



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① Número de publicación: **2 350 426**

② Número de solicitud: 200901227

⑤ Int. Cl.:

B01L 3/14 (2006.01)

G01N 1/00 (2006.01)

⑫

SOLICITUD DE PATENTE

A1

② Fecha de presentación: **14.05.2009**

④ Fecha de publicación de la solicitud: **24.01.2011**

④ Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
24.01.2011

⑦ Solicitante/s:
BIOTECHNOLOGY INSTITUTE, I+D, S.L.
San Antonio, 15 - 5^º
01005 Vitoria, Álava, ES

⑦ Inventor/es: **Antua Aldeoca, Eduardo**

⑦ Agente: **Trigo Peces, José Ramón**

⑤ Título: **Método para la preparación de al menos un compuesto a partir de la sangre de un paciente.**

⑤ Resumen:

Método para la preparación de al menos un compuesto a partir de la sangre de un paciente.

Método para la preparación de al menos un compuesto de propiedades biológicas a partir de la sangre de un paciente, donde dicho método se ejecuta en tubos cerrados con presión inferior a la presión atmosférica, impidiéndose la contaminación bacteriana del compuesto por manipulación. El método comprende entre otros la repetición el número de veces que se desee de los pasos siguientes: conectar un segundo contenedor al vacío a un sistema de extracción conectado a su vez a un primer contenedor al vacío que contiene sangre separada en fracciones, esperar un tiempo a que se transfiera(n) la(s) fracción(es) deseada(s) y retirar dicho segundo contenedor, pudiendo obtenerse diversos segundos contenedores con diferentes compuestos destinados a diferentes aplicaciones médicas incluyendo terapias biológicas. Todos los pasos son ejecutados en un sistema cerrado, sin destapar los contenedores o realizar cualquier otra acción que ponga en contacto el interior de los contenedores con el aire circundante.

ES 2 350 426 A1

DESCRIPCIÓN

Método para la preparación de al menos un compuesto a partir de la sangre de un paciente.

5 Sector de la técnica

La invención se refiere a un método para la preparación de al menos un compuesto a partir de la sangre extraída a un paciente, por ejemplo un compuesto rico en señales celulares.

10

Estado de la técnica

La patente US6569204 describe un método para preparar una composición rica en factores de crecimiento a partir de la sangre de un paciente, que ha demostrado con el paso del tiempo presentar unas propiedades biológicas muy interesantes y beneficiosas para diversas aplicaciones médicas. Este método, ejecutable en condiciones ambulatorias (sin necesidad de cirugía o complejas instalaciones), básicamente comprende los siguientes pasos: extraer sangre del paciente a un tubo con agente anticoagulante; centrifugar dicho tubo durante un tiempo y a una velocidad y temperatura específicas, obteniéndose la separación de la sangre en diferentes fracciones; extraer la fracción intermedia, localizada encima de los glóbulos rojos (fracción inferior), donde dicha fracción intermedia es un plasma rico en plaquetas; transferir dicho plasma a un segundo tubo al que puede añadirse cloruro de calcio, que ejerce la función de agente coagulante y agente activador del plasma (agente capaz de iniciar el proceso de liberación de factores de crecimiento por parte de las plaquetas); esperar un determinado tiempo para permitir que el plasma se active y coagule hasta conseguir la consistencia determinada en función de la aplicación. Este plasma viene siendo utilizado con resultados muy favorables en diversos campos médicos como son la regeneración ósea (generalmente en implantología y en traumatología), el tratamiento de dolencias articulares, tratamientos de la piel, etc. Algunos de ellos pueden verse descritos en la propia US6569204 o en la solicitud de patente US2009035382.

El método de la patente US6569204 y muchos otros métodos conocidos para la preparación compuestos sanguíneos con propiedades biológicas deseables son métodos que conllevan un cierto riesgo de infección para el paciente receptor del compuesto final, ya que no están libres de sufrir una contaminación bacteriana en alguna de sus fases. Dicha contaminación bacteriana puede producirse por diversos motivos: por una septicemia que arroje gérmenes al torrente vascular, por una desinfección insuficiente de la piel en el momento de la punción venosa o por la manipulación de la sangre y posteriores compuestos durante la ejecución del método. En lo que se refiere a la manipulación, un factor de riesgo de contaminación bacteriana es el hecho de que el método de US6569204 y otros métodos se ejecutan en tubos abiertos, sin estanqueidad o vacío, de manera que el plasma centrifugado y los compuestos que se van obteniendo entran en contacto con el aire circundante (esto es lo que se conoce como circuito abierto).

La presente invención tiene como objetivo presentar un procedimiento mejorado de preparación de un compuesto de propiedades biológicas interesantes obtenido a partir de la sangre de un paciente, donde entre otros avances con respecto a los procedimientos conocidos se consiga reducir el riesgo de contaminación bacteriana del compuesto final asociado a la manipulación de la sangre y demás sustancias sucesivas durante la ejecución del procedimiento, y se consiga que el producto final quede almacenado en un contenedor cerrado y estéril.

45 Descripción breve de la invención

Es objeto de la invención un método para la preparación de al menos un compuesto de propiedades biológicas deseables a partir de la sangre de un paciente, donde dicho método se ejecuta en circuito cerrado, concretamente en tubos cerrados al vacío (con presión inferior a la presión atmosférica), impidiéndose en todo momento el contacto del plasma o de cualquier otro compuesto involucrado en el método con el aire circundante. El método de acuerdo con la invención permite garantizar la no contaminación del compuesto o los compuestos finales y sus óptimas condiciones médicas y biológicas.

El método de acuerdo con la invención comprende los pasos de: extraer una determinada cantidad de sangre del paciente y transferirla a un primer contenedor cerrado al vacío (con presión menor que la presión atmosférica), con o sin anticoagulante; separar la sangre en una serie de fracciones, una de ellas una fracción de plasma con un gradiente de concentración de plaquetas; introducir un sistema de extracción hasta sustancialmente el nivel superior de la fracción más superior contenida en el primer contenedor; introducir opcionalmente un sistema de venteo (sistema que permite la entrada de pequeñas cantidades de aire filtrado) en el primer contenedor; conectar un segundo contenedor cerrado al vacío (con presión menor que la presión atmosférica y menor que la del primer contenedor) al primer contenedor y esperar un determinado tiempo hasta que se haya transferido por diferencia de presiones una cantidad deseada de plasma y/o otras fracciones del primer contenedor al segundo contenedor; retirar el segundo contenedor. Los pasos de conectar el segundo contenedor, esperar un tiempo y retirar el segundo contenedor pueden ser repetidos, es decir, realizados más de una vez con el fin de obtener más de un segundo contenedor (siempre ajustando adecuadamente la profundidad de introducción del sistema de extracción), cada uno albergando una composición con una concentración plaquetaria u otras características biológicas específicas para la determinada aplicación médica para la que vaya a ser utilizado. Todos los pasos son ejecutados en un sistema cerrado, sin destapar los contenedores o realizar cualquier otra acción que ponga en contacto el interior de los contenedores con el aire circundante.

El procedimiento según la invención presenta numerosos aspectos interesantes o ventajosos frente a los procedimientos convencionales.

5 Por una parte, con el método de la invención no se produce la extracción automática y obligatoria de la fracción de plasma completa o de varias fracciones completas, sino que el método de la invención permite extraer, en condiciones estériles, la cantidad de plasma y/o otra fracción que se desee del primer contenedor, en función de la aplicación. En otras palabras, es posible extraer plasma a medida en función de las características del producto final que se pretenda obtener; incluso, como se ha mencionado, a partir de una única muestra de sangre (un único primer contenedor) es posible obtener varios segundos contenedores con diferentes compuestos para diferentes aplicaciones médicas. Es
10 decir, el método permite la personalización de la dosis de plaquetas u otras características biológicas de la fracción o las fracciones extraídas que interesen, de forma que es posible adecuar el o los compuestos finales a las aplicaciones médicas para las cuales está o están destinados.

15 Por otra parte, el producto que queda en el segundo contenedor queda almacenado en un contenedor cerrado y estéril de manera que está preparado para recibir tratamientos posteriores: sucesivas manipulaciones (por ejemplo añadiendo un agente activador, esperando un tiempo, sometiéndolo a una determinada temperatura, otras centrifugaciones, etc.), infiltraciones de otras sustancias o productos, almacenaje, congelación, etc.

20 Descripción detallada de la invención

De acuerdo con la invención, se define un método para la preparación de al menos un compuesto a partir de la sangre de un paciente, que se caracteriza por que comprende los pasos de:

- 25 i) extraer una determinada cantidad de sangre del paciente y transferirla a un primer contenedor cerrado al vacío, es decir, con una presión menor que la presión atmosférica;
- ii) separar la sangre en al menos las fracciones siguientes: una fracción de glóbulos rojos en la parte inferior del primer contenedor, una pequeña fracción que contiene glóbulos blancos y plaquetas por encima de la
30 anterior y una fracción de plasma con un gradiente de concentración de plaquetas por encima de la anterior, siendo dicho gradiente decreciente hacia la parte superior del primer contenedor (e incluso pudiendo comprender el plasma, dependiendo de las condiciones de centrifugado, una parte superior sin plaquetas);
- iii) introducir opcionalmente un sistema de venteo en el primer contenedor, que permitirá la entrada de aire filtrado en el mismo;
35
- iv) introducir un sistema de extracción (catéter, aguja o similar) hasta sustancialmente el nivel superior de la fracción más superior contenida en el primer contenedor, estando dicho sistema de extracción preferentemente provisto de un Septum para mantener el circuito cerrado;
40
- v) realizar al menos una vez los pasos de conectar al sistema de extracción un segundo contenedor cerrado al vacío con una presión menor que la del primer contenedor, esperar un determinado tiempo hasta que se transfiera, por diferencia de presiones, una cantidad deseada de la fracción de plasma, la fracción de glóbulos blancos y plaquetas y/o la fracción de glóbulos rojos al segundo contenedor, retirar el segundo
45 contenedor y, en caso de que vayan a realizarse más extracciones, ajustar el grado de introducción del sistema de extracción para que nuevamente alcance el nivel superior de las fracciones remanentes, donde
- vi) todos los pasos se ejecutan de acuerdo con un sistema cerrado.

50 De esta manera, mediante el método de la invención se puede obtener un fraccionamiento selectivo de las diferentes fracciones del plasma obtenidas con el gradiente de concentración ya mencionado anteriormente, o de otras fracciones del primer contenedor.

55 En lo que se refiere al primer paso del método, y en particular al primer contenedor en el cual se extrae la sangre del paciente, dicho primer contenedor puede presentar una serie de particularidades.

60 Como se ha mencionado, el primer contenedor está cerrado y no se abre en ningún momento, para conseguir un sistema o circuito cerrado en el cual la sangre del paciente y demás compuestos obtenidos posteriormente no entren en contacto con el aire ambiental o circundante sin filtrar, reduciéndose el riesgo de contaminación bacteriana por manipulación, asegurándose la esterilidad y no alterándose la bioestabilidad y la bioseguridad del producto final resultante. El primer contenedor está generalmente fabricado en plástico o vidrio, cerrado o taponado con un tapón roscado o a presión. Este tapón es perforable para permitir la conexión en cerrado del sistema de extracción. Además, el primer contenedor es preferentemente un tubo cilíndrico de entre 4 y 50 ml de capacidad.

65 Dicho primer contenedor puede contener o no al menos un agente anticoagulante, dependiendo del uso posterior que desee darse a los compuestos obtenidos mediante el procedimiento. Generalmente se utiliza como agente anticoagulante el citrato sódico debido a que es un componente natural que puede encontrarse en el torrente sanguíneo y que actúa como quelante del catión divalente de Calcio (Ca 2+). Sin embargo, también se contemplan otros anticoagulan-

ES 2 350 426 A1

tes, como por ejemplo el EDTA, que es un anticoagulante artificial, aunque menos específico para el catión divalente de Calcio (Ca 2+).

5 Ejemplos de primer contenedor

Dos ejemplos de primer contenedor válido para la presente invención son los tubos denominados TE5 o TE9 PRGF® Collection Tube comercializados por el propio solicitante. Se trata de dos tubos estériles de plástico que comprenden un cuerpo principal y un tapón perforable. Los tubos tienen un volumen, respectivamente, de 5 y 9 ml; se utilizará un volumen u otro en función de las necesidades de la aplicación médica concreta. Ambos tubos están etiquetados, comprendiendo dichas etiquetas una regla con indicaciones de volumen en sentido ascendente hacia la parte inferior del tubo. Los tubos contienen citrato sódico al 3.8% en su interior como agente anticoagulante, en cuyo caso presentan las siguientes características:

15	TUBO TE5	
	Capacidad:	5 ml
	Volumen de vacío (presión):	4,5 ml
20	Volumen de citrato sódico:	0,5 ml
	Dimensiones:	13 x 75 mm
25	TUBO TE9	
	Capacidad:	9 ml
30	Volumen de vacío (presión):	8,1 ml
	Volumen de citrato sódico:	0,9 ml
35	Dimensiones:	16 x 100 mm

En lo que se refiere al segundo paso del método, relativo a la separación de la sangre en diferentes fracciones, esta separación se realiza preferentemente centrifugando el primer contenedor (a una velocidad de centrifugado y durante un tiempo determinado) o colocando el tubo en una gradilla y esperando a que las fracciones se separen por sedimentación.

En caso de que se realice un centrifugado del primer contenedor, dicho centrifugado puede presentar una serie de particularidades. Preferentemente, el primer contenedor se centrifuga a una velocidad de entre 100 y 900 G durante 3 a 12 minutos y a temperatura ambiente o no (es decir, a cualquier temperatura). Dentro de estos rangos y de una forma especialmente ventajosa, el centrifugado se realiza a una velocidad de entre 300 y 800 G y durante un tiempo de entre 5 y 9 minutos. Estos rangos de parámetros de centrifugado permiten obtener una separación más definida de las diferentes fracciones (plasma con diferentes concentraciones plaquetarias, glóbulos blancos con plaquetas, glóbulos rojos y otras, si las hubiera).

En lo que se refiere al paso de introducir un sistema de venteo en el primer contenedor, éste se realiza opcionalmente. En caso de no introducirse, la transferencia de plasma y/o otra fracción se realiza hasta que el personal clínico retira el segundo contenedor o hasta que se igualan las presiones en el primer y segundo contenedor (lo cual depende de la presión del segundo contenedor). En cambio, en caso de introducirse, el sistema de venteo deja entrar aire filtrado en el primer contenedor por lo que la presión del primer contenedor siempre es mayor que la presión del segundo contenedor; en consecuencia, la extracción únicamente termina cuando el personal clínico retira el segundo contenedor, cuando desplaza el sistema de extracción por encima del nivel más superior, o cuando, por supuesto, se ha transferido todo el contenido del primer contenedor al segundo contenedor.

En lo que se refiere a los siguientes pasos del método, relativos a la introducción de un sistema de extracción, a la conexión de un segundo contenedor, a la extracción de una parte del plasma u otra fracción al segundo contenedor y a la retirada de dicho segundo contenedor, estos pasos y el segundo contenedor pueden presentar una serie de particularidades.

En cuanto a la introducción del sistema de extracción, ésta se hará sustancialmente hasta el nivel superior de la fracción más superior contenida en el primer contenedor. Si se realiza una extracción sucesiva o secuenciada de diferentes fracciones a una serie de segundos contenedores, la extracción se realiza siempre aspirando la parte superior del líquido remanente. Es decir, el sistema de extracción se ajusta siempre al nivel superior de líquido a medida que su

nivel va bajando durante la aspiración. Entonces, si para una determinada aplicación médica es necesario por ejemplo extraer la parte inferior del plasma (parte con mayor concentración de plaquetas), se realiza primero la extracción en uno o varios pasos del plasma situado por encima de la parte deseada (pudiendo desechar este plasma con menor concentración de plaquetas o utilizarlo para otras aplicaciones médicas).

5 En cuanto a qué fracciones o combinaciones de fracciones pueden extraerse, la invención contempla un sinnúmero de posibilidades: puede extraerse únicamente plasma (toda o parte de la fracción, conteniendo una concentración variable de plaquetas e incluso sin plaquetas si el centrifugado se ha realizado a altas velocidades), únicamente glóbulos blancos con plaquetas (toda o parte de la fracción), únicamente glóbulos rojos (toda o parte de la fracción), plasma (toda o parte de la fracción) junto con glóbulos blancos (toda o parte de la fracción), plasma (toda o parte de la fracción) junto con toda la fracción de glóbulos blancos y parte o toda la fracción de glóbulos rojos, o parte o toda la fracción de glóbulos blancos junto con parte o toda la fracción de glóbulos rojos.

15 Por otro lado, en lo que se refiere al segundo contenedor, éste está cerrado y no se abre al menos hasta la finalización del procedimiento, para conseguir un sistema o circuito cerrado en el cual el plasma y demás compuestos no entren en contacto con el aire (al igual que el primer contenedor). Generalmente está cerrado o taponado con un tapón roscado o a presión. Este tapón es perforable. Preferentemente, el segundo contenedor es un tubo cilíndrico de entre 4 y 50 ml de capacidad.

20 El segundo contenedor puede o no contener al menos un agente coagulante, procoagulante o activador plaquetario, en función de las necesidades de la aplicación médica concreta para la cual esté destinado el compuesto final. Generalmente se utiliza como agente coagulante el cloruro cálcico al 10%, aunque se contemplan otros agentes coagulantes, por ejemplo la trombina bovina, la trombina humana, etc. También se contempla la utilización en el segundo contenedor de agentes acelerantes de la coagulación, como son algunos aditivos especiales inertes favorecedores de la coagulación (sílice, etc.) o como es el hecho de realizar el segundo contenedor en un material acelerante de la coagulación (vidrio). Asimismo se contempla que el segundo contenedor pueda contener cualquier otro biomaterial o agente, si ello es necesario para la aplicación médica para la que deba estar destinado el compuesto contenido en dicho segundo contenedor.

30 El agente coagulante, agente procoagulante, agente activador o cualquier otro biomaterial o agente, puede ser añadido al segundo contenedor bien de forma previa a la transferencia desde el primer contenedor (por ejemplo durante la propia fabricación del segundo contenedor), o bien una vez efectuada la transferencia.

35 El segundo contenedor generalmente está fabricado de plástico o vidrio. El plástico puede ser interesante para determinadas aplicaciones por su capacidad de retardar el proceso de coagulación, hecho que se acentuará más aún si se utiliza un segundo contenedor de plástico sin agente coagulante.

Ejemplos de segundo contenedor

40 Dos ejemplos de segundo contenedor válido para la presente invención son los tubos denominados TF5-EST o TF9-EST PRGF[®] Plasma Fractionation Tube comercializados por el propio solicitante. Se trata de dos tubos estériles de plástico formados por un cuerpo principal y un tapón perforable. Los tubos tienen un volumen, respectivamente, de 5 y 9 ml; se utilizará un volumen u otro en función de las necesidades de la aplicación médica concreta. Ambos tubos están etiquetados, comprendiendo dichas etiquetas una regla con indicaciones de volumen en sentido ascendente hacia la parte superior del tubo. Estos tubos tienen una presión negativa diferente entre sí, y pueden fabricarse con diferentes presiones en función de las necesidades de la técnica.

50 Por otro lado, en cuanto a la extracción, la invención contempla que pueda realizarse una única vez, para separar una cantidad deseada de al menos una fracción en un segundo contenedor, para una determinada aplicación. La invención también contempla que pueda repetirse este paso más de una vez para separar distintas partes del plasma (con diferente concentración de plaquetas o incluso sin plaquetas) u otras fracciones en distintos segundos contenedores, para diferentes aplicaciones. Por ejemplo, puede extraerse una parte de plasma con menor concentración de plaquetas o sin plaquetas (parte superior de la fracción superior del tubo) para una aplicación y puede extraerse posteriormente una parte de plasma con más concentración de plaquetas (situada más abajo, más próxima a la fracción de glóbulos blancos) para otra determinada aplicación que requiera de un producto final más rico en señales celulares, aprovechando el gradiente de concentración de la fracción de plasma. A continuación se presentan diversos ejemplos de procedimientos que permiten comprender este concepto de extracción de acuerdo con la invención.

Ejemplo de procedimiento 1

60 Se extrae sangre del paciente a un primer contenedor de plástico sin anticoagulante (al no usar anticoagulante, se elimina la necesidad de usar un coagulante y activador posteriormente). Tras el centrifugado, se extrae toda la fracción de plasma a un segundo contenedor de vidrio, o a un segundo contenedor de plástico con un acelerante de la coagulación, para la obtención de un coágulo retraído. El compuesto final presenta una consistencia semisólida, con lo que es utilizable como tapón o membrana de fibrina en aplicaciones como la estabilización de un injerto óseo articulado antes de la sutura de cierre en cirugía oral o maxilofacial, para el tratamiento de un alvéolo post-extracción, etc.

ES 2 350 426 A1

Ejemplo de procedimiento 2

5 Se extrae sangre del paciente a un primer contenedor plástico sin anticoagulante (al no usar anticoagulante, se elimina la necesidad de usar un coagulante y activador posteriormente). Tras el centrifugado, se extrae toda la fracción de plasma a un segundo contenedor de plástico sin acelerante de la coagulación, por lo cual se retarda la coagulación del plasma. El compuesto final presenta por lo tanto una consistencia líquida, útil para aplicaciones como infiltración en regeneración de tejido articular o en inyección intradérmica o intramuscular, o para ser añadido a un biomaterial y obtener un coágulo de dicho biomaterial, etc.

10 Ejemplo de procedimiento 3

Se extrae sangre del paciente a un primer contenedor plástico con anticoagulante (por lo cual se retarda o detiene la coagulación). Tras el centrifugado:

- 15 - Se realiza una primera extracción de una determinada cantidad de la parte superior del plasma (es decir, un plasma con menor concentración de plaquetas o sin plaquetas) a un segundo contenedor de vidrio con cloruro de calcio (agente coagulante y activador). Se forma un compuesto semisólido, utilizable como tapón de fibrina en aplicaciones como las citadas en el ejemplo de procedimiento 1.
- 20 - Se realiza una segunda extracción de la parte superior de plasma que queda en el primer contenedor (es decir, un plasma con mayor concentración de plaquetas con respecto al plasma extraído anteriormente) a otro segundo contenedor de plástico con cloruro de calcio (agente coagulante y activador). El cloruro de calcio también se podría añadir posteriormente. Se forma un compuesto líquido, útil para aplicaciones como la de ser mezclado con hueso particulado autólogo del paciente en una zona del mismo en la que se vaya a regenerar hueso, para infiltración en piel, articular o cualquier otro uso.

Ejemplo de procedimiento 4

30 Se extrae sangre del paciente a un primer contenedor plástico con anticoagulante. Tras el centrifugado, se extrae la totalidad de la fracción de plasma a un segundo contenedor de plástico con agente coagulante y activador. Este agente también se podría añadir posteriormente. El compuesto final presenta una consistencia líquida, útil para aplicaciones como infiltración de tejido articular, infiltraciones intradérmicas o intramusculares, etc.

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

- 5 1. Método para la preparación de al menos un compuesto a partir de la sangre de un paciente, que se **caracteriza** por que comprende los pasos de:
- 10 i) extraer una determinada cantidad de sangre del paciente y transferirla a un primer contenedor cerrado con una presión menor que la presión atmosférica;
 - 15 ii) separar la sangre en al menos las fracciones siguientes: una fracción de glóbulos rojos en la parte inferior del primer contenedor, una fracción de glóbulos blancos y plaquetas por encima de la anterior y una fracción de plasma con un gradiente de concentración de plaquetas por encima de la anterior, siendo dicho gradiente decreciente hacia la parte superior del primer contenedor;
 - 20 iii) introducir un sistema de extracción hasta sustancialmente el nivel superior de la fracción más superior contenida en el primer contenedor;
 - 25 iv) realizar al menos una vez los pasos de conectar al sistema de extracción un segundo contenedor cerrado al vacío con una presión menor que la del primer contenedor, esperar un determinado tiempo hasta que se transfiera, por diferencia de presiones, una cantidad deseada de plasma, glóbulos blancos con plaquetas y/o glóbulos rojos al segundo contenedor, retirar el segundo contenedor y, en caso de que vayan a realizarse más extracciones, ajustar el grado de introducción del sistema de extracción para que nuevamente alcance el nivel superior de las fracciones remanentes, donde
 - v) todos los pasos se ejecutan de acuerdo con un sistema cerrado.
- 30 2. Método para la preparación de al menos un compuesto a partir de la sangre de un paciente, según la reivindicación 1, que se **caracteriza** por que junto con el sistema de extracción se introduce en el primer contenedor un sistema de venteo para permitir la entrada de aire filtrado en el mismo y asegurar que la presión del primer contenedor se mantiene mayor que la del segundo contenedor.
- 35 3. Método para la preparación de al menos un compuesto a partir de la sangre de un paciente, según la reivindicación 1, que se **caracteriza** por que el sistema de extracción comprende un Septum para garantizar el circuito cerrado.
- 40 4. Método para la preparación de al menos un compuesto a partir de la sangre de un paciente, según la reivindicación 1, que se **caracteriza** por que el primer contenedor contiene al menos un agente anticoagulante.
- 45 5. Método para la preparación de al menos un compuesto a partir de la sangre de un paciente, según la reivindicación 1, que se **caracteriza** por que el primer contenedor no contiene un agente anticoagulante.
- 50 6. Método para la preparación de al menos un compuesto a partir de la sangre de un paciente, según la reivindicación 1, que se **caracteriza** por que el segundo contenedor contiene al menos un agente coagulante, agente procoagulante, agente activador o cualquier otro biomaterial o agente, bien de forma previa a la transferencia desde el primer contenedor, o bien añadido posteriormente.
- 55 7. Método para la preparación de al menos un compuesto a partir de la sangre de un paciente, según la reivindicación 1, que se **caracteriza** por que el segundo contenedor contiene al menos un agente acelerante de la coagulación.
- 60 8. Método para la preparación de al menos un compuesto a partir de la sangre de un paciente, según la reivindicación 1, que se **caracteriza** por que el primer contenedor es un tubo cilíndrico de plástico o vidrio de entre 4 y 50 ml de capacidad.
- 65 9. Método para la preparación de al menos un compuesto a partir de la sangre de un paciente, según la reivindicación 1, que se **caracteriza** por que la separación de la sangre en fracciones se realiza por sedimentación.
10. Método para la preparación de al menos un compuesto a partir de la sangre de un paciente, según la reivindicación 1, que se **caracteriza** por que la separación de la sangre en fracciones se realiza centrifugando el primer contenedor.
11. Método para la preparación de al menos un compuesto a partir de la sangre de un paciente, según la reivindicación 10, que se **caracteriza** por que el primer contenedor se centrifuga a una velocidad de centrifugado de entre 100 y 900 G durante 3 a 12 minutos.
12. Método para la preparación de al menos un compuesto a partir de la sangre de un paciente, según la reivindicación 11, que se **caracteriza** por que el primer contenedor se centrifuga a una velocidad de centrifugado de entre 300 y 800 G, durante un tiempo de entre 5 y 9 minutos.

ES 2 350 426 A1

13. Método para la preparación de al menos un compuesto a partir de la sangre de un paciente, según la reivindicación 1, que se **caracteriza** por que el segundo contenedor es un tubo cilíndrico de plástico o vidrio de entre 4 y 50 ml de capacidad.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud:200901227

②② Fecha de presentación de la solicitud: 14.05.2009

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: **B01L3/14** (01.01.2006)
G01N1/00 (01.01.2006)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
Y	WO 0044314 A1 (ANITUA ALDECOA, E.) 03.08.2000, reivindicaciones 5-8.	1-13
Y	US 20040247487 A (COMMERCON et al.) 09.12.2004, reivindicaciones 11-14.	1-13
A	US 3677091 A (GUIGAN) 18.07.1972, todo el documento.	1-13
A	WO 9506867 A1 (AUTOMED CORPORATION) 09.03.1995, todo el documento.	1-13
A	WO 8701457 A1 (ERSSON) 12.03.1987, todo el documento.	1-13

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
13.12.2010

Examinador
J. Vizán Arroyo

Página
1/5

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

B01L, G01N

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, BIOSIS, MEDLINE

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 13.12.2010

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-13	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones	SI
	Reivindicaciones 1-13	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	WO 00/44314 A1 (ANITUA ALDECOA, E.)	03.08.2000
D02	US 2004/0247487 A (COMMERCON et al.)	09.12.2004
D03	US 3677091 A (GUIGAN)	18.07.1972
D04	WO 9506867 A1 (AUTOMED CORPORATION)	09.03.1995
D05	WO 8701457 A1 (ERSSON)	12.03.1987

En D1 se describe un procedimiento de extracción de una banda portadora de un compuesto específico a partir de un tubo de análisis que contiene diferentes bandas dispuestas de manera consecutiva.

En D2 se describe un procedimiento de preparación de plasma a partir de una muestra de sangre.

En D3-D5 se analizan diferentes métodos para separar y transferir el plasma de una muestra de sangre contenida en un tubo de análisis.

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración**1. NOVEDAD (Art. 4.1. y Art. 6.1. de la Ley de Patentes).**

1.1. El objeto de la reivindicación 1 consiste en un método de preparación de un compuesto a partir de una muestra de sangre caracterizado porque 1) los componentes de la muestra de sangre se separan en diferentes fracciones mediante centrifugación en un primer tubo contenedor, 2) el sistema de extracción se sitúa en el nivel superior de la fracción más superior del primer tubo contenedor, y 3) el sistema de extracción se conecta a un segundo tubo contenedor cerrado al vacío con una presión menor que la del primer tubo contenedor.

En el estado de la técnica más próximo, constituido por el documento D1, el procedimiento divulgado no comparte todas las características técnicas del procedimiento de la solicitud. Por consiguiente, se considera que el objeto de la reivindicación 1 es nuevo.

1.2. La presente invención satisface el criterio establecido en el Art. 4.1. de la Ley de Patentes porque el objeto de la invención, definido en las reivindicaciones 1-13, es nuevo de acuerdo con el Art. 6.1. de la Ley de Patentes.

2. ACTIVIDAD INVENTIVA (Art. 4.1. y Art. 8.1. de la Ley de Patentes).**2.1. Reivindicación independiente 1.**

2.1.1. Los documentos D1 y D2 constituyen el estado de la técnica más próximo. En D1 se divulga un procedimiento de preparación de un compuesto a partir de una muestra de sangre caracterizado básicamente porque los componentes de la sangre se separan mediante centrifugación en diferentes fracciones que se recogen y transfieren a tubos independientes (cf. D1: Reivindicaciones 5-8). En D2 se describe un procedimiento de extracción específica de una o más bandas de una muestra de sangre cuyos componentes han sido separados mediante centrifugación en una serie de bandas consecutivas. Dicho procedimiento se caracteriza porque la extracción se lleva a cabo mediante flujo laminar, sin succión, obtenido por un aumento de presión en la superficie del medio líquido del que se extraerá la banda deseada (cf. D2: Párrafos [0016] - [0019]; Figuras 1A-1E; Reivindicaciones 1, 11-13, 23, 24).

2.1.2. El problema técnico a resolver por el objeto de la reivindicación independiente 1 puede ser considerado, por consiguiente, como la provisión de un nuevo procedimiento de preparación de al menos un compuesto a partir de una muestra de sangre (página 2, líneas 8-10).

2.1.3. La solución propuesta es el procedimiento de la reivindicación 1 que se caracteriza porque 1) los componentes de la muestra de sangre se separan en diferentes fracciones mediante centrifugación en un primer tubo contenedor, 2) el sistema de extracción se sitúa en el nivel superior de la fracción más superior del primer tubo contenedor, y 3) el sistema de extracción se conecta a un segundo tubo contenedor cerrado al vacío con una presión menor que la del primer tubo contenedor. Por consiguiente, el procedimiento de la invención se diferencia del descrito en D1 en la aplicación de un sistema particular de extracción de las diferentes fracciones de la muestra de sangre. Dicho sistema de extracción se basa en la existencia de una diferencia de presión entre el primer tubo contenedor y el segundo tubo al que se transfiere la fracción deseada. Sin embargo, esta característica ya ha sido aplicada en el sistema de extracción descrito en D2. Por lo tanto, se considera que el procedimiento de la invención, definido en la reivindicación independiente 1, es una alternativa no inventiva con relación a la solución existente previamente en el estado de la técnica que no requeriría de la aplicación de conocimientos técnicos inventivos por parte del experto en la materia.

Por consiguiente, se considera que el objeto de la reivindicación independiente 1 no es inventivo. Según lo expuesto anteriormente, el objeto de las reivindicaciones dependientes 2-13 también se considera que no es inventivo.

2.2. La presente invención no satisface el criterio establecido en el Art. 4.1. de la Ley de Patentes porque el objeto de la invención, definido en las reivindicaciones 1-13, no implica actividad inventiva de acuerdo con el Art. 8.1. de la Ley de Patente.