



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 361 995**

51 Int. Cl.:
B01D 39/16 (2006.01)
A61M 1/36 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04704209 .8**
96 Fecha de presentación : **22.01.2004**
97 Número de publicación de la solicitud: **1590065**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **02.11.2005**

54 Título: **Filtros para separar leucocitos de la sangre entera y/o preparados de la sangre, procedimiento para la fabricación de estos filtros, dispositivo y utilización.**

30 Prioridad: **24.01.2003 IT TO03A0039**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
27.06.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
27.06.2011

73 Titular/es: **Fresenius Hemocare Italia S.R.L.**
Via Santi 293
I-41032 Cavezzo, Modena, IT

72 Inventor/es: **Bonaguidi, Paolo;**
Mari, Giorgio y
Verri, Paolo

74 Agente: **Zuazo Araluze, Alexander**

ES 2 361 995 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).

DESCRIPCION

Filtros para separar leucocitos de la sangre entera /o preparados de la sangre, procedimiento para la fabricación de estos filtros, dispositivo y utilización

5 La presente invención se refiere a filtros para separar leucocitos a partir de la sangre entera y/o preparados de la sangre, a un procedimiento para la fabricación de estos filtros, así como a dispositivos que contienen estos filtros. Además, se refiere la presente invención a la utilización de estos filtros para separar leucocitos de la sangre entera y/o preparados de la sangre.

10 Para el tratamiento de pacientes con determinadas enfermedades se utilizan concentrados de componentes de la sangre, que se conducen a los pacientes. Los concentrados de componentes de la sangre pueden obtenerse sometiendo la sangre entera a una centrifugación por densidad. Los mismos deben presentar una concentración lo más baja posible de leucocitos, ya que éstos pueden desatar reacciones inmunológicas en el paciente. Por esta razón se intenta eliminar los leucocitos de los preparados de la sangre.

Los filtros para separar leucocitos de preparados de la sangre se conocen en general. Así describen por ejemplo los documentos US 4,880,548, US 5,445,736 y US 5,580,465 filtros que a partir de concentrados de plaquetas de la sangre (PLT) pueden separar leucocitos (WBC). No obstante, tales filtros no son adecuados para separar leucocitos de la sangre entera, ya que los eritrocitos (RC) se modifican al contacto con el material del filtro.

15 La separación de leucocitos a partir de la sangre entera se describe en el documento US 5,895,575. El material del filtro incluye un material de sustrato hidrófobo, por ejemplo un velo de fibra de polietilentereftalato, sobre el que se aplica un polisacárido hidrófilo soluble en agua. Al respecto es problemática la relativamente baja separación de leucocitos de la sangre entera. En comparación con los filtros descritos en el documento US 4,880,548, separan los filtros recubiertos con los polisacáridos bastante menos leucocitos del preparado de la sangre. Ciertamente puede mejorarse esta separación con ayuda de filtros de nitrocelulosa. Pero tales sistemas son caros y costosos. Además, la solubilidad en el agua del material de recubrimiento es problemática. Puesto que la sangre entera contiene grandes cantidades de agua, puede eliminarse por lavado el material de recubrimiento. No obstante, debido a ello quedan retenidos trombocitos o plátulocitos en el material del filtro. Al respecto es especialmente problemático que esta pérdida tenga lugar continuamente. Ciertamente se describe en el documento 20 US 5,895,575 una reacción de reticulación que reduce la solubilidad. Pero una tal reticulación da lugar a otros problemas. Así pueden llegar en particular restos del agente reticulante al circuito de la sangre. Además, una reticulación muy fuerte puede reducir la permeabilidad del filtro. Una reticulación demasiado baja puede por el 25 contrario impedir una eliminación por lavado sólo de manera incompleta.

30 El documento EP0554460 da a conocer un dispositivo con un filtro para separar leucocitos a partir de la sangre entera que presenta un velo de fibra de poliéster, en el que se modifica la superficie del filtro mediante recubrimiento con polímeros hidrófilos.

Una tarea de la presente invención reside en lograr filtros para separar leucocitos a partir de la sangre completa y/o preparados de la sangre que ciertamente puedan retener especialmente bien los leucocitos, pero que dejen pasar las plaquetas de sangre y los eritrocitos con la mayor facilidad posible.

35 Además, es tarea de la presente invención proporcionar filtros que presenten una duración especialmente alta. En particular deben mantener los filtros su permeabilidad para plaquetas de sangre incluso tras una larga utilización.

40 Otra tarea de la presente invención es proporcionar filtros que puedan fabricarse sencilla y económicamente. En particular deben poder limpiarse sin problemas los materiales utilizados, para responder a las exigencias médicas.

Estas tareas, así como otras ciertamente no citadas literalmente pero que se derivan de los contextos aquí expuestos o que resultan forzosamente de los mismos, se resuelven con las características de la reivindicación 1. Convenientes evoluciones de los filtros correspondientes a la invención son objeto de las reivindicaciones subordinadas referidas a la reivindicación 1.

45 Las reivindicaciones independientes 17, 20 y 22 se refieren al procedimiento para fabricar los filtros y a un dispositivo para separar leucocitos a partir de la sangre entera, así como a la utilización de los filtros.

50 Debido a que la superficie de filtros que presentan un material de sustrato hidrófobo, así como un material de recubrimiento polímero, presentan una tensión superficial de humectación crítica en la gama de 50 a 80 dyn/cm, pudiendo obtenerse el material de recubrimiento polímero mediante una polirreacción de mezclas que incluyen monómeros hidrófobos e hidrófilos, se logra poner a disposición filtros para separar leucocitos de la sangre entera que presentan una retención especialmente elevada de leucocitos.

Mediante las medidas correspondientes a la invención se logran en particular las siguientes ventajas:

- 5 ➤ los filtros correspondientes a la invención presentan una elevada permeabilidad para plaquetas de la sangre y eritrocitos.
- 5 ➤ los filtros de la presente invención muestran una elevada duración, permaneciendo en particular muy alta la permeabilidad para plaquetas de sangre tras una larga utilización. Al respecto muestran los filtros correspondientes a la invención una muy baja eliminación por lavado.
- 10 ➤ los filtros pueden fabricarse económicamente, pudiendo limpiarse fácilmente los materiales utilizados, para responder así a las exigencias médicas.
- 10 ➤ los filtros muestran una elevada capacidad. Así se caracterizan los filtros correspondientes a la invención por una elevada separación de leucocitos con una permeabilidad especialmente alta y baja capacidad de retención de plaquetas de la sangre. Además, pueden operar los filtros correspondientes a la invención a velocidades de flujo relativamente elevadas. Además, se necesita de los materiales de filtrado relativamente poco material para lograr una determinada capacidad de filtrado.

15 Los filtros de la presente invención presentan un material de soporte hidrófobo. Tales materiales son conocidos al especialista. Entre ellos se encuentran en particular estructuras planas, como por ejemplo membranas y velos de fibra, que pueden separar partículas en base a diferencias de tamaño. El concepto de hidrófobo significa que el material de sustrato no es soluble en agua, siendo la solubilidad en agua a 20 °C inferior o igual a 0,1 g/l.

15 Las membranas pueden fabricarse entre otros a partir de policarbonatos, polímeros acrílicos, cloruros de polivinilo, poliamidas y nitrocelulosa. El tamaño de los poros de estas membranas se encuentra preferiblemente en la gama de 2 a 20 µm, sin que ello deba significar una limitación.

20 Velos de fibras especialmente adecuados pueden obtenerse entre otros a partir de poliéster, celulosa, poliamidas y polipropilenos. De entre estos materiales son especialmente preferentes los poliésteres, como por ejemplo el polietilentereftalato (PET), polibutilentereftalato (PBT) y politrimetilentereftalato (PTT). Tales velos se fabrican preferiblemente a partir de fibras que presentan un diámetro en la gama de 0,5 a 8 µm, en particular 1 a 4 µm y de manera especialmente preferente 1,8 a 3 µm. Al respecto se prefieren en particular fibras cristalinas, siendo la cristalinidad de al menos un 50%, en particular de al menos un 80%. Este tamaño puede medirse mediante difracción Röntgen.

30 La densidad superficial del velo de fibras se encuentra en general en la gama de 10 a 200 g/m², en particular en la gama de 15 a 100 g/m², y especialmente preferente de 20 a 60 g/m², sin que ello deba significar una limitación. La densidad superficial puede determinarse por ejemplo según ISO 9073-1:1989 y EDANA ERT 40.9-90. El espesor del velo puede encontrarse en una amplia gama. Preferiblemente es la densidad del velo antes del recubrimiento de aprox. 0,1 a 1,3 mm, preferiblemente 0,3 a 0,7 mm y de manera especialmente preferente 0,4 a 0,6 mm, pudiendo medirse estos valores según ISO 9073-1:1997-2. Aquí la superficie medida es de 25 cm² para una presión de 0,5 kPa. La densidad de velos de fibras preferentes se encuentra en la gama de 0,05 a 0,50 g/cm³, en particular de 0,15 a 0,30 g/cm³.

35 Además, incluye un filtro correspondiente a la invención un recubrimiento de material polímero que se aplica sobre el material de sustrato.

40 El filtro muestra tras el recubrimiento del material de sustrato hidrófobo con el medio de recubrimiento polímero una tensión superficial crítica de humectación (critical wetting surface tension) en la gama de 50 a 80 dyn/cm, en particular 55 a 72 dyn/cm, preferiblemente 55 a 69 dyn/cm. Este tamaño puede determinarse según el procedimiento descrito en las patentes estadounidenses US 5,445,7362 y 4,880,548.

45 Para lograr tal tensión superficial de humectación, incluyen los medios de recubrimiento polímeros grupos hidrófilos, siendo preferentes grupos que para pH 7,0 están cargados iónicamente en el agua. A estos grupos pertenecen entre otros grupos cargados aniónicamente en el agua a pH 7,0, por ejemplo grupos de ácido sulfónico, ácido fosfónico y carboxilo. Bajo las condiciones antes citadas pueden existir también grupos cargados catiónicamente, para lograr la tensión superficial de humectación necesaria. A estos grupos catiónicos pertenecen en particular grupos amino, N-pirrolidona y guanidino. Además pueden incluir los polímeros también grupos neutrales, polares, como por ejemplo unidades de polietilenglicol.

50 Correspondientemente pueden obtenerse los medios de recubrimiento polímeros por ejemplo mediante polirreacciones en las que se utilizan monómeros hidrófilos e hidrófobos. Los conceptos hidrófobo e hidrófilo son conocidos en general en el mundo especializado y se refieren a la capacidad de humectación con agua de los polímeros obtenidos a partir de los monómeros. La capacidad de humectación con agua aumenta mediante grupos polares, que existen en el polímero tras la polirreacción. Correspondientemente son monómeros hidrófilos que contienen grupos polares por ejemplo grupos hidroxilo, éter, carboxilo, carboxilato, amido, amino, pirrolidina, pirrolidona, lactam, sulfonato, fosfonato o guanidino y una proporción relativamente baja de grupos no polares, en particular grupos de hidrocarburos. La hidrofilia de muchos monómeros puede determinarse por ejemplo mediante la solubilidad de un homopolimerizado. En el caso de que para la fabricación del polímero sean necesarios distintos

monómeros, por ejemplo en muchos poliésteres, entonces se determina la hidrofilia del monómero mediante la solubilidad de un polímero que además del monómero incluye un segundo monómero adecuado con un grupo etileno. Para determinar la hidrofilia del ácido tereftálico, se transforma el mismo por ejemplo con glicol. La hidrofilia resulta de la solubilidad de PET.

5 En general, un monómero es hidrófilo en el caso de que la solubilidad del homopolimerizado o de un polimerizado antes citado sea mayor o igual a 1 g/l, en particular 5 g/l y de manera especialmente preferente 10 g/l.

En general un monómero es hidrófobo en el caso de que la solubilidad del homopolimerizado o de un polimerizado antes citado sea inferior a 1 g/l, en particular inferior o igual a 0,5 g/l y de manera especialmente preferente inferior o igual a 0,1 g/l.

10 El especialista sabe que la solubilidad de los polímeros depende del peso molecular. Los valores de solubilidad antes citados son válidos para un peso molecular promediado en cuanto a peso de 200.000 g/mol, pudiendo determinarse este peso molecular mediante métodos conocidos al especialista, por ejemplo, cromatografía de permeación en gel. La temperatura para la determinación de esta solubilidad es de 20 °C.

15 Las polirreacciones antes citadas se conocen en general. Las mismas incluyen en particular polimerizaciones radicales, poliadiciones y policondensaciones.

La hidrofobia de monómeros polimerizables radicalmente puede estimarse mediante la mezclabilidad o bien solubilidad de estos monómeros en agua. Los monómeros hidrófobos se caracterizan en general por su muy limitada mezclabilidad con agua, pudiendo por el contrario mezclarse bien con agua los monómeros hidrófilos.

20 Según un aspecto especial de la presente invención, se caracterizan los monómeros preferiblemente hidrófobos, radicalmente polimerizables, por una solubilidad en agua inferior o igual a 20 g/l, en particular 16 g/l y de manera especialmente preferente 10 g/l a 20°C. Comparativamente al respecto, la solubilidad de los monómeros preferiblemente hidrófilos, radicalmente polimerizables, es a 20°C de al menos 50 g/l, preferiblemente de al menos 100 g/l y de manera especialmente preferente pueden mezclarse los monómeros hidrófilos con agua a 20°C en cualquier relación.

25 A los monómeros hidrófobos, radicalmente polimerizables, pertenecen, entre otros, vinilésteres, como acetato de vinilo; alquenos, como etileno, propileno, 1-hexeno, 1-hepteno, vinilciclohexano, 3,3-dimetil-1-propeno, 3-metil-1-diisobutileno, 4-metilpenteno-1; y alquil(met)acrilatos que se derivan de alcoholes saturados, como por ejemplo metilacrilato, etil(met)acrilato, propil(met)acrilato, n-butil(met)acrilato, terc.-butil(met)acrilato, incluyendo la expresión (met)acrilatos metacrilatos y acrilatos, así como mezclas de ambos.

30 A los monómeros hidrófilos, radicalmente polimerizables, pertenecen entre otros monómeros con un grupo ácido, por ejemplo ácido vinilfosfónico, ácido vinilsulfónico, ácido acrílico y ácido metacrílico; monómeros con un grupo básico, en particular vinilpiridina, 3-vinilpiridina, 2-metil-5-vinilpiridina, 3-etil-4-vinilpiridina, 2-3-dimetil-5-vinilpiridina, N-vinilpirrolidona, 2-vinilpirrolidona, N-vinilpirrolidina y 3-vinilpirrolidina; así como monómeros con un grupo polar, como 2-metacriloxietil fosforilquiolina, alcohol vinílico, pudiendo obtenerse alcohol vinílico tras la polimerización mediante saponificación de viniléster.

35 Los monómeros especialmente preferentes presentan para pH 7,0 al menos un grupo iónico. A ellos pertenecen, entre otros, los monómeros antes citados, que presentan al menos un grupo ácido o un grupo básico.

40 A los monómeros hidrófobos, que pueden utilizarse en una reacción de poliadición o policondensación, pertenecen entre otros óxidos de alquenos, como óxido de butileno, óxido de hexileno; monómeros que se utilizan para la fabricación de poliésteres, policarbonatos y poliuretanos, como isofocondiisocianato, hexametildiisocianato, hexano-1,6-diol y ácido tereftálico.

A los monómeros hidrófilos, que pueden utilizarse en una reacción de poliadición o policondensación, pertenecen, entre otros, el óxido de etileno o glicol, que puede utilizarse en particular como polietilenglicol.

45 Los monómeros hidrófilos e hidrófobos antes citados pueden utilizarse aislados o como mezcla de dos o varios, para obtener copolímeros estadísticos, copolímeros de bloque y/o copolímeros de injerto. De estos polímeros se prefieren especialmente copolímeros estadísticos, presentando estos polímeros una inclusión esencialmente aleatoria de diversos monómeros, considerado a lo largo de la cadena polímera.

50 Según un aspecto especial de la presente invención, incluyen las mezclas para fabricar el material de recubrimiento polímero 1 a 40% en peso, preferiblemente 4 a 25% en peso de monómero hidrófilo y 99 a 60% en peso, en particular 99 a 75% en peso de monómeros hidrófobos, sin que ello signifique limitación alguna.

Las polirreacciones para fabricar los medios de recubrimiento polímeros se conocen en general y se describen por ejemplo en *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry (Enciclopedia Ullmann de la química industrial)*, 5ª edición en CDROM con otras referencias de literatura.

No obstante, por lo demás pueden transformarse también polímeros hidrófobos tal que los mismos presenten los grupos antes citados. Esto puede realizarse por ejemplo mediante las conocidas reacciones de injerto, injertándose monómeros hidrófilos sobre monómeros hidrófobos. Además, pueden saponificarse parcialmente también los polímeros hidrófobos como polimetil(met)acrilatos, para obtener polímeros que presentan grupos carboxilo.

El peso molecular de los polímeros contenidos en el material polímero de recubrimiento puede oscilar en amplias gamas. En general se encuentra el promedio en peso del peso molecular M_w en la gama de 10.000 a 200.000 g/mol, preferiblemente 20.000 a 100.000 g/mol.

Los polímeros del material de recubrimiento presentan preferiblemente un índice de polidispersidad M_w/M_n en la gama de 1 a 5, especialmente preferente 1,2 a 4, sin que ello signifique una limitación.

El promedio numérico del peso molecular M_n y el promedio en peso del peso molecular pueden determinarse mediante cromatografía de permeación en gel (GPC).

El material de recubrimiento polímero presenta una solubilidad en agua a 20 °C inferior o igual a un 1 g/l, preferiblemente inferior o igual a 0,5 g/l. La baja solubilidad del polímero se refiere en particular también al estado del polímero antes de aplicarlo sobre el material de sustrato. El tamaño puede determinarse gravimétricamente.

Los polímeros del material de recubrimiento pueden purificarse de manera sencilla, mediante precipitación a partir de agua de monómeros residuales y otros productos secundarios. Para ello se añade simplemente una solución de los polímeros a una gran cantidad de agua, con lo que pueden eliminarse los componentes solubles en agua. A los disolventes en los que puede disolverse el polímero pertenecen entre otros los alcoholes, en particular etanol; cetona, en particular acetona; y alcanos, en particular hexano.

Tras la precipitación pueden secarse los polímeros y absorberse de nuevo en disolvente orgánico.

Según un aspecto especial de la presente invención, puede extraerse sólo una parte muy pequeña del material de sustrato recubierto mediante agua a 37 °C. Para un caudal de 1 l/h puede extraerse durante una hora un máximo de 0,5% en peso, preferiblemente como máximo un 0,3% en peso referido al peso total del filtro recubierto. Esta proporción puede determinarse gravimétricamente.

La baja capacidad de extracción de los materiales de filtro recubiertos preferentes puede reflejarse entre otros en un bajo nivel de oxidación. Para determinar el nivel de oxidación puede extraerse un filtro con 30 capas de filtro para una densidad superficial de aprox. 60 g/m² y una superficie de filtro de aprox. 50 cm² con 250 ml de agua 2 horas a 37 °C. A continuación pueden tratarse 20 ml de la solución extraída con 20 ml de una solución de permanganato potásico al 0,01 N en presencia de 1 ml de ácido sulfúrico, calentándose la mezcla de reacción durante 3 minutos a reflujo. A continuación puede añadirse un exceso de yoduro de calcio. La proporción de compuestos oxidables en el extracto se determina mediante una titulación del yodo formado con una solución de tiosulfato de sodio al 0,01 N. Mediante una prueba en vacío resulta el nivel de oxidación como diferencia en volumen del extracto respecto al agua. Los materiales de filtro recubiertos preferentes se caracterizan por un nivel de oxidación ΔOx inferior o igual a 3 ml, en particular inferior o igual a 2 ml.

La densidad superficial de los filtros recubiertos es en general algo mayor que la densidad superficial de los velos de fibra. En general se encuentra este valor en la gama de 16 a 240 g/m², en particular en la gama de 20 a 110 g/m², de manera especialmente preferente en la gama de 26 a 70 g/m², sin que ello deba significar una limitación.

El material de soporte, así como el material de recubrimiento polímero, son preferiblemente biocompatibles, debiéndose entender bajo este concepto la elevada tolerancia de estos materiales.

En general cubre el medio de recubrimiento polímero al menos un 50%, preferiblemente al menos un 90%, de manera especialmente preferente al menos un 99% de la superficie del material de soporte. Este tamaño puede determinarse en función de la combinación material de sustrato-material de recubrimiento mediante diversos métodos conocidos en el mundo especializado, confeccionándose en métodos relativos las usuales curvas de ajuste. A esos métodos pertenecen entre otros procedimientos espectroscópicos, como el procedimiento ESCA, así como procedimientos ópticos, en los que por ejemplo el material de recubrimiento se colorea con yodo formando complejos y por el contrario el material de sustrato no se colorea mediante el yodo. Mediante la proporción de la superficie coloreada por el yodo, puede determinarse la cobertura de la superficie.

La cantidad de material de recubrimiento que se aplica sobre el material de sustrato se rige tanto por las características del material de sustrato como también por las del material de recubrimiento, debiendo lograrse una tensión crítica de humectación superficial en la gama de 50 a 80 dyn/cm. Correspondientemente, puede encontrarse esta magnitud en una amplia gama. En general incluye el filtro un 1 al 25% en peso de material de recubrimiento polímero y 99 a 75% en peso de material de sustrato.

Según un aspecto especial de la presente invención, puede extraerse el material de recubrimiento polímero del filtro con uno de los disolventes orgánicos. La extracción puede realizarse en particular a temperaturas ligeramente por debajo del punto de ebullición del correspondiente disolvente.

5 Los filtros correspondientes a la invención para separar leucocitos a partir de la sangre entera pueden fabricarse de manera sencilla recubriendo un material de sustrato hidrófobo con una solución que incluye un material de recubrimiento polímero y un disolvente y a continuación se elimina el disolvente del material de sustrato dotado de un medio de recubrimiento polímero.

El recubrimiento del material de sustrato puede realizarse de cualquiera de las formas conocidas. A modo de ejemplo citaremos aquí procedimientos de inmersión.

10 La proporción de disolvente es función de la cantidad de material de recubrimiento polímero a aplicar sobre el material de sustrato. Preferentemente incluyen las soluciones un 50 a 99,5% en peso, de manera especialmente preferente 70 a 99% en peso de disolvente.

15 Los filtros de la presente invención se utilizan en general en dispositivos para purificar preparados de la sangre. Tales dispositivos incluyen usualmente un recipiente, por ejemplo una bolsa, en la que se encuentra la sangre a purificar, una carcasa dividida por el filtro en dos cámaras, así como otro recipiente en el que se recoge el líquido filtrado, estando unidas estas partes del dispositivo mediante tubos flexibles. El transporte de la sangre del primer recipiente a través del filtro hasta el segundo recipiente puede realizarse por ejemplo simplemente mediante la fuerza de la gravedad o también mediante una bomba, preferiblemente una bomba peristáltica. Tales dispositivos se describen a modo de ejemplo en los documentos US 5,445,736 y US 5,162,102.

20 El filtro que se encuentra en la carcasa puede incluir una o varias capas de filtro. Según un aspecto especial incluyen los filtros 15 a 50, preferiblemente 20 a 40 capas de filtro.

A continuación se describirá la invención más en profundidad mediante ejemplos y ejemplos comparativos, sin que deba limitarse la invención a estos ejemplos.

Ejemplo 1

25 Uno copolímero estadístico de acetato de vinilo y vinilpirrolidona se fabricó mediante polimerización radical, utilizándose una relación en peso de acetato de vinilo a vinilpirrolidona de 7. Para ello se purificaron los reactivos líquidos mediante destilación bajo atmósfera de nitrógeno. 98,5 g de acetato de vinilo, 14 g de vinilpirrolidona y 0,59 g de azobisisobutironitrilo se añadieron a 200 ml de acetona. La mezcla obtenida se agitó bajo atmósfera de nitrógeno durante 72 horas a unos 54 °C. A continuación se extrajo el polímero obtenido con 200 ml de hexano. A partir de la solución de hexano se precipitó el polímero mediante adición de 1000 ml de agua. El polímero aislado se disolvió en acetona. Se obtuvo un copolímero estadístico cuyo promedio en peso del peso molecular, según cromatografía de permeación en gel, fue de 56 611 g/mol y cuyo índice de polidispersidad fue de 3,5, utilizándose como fase estacionaria un polímero de estírol-divinilbenzol y como fase fluida cloroformo.

35 El polímero así obtenido se purificó varias veces mediante precipitación en agua, para eliminar los restos de monómero. Para ello se disolvió el polímero en acetona y se añadió a agua a la temperatura ambiente. El precipitado se secó y se disolvió de nuevo en acetona.

A continuación se fabricó una solución acetónica del polímero, que contenía un 4 % en peso de polímero. En esta solución se sumergió un velo de polibutilentereftalato, que presentaba una densidad superficial de 50 g/m² y que estaba fabricado a partir de fibras con un diámetro de 2 µm (puede obtenerse de Fresenius HemoCare Italia).

40 Tras la inmersión se goteó la solución excedente. A continuación se secó el velo recubierto, utilizándose un dispositivo usual (velocidad de tratamiento 5 mt/min a 95 °C). La densidad superficial fue de 58,8 g/m².

45 En una caja de filtro rectangular con una superficie de filtro de 500 cm² se alojaron 30 capas del velo recubierto. A través del filtro así obtenido se filtraron unos 50 ml de sangre entera mediante la fuerza de la gravedad. Las concentraciones de plaquetas de la sangre antes y tras el filtrado se determinaron con un aparato de análisis automático (Coulter Gen-s; Beckman). La cantidad de leucocitos se midió con un hemocitómetro de Nageotte, contándose esta cantidad tras el filtrado en una cámara Burkner utilizando una solución diluida (solución de leucoplato de Sobioda).

Los resultados obtenidos se representan en la tabla 1.

50 Además, se investigaron los compuestos que pueden extraerse del filtro así obtenido. Para ello se bombearon 250 ml de agua destilada durante 2 horas a través del filtro con una bomba peristáltica en un circuito, siendo la temperatura 37°C y el caudal 1 l/h. La mezcla así obtenida se analizó en cuanto a residuos, detectándose 0,1% en peso de residuos, referido al peso del filtro antes del tratamiento de extracción.

5 Además, se investigaron las sustancias oxidables del extracto obtenido. Para ello se trataron 20 ml de la solución extraída con 20 ml de una solución de permanganato potásico al 0,01 N en presencia de 1 ml de ácido sulfúrico, calentándose la mezcla de reacción durante 3 minutos a reflujo. A continuación se añadió un excedente de yoduro potásico a 20 °C. El yodo que así se formó se tituló con una solución de tiosulfato sódico al 0,01 N. Mediante una prueba en vacío resulta el nivel de oxidación como la diferencia en volumen entre el extracto y el agua. El nivel de oxidación fue de 0,4 ml.

Ejemplo 2

El ejemplo 1 se repitió en lo esencial, utilizándose, en lugar de una relación en peso de acetato de vinilo a vililpirrolidona de 7, una relación de pesos de 12.

10 Se obtuvo un copolímero estadístico, cuyo promedio en peso del peso molecular según la cromatografía de permeación en gel fue de 56 611 g/mol y su índice de polidispersidad de 3,5.

La densidad superficial del velo recubierto fue de 60,2 g/m².

Los resultados de la filtración de la sangre entera se representan igualmente en la tabla 1.

15 El análisis de los compuestos extraíbles dió como resultado un nivel de oxidación de 1,2 ml, existiendo un 0,3% en peso de residuos en el extracto, referido al peso del filtro antes del tratamiento.

Ejemplo 3

El ejemplo 1 se repitió en esencia, pero utilizándose en lugar de una relación de peso de acetato de vinilo de 7 una relación en peso de 4. La densidad superficial del velo recubierto fue de 59,9 g/m².

Los resultados de la filtración de la sangre entera se representan igualmente la tabla 1.

20 **Ejemplo comparativo 1**

El ejemplo 1 se repitió en esencia, pero utilizándose velo no recubierto de polibutilentereftalato para la filtración de la sangre entera. Los resultados se representan igualmente la tabla 1.

Tabla 1

	Tasa de recuperación de plaquetas de sangre [%]	Cantidad de leucocitos en 500 ml de filtrado *[10 ⁶]
Ejemplo 1	80 ± 2	0,8 ± 0,2 VA/VP 7P
Ejemplo 2	70 ± 5	0,5 ± 0,2 VA/VP 12P
Ejemplo 3	78 ± 9	0,6 ± 0,4 VA/VP 4P
Ejemplo comparativo 1	0	0,1 ± 0,1 no recubierto

25 * La cantidad antes del filtrado fue de aprox. 3*10⁹

REIVINDICACIONES

1. Filtro para la separación de leucocitos a partir de la sangre entera y/o preparados de la sangre, que presenta un material de sustrato hidrófobo, así como un material de recubrimiento polímero, presentando la superficie del filtro una tensión superficial de humectación en la gama de 50 a 80 dyn/cm,
- 5 **caracterizado porque** el material de recubrimiento polímero puede obtenerse mediante una polirreacción de mezclas que incluyen monómeros hidrófobos e hidrófilos.
2. Filtro según la reivindicación 1,
caracterizado porque puede extraerse como máximo un 0,5% en peso del filtro a 37 °C mediante agua.
3. Filtro según la reivindicación 2,
- 10 **caracterizado porque** las mezclas incluyen un 1 a 40% en peso de monómeros hidrófilos y 99 a 60% en peso de monómeros hidrófobos.
4. Filtro según una de las reivindicaciones 1 a 3,
caracterizado porque los monómeros hidrófobos están elegidos a partir del grupo compuesto por acetato de vinilo, metilmetacrilato, isoforondiisocianato.
- 15 5. Filtro según una de las reivindicaciones 1 a 4,
caracterizado porque el medio de recubrimiento presenta a pH 7,0 grupos iónicos.
6. Filtro según una de las reivindicaciones 1 a 5,
caracterizado porque los monómeros hidrófilos están elegidos a partir del grupo compuesto por vinilpirrolidona, ácido acrílico, polietilenglicol.
- 20 7. Filtro según una de las reivindicaciones 1 a 6, **caracterizado porque** el medio de recubrimiento cubre al menos un 90% de la superficie del material de sustrato.
8. Filtro o según una de las reivindicaciones 1 a 7,
caracterizado porque la polirreacción para fabricar el material de recubrimiento es una polimerización radical o una poliadición en el caso del PEG.
- 25 9. Filtro según una de las reivindicaciones 1 a 8,
caracterizado porque el material de recubrimiento polímero presenta un promedio en peso del peso molecular M_w en la gama de 10.000 a 200.000 g/mol.
10. Filtro según una de las reivindicaciones 1 a 9,
caracterizado porque el material de recubrimiento polímero presenta un índice de polidispersidad M_w/M_n en la gama de 1 a 5.
- 30 11. Filtro según una de las reivindicaciones 1 a 10,
caracterizado porque el material de recubrimiento polímero es un copolímero estadístico (en el caso de poliadiciones, no estadístico).
12. Filtro según una de las reivindicaciones 1 a 11,
- 35 **caracterizado porque** el material de sustrato incluye fibras cristalinas.
13. Filtro según la reivindicación 12,
caracterizado porque las fibras contienen poliéster.
14. Filtro según la reivindicación 12 ó 13,
caracterizado porque las fibras presentan un diámetro en la gama de 0,5 a 8 μm .
- 40 15. Filtro según una de las reivindicaciones 12 a 14,

caracterizado porque el material de sustrato es un velo de fibra.

16. Filtro según una de las reivindicaciones 1 a 15,

caracterizado porque el filtro contiene un 1 a 25% en peso de material de recubrimiento polímero.

17. Filtro según una de las reivindicaciones 1 a 16,

5 **caracterizado porque** la densidad superficial del filtro se encuentra en la gama de 20 a 110 g/m².

18. Procedimiento para fabricar filtros según una de las reivindicaciones 1 a 17,

caracterizado porque se recubre un material de sustrato hidrófobo con una solución que contiene un material de recubrimiento polímero y un disolvente, y a continuación se elimina el disolvente a partir del material de sustrato dotado de un medio de recubrimiento polímero.

10 19. Procedimiento según la reivindicación 18,

caracterizado porque se sumerge el material de sustrato hidrófobo en una solución.

20. Procedimiento según la reivindicación 18 ó 19,

caracterizado porque se purifica el medio de recubrimiento polímero mediante precipitación en agua.

15 21. Dispositivo para separar leucocitos a partir de la sangre entera y/o preparados de la sangre, que incluye al menos un filtro según una de las reivindicaciones 1 a 17.

22. Dispositivo según la reivindicación 21,

caracterizado porque el filtro incluye de 15 a 50 capas de filtro.

23. Utilización de un filtro según una de las reivindicaciones 1 a 17 para separar leucocitos a partir de la sangre entera.