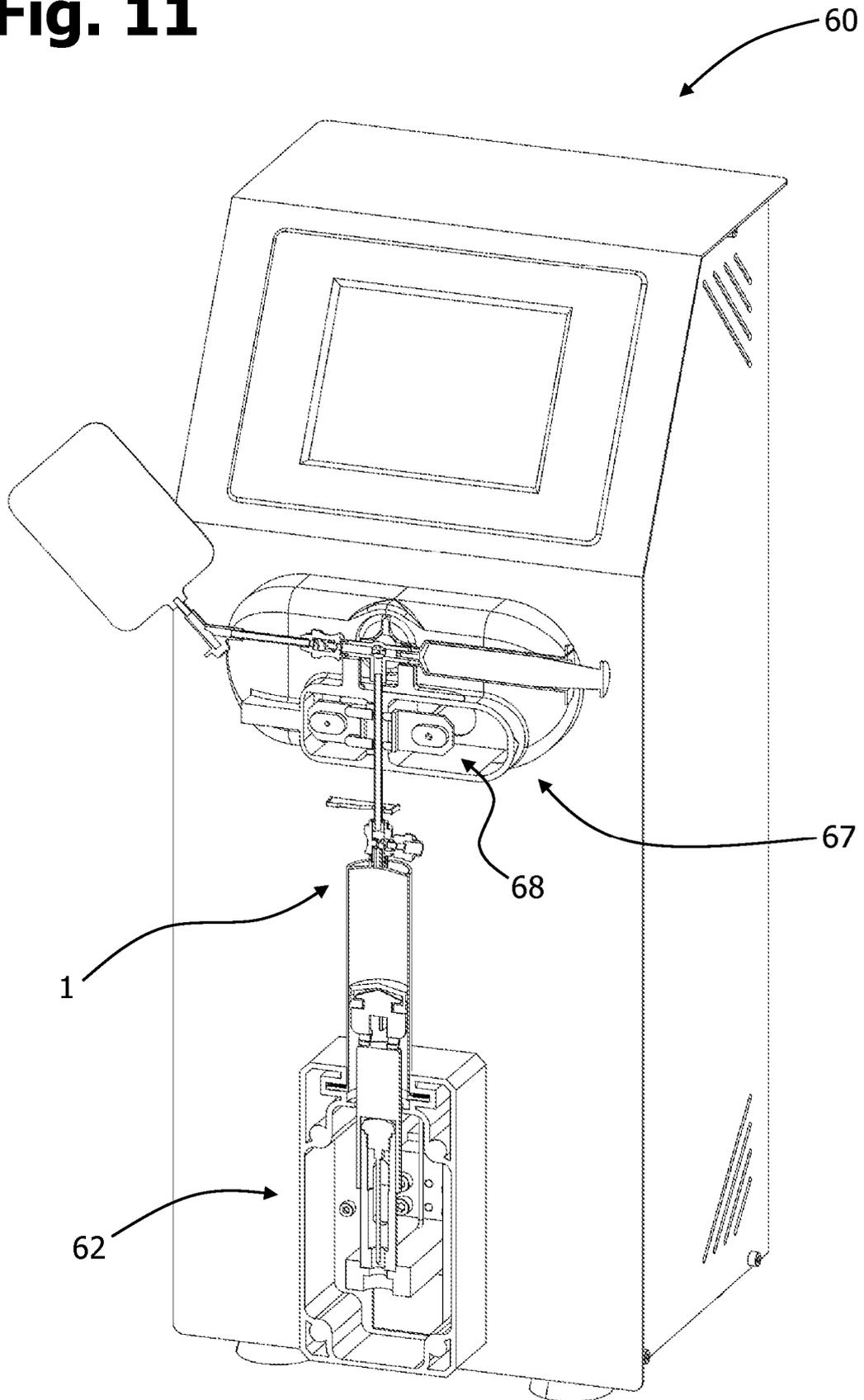
**Fig. 9**



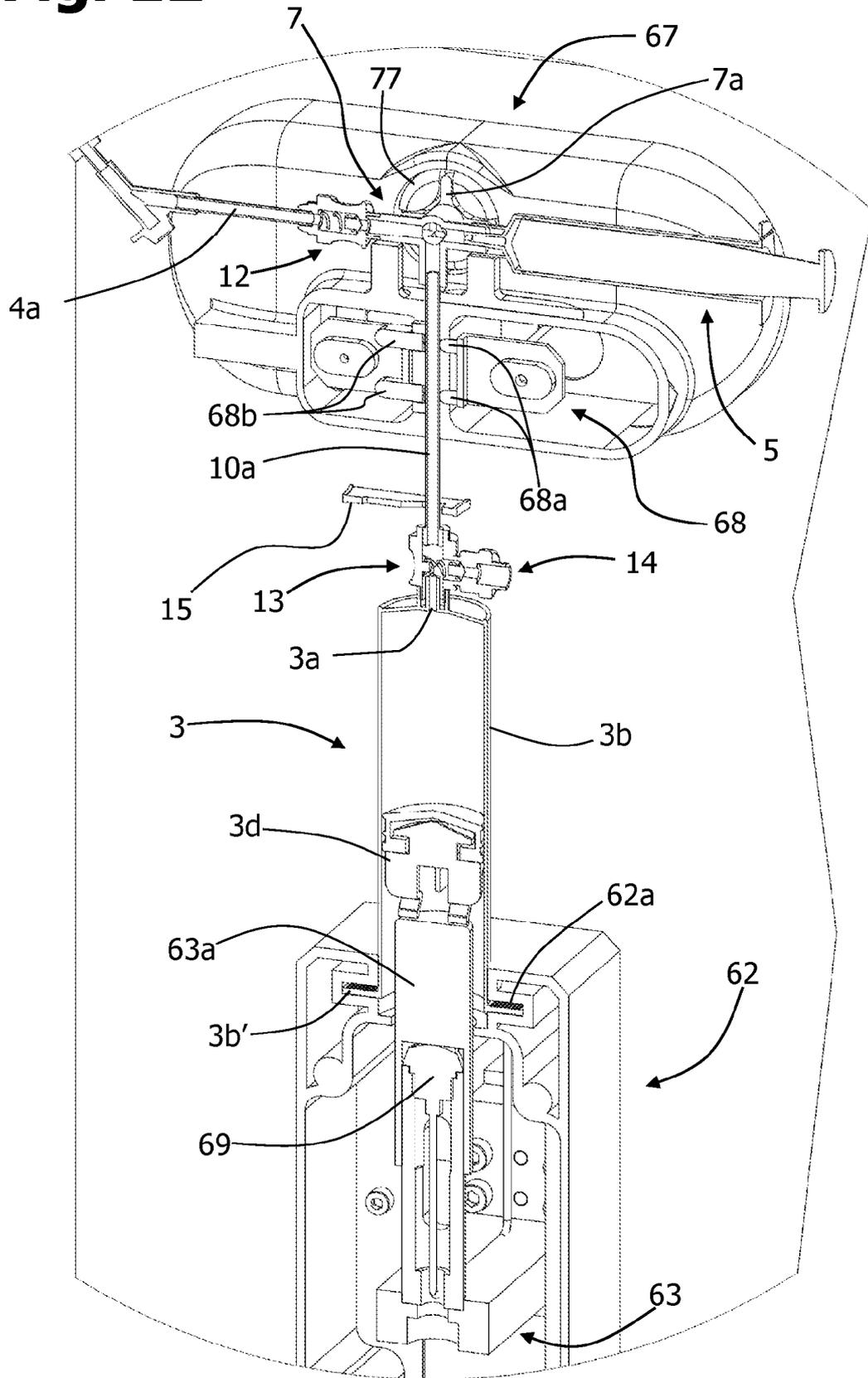
**Fig. 10**



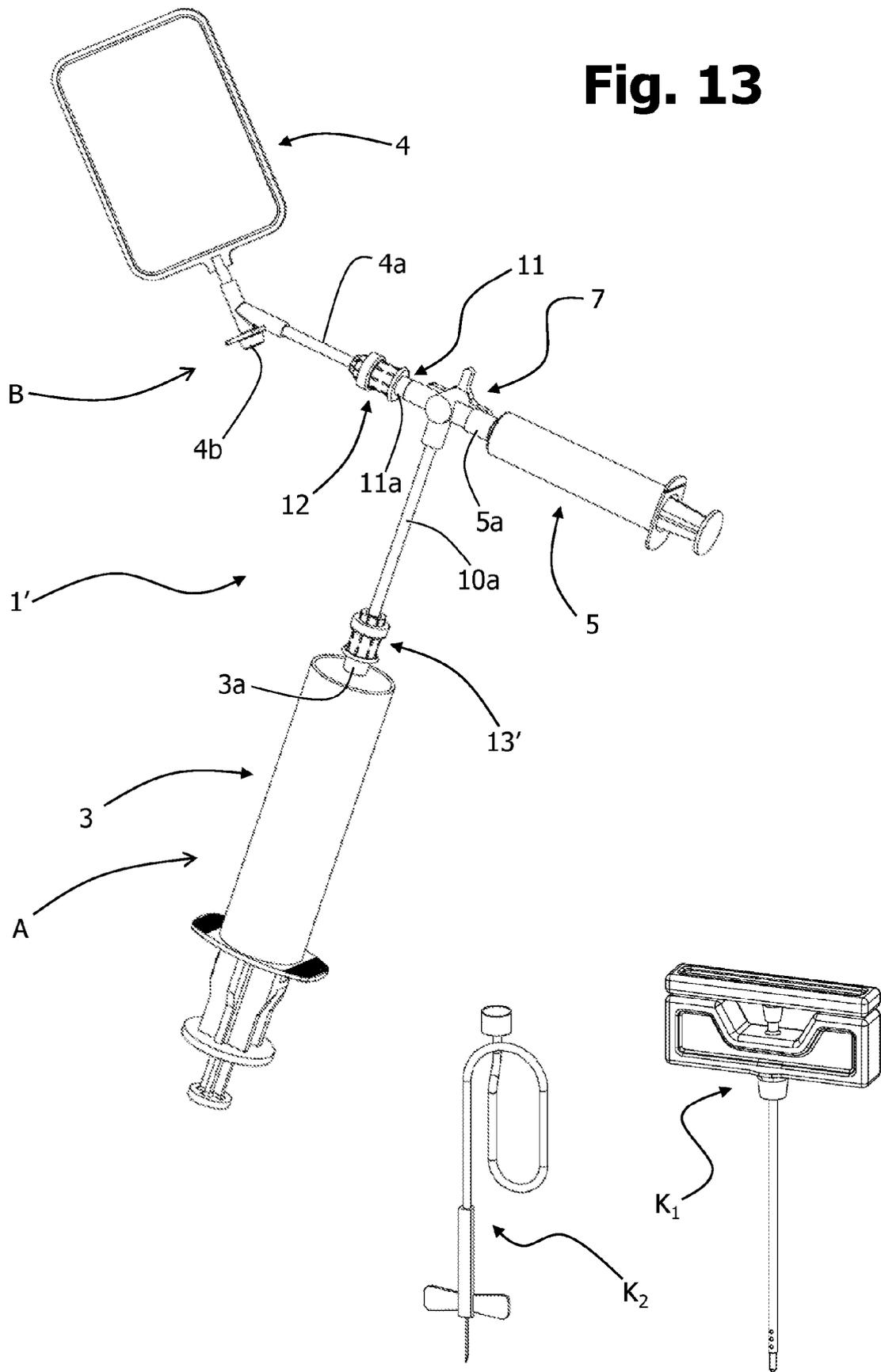
**Fig. 11**



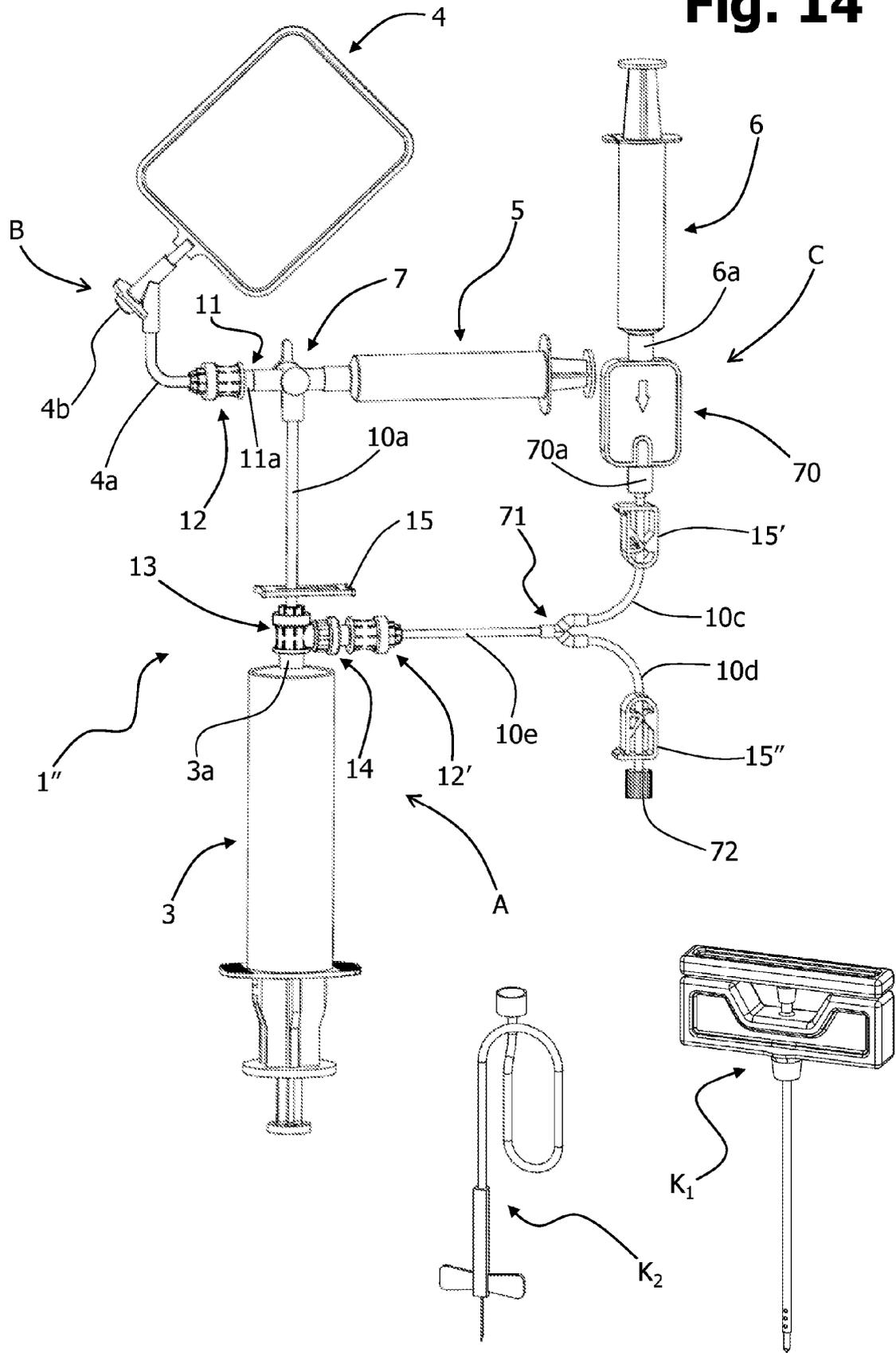
**Fig. 12**



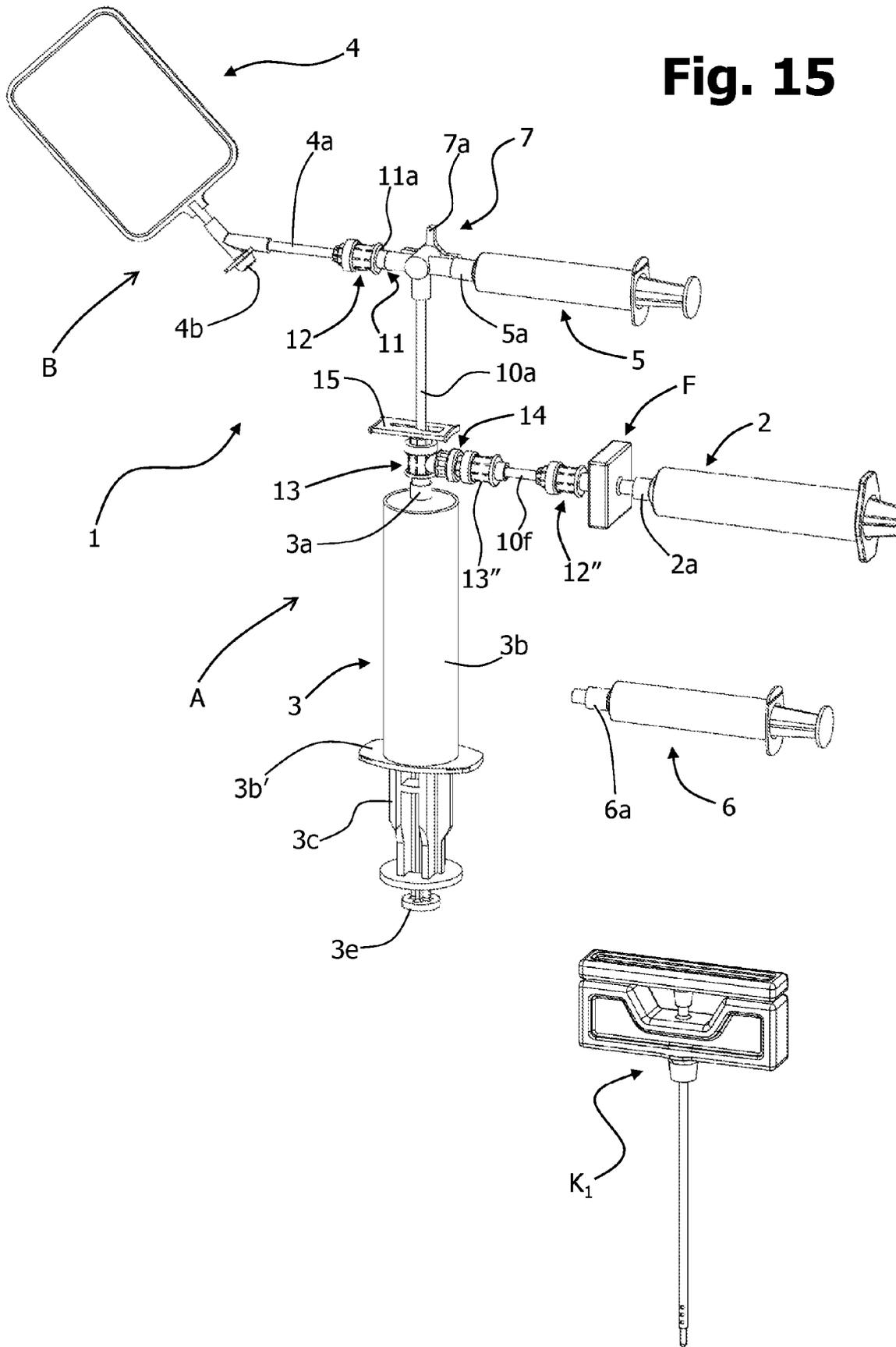
**Fig. 13**



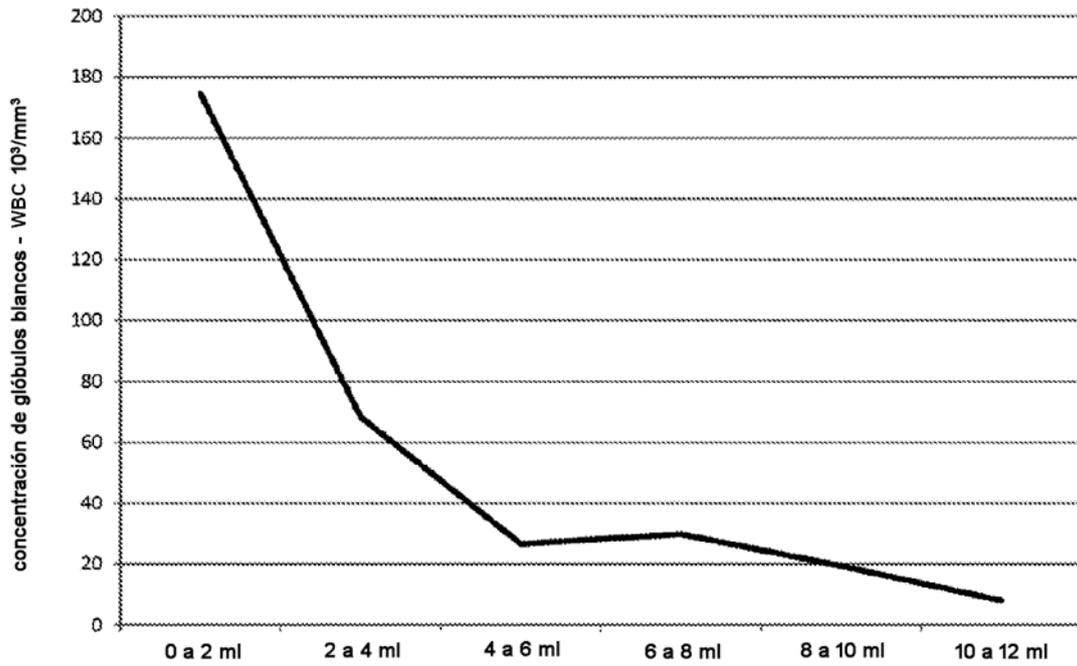
**Fig. 14**



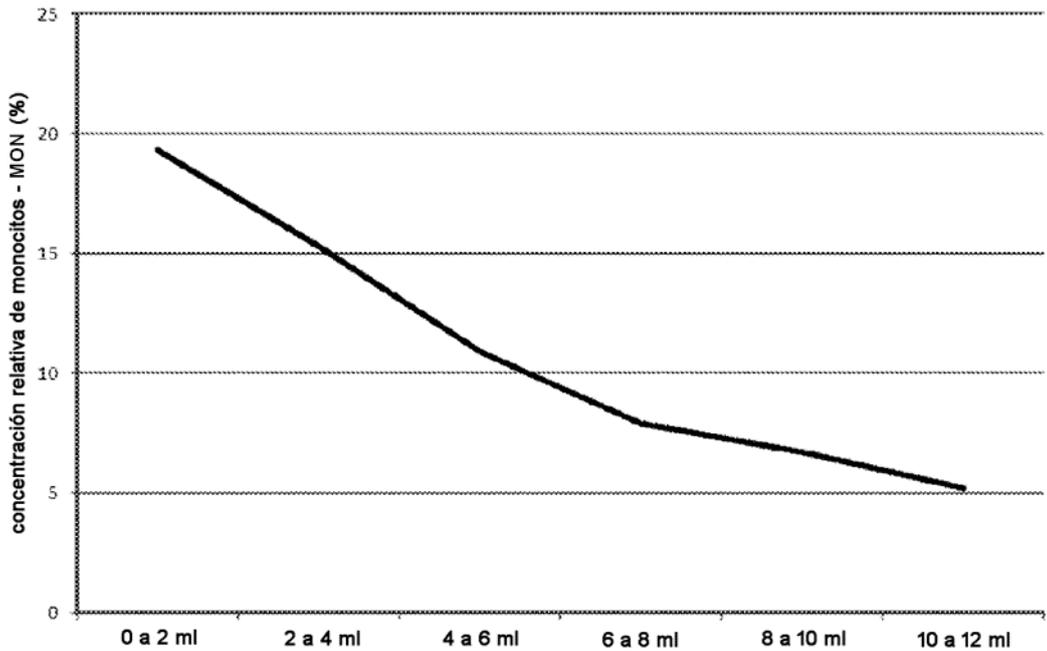
**Fig. 15**



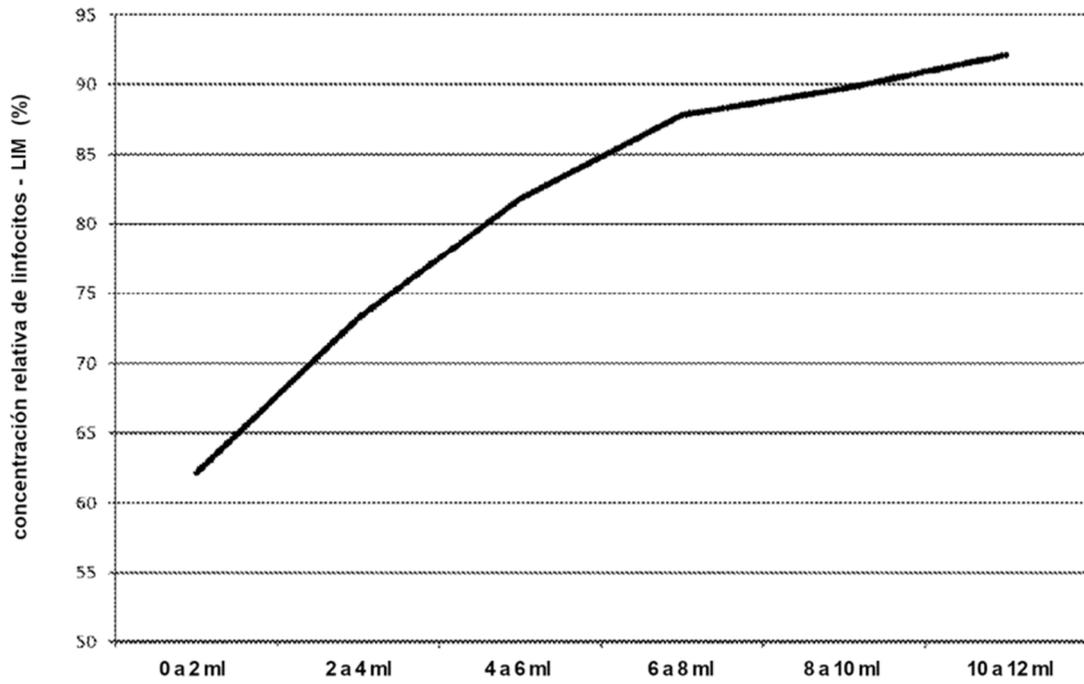
**Fig. 16**



**Fig. 17**



**Fig. 18**



**Fig. 19**

