

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 424 618**

51 Int. Cl.:

B01D 21/26 (2006.01)

B04B 5/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.04.2000 E 00921588 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.05.2013 EP 1093390**

54 Título: **Procedimiento y aparato para producir plasma rico en plaquetas y/o concentrado de plaquetas**

30 Prioridad:

12.04.1999 US 128800 P

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

07.10.2013

73 Titular/es:

**HARVEST TECHNOLOGIES CORPORATION
(100.0%)
77 ACCORD PARK DRIVE D-7
NORWELL, MA 02061, US**

72 Inventor/es:

**BLASETTI, LOU y
KEYV, SHERWIN V.**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 424 618 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

Procedimiento y aparato para producir plasma rico en plaquetas y/o concentrado de plaquetas

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a la técnica de procedimientos y aparatos para producir plasma rico en plaquetas o un concentrado de plaquetas. En particular, la invención se refiere a procedimientos automatizados, altamente eficaces para separar plaquetas y plasma y para combinar estos en una proporción seleccionada para proporcionar plasma rico en plaquetas o concentrado de plaquetas de concentración seleccionada.

Antecedentes

10 Los procedimientos habituales para producir plasma rico en plaquetas (PRP) implican una centrifugación "suave" de sangre completa. El concentrado de plaquetas (PC) resulta de una segunda centrifugación del PRP.

15 Las plaquetas en el plasma rico en plaquetas PRP o concentrado de plaquetas (PC) posee gránulos que contienen factores de crecimiento (por ejemplo, PDGF, TGF- β y otros), que ayudan a acelerar la angiogénesis (cicatrización de heridas) y osteogénesis (crecimiento del hueso). PRP/PC, cuando se combina con trombina, también puede usarse de forma conjunta para controlar la hemorragia (hemostasis), sellar heridas y como un vehículo para el suministro de fármacos y/o agentes biológicos. Además, las características de manipulación de ciertos materiales orgánicos, tales como polvo de hueso, pueden mejorarse en gran medida combinándolos con PRP/PC, con o sin la adición de trombina. Dicha combinación también proporciona colocación más segura de materiales orgánicos, por ejemplo, en un defecto ortopédico. Algunas propiedades de PRP/PC y trombina (por ejemplo, hemostasis y sellado de heridas) son similares a las de pegamento de fibrina, excepto que el pegamento de fibrina tiene una mayor propiedad adhesiva debido a su concentración de fibrinógeno por encima de los niveles de línea basal.

20 Un procedimiento típico para producir PC implica someter sangre completa recogida en un sistema de bolsa sanguínea a centrifugación para separar PRP de los glóbulos rojos. Después, el PRP se exprime de la primera bolsa a la segunda bolsa y se somete de nuevo a centrifugación, lo que da como resultado una concentración ("sedimento") de plaquetas (PC) y un sobrenadante de plasma pobre en plaquetas (PPP). La mayoría del PPP se exprime a una tercera bolsa, dejando atrás las plaquetas concentradas y una pequeña proporción de PPP en la segunda bolsa, que se usa para resuspender las plaquetas concentradas. Este procedimiento, con una eficacia de recuperación de plaquetas típica de solamente el 45%, es demasiado incómodo para su uso en el punto de cuidado y, como resultado, no se presta a producción en el punto de cuidado de productos de sangre autóloga.

25 Se conoce bien a partir de la Patente de Estados Unidos 5.707.331 (Wells) un sistema automatizado para la producción de fibrinógeno autólogo de plasma. Esa patente enseña un sistema para procesamiento automatizado de sangre completa por centrifugación en un componente de plasma que se procesa adicionalmente por precipitación fisicoquímica y centrifugación adicional en un componente de fibrinógeno. El fibrinógeno se recupera y proporciona un sellante de fibrina cuando se combina con trombina.

30 La capacidad para producir PRP/PC a petición a partir de cantidades pequeñas de sangre completa facilitaría en gran medida la utilidad clínica de PRP/PC, y la disponibilidad de PRP/PC autólogo eliminaría la necesidad de PRP/PC homólogo, que puede portar el riesgo de transmitir enfermedad humana. Además, es con frecuencia deseable proporcionar PRP/PC de una concentración seleccionada para conseguir un resultado terapéutico particular. Sin embargo, los procedimientos conocidos usados en la actualidad para producir PRP/PC consumen tiempo, son ineficaces y no se prestan a producción a partir de cantidades pequeñas de sangre completa.

35 En consecuencia, es un objeto de la presente invención proporcionar un procedimiento y aparato para procesar eficazmente volúmenes pequeños de sangre completa en PRP o PC de cualquier concentración seleccionada a petición, en el punto de cuidado, y en la situación clínica.

Sumario de la invención

40 De acuerdo con la invención como se reivindica, se producen fácilmente cantidades pequeñas de PRP o PC por un procedimiento automatizado preferentemente llevado a cabo por una centrífuga tal como la mostrada en la Patente de Estados Unidos 5.707.331 (Wells). La centrífuga mostrada en la patente de Wells 5.707.331 recibe un recipiente desechable, o desechable de procesamiento (PD), que tiene dos cámaras, y en el procedimiento de la presente invención, se coloca en primer lugar sangre completa en una cámara del PD. La centrífuga se hace funcionar a continuación para provocar que los glóbulos rojos sedimenten en el fondo de una cámara dando como resultado un sobrenadante de PRP. La centrifugación se detiene/reduce provocando que el PRP se drene a la segunda cámara, por gravedad o por transferencia centrífuga.

45 El PRP de la segunda cámara se centrifuga a continuación una segunda vez reiniciando/acelerando la centrífuga. La centrífuga se detiene después, dando como resultado: (1) glóbulos rojos en una cámara, (2) plaquetas (PC) en el fondo de la segunda cámara, y (3) plasma pobre en plaquetas (PPP) como el sobrenadante en la segunda cámara. El funcionamiento anterior de la centrífuga preferentemente está automatizado.

El operario puede después producir PRP/PC de una concentración deseada obteniendo un volumen prescrito del sobrenadante de plasma y resuspendiendo las plaquetas.

5 En una realización preferida, el operario inserta una cánula roma unida a una jeringa en la segunda cámara y extrae un volumen deseado de plasma, lo que deja detrás un volumen conocido de plasma. Se inserta después una segunda cánula roma unida a una jeringa en la segunda cámara donde el volumen conocido restante de plasma se usa para resuspender y recuperar el PRP/PC que tiene concentración de plaquetas aumentada.

10 Puede haber otros modos de recuperar las plaquetas y el plasma. Por ejemplo, después de completar los pasos automatizados, el operario puede decantar el plasma de la segunda cámara inclinando el recipiente desechable para provocar que una cantidad de plasma vuelva a la primera cámara, dejando la cantidad deseada de plasma en la segunda cámara. A continuación se mezclarían y recuperarían el plasma restante y las plaquetas.

15 En un ejemplo, se obtiene una muestra de sangre completa de un paciente, que contiene un recuento de plaquetas típico de $220 \times 10^3/\mu\text{l}$. Basándose en una eficacia de recuperación de plaquetas típica del 60% y procesando un volumen de sangre típico de 50 ml, la resuspensión del PC en 5 ml de PPP proporcionará PRP con una concentración de plaquetas de $1.320 \times 10^3/\mu\text{l}$, un aumento de seis veces en la concentración de plaquetas.

15 **Breve descripción de los dibujos**

La Figura 1 ilustra un tubo de procesamiento desechable y una centrífuga de acuerdo con la invención.

La Figura 2 es una vista lateral del tubo de procesamiento mostrado en la Figura 1, parcialmente en sección transversal vertical.

20 Las Figuras 3a a 3f son secciones transversales esquemáticas del tubo de procesamiento de la Figura 2 que muestra las diversas orientaciones del tubo de procesamiento durante el funcionamiento de la centrífuga de acuerdo con la invención.

Descripción detallada de la realización preferida

25 La Figura 1 ilustra esquemáticamente un sistema de centrífuga 2 y un desechable de procesamiento (PD) 4 de acuerdo con la invención. La centrífuga preferida es la descrita en la Patente de Estados Unidos 5.707.331 (Wells) programada para actuar como se describirá en relación con la Figura 3. Como se apreciará, el rotor de la centrífuga 2 se diseña para aceptar uno o más PD 4 simultáneamente. En la realización preferida, la centrífuga acepta uno o dos PD. Se sitúa un contrapeso en el lado opuesto de un PD cargado cuando se usa solamente uno.

30 El PD usado de acuerdo con la invención y mostrado en la Figura 2 es el mostrado en la patente 5.707.331 indicada. Este PD se realiza preferentemente de plástico moldeado e incluye al menos dos cámaras 6, 8. Las dos cámaras se conectan por un puente 10, que conecta las dos cámaras, preferentemente, en sus partes superiores. Las cámaras se cierran por una tapa 12, que mantiene la esterilidad de las rutas del fluido.

35 La tapa incluye extensiones 18 y 20 que tienen aberturas respectivas 22 y 24 para permitir el acceso al interior de las cámaras. La cámara 6 incluye un estante 26 para ayudar a la separación de PRP de los componentes celulares, como se describirá en más detalle posteriormente. La cámara 6 también incluye un tubo hueco 28, que se extiende desde la abertura 22 al estante 26 para facilitar la inserción de fluidos en la cámara 6. El perímetro del estante permite que el plasma por debajo del estante 26 fluya hacia arriba.

40 Haciendo referencia ahora a las Figuras 3a a 3f, se describirá el funcionamiento de la centrífuga 2 de acuerdo con el procedimiento de la invención. En la primera etapa del procedimiento, la cámara 6 del PD 4 se proporciona con una cantidad medida de un fluido fisiológico 32 para procesar, tal como sangre completa humana. Se añade una cantidad (por ejemplo, 1-5 ml y preferentemente 2 ml) de anticoagulante 34, preferentemente ACD-A, a la cámara 8. Después, el PD se somete a centrifugación como se ilustra en la figura 3b. Esto separa componentes más pesados de los fluidos fisiológicos, tales como glóbulos rojos 36, del sobrenadante, tal como PRP 38. El ACD-A 34 permanece en la cámara 8.

45 La primera centrifugación ilustrada en la figura 3b provoca que los glóbulos rojos se separen del PRP pero no separa significativamente plaquetas del resto del plasma. En la realización preferida, esta primera centrifugación se realiza a aproximadamente 1200 G (aproximadamente 3600 RPM) durante un periodo de aproximadamente dos minutos.

50 Para mayor claridad, las figuras 3a a 3f no ilustran el estante 26, pero debería indicarse que en la realización preferida, el estante se localiza tan cerca como sea posible del límite entre los componentes separados, concretamente los glóbulos rojos 36 y el plasma 38. El procedimiento preferido para conseguir esto es determinar la concentración de glóbulos rojos en la sangre del paciente (es decir, el hematocrito) y proporcionar una cantidad de sangre que llenará el volumen por debajo del estante con los glóbulos rojos. Preferentemente, la cámara 6 se diseña para aceptar 50 ml de la sangre del paciente como el volumen nominal. Esta cantidad se ajusta durante el funcionamiento del equipamiento de acuerdo con el hematocrito, y los solicitantes han descubierto que el volumen de sangre completa requerido estará en el intervalo de 40 ml - 60 ml.

55 Después de que se han separado por centrifugación los glóbulos rojos, el PD se fija en la posición de drenaje por

- 5 gravedad mostrado en la figura 3c. Esto se describe adicionalmente en la patente de Wells 5.707.311 y se realiza preferentemente por activación eléctrica de un imán que mueve una placa de ajuste en conexión con un soporte que tiene el PD en el mismo. Cuando el PD está en esta posición, el PRP 38 en la cámara 6 drena a la cámara 8 por gravedad. Por ejemplo, se transfieren 25 ml de PRP a la cámara 8. El PRP 38 también se mezcla con el ACD-A 34, previamente en la cámara 8, a medida que fluye a la cámara a través del canal de flujo 16.
- Con frecuencia es deseable durante la etapa de drenaje mostrada en la figura 3c continuar la rotación del rotor a una velocidad lenta, por ejemplo, 60 RPM, para proporcionar una fuerza centrífuga ligera para asegurar la retención de los glóbulos rojos 36 en la cámara 6.
- 10 Como se ilustra en la figura 3d, la centrífuga se acelera después de nuevo para someter el PRP 38 a centrifugación. La segunda centrifugación separa las plaquetas 40 del sobrenadante de PPP 42. En la realización preferida, la segunda centrifugación es aproximadamente a 1000 G (aproximadamente 3000 RPM) durante un periodo de aproximadamente ocho minutos.
- 15 Se apreciará que las velocidades de rotación específicas para la primera y segunda etapas de centrifugación pueden variarse. Por ejemplo, la segunda centrifugación puede ser una centrifugación rápida. Además, las velocidades preferidas desveladas son para una centrífuga que tenga un radio de rotor máximo de 10,16 cm (es decir, el radio de rotación medido desde el eje al fondo de la cámara). Las centrífugas con otras dimensiones requerirán diferentes velocidades de rotación.
- 20 El ACD-A se proporciona en la cámara 8 para minimizar la agregación plaquetaria. Se ha descubierto que la presencia de un anticoagulante en la segunda cámara reduce la agregación de las plaquetas, acortando de este modo el tiempo global requerido para el procesamiento.
- 25 La siguiente etapa del procedimiento de la invención se muestra en la figura 3e. En esta etapa, la centrifugación se ha detenido, y se permite que el PD asuma una orientación vertical, quedando los glóbulos rojos 36 en la cámara 6, las plaquetas 40 en el fondo de la cámara 8, y el PPP 42 como el sobrenadante en la cámara 8. Se usa una aguja hipodérmica 44 con una cánula roma 46 para retirar una cantidad predeterminada de PPP. Esto se consigue insertando la cánula roma a través de la abertura 24 a una profundidad predeterminada. El operario puede determinar esa profundidad manualmente o, como se muestra en la figura 3e, puede proporcionarse una guía de ajuste de la altura 48 sobre la cánula para detener la inserción a la profundidad deseada. La guía puede tomar cualquiera de varias formas, siendo la forma preferida un tubo hueco que se ajusta sobre la cánula y conecta con el fondo de la jeringa. Además, puede proporcionarse un kit que tenga una pluralidad de dichas guías de diferentes longitudes para permitir que el operario seleccione una para retirada de diferentes cantidades predeterminadas de PPP.
- 30 Además, la retirada de una cantidad deseada de PPP puede conseguirse decantando parte del plasma de nuevo a la cámara 6, manualmente o por transferencia centrífuga usando los múltiples elementos de decantación de la centrífuga descrita en la patente de Wells 5.707.331.
- 35 Continuando con el procedimiento mostrado en la figura 3e, la jeringa se maneja después de la inserción de la cánula 46 a la profundidad deseada para retirar la cantidad deseada de PPP, que después se usa para otros fines, tales como homeostasis.
- 40 Como se muestra en la figura 3f, las plaquetas 40 se resuspenden después en el PPP restante para dar como resultado PRP/PC 50 con una concentración de plaquetas deseada que es varias veces mayor de lo que era el sobrenadante original 38. Este PRP/PC de concentración aumentada se usa después para cualquiera de una diversidad de fines como se conocen en la técnica.
- Las modificaciones dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas resultarán evidentes para los expertos en la materia.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para producir un producto fisiológico de composición seleccionada que comprende las etapas de:
- 5 colocar un fluido fisiológico que tiene una pluralidad de componentes en una primera cámara de un recipiente estéril que tiene primera y segunda cámaras, en el que el volumen de cada una de dichas cámaras se conoce y no cambia;
- someter dicho fluido fisiológico a centrifugación para separar al menos uno de dichos componentes de un primer sobrenadante;
- 10 decantar dicho primer sobrenadante a dicha segunda cámara;
- someter dicho primer sobrenadante a centrifugación para separar un segundo de dichos componentes de un segundo sobrenadante;
- retirar una cantidad predeterminada de dicho segundo sobrenadante de dicha segunda cámara por lo que un resto de dicho segundo sobrenadante está en dicha segunda cámara; y
- 15 resuspender dicho segundo de dichos componentes en dicho resto de dicho segundo sobrenadante en dicha segunda cámara.
2. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende además la etapa de colocar anticoagulante en dicha segunda cámara de modo que dicho anticoagulante se mezcle con dicho primer sobrenadante antes de dicha etapa de centrifugar dicho primer sobrenadante.
3. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho fluido fisiológico es sangre.
- 20 4. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 3, en el que dicho producto fisiológico es plasma rico en plaquetas y dicha etapa de someter dicho fluido fisiológico a centrifugación comprende someter la sangre a una primera centrifugación durante aproximadamente dos minutos.
5. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 4, en el que dicha etapa de someter dicho primer sobrenadante a centrifugación comprende someter plasma rico en plaquetas a una segunda centrifugación durante
- 25 aproximadamente ocho minutos.
6. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha etapa de retirar comprende insertar una cánula en dicha segunda cámara a una profundidad predeterminada y extraer dicha cantidad predeterminada de segundo sobrenadante a través de dicha cánula.
- 30 7. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha cantidad predeterminada es el volumen de dicho segundo sobrenadante en dicha segunda cámara que excede un volumen deseado en dicha segunda cámara.

FIG. 1

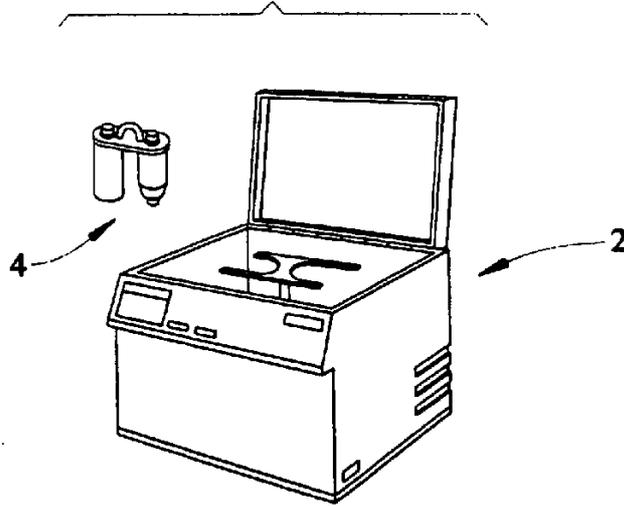


FIG. 2

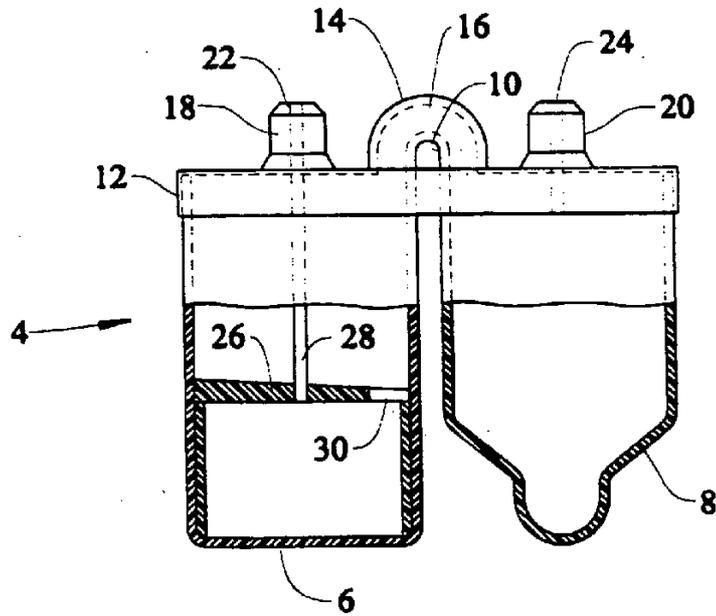


FIG. 3a

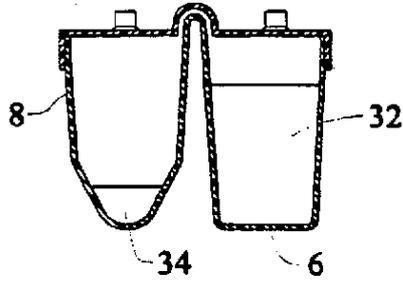


FIG. 3b

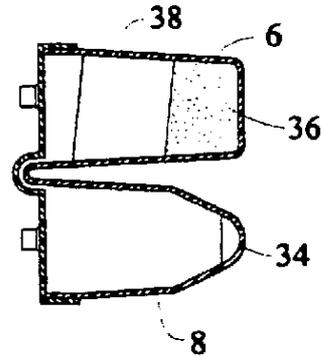


FIG. 3c

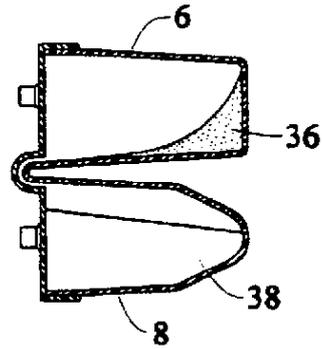


FIG. 3d

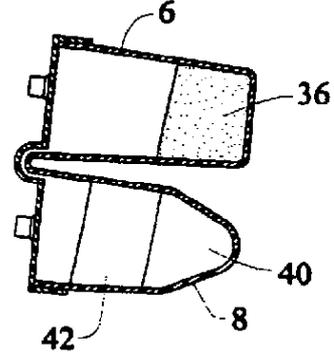


FIG. 3e

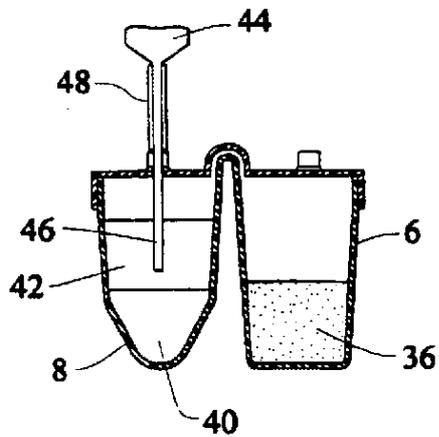


FIG. 3f

