

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 809 192**

51 Int. Cl.:

C12M 1/22 (2006.01)

C12M 1/00 (2006.01)

C12M 1/26 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.12.2017 PCT/EP2017/084732**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.07.2018 WO18122322**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.12.2017 E 17828934 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.05.2020 EP 3562932**

54 Título: **Dispositivo de perfusión**

30 Prioridad:

30.12.2016 AT 511952016

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

03.03.2021

73 Titular/es:

**HEKTROS S.R.L (100.0%)
Via Waltraud-Gebert-Deeg 10
39100 Bozen, IT**

72 Inventor/es:

**HEKL, DANIEL y
TROGER, HERMANN**

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 809 192 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 de perfusión

La invención se refiere a un dispositivo de perfusión para un recipiente de cultivo celular.

5 Un método para estudiar el comportamiento de las células o los microorganismos consiste en cultivar en recipientes de cultivo celular (los llamados platos de cultivo) y luego observar los efectos de un medio alimenticio, dado el caso mezclado con medicamentos u otras sustancias de ensayo. En el caso de los recipientes de cultivos celulares se trata de recipientes en forma de plato, como las placas de Petri, o recipientes, al menos parcialmente, en forma de placa, como las placas multionduladas, o también otros recipientes que se utilizan para el cultivo de células o
10 microorganismos.

Después de que las células son sembradas en el recipiente de cultivo celular, las células comienzan a multiplicarse hasta que toda la superficie de crecimiento del recipiente se cubre de células. En el caso de un cultivo estático (el llamado "procedimiento por lotes"), las células se colocan reposando en una incubadora de cultivo especial, que a
15 temperatura corporal mantiene una atmósfera saturada de vapor de agua constante de un 95% de aire y un 5% de dióxido de carbono. Las células recubiertas estáticamente con el medio alimenticio reciben así oxígeno, por difusión pasiva a través de una hendidura en la tapa del recipiente, que no está situada encima de forma estanca. El principal problema lo constituyen a este respecto las condiciones ambientales en continuo cambio en los cultivos estáticos durante toda la duración del cultivo. Los nutrientes son absorbidos por las células del medio alimenticio recién recubierto y son "metabolizados" en una forma químicamente modificada y entregados de nuevo en el medio alimenticio. Durante
20 las primeras 12 a 24 horas del exceso de nutrientes, las células metabólicamente activas requieren a este respecto una gran cantidad de oxígeno para la descomposición oxidativa de la glucosa y los aminoácidos, en donde se configura rápidamente un gradiente de oxígeno inducido por difusión en el medio alimenticio recubierto con una capa milimétrica de espesor. Las células a menudo se vuelven hipóxicas y adaptan cada vez más su metabolismo a la glicólisis anaeróbica. A este respecto, la glucosa ya no se descompone y se precipita en CO₂, sino casi exclusivamente en lactato. Por lo general, los nutrientes contenidos en el volumen limitado del medio alimenticio superpuesto se agotan completamente después de 24 a 48 horas de cultivo, mientras que el medio alimenticio se enriquece simultáneamente con los productos de precipitación del metabolismo celular. Debido a la consiguiente insuficiencia de nutrientes, las células han disminuido su metabolismo, por lo que el medio alimenticio, inicialmente ligeramente alcalino, suele volverse
25 ligeramente ácido y ligeramente tóxico debido a la precipitación de lactato, por ejemplo, como resultado de un enriquecimiento con amoníaco procedente de la descomposición de la glutamina.

Además, las células se debilitan energéticamente durante la glicólisis anaeróbica y el contenido de oxígeno en el medio vuelve al rango de saturación. Esto puede dar lugar repentinamente a un exceso de oxígeno, que ya no se consume ni
35 se necesita debido a la falta de nutrientes. Esto daña las células debido a la mayor debilidad del sistema inmunológico, debido a la casi inexistencia de moléculas captadoras de radicales frente a los nuevos radicales de oxígeno que se forman constantemente. Si el medio alimenticio se agota, es aspirado y las células se cubren con un medio alimenticio fresco. El ciclo de excedencia-hambre comienza de nuevo.

40 En cultivos estáticos, es casi imposible llevar a cabo ensayos reproducibles de forma fiable y con una fuerza informativa uniforme debido a esta falta de homogeneidad cíclica del cultivo. Por ejemplo, el momento de la administración de las drogas es extremadamente importante. Si los medicamentos se administran al principio del ciclo de alimentación, las células están en un buen estado energético y muy activas metabólicamente. A veces reaccionan de forma completamente diferente, en cuanto el metabolismo cambia al subsiguiente estado de hambre, que es cada vez peor.
45 En resumen, puede afirmarse que las células cultivadas en el procedimiento clásico de lotes no encuentran condiciones de cultivo homogéneas en ningún momento del período de cultivo. Por consiguiente, es difícil obtener resultados experimentales con fuerza informativa sobre los efectos de los medicamentos in vitro. No obstante, los cultivos estáticos se utilizan a menudo para las investigaciones, ya que se trata de un sistema sencillo con bajos costes y un alto rendimiento de las muestras.

50 Para eliminar las desventajas de los procedimientos estáticos, los llamados procedimientos de cultivo de perfusión se han dado a conocer en el estado de la técnica, los cuales tienen varias ventajas científicamente probadas frente al método clásico de cultivo de células. Por ejemplo, se asegura, de manera similar al cuerpo, que las células cultivadas se expongan a condiciones ambientales uniformes durante todo el tiempo que dure el cultivo. Los dispositivos de perfusión convencionales tienen unas cámaras de perfusión especiales, ligeramente estancas a la sobrepresión, en las que se
55 cultivan las células. A través de un sistema de tubos flexibles y de una bomba se alimenta el medio alimenticio desde un depósito de medio alimenticio a la cámara de perfusión. El depósito se suele llevar a la temperatura corporal y se gasifica con una mezcla de aire y CO₂ similar a la de la incubadora. De este modo se garantiza que las células reciban continuamente medio fresco, según sea necesario, a una velocidad de flujo regulable a través de la cámara de perfusión. Por lo tanto, las condiciones ambientales constantes prevalecen durante toda la duración del cultivo. Esto a su vez garantiza resultados de ensayo con fuerza informativa y reproducibles, que pueden lograrse en gran medida independientemente del momento del enriquecimiento de las sustancias de ensayo.
60

El documento US 8,501,462 muestra un dispositivo de perfusión con una placa multiondulada, en el que están previstos varios insertos, cada uno con una zona de perfusión. Una membrana permeable al gas está dispuesta en la parte inferior de los insertos, en donde cada membrana presenta unos resaltes en el lado vuelto hacia el respectivo inserto, por medio de los cuales la membrana se separa del lado inferior del inserto. El espacio intermedio entre los resaltes forma un canal de flujo, a través del cual el medio alimenticio puede fluir y, a este respecto, se difunde a través de la membrana a los cultivos celulares. La desventaja de esta configuración es que el medio alimenticio fluye en su mayor parte en el camino directo entre el conducto de suministro y el conducto de descarga. También en los bordes poligonales de los insertos se produce una diferente disponibilidad de nutrientes, debido a una diferente velocidad de flujo del medio alimenticio en la zona del borde y debido a las turbulencias que allí se producen. Por esta razón se producen grandes diferencias zonales en la disponibilidad de nutrientes, que son desfavorables para un crecimiento homogéneo de los cultivos celulares y por lo tanto indeseables.

El documento US 2013/0068310 se refiere a un dispositivo de perfusión con estructura multicapa con una placa multiondulada. A este respecto unos microcanales están dispuestos en una capa de distribución y en una capa de gradiente que sirven para crear un gradiente de concentración del medio alimenticio por encima del cultivo celular. El medio alimenticio se entrega a través de una membrana porosa. Están previstos diferentes disposiciones geométricas para los microcanales de las capas de gradiente y distribución, en donde los microcanales están conectados a través de una red a unos canales de conexión. De este modo se obtiene un gradiente de concentración del medio alimenticio similar a un campo, en donde se produce una alta compresión de flujo del medio alimenticio, especialmente en los puntos de desviación, y una densidad de flujo constante sólo está presente en zonas parciales. Incluso con este dispositivo de perfusión no se pueden proporcionar unas condiciones de cultivo homogéneas para los cultivos celulares, debido a un suministro de nutrientes desfavorable. Esto es extremadamente indeseable para series de ensayo con resultados comprensibles.

La principal desventaja de los dispositivos de perfusión conocidos en el estado de la técnica es su complejidad. Ejemplos de estos complejos dispositivos de perfusión se muestran en los documentos WO 82/03227, WO 02/24861, WO 2015/027998, US 6,670,170, DE 4305405, DE 19742163 y en el documento DE 10118905. Como consecuencia de ello, apenas se dispone de sistemas desechables para cultivos de perfusión y, de ser así, sólo con superficies de crecimiento tan pequeñas para los cultivos celulares, que sólo los exámenes individuales especiales de las células tienen sentido y son posibles. En el caso de los sistemas reutilizables, a su vez, el funcionamiento y aquí sobre todo el ensamblaje estéril requieren una gran habilidad debido a la complejidad de los dispositivos, lo que suele dar lugar a un pequeño rendimiento de la muestra.

Los documentos WO 2007/124481 y WO 2011/011350 se refieren a dispositivos microfluídicos, en donde los nutrientes o sustancias de ensayo son guiados a las células individuales a través de microcanales. En parte el flujo de las sustancias es causado exclusivamente por las fuerzas capilares que actúan en los microcanales configurados cerrados. A este respecto los objetos a analizar se incorporan en la pared del microcanal o en unos dispositivos de sujeción dispuestos específicamente para ello. Dado que con estos dispositivos sólo pueden llevarse a cabo análisis en objetos individuales, los dispositivos microfluídicos tienen una estructura cerrada y presentan un dispositivo de perfusión integrado, que no puede ser reemplazado. En particular, sólo los cultivos celulares dinámicos pero no los estáticos pueden ser analizados con estos dispositivos. Además de esto, mediante la conformación de los microcanales los objetos a analizar salen a chorro parcialmente del dispositivo de microfluidos, lo que también hace imposible que las condiciones de cultivo sean homogéneas para los cultivos celulares.

En resumen, el procedimiento de cultivo de perfusión con los dispositivos de perfusión conocidos en el estado de la técnica es técnicamente mucho más complejo y, por lo tanto, más costoso de operar que el procedimiento convencional por lotes, en donde sobre todo el ensamblaje estéril y la manipulación en el tiempo más compleja de los dispositivos existentes ha llevado a una menor aceptación de esta alternativa, en sí misma fisiológicamente más práctica, con relación a los modelos clásicos in vitro.

La tarea de la invención consiste, por lo tanto, en proporcionar un dispositivo de perfusión de acuerdo con la reivindicación 1, con el que se eviten las desventajas de los dispositivos conocidos para el procedimiento de cultivo de perfusión. Además de esto, se quiere crear la posibilidad de convertir los recipientes de cultivos celulares existentes para cultivos estáticos, de manera sencilla, en un dispositivo con el que los cultivos estáticos puedan convertirse en cultivos de perfusión y cultivarse con el proceso de cultivo de perfusión. A este respecto se pretende proporcionar unas condiciones de cultivo homogéneas para los cultivos celulares, en donde el dispositivo de perfusión pueda insertarse en el recipiente de cultivo celular sin que se destruyan células del cultivo celular.

Con el dispositivo de perfusión según la invención, los cultivos celulares estáticos (llamados "cultivos por lotes", "platos de cultivos básicos" o "placas de cultivos básicos") pueden ser convertidos o actualizados a cultivos de perfusión (llamados "cultivos de perfusión") en un tiempo muy corto. Una reconversión en un cultivo celular estático también es muy fácilmente posible. Para ello, el dispositivo de perfusión según la invención tiene una zona de perfusión, que está conectada al menos a una abertura de entrada a través de un conducto de suministro y al menos a una abertura de salida a través de un conducto de descarga. Si el dispositivo de perfusión tiene varias aberturas de entrada y/o varias aberturas de salida, pueden estar previstos varios conductos de suministro y conductos de descarga, que se usan para conectar las aberturas de entrada y/o las aberturas de salida a la zona de perfusión.

La al menos una abertura de entrada se usa para el suministro de medio alimenticio para los cultivos celulares a ser examinados, y a través de la al menos una abertura de salida se evacua el medio alimenticio no utilizado y, si es necesario, las sustancias precipitadas de los cultivos celulares.

5 El dispositivo de perfusión tiene una zona de perfusión, a través de la cual el medio alimenticio es entregado a los cultivos celulares a ser examinados, en donde los cultivos celulares son dispuestos en un recipiente de cultivo celular, en el cual la zona de perfusión puede ser insertada. Como recipientes de cultivos celulares en el sentido de la invención deben entenderse aquí como recipientes convencionales en forma de plato conocidos en el estado de la técnica, como por ejemplo las placas de Petri, y al menos parcialmente recipientes en forma de placa, como por ejemplo las placas multionduladas, así como otros recipientes, que se utilizan para el cultivo de microorganismos y para el cultivo celular, en particular los recipientes de cultivos celulares con tapa extraíble.

10 Las células pueden ser sembradas primero en el recipiente de cultivo celular y recubiertas con un medio alimenticio, como es generalmente usual en los cultivos celulares estáticos. Una vez que las células están adheridas al fondo del plato o de la placa del recipiente de cultivo celular, el cultivo estático puede convertirse en un cultivo de perfusión, por medio de que la zona de perfusión del dispositivo de perfusión conforme a la invención se inserta en el recipiente de cultivo celular.

15 La abertura de entrada puede ser conectada a un depósito de medio alimenticio. El medio alimenticio se suministra a través del conducto de suministro a la zona de perfusión, a través de la cual se pone a disposición de los cultivos celulares en el recipiente de cultivo celular. En caso de que haya varias aberturas de entrada, el medio alimenticio puede ser suministrado a la zona de perfusión a través de varios conductos de suministro. Si los conductos de suministro terminan en diferentes puntos de la zona de perfusión, se puede lograr una entrega particularmente homogénea del medio alimenticio - dependiendo de la distribución de los conductos de suministro. Con varias aberturas de entrada también es posible suministrar el medio alimenticio a través de una abertura de entrada, mientras que los medios alimenticios mezclados con medicamentos u otras sustancias de ensayo se suministran a través de otra abertura de entrada. Esto hace que sea particularmente fácil llevar a cabo experimentos.

20 La zona de perfusión tiene una estructura geométrica, a través de la cual el medio alimenticio se pone a disposición de los cultivos celulares. En el estado de inserción de la zona de perfusión, la estructura está vuelta hacia los cultivos celulares. La estructura forma un canal, que conecta el conducto de suministro y el conducto de descarga y a través del cual puede fluir el medio alimenticio. La estructura geométrica puede estar configurada a este respecto de tal manera, que el canal formado cubra grandes partes de la zona de perfusión. Con ello es posible, por un lado, proporcionar grandes zonas en cuanto a superficie, a través de las cuales fluye el medio alimenticio. De esta manera también se pone a disposición de los cultivos celulares en el recipiente de cultivo celular, en cuanto a superficie, grandes zonas con medio alimenticio. Por otra parte, el canal hace que el medio alimenticio fluya con una cierta velocidad de flujo, de modo que no se produzcan las desventajas de los procedimientos de cultivo celular estático, pero sí las ventajas de los procedimientos de cultivo por perfusión.

25 El canal puede diseñarse como una ranura, en donde -dependiendo de la estructura geométrica- es posible una profundidad y anchura de la ranura variables, pero también una profundidad y/o anchura de la ranura parcial o totalmente constante. Al mantener la estructura geométrica a distancia del fondo del recipiente de cultivo celular en el estado de inserción, el dispositivo de perfusión puede utilizarse sin perturbar o incluso destruir los cultivos celulares. Esto permite que los cultivos celulares estáticos se conviertan en cultivos de perfusión sin perturbar las células. La distancia desde la zona más exterior de la estructura geométrica al fondo del recipiente de cultivo celular, en el estado de inserción de la zona de perfusión, corresponde a este respecto a la distancia desde el canal o la estructura geométrica al fondo del recipiente de cultivo celular.

30 La invención permite utilizar las placas de Petri utilizadas para los procedimientos de cultivo celular convencionales, pero también otros recipientes de cultivo celular como por ejemplo las placas multionduladas para procedimientos de perfusión, utilizando un dispositivo de perfusión conforme a la invención en lugar de la tapa utilizada convencionalmente, cuya zona de perfusión se inserta en el recipiente de cultivo celular. De este modo, se pueden conservar los formatos clásicos de los recipientes de cultivos celulares. Al retirar el dispositivo de perfusión, el sistema puede convertirse de nuevo de un cultivo de perfusión a un cultivo estático convencional. El dispositivo de perfusión según la invención es muy fácil de manejar y no existe ninguna desventaja de tiempo para un procedimiento de cultivo de perfusión operado con el mismo en comparación con el proceso por lotes.

35 Otras formas de realización ventajosas de la invención se definen en las reivindicaciones dependientes.

40 En una forma de realización ventajoso, el dispositivo de perfusión está configurado como una tapa para el recipiente de cultivo celular. En este caso la tapa normal, por ejemplo la tapa normal de la placa de Petri o la cubierta normal de la placa multiondulada, puede extraerse y reemplazarse por el dispositivo de perfusión según la invención. Todo el dispositivo de perfusión puede ser integrado a este respecto en la tapa fácilmente reemplazable. La conversión de un cultivo celular estático en un cultivo de perfusión es posible, por lo tanto, simplemente sustituyendo la tapa del recipiente de cultivo celular. De forma preferida, está previsto además que el dispositivo de perfusión posea un elemento de

sujeción, con el que se pueda extraer el dispositivo de perfusión del recipiente de cultivo celular. De esta manera, la tapa del recipiente de cultivo celular puede ser intercambiada con una sola maniobra.

5 De forma preferida está previsto que el canal y/o la estructura geométrica de la zona de perfusión estén dispuestos esencialmente paralelos al fondo del recipiente de cultivo celular, en el estado de inserción. De este modo se consigue que el medio alimenticio que fluye a través del canal presente una distancia esencialmente constante a los cultivos celulares y, por lo tanto, se disponga de unas condiciones ambientales homogéneas para los cultivos celulares. En una forma de realización se prevé a este respecto que la estructura geométrica, en el estado de inserción, presente una distancia de menos de 250 μm al fondo del recipiente de cultivo celular, en donde se prevé preferiblemente una distancia entre 20 μm y 100 μm .

15 En otra forma de realización, la zona de perfusión tiene una junta para obturar herméticamente el recipiente de cultivo celular. Por ejemplo, la junta está situada en el borde de la zona de perfusión y obtura el recipiente de cultivo celular en el estado de inserción, por ejemplo en la superficie de envuelta de una placa de Petri. De este modo pueden conseguirse con unos medios sencillos las condiciones de estanqueidad frente a la sobrepresión como en una cámara de perfusión complicada convencional.

20 En una forma de realización, el dispositivo de perfusión tiene una placa de cubierta, en la que se puede disponer un elemento de sujeción para su extracción. La zona de perfusión puede ser dispuesta a distancia de la placa de cubierta. Si la zona de perfusión en sí tiene forma de placa, puede preverse que la zona de perfusión y la placa de cubierta estén dispuestas en paralelo. Mediante un distanciamiento, la zona de perfusión también puede utilizarse en recipientes de cultivo celular, en los que la superficie de crecimiento para los cultivos celulares está a una distancia mayor del borde superior del recipiente. Además de esto, en las zonas de perfusión de este tipo puede materializarse fácilmente una obturación estanca con el recipiente de cultivo celular.

25 La zona de perfusión en sí puede estar configurada, al menos parcial o también completamente, de forma circular o cilíndrica. Las zonas de perfusión de este tipo utilizan en placas de Petri circulares con superficies de envuelta cilíndricas o, por ejemplo, en placas de pozos multionduladas con cámaras cilíndricas para los cultivos celulares. Sin embargo, en los recipientes de cultivos celulares con otras formas, por ejemplo, recipientes paralelepípedicos, también es posible que la zona de perfusión tenga una forma adaptada al recipiente de cultivo celular y que sea rectangular, por ejemplo.

30 De forma preferida está previsto que el canal formado por la estructura geométrica esté configurado continuo y, por ejemplo, como una ranura continua, conecte el conducto de suministro al conducto de descarga. A este respecto puede estar previsto que el extremo del conducto de suministro dispuesto en la zona de perfusión y/o el extremo del conducto de descarga dispuesto en la zona de perfusión desemboquen directamente en el canal. Con un canal continuo se puede ejecutar una recirculación completa del medio alimenticio de una manera más sencilla.

35 El canal es al menos parcialmente helicoidal, en donde en una forma de realización el canal está configurado completamente de forma helicoidal. Esto permite cubrir grandes zonas del dispositivo de perfusión, en donde se consigue un suministro de nutrientes uniforme y, por tanto, unas condiciones de cultivo homogéneas. El conducto de suministro puede desembocar en un extremo de la parte helicoidal, mientras que el conducto de descarga desemboca en el otro extremo de la parte helicoidal. Especialmente en las zonas de perfusión circulares, una gran parte de la superficie de la zona de perfusión puede ser cubierta por un canal helicoidal. Si la superficie de crecimiento de los cultivos celulares en el recipiente de cultivo celular se corresponde esencialmente con la superficie del área de perfusión, una gran zona de la superficie de crecimiento está cubierta por el medio alimenticio que fluye a través del canal. Se puede prever que el canal esté configurado por entero de forma helicoidal. Sin embargo, también es posible que sólo una cierta parte del canal esté configurada de forma helicoidal.

40 En una forma de realización preferida, la estructura geométrica está configurada como una nervadura, que está dispuesta sobre la zona de perfusión. En este caso, el canal puede discurrir entre la nervadura o como una zona espacial, que se crea entre la nervadura. La distancia desde la zona más exterior de la nervadura al fondo del recipiente de cultivo celular, en el estado de inserción de la zona de perfusión, corresponde a este respecto a la distancia al fondo del recipiente de cultivo celular.

45 En una forma de realización preferida, la nervadura presenta unos flancos laterales curvados. Los flancos laterales de la nervadura pueden estar conectados a este respecto a través de una zona plana de conexión o pueden converger en una arista más o menos afilada. También es posible una transición curvada sin aristas afiladas. Los flancos laterales curvados pueden evitar los gradientes de oxígeno, que son un problema especialmente en los procedimientos de cultivo celular estáticos.

50 El canal puede estar configurado como una ranura entre la estructura geométrica conformada como una nervadura. La nervadura forma la pared del canal. Si los flancos laterales son curvos, esto puede resultar en un canal con una sección transversal curva, por ejemplo un canal semicircular. Pero otras geometrías, como por ejemplo los canales parcialmente elípticos u ovalados, también son posibles. En particular, puede estar prevista una curvatura cambiante. En su zona más exterior se puede prever que la nervadura esté configurada también curvada, por ejemplo, curvada hacia el exterior, de

modo que la transición entre dos ranuras no presente ninguna arista afilada, para evitar los gradientes.

5 En una forma de realización preferida, el canal está configurado abierto hacia abajo. Esto permite que el medio alimenticio llegue a los cultivos celulares directamente y sin obstáculos, lo que a su vez puede impedir una formación de gradientes.

10 En una forma de realización de la invención, el área de la sección transversal del canal es de entre 2,5 mm² y 20 mm², preferiblemente de entre 8 mm² y 16 mm². La altura de la estructura geométrica o la altura de la nervadura es de entre 0,5 mm y 5 mm, preferiblemente de entre 2 mm y 2,5 mm. Por la altura de la estructura geométrica o la altura de la nervadura debe entenderse a este respecto la profundidad del canal. Esta es la dimensión que, en el estado de inserción del dispositivo de perfusión, está dispuesta perpendicularmente al fondo del recipiente de cultivo celular y se mide desde el punto más exterior de la nervadura hasta el punto más profundo de la ranura.

15 El canal formado por la estructura geométrica hace posible una velocidad de flujo para el medio alimenticio. El canal puede estar configurado a este respecto para permitir flujos del medio de hasta 10 ml/min, en donde son preferibles flujos del medio de entre 0,2 ml/h y 1 ml/h, para evitar las fuerzas de cizallamiento que perturban las células. El canal hace posible una perfusión homogénea en toda la superficie de crecimiento, sin zonificación de gradientes. Esto se obtiene particularmente con una forma de canal curvada.

20 La estructura geométrica puede estar configurada de tal manera, que el medio alimenticio se difunda entre las ranuras. Por medio de esto puede evitarse una acumulación de presión en el sistema, y al mismo tiempo promoverse la microcirculación y la circulación del medio alimenticio.

25 Con el mismo propósito, la nervadura y/o el canal pueden tener unos dispositivos, que se usan para desviar el flujo para el medio alimenticio que fluye a través de ellos. A este respecto puede tratarse de pequeñas barreras o deflectores. Los dispositivos para desviar el flujo también mejoran la microcirculación y la circulación del medio alimenticio en el canal. Además de esto, se optimiza el desbordamiento del medio alimenticio no utilizado, lo que resulta en una mejor disponibilidad de gas y nutrientes para las células cultivadas.

30 **0037]** La abertura de entrada y/o la abertura de salida pueden ser conectadas a una bomba, con la cual se obtiene el flujo del medio alimenticio y se suministra medio alimenticio fresco o se evacua medio alimenticio usado. Aquí pueden ser posibles, por ejemplo, bombas de perfusión, bombas peristálticas, bombas de jeringa y similares.

35 En otra forma de realización está previsto que el dispositivo de perfusión presente una primera y una segunda abertura de entrada para el suministro de medio alimenticio, así como una primera y una segunda abertura de salida para la evacuación del medio alimenticio no utilizado todavía. A este respecto, por ejemplo, el medio alimenticio puede suministrarse a la primera abertura de entrada, mientras que los medicamentos u otras sustancias de ensayo se suministran a la segunda abertura de entrada. Sin embargo, también es posible que tanto la primera como la segunda abertura de entrada se utilicen para suministrar únicamente medio alimenticio o medio alimenticio ya mezclado con medicamentos o sustancias de ensayo. En este caso, la zona de perfusión está conectada a la primera abertura de entrada a través de un primer conducto de suministro y a la segunda abertura de entrada a través de un segundo conducto de suministro. Sin embargo, también es concebible que la primera y la segunda abertura de entrada desemboquen en el mismo conducto de suministro. La zona de perfusión está conectada a la primera abertura de salida a través de un primer conducto de descarga y a la segunda abertura de salida a través de un segundo conducto de descarga. Sin embargo, también es concebible que tanto la primera como la segunda abertura de salida desemboquen en un conducto de descarga. Además de esto, también es posible básicamente prever más de dos aberturas de entrada y más de dos aberturas de salida. Además, el número de aberturas de entrada no tiene por qué coincidir con el número de aberturas de salida.

50 Por medio de que está prevista una pluralidad de aberturas de entrada, es posible homogeneizar aún más el suministro del medio alimenticio, por ejemplo distribuyendo de forma correspondiente los conductos de suministro entre las zonas de perfusión. Además de esto, pueden llevarse a cabo exámenes zonales mediante una pluralidad de aberturas de entrada, suministrando diferentes nutrientes o diferentes medicamentos, u otras sustancias de ensayo, a través de las aberturas de entrada individuales, que luego se conducen hasta la zona de perfusión a través de los conductos de suministro correspondientes y allí se ponen a disposición de los cultivos celulares. Entonces se producen diferentes reacciones del cultivo celular en las zonas correspondientes.

60 En el caso de al menos dos aberturas de entrada y dos de salida, está previsto de forma preferida que la estructura geométrica conecte el primer conducto de suministro al primer conducto de descarga, en forma de un primer canal, y el segundo conducto de suministro al segundo conducto de descarga, en forma de un segundo canal. A este respecto está previsto de forma preferida que a través del primer canal y del segundo canal pueda fluir en sentidos opuestos el medio alimenticio. Mediante el flujo en sentidos contrapuestos se mejoran aún más la circulación del medio alimenticio y la microcirculación.

65 Para poder cubrir grandes áreas de la zona de perfusión, puede estar previsto configurar el primer y segundo canal, que están configurados al menos parcialmente de forma helicoidal, al menos completamente de forma helicoidal, en donde

se prefieren espirales en contrasentido.

La invención se refiere además a un conjunto que comprende un dispositivo de perfusión como el descrito anteriormente, así como un recipiente de cultivo celular, en particular una placa de Petri.

- 5 En el caso de un recipiente de cultivo celular con varias cámaras para el cultivo de células, en particular en forma de placa multiondulada, puede estar previsto que el dispositivo de perfusión presente varias zonas de perfusión, en donde puede insertarse respectivamente una zona de perfusión en una cámara.
- 10 A continuación se explican con más precisión detalles y ventajas adicionales de la presente invención, en base a la descripción de las figuras y haciendo referencia a los dibujos. Aquí muestran:
- la Fig. 1 un diagrama esquemático de un dispositivo para el cultivo celular estático, según el estado de la técnica,
- 15 las Figs. 2a – 2c una vista en perspectiva, una vista lateral y una vista en planta desde abajo de un dispositivo de perfusión conforme a la invención,
- las Figs. 3a y 3b dos representaciones en sección transversal del dispositivo de perfusión según la invención,
- 20 las Figs. 4a – 4g una vista en perspectiva, dos vistas laterales, una vista en planta desde abajo, una vista en planta desde arriba y dos representaciones en sección transversal de otra forma de realización un dispositivo de perfusión según la invención
- 25 las Fig. 5a – 5g una vista en perspectiva, dos vistas laterales, una vista en planta desde abajo, una vista en planta desde arriba y dos representaciones en sección transversal de otra forma de realización de un dispositivo de perfusión según la invención
- 30 las Fig. 6a – 6h una vista en perspectiva, dos vistas laterales, una vista en planta desde abajo, una vista en planta desde arriba y tres vistas representaciones en sección transversal de otra forma de realización de un dispositivo de perfusión según la invención,
- las Fig. 7a – 7c unas representaciones esquemáticas de dispositivos para desviar el flujo para el medio alimenticio, y
- 35 las Fig. 8a y 8b unas representaciones esquemáticas de dos conjuntos según la invención.
- La figura 1 muestra un dispositivo para un cultivo celular estático, en donde las células 11 están dispuestas en el fondo de un recipiente de cultivo celular 3 ejecutado como una placa de Petri y recubierto con un medio alimenticio 4. El recipiente de cultivo celular 3 está obturado con una tapa 13.
- 40 La tapa 13 puede ser reemplazada por un dispositivo de perfusión 1 de acuerdo con la invención, en donde el recipiente de cultivo celular 3 existente, incluyendo las células 11 ya cultivadas en él, puede ser utilizado para el procedimiento de cultivo por perfusión.
- 45 En una vista en perspectiva de la figura 2a se ha representado un dispositivo de perfusión 1 según la invención, que tiene una placa de cubierta 9 y una zona de perfusión 2 a una distancia de ella. La zona de perfusión 2, como la placa de cubierta 9, está configurada de forma circular y puede, por ejemplo, ser insertada en un recipiente de cultivo celular 3 en forma de una placa de Petri circular. Además, se muestra la abertura de entrada 15, a través de la cual se puede suministrar el medio alimenticio 4 y la abertura de salida 16, a través de la cual se puede evacuar el medio alimenticio no utilizado o las sustancias precipitadas de las células 11.
- 50 La figura 2b muestra una vista en planta desde abajo sobre el dispositivo de perfusión 1. En el centro de la zona de perfusión circular 2 se ha representado el conducto de suministro 5, a través del cual se conecta la zona de perfusión 2 a la abertura de entrada 15. El conducto de suministro 5 desemboca en el canal de forma helicoidal 8, que está formado por la estructura geométrica 7 en forma de una nervadura helicoidal. Debido a la forma helicoidal del canal 8 se cubren grandes áreas de la zona de perfusión 2 y por ellas puede fluir el medio alimenticio 4. La zona de perfusión 2 con la estructura geométrica 7 dispuesta sobre ella representa un tornillo sin fin de perfusión, en donde el canal 8 está formado por las ranuras del tornillo sin fin.
- 55 En esta forma de realización, el conducto de suministro 5 y el conducto de descarga 6 están configurados al menos parcialmente como conexiones tubulares, en donde los tubos hacen posible el distanciamiento entre la zona de perfusión 2 y la placa de cubierta 9.
- 60 La figura 2c muestra una vista lateral del dispositivo de perfusión 1 de acuerdo con la invención, en la cual la distancia entre la placa de cubierta 9 y la zona de perfusión 2 también en forma de placa, así como la estructura geométrica 7 dispuesta en la zona de perfusión 2 es claramente visible. También se ha representado la abertura de entrada 15.
- 65

El dispositivo de perfusión 1 según la invención puede estar concebido como un sistema estéril desechable y puede ser fabricado mediante moldeo por inyección, por ejemplo. Como materiales se plantean de forma preferida plásticos como p.ej. el poliestireno, plásticos PE, plásticos PP, plásticos PET, plásticos PTFE y similares.

5 Después de que la zona de perfusión 2 ha sido insertada en el recipiente de cultivo celular 3, se puede conectar un equipo conocido en sí mismo para los procedimientos de perfusión en el estado de la técnica, para llevar a cabo un procedimiento de cultivo de perfusión. La abertura de entrada 15 o la abertura de salida 16 puede conectarse a una bomba, preferiblemente una bomba de perfusión multicanal, para lo que pueden utilizarse tubos flexibles, preferiblemente tubos flexibles impermeables al gas, como p.ej. el neopreno, y adaptadores de conexión, preferiblemente conectores Luer desechables atornillables. Un depósito de medio alimenticio, por ejemplo un baño de agua o una incubadora, se utiliza para suministrar al cultivo celular el medio alimenticio 4 que, dado el caso, también puede ser gasificado.

15 La figura 3a muestra una representación en sección transversal del dispositivo de perfusión 1 a lo largo de la línea de corte EE según la figura 2b. Se puede ver que la estructura geométrica 7, configurada como nervadura, tiene unos flancos laterales curvados 10, de modo que el canal 8 tiene una sección transversal semicircular. Además, es posible reconocer el conducto de suministro 5, que conecta la abertura de entrada 15 a la zona de perfusión 2 y, a este respecto, desemboca en el canal 8 helicoidal, y el conducto de descarga 6, que está dispuesto en el borde exterior del canal 8 helicoidal y que conecta la abertura de salida 16 a la zona de perfusión 2.

20 La figura 3b muestra una representación en sección transversal a lo largo de la línea de corte CC según la figura 2c. De nuevo, se puede ver la sección transversal semicircular del canal 8, que está formado por los flancos laterales curvados 10 de la estructura geométrica 7, que está configurada como una nervadura. También puede verse el conducto de suministro 5, configurada como una conexión tubular, que conecta la abertura de entrada 15 a la zona de perfusión 2.

25 Alternativamente, la abertura de entrada 15 y la abertura de salida 16 también pueden ser intercambiadas, de tal manera que el medio alimenticio fresco 4 sea alimentado al borde exterior del canal 8 helicoidal.

30 En las figuras 4a a 4f se ha representado otra forma de realización del dispositivo de perfusión según la invención, que difiere esencialmente del dispositivo de perfusión 1 según las figuras 2a a 2d y 3a y 3b en que la placa de cubierta 9 tiene un elemento de sujeción 12, con el cual el dispositivo de perfusión 1 junto con la zona de perfusión 2 puede ser insertado en el recipiente de cultivo celular 3 con una sola maniobra.

35 En las vistas laterales según la figura 4c y la figura 4e se ha representado una junta 14, que está dispuesta alrededor del borde de la zona de perfusión 2 y se usa para obturar herméticamente un recipiente circular de cultivo celular 3, por ejemplo una placa de Petri. La figura 4b muestra una vista en planta de esta forma de realización del dispositivo de perfusión 1 desde abajo, que se corresponde esencialmente con la representación conforme a la figura 2b. La figura 4d muestra una vista en planta desde arriba, en la que el elemento de sujeción 12 es visible.

40 La figura 4f muestra una representación en sección transversal a lo largo de la línea de corte CC según la figura 4b. Puede verse el conducto de suministro configurado en forma de canal 5 y el conducto de descarga en forma de canal 6, con el que se conectan la abertura de entrada 15 y la abertura de salida 16 a la zona de perfusión 2.

45 La figura 4g muestra una representación en sección transversal a lo largo de la línea de corte AA según la figura 4c, en la que a su vez se pueden ver el conducto de suministro 5 y la sección transversal semicircular del canal 8, que está formado por los flancos laterales curvados 10 de la estructura geométrica 7, que está configurada como una nervadura.

50 La forma de realización del dispositivo de perfusión 1 según la invención representada en las figuras 5a a 5g difiere de la forma de realización representada en las figuras 4a a 4g esencialmente sólo en que, tanto la abertura de entrada 15 como la abertura de salida 16 están dispuestas en el lado superior de la placa de cubierta 9 y no sobre la superficie lateral.

55 Como se ha representado en la representación en sección transversal a lo largo de la línea de corte CC, mostrada en la Figura 5f, de acuerdo con la Figura 5b, esta disposición de la abertura de entrada 15 y la abertura de salida 16 tiene la ventaja de que el conducto de suministro 5 y el conducto de descarga 6 son menos complicados y pueden implementarse con secciones más cortas, que tienen forma de canal en esta forma de realización. Esto también se muestra en la representación en sección transversal de la figura 5g, que muestra una sección transversal a lo largo de la línea de corte AA según la figura 5c. En esta representación puede verse el conducto de suministro 5, que se transforma directamente en la abertura de entrada 15. Tanto la abertura de entrada 15 como la abertura de salida 16 están dispuestas directamente por encima de la desembocadura del conducto de suministro 5 y del conducto de descarga 6 en la zona de perfusión 2.

65 Las figuras 6a a 6h muestran otra forma de realización del dispositivo de perfusión 1 según la invención. Una vez más, el dispositivo de perfusión 1 tiene una placa de cubierta circular 9 con un elemento de sujeción 12 para la fácil inserción de la zona de perfusión 2, igualmente circular, en un recipiente de cultivo celular 3. La zona de perfusión 2 está bordeada por una junta 14, que se usa para obturar herméticamente el recipiente de cultivo celular 3.

En este caso, el dispositivo de perfusión 1 tiene una primera abertura de entrada 15a, que está dispuesta centralmente en la placa de cubierta 9. Una segunda abertura de entrada 15b está dispuesta en el borde de la placa de cubierta 9. La primera abertura de entrada 15a y la segunda abertura de entrada 15b están conectadas a la zona de perfusión 2 a través de un primer conducto de suministro 5a y un segundo conducto de suministro 5b. El primer conducto de suministro 5a y el segundo conducto de suministro 5b se muestran particularmente bien en la representación en sección transversal según la figura 6f, que muestra una sección transversal a lo largo de la línea de corte BB según la figura 6b. Dado que la primera abertura de entrada 15a y la segunda abertura de entrada 15b están dispuestas directamente por encima sobre el lado superior de la placa de cubierta 9, el primer conducto de suministro 5a y el segundo conducto de suministro 5b pueden mantenerse cortos.

Una primera abertura de salida 16a está dispuesta en el borde de la placa de cubierta, mientras que una segunda abertura de salida 16b está dispuesta centralmente cerca de la primera abertura de entrada 15a. La primera abertura de salida 16a y la segunda abertura de salida 16b están conectadas a la zona de perfusión 2 a través de un primer conducto de descarga 6a y un segundo conducto de descarga 6b. Esto puede verse claramente en la representación en sección transversal de la figura 6g, que muestra una sección transversal a lo largo de la línea de cote AA según la figura 6b. Una vez más, el primer conducto de descarga 6a y el segundo conducto de descarga 6b pueden mantenerse cortos, ya que la primera abertura salida 16a y la segunda abertura salida 16b están dispuestas directamente por encima en el lado superior de la placa de cubierta 9.

Como puede verse en la vista en planta desde abajo según la figura 6b, el primer conducto de suministro 5a desemboca en un primer canal 8a, en el que también desemboca el primer conducto de descarga 6a. El segundo conducto de suministro 5b, al igual que el segundo conducto de descarga 6b, desemboca en un segundo canal 8b. Tanto el primer canal 8a como el segundo canal 8b están configurados de forma helicoidal. El primer canal 8a y el segundo canal 8b están formados por los espacios intermedios de una nervadura helicoidal, que representa la estructura geométrica 7 de la zona de perfusión 2.

En general, el medio alimenticio 4 y/o una sustancia de ensayo o un medicamento entran en el canal 8, en el caso del conducto de suministro 5, y fluyen a través del mismo en dirección al conducto de descarga 6, donde el medio alimenticio no utilizado 4 sale, dado el caso, junto con los productos de precipitación de las células 11.

En el presente caso, el medio alimenticio 4 entra en el primer canal 8a, en el caso del primer conducto de suministro 5a, y fluye a través del mismo en la dirección del primer conducto de descarga 6a, donde sale del primer canal 8a. El medio alimenticio 4 y/o una sustancia de ensayo o un medicamento entran en el segundo canal 8b, en el caso del segundo conducto de suministro 5b, y fluyen a través del mismo en dirección al segundo conducto de descarga 6b, donde el medio alimenticio no utilizado, dado el caso con los productos de precipitación de las células 11, sale de la zona de perfusión 2. Debido a que en esta forma de realización, el primer conducto de suministro 5a está dispuesto centralmente, mientras que el segundo conducto de suministro 5b está dispuesto en el borde exterior, por el primer canal 8a y el segundo canal 8b fluye en sentidos opuestos el medio alimenticio 4.

0068] Si, por ejemplo, en total el 20 % del medio alimenticio suministrado 4 se consume a lo largo de los canales 8a y 8b, es decir, el 80 % del medio alimenticio fresco suministrado 4 sale de nuevo por la abertura de salida, es posible, debido al flujo en sentidos opuestos, que como promedio alrededor del 90 % del medio alimenticio fresco 4 se ponga a disposición de las células 11. Esto da lugar a unas condiciones ambientales extremadamente homogéneas para las células 11, lo que ha demostrado ser muy ventajoso para la investigación del comportamiento de las células 11, por ejemplo cuando se suministran ciertos medicamentos o sustancias de ensayo. Los sentidos contrapuestos entre el primer canal helicoidal 8a y el segundo canal helicoidal 8b se pueden ver particularmente bien en la figura 6b.

La figura 6h muestra una representación en sección transversal a lo largo de la línea de corte CC según la figura 6c.

La figura 7a muestra en una vista en planta otra forma de realización de un dispositivo de perfusión 1 según la invención con una estructura geométrica 7 configurada como una nervadura helicoidal, cuyos espacios intrmedios configuran un canal 8 también helicoidal, a través del cual puede fluir el medio alimenticio 4, en donde el medio alimenticio 4 fluye hacia adentro en el caso de un conducto de suministro 5 que desemboca en el canal 8 y que fluye hacia afuera, en el caso de un conducto de descarga 6 que desemboca igualmente en el canal 8. A ambos lados de la nervadura están dispuestos unos dispositivos 17 para la desviación del flujo en forma de deflectores, que conducen a una microcirculación y a una mejora de la circulación del medio alimenticio 4 que fluye a través de ella.

La figura 7b muestra una representación en sección transversal esquemática, en la que están dispuestos los dispositivos 17 para la desviación del flujo dispuestos en los flancos laterales 10 de la red, con lo que se aumenta la microcirculación del medio alimenticio 4 que fluye a través de ellos.

La figura 7c muestra una representación en sección transversal a lo largo de la línea de corte EE de acuerdo con la figura 7a, en la que también son visibles los dispositivos 17 de desviación de flujo, que están dispuestos como deflectores en los flancos laterales 10 de la estructura geométrica 7, configurada como una nervadura.

- La figura 8a muestra una representación en perspectiva de un conjunto según la invención que comprende un recipiente de cultivo celular 3 configurado como placa multiondulada, que tiene una pluralidad de depresiones 18 en forma de cámara representadas en líneas discontinuas, sobre cuyo fondo se disponen unos cultivos celulares 11. El dispositivo de perfusión 1 puede usarse como tapa para la placa multiondulada. El dispositivo de perfusión 1 tiene una pluralidad de zonas de perfusión 2, en donde cada zona de perfusión 2 se inserta en una de las depresiones en forma de cámara 18. El dispositivo de perfusión 1 también tiene una pluralidad de elementos de sujeción 12, cada uno de los cuales está asignado a una zona de perfusión 2. Además de esto, a cada zona de perfusión 2 se le asigna una abertura de entrada 15 y una abertura de salida 16. la abertura de entrada 15 y la abertura de salida 16 están conectadas a la respectiva zona de perfusión 2 a través de un conducto de suministro 5 y de un conducto de descarga 6, de manera que cada depresión en forma de cámara 18 puede ser abastecida con el medio alimenticio 4. Dado que a cada depresión en forma de cámara 18 se le asigna una abertura de entrada 15 y una abertura de salida 16, las depresiones individuales en forma de cámara 18 pueden ser abastecidas con diferentes medios alimenticios, de manera que se puedan realizar varios experimentos diferentes simultáneamente.
- La figura 8b muestra una representación esquemática de un conjunto según la invención, que consiste en un recipiente de cultivo celular 3 configurado como una placa de Petri y un dispositivo de perfusión 1, cuya zona de perfusión 2 se inserta en la placa de Petri.

REIVINDICACIONES

- 1.- Dispositivo de perfusión (1) para un recipiente de cultivo celular (3), en particular una placa de Petri, con al menos una abertura de entrada (15, 15A, 15B) para el suministro de medio alimenticio y al menos una abertura de salida (16, 16A, 16B) para la evacuación del medio alimenticio no utilizado (4), en donde está prevista al menos una zona de perfusión (2), en particular en forma de placa, para la entrega de medio alimenticio a los cultivos celulares, que está conectada a la abertura de entrada (15, 15A, 15B) a través de un conducto de suministro (5) y a la abertura de salida (16, 16a), (16B) está conectada a través de un conducto de descarga (6), en donde la zona de perfusión (2) puede insertarse en el recipiente de cultivo celular (3), **caracterizado porque** la zona de perfusión (2) tiene una estructura geométrica (7), que conecta el conducto de suministro (5) y el conducto de descarga (6) en forma de un canal (8) configurado de forma helicoidal, al menos parcialmente flexible y preferiblemente por completo, a través del cual puede fluir el medio alimenticio (4), en donde la estructura geométrica (7) está distanciada del fondo del recipiente de cultivo celular (3), en el estado de inserción.
- 2.- Dispositivo de perfusión según la reivindicación 1, en donde el dispositivo de perfusión (1) está configurado como una tapa (13) para el recipiente de cultivo celular (3) y preferiblemente tiene una junta (14) para obturar herméticamente el recipiente de cultivo celular (3) y/o en donde la zona de perfusión (2) está configurada, al menos parcialmente, de forma circular o cilíndrica.
- 3.- Dispositivo de perfusión según la reivindicación 1 ó 2, en donde el canal (8) de la zona de perfusión (2) y/o la estructura geométrica (7) están dispuestos de forma sustancialmente paralela al fondo del recipiente de cultivo celular (3), en el estado de inserción.
- 4.- Dispositivo de perfusión según la reivindicación 3, en donde la estructura geométrica (7), en el estado de inserción, tiene una distancia de menos de 250 μm , preferiblemente de entre 20 μm y 100 μm , hasta el fondo del recipiente de cultivo celular (3).
- 5.- Dispositivo de perfusión según una de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el dispositivo de perfusión (1) tiene una placa de cubierta (9) y la zona de perfusión (2) está dispuesta a distancia de la placa de cubierta (9).
- 6.- Dispositivo de perfusión según una de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el canal (8) está configurado continuo y/o en donde el canal (8) está configurado abierto hacia abajo.
- 7.- Dispositivo de perfusión según una de las reivindicaciones 1 a 6, en donde la estructura geométrica (7) está configurada como una nervadura, que está dispuesta en la zona de perfusión (2), en donde el canal (8) discurre entre la nervadura y tiene preferible unos flancos laterales curvados (10).
- 8.- Dispositivo de perfusión según la reivindicación 7, en donde el canal (8) tiene una superficie de sección transversal de entre 2,5 mm^2 y 20 mm^2 , preferiblemente de entre 8 mm^2 y 16 mm^2 , y/o en donde la nervadura tiene una altura de entre 0,5 mm y 5 mm, preferible de entre 2 mm y 2,5 mm.
- 9.- Dispositivo de perfusión según la reivindicación 7 u 8, en donde la nervadura y/o el canal (8) tienen unos dispositivos (17) para desviar el flujo para el medio alimenticio (4) que fluye a través de los mismos.
- 10.- Dispositivo de perfusión de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 9, en donde están previstas una primera abertura de entrada (15a) y una segunda abertura de entrada (15b) para suministrar el medio alimenticio (4) y una primera abertura de salida (16a) y una segunda abertura de salida (16b) para evacuar el medio alimenticio no utilizado, y en donde la zona de perfusión (2)
- está conectada a la primera abertura de entrada (15a) a través de un primer conducto de suministro (5a),
 - está conectada a la segunda abertura de entrada (15b) a través de un segundo conducto de suministro (5b)
 - está conectada a la primera abertura de salida (16a) a través de un primer conducto de descarga (6a), y
 - está conectada a la segunda abertura de salida (16b) a través de un segundo conducto de descarga (6b)
- 11.- Dispositivo de perfusión según la reivindicación 10, en donde la estructura geométrica (7) conecta el primer conducto de suministro (5a) al primer conducto de descarga (6a) en forma de un primer canal (8a), configurado al menos parcialmente, preferiblemente por completo de forma helicoidal, y el segundo conducto de suministro (5b) al segundo conducto de descarga (6b) en forma de un segundo canal (8b), configurado al menos parcialmente, preferiblemente por completo de forma helicoidal, y en donde a través del primer canal (8a) y del segundo canal (8b) puede fluir el medio alimenticio (4), preferiblemente en sentidos opuestos.
- 12.- Dispositivo de perfusión según la reivindicación 11, en donde el primer canal (8a) y el segundo canal (8b) están configurados como espirales en sentidos contrarios.
- 13.- Dispositivo de perfusión según una de las reivindicaciones 1 a 12, en donde está previsto un elemento de sujeción (12), con el que se puede extraer el dispositivo de perfusión (1) del recipiente de cultivo celular (3).

14.- Conjunto, que comprende un recipiente de cultivo celular, en particular una placa de Petri, y un dispositivo de perfusión (1) según una de las reivindicaciones 1 a 13, en donde se puede insertar la zona de perfusión (2) en el recipiente de cultivo celular (3).

5

15.- Conjunto de acuerdo con la afirmación 14, en donde el recipiente de cultivo celular (3) tiene varias cámaras para el cultivo de células (11), en particular en forma de una placa multiondulada, en donde el dispositivo de perfusión (1) tiene varias zonas de perfusión (2), y en donde se puede insertar respectivamente una zona de perfusión (2) en una cámara.

Fig. 1

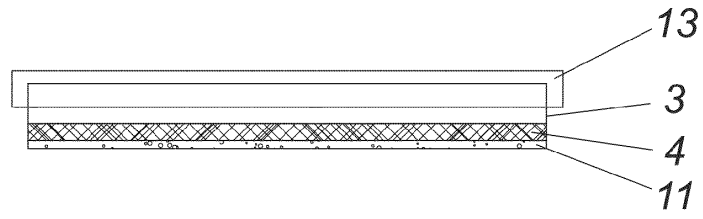


Fig. 2a

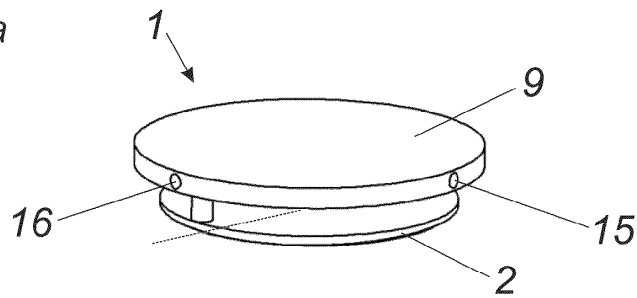


Fig. 2b

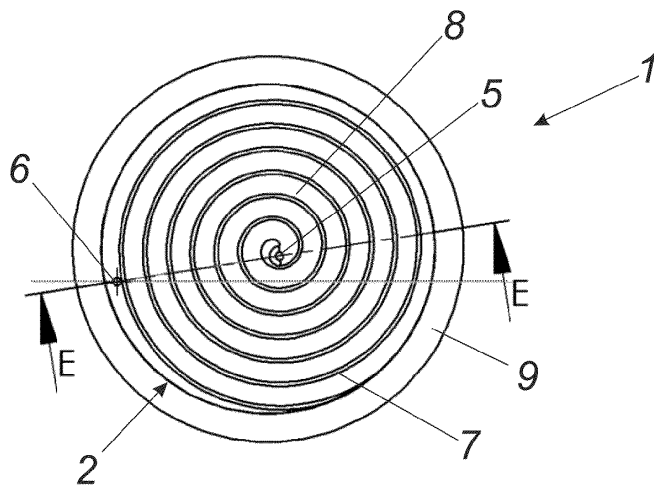
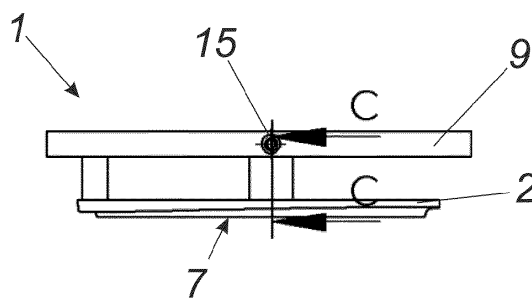


Fig. 2c



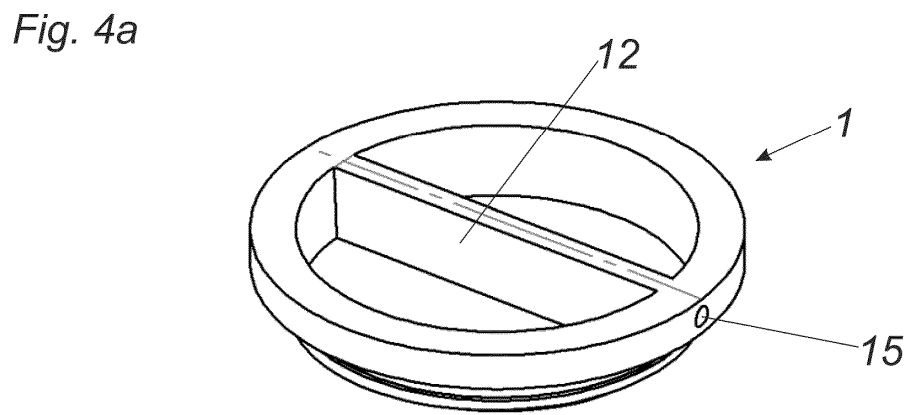
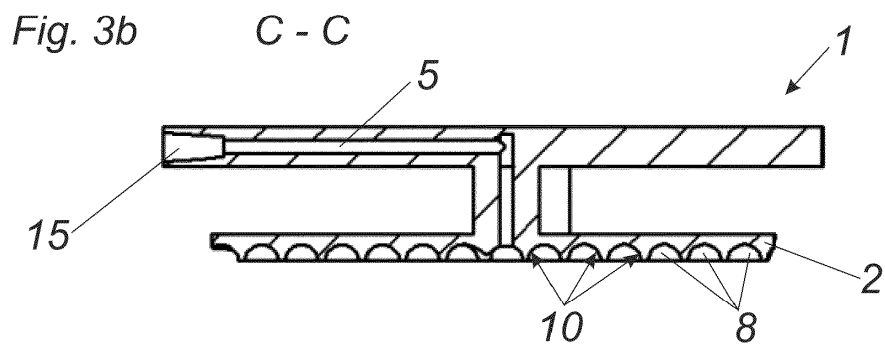
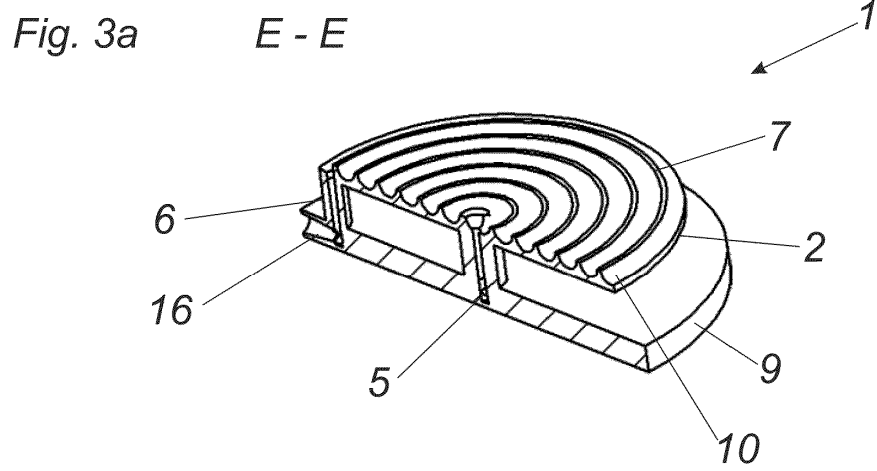


Fig. 4b

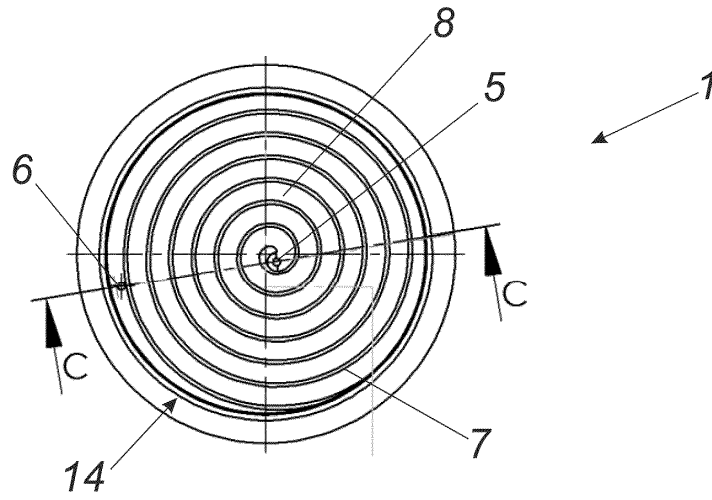


Fig. 4c

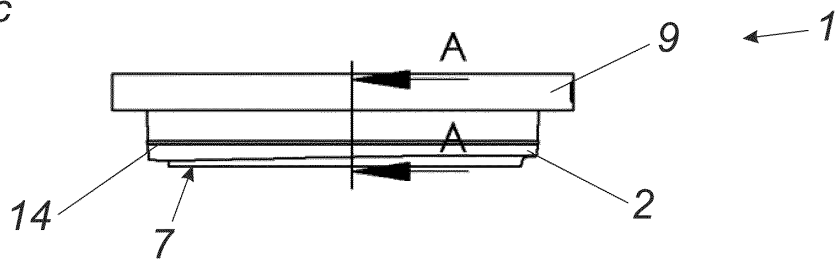


Fig. 4d

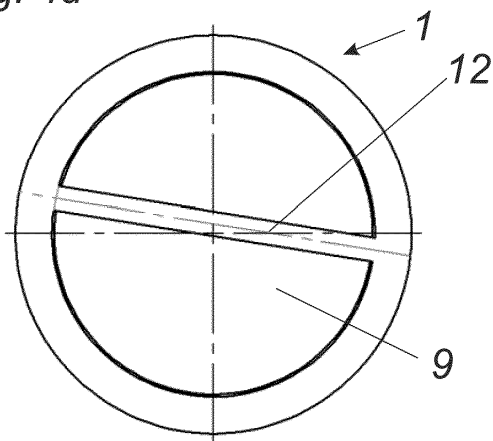


Fig. 4e

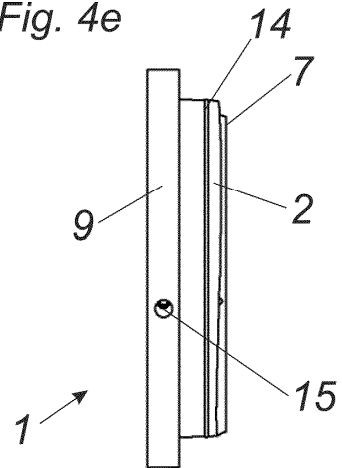


Fig. 4f

C - C

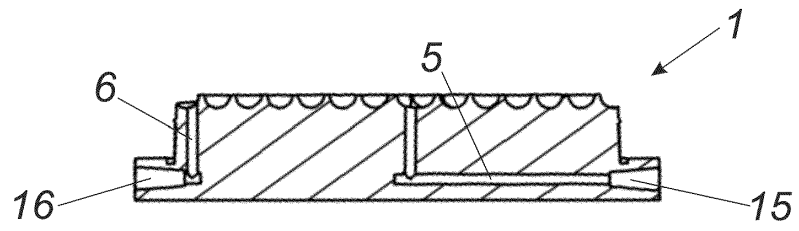


Fig. 4g

A - A

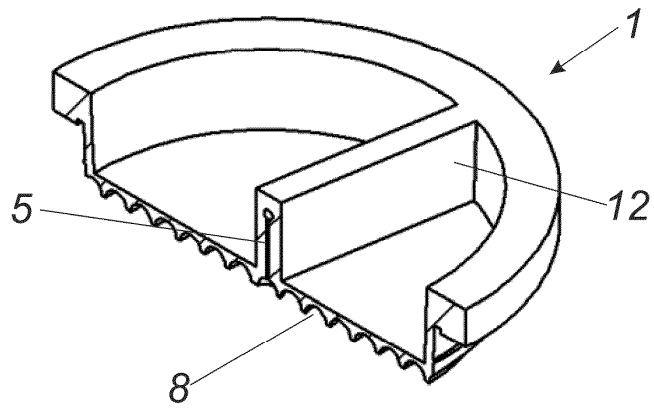


Fig. 5a

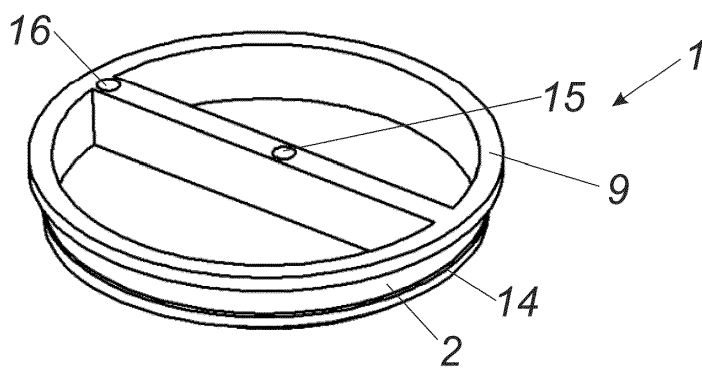


Fig. 5b

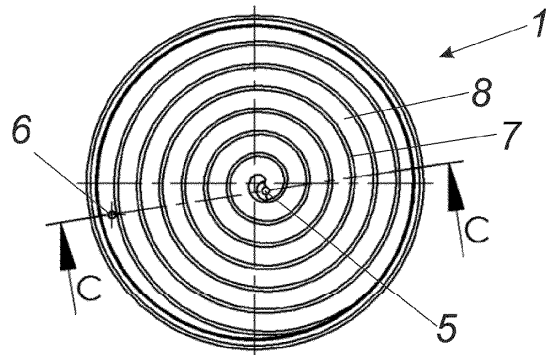


Fig. 5c

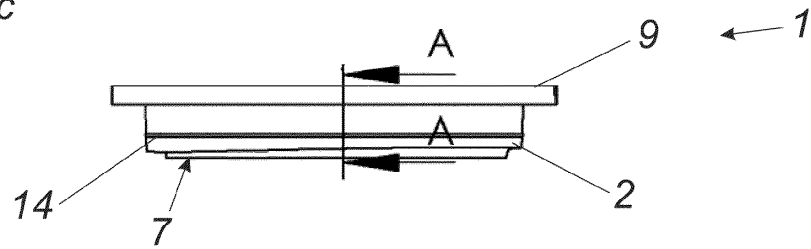


Fig. 5d

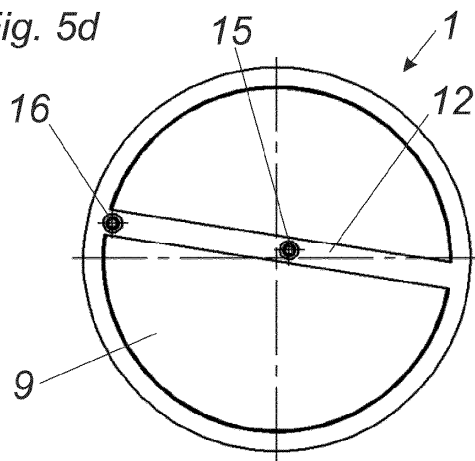


Fig. 5e

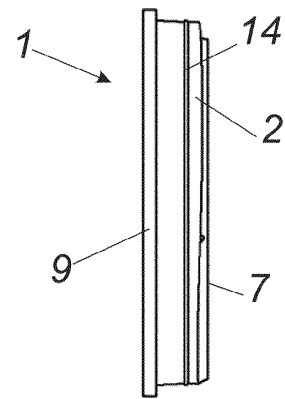


Fig. 5f C - C

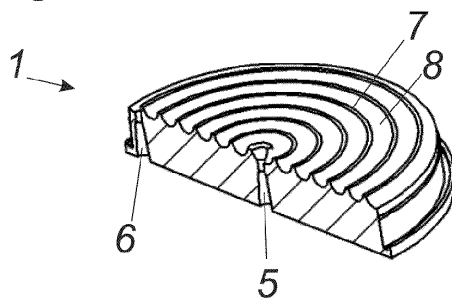


Fig. 5g A - A

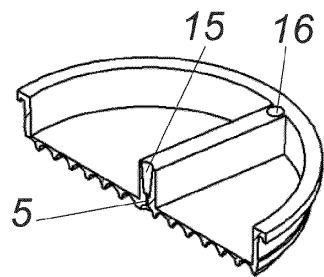


Fig. 6a

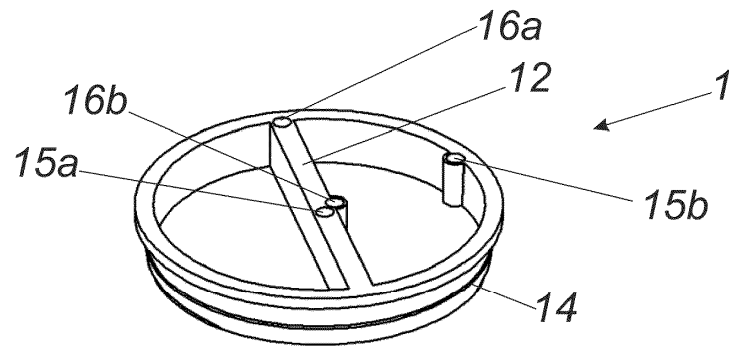


Fig. 6b

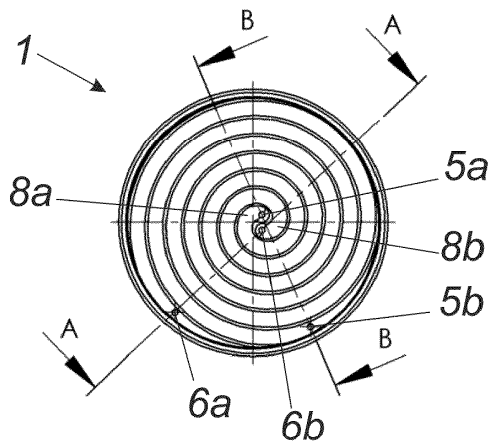


Fig. 6c

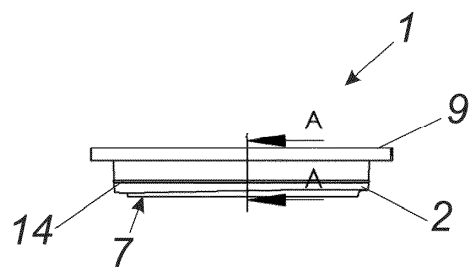


Fig. 6d

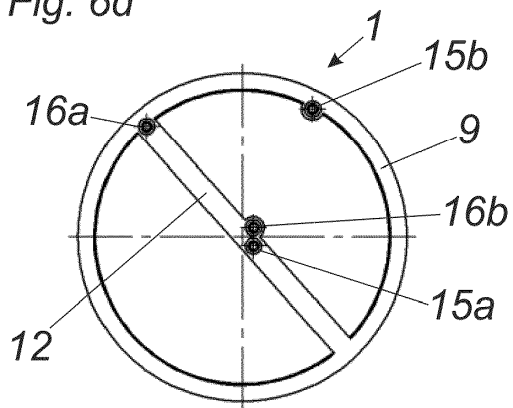


Fig. 6e

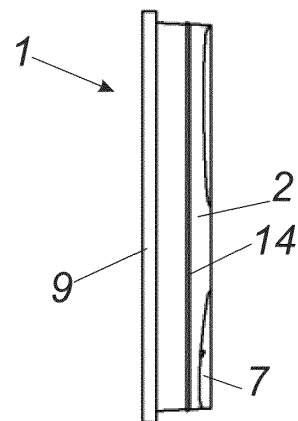


Fig. 6f

B - B

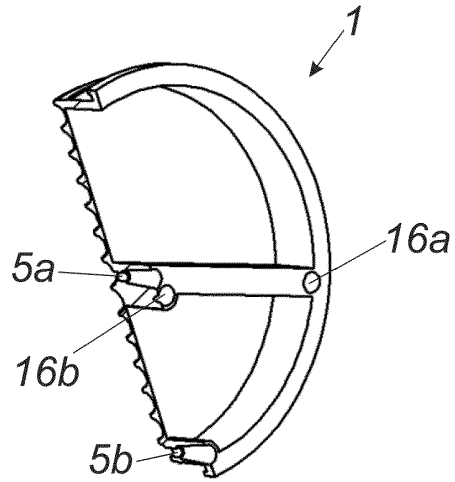


Fig. 6g

A - A

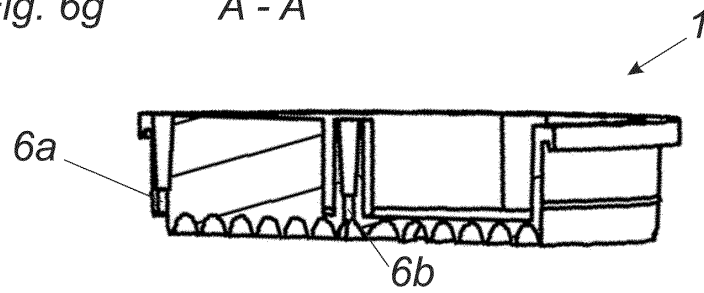


Fig. 6h

C - C

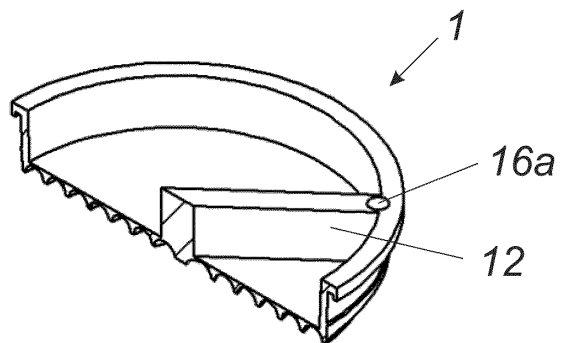


Fig. 7a

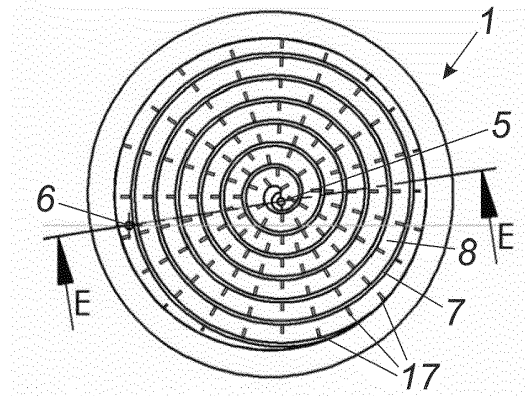


Fig. 7b

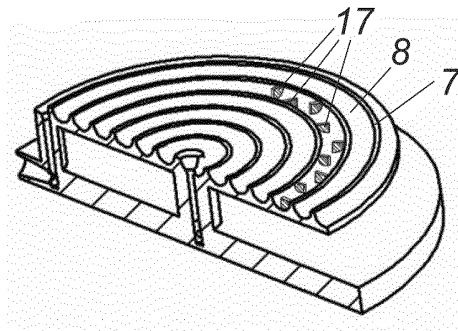


Fig. 7c

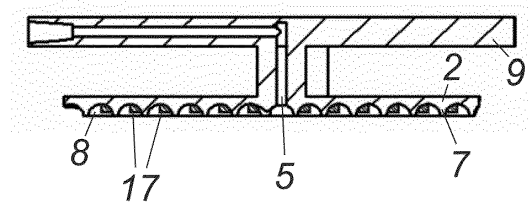


Fig. 8a

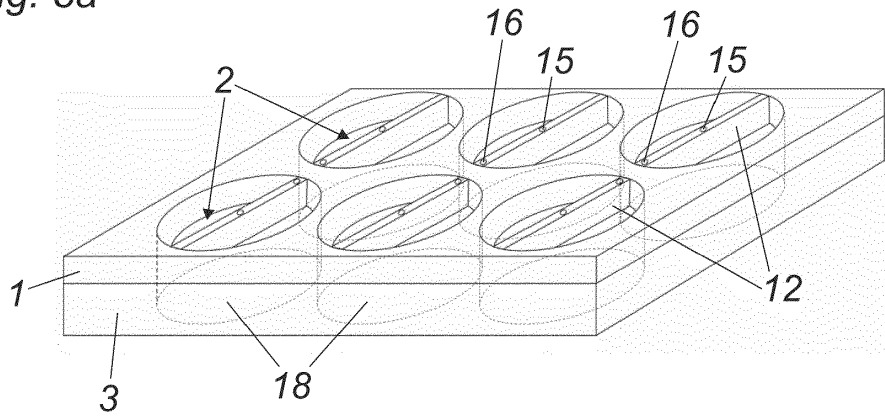


Fig. 8b

