



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 290 957**

51 Int. Cl.:

**A61L 2/10** (2006.01)

**A61K 35/14** (2006.01)

**A61L 2/24** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **96923791 .6**

86 Fecha de presentación : **15.07.1996**

87 Número de publicación de la solicitud: **0840624**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **13.05.1998**

54

Título: **Instalación de desactivación de contaminantes virales presentes en productos sanguíneos.**

30

Prioridad: **14.07.1995 WO PCT/BE95/00069**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**16.02.2008**

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**16.02.2008**

73

Titular/es: **CAF - DCF cvba - scri**  
**avenue de Tyras, 109**  
**1120 Bruxelles, BE**

72

Inventor/es: **Laub, Ruth;**  
**De Wael, Luc y**  
**Di Giambattista, Mario**

74

Agente: **Molinero Zofío, Félix**

ES 2 290 957 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).

# ES 2 290 957 T3

## DESCRIPCIÓN

Instalación de desactivación de contaminantes virales presentes en productos sanguíneos.

### 5 Objeto de la invención

La presente invención se refiere a una instalación de desactivación física de contaminantes virales presentes en productos sanguíneos, especialmente la sangre total, el plasma, líquidos donde se hallan los compuestos celulares de la sangre y los derivados sanguíneos como los factores de coagulación (factor VIII, factor IX, factor de von Willebrand, . . .), el fibrinógeno, la fibronectina, las inmunoglobinas, la albúmina, . . . incluidos los productos no naturales obtenidos por genio biológico, comprendiendo dicha instalación las características técnicas indicadas en las reivindicaciones.

### Estado actual de la técnica en que se basa la invención

15 La utilización de productos sanguíneos con fines terapéuticos o no terapéuticos requiere técnicas de purificación que permitan obtener productos de una alta pureza, a ser posible desprovistos de contaminantes, sobre todo de contaminantes virales.

20 En los productos sanguíneos, los contaminantes virales pueden ser virus con cubierta (VIH, virus de la hepatitis B, C, D, E, G) o sin cubierta (virus de la hepatitis A, parvovirus, . . .).

Hace ya bastantes años que diferentes instancias internacionales o nacionales han establecido normas cada vez más severas para la preparación de productos sanguíneos para impedir su aplicación a fines terapéuticos o no terapéuticos cuando los mismos presentan contaminantes virales (Directivas del Consejo 65/65 EEC, 75/319 EEC y 89/381 EEC).

A nivel europeo, las normas CPMP (CPMP/BWT 268/95 y 269/95) establecen el uso de ciertos tratamientos contra virus con cubierta o sin cubierta.

30 En dichos documentos se hace mención especial al hecho de que una etapa de desactivación mediante calor (seco o vapor) o mediante pasteurización en la preparación de los factores de coagulación es eficaz contra el virus de la hepatitis A, pero sería poco eficaz contra otros virus sin cubierta, en particular los parvovirus.

35 Por el contrario, un tratamiento que incluya una etapa de desactivación química (mediante el añadido de disolventes-detergentes) es eficaz contra los virus con cubierta, pero ineficaz para el tratamiento de los virus sin cubierta.

Se conoce así mismo el uso de ciertos agentes químicos como la beta-propiolactona, que es eficaz en el tratamiento de los virus sin cubierta, pero que presenta el inconveniente de que modifica las proteínas tratadas.

40 Se sabe igualmente que ciertos tratamientos prolongados mediante la modificación del pH por debajo del pH 4, o el añadido de proteasas, permite una activación de ciertos virus sin cubierta como los parvovirus. No obstante, dichos tratamientos modifican igualmente la configuración y la estructura de las proteínas tratadas.

45 Por consiguiente, se sabe que a día de hoy la mayoría de las etapas de tratamiento físico-químicas susceptibles de ser utilizadas para obtener una desactivación viral de productos sanguíneos son o bien altamente tóxicas, o bien afectan de manera inaceptable la configuración de las proteínas tratadas, o bien son ineficaces para el tratamiento de los virus sin cubierta, en particular los parvovirus.

50 Los parvovirus son pequeños virus sin cubierta, con ADN, que infectan a numerosas especies animales, entre ellas al ser humano (Handbook of Parvoviruses, Vol. 1, pág. 1-30, Desinfection, Sterilization and Preservation, Fourth Edition, Seymour S. Block, Ed. Lea & Febiger, Philadelphia-London). Son endémicos por naturaleza y causan una gran variedad de enfermedades, cuya aparición depende en gran manera del estado de desarrollo del huésped.

55 Entre ellos, el parvovirus B19 es el único miembro de la familia de las Parvoviridae del que se sabe que es patógeno para el ser humano. De igual modo, el parvovirus Murino H1 puede igualmente contaminar al ser humano.

La infección por parvovirus B19 en seres humanos sanos puede ser asintomática o inducir enfermedades benignas (por ejemplo, el eritema infeccioso en los niños).

60 Por el contrario, en pacientes inmunodeficientes o aquejados de desórdenes sanguíneos puede conducir a anemias crónicas y a aplasias transitorias que pueden estar asociadas a anemias hemolíticas.

Pasando a través de la placenta, puede provocar la muerte intrauterina. Presenta un notable tropismo para las líneas eritroides de células preogenitricas hematopoyéticas humanas.

65 Una reciente encuesta epidemiológica ha mostrado que el 50 al 60% de la población adulta francesa y el 36% de los niños de 1 a 15 años tienen una serología parvoviral positiva.

## ES 2 290 957 T3

La presencia de ADN viral ha sido puesta en evidencia por amplificación genética (PCR) en un cierto número de lotes de concentrados de factor VIII purificados, sean cuales sean los procesos de desactivación viral empleados.

5 Esto ha sido confirmado por la detección de serología b19<sup>+</sup>, sin signo clínico, en el 85% de los niños hemofílicos que no habían recibido desde un nacimiento más que concentrado de factor VIII altamente purificado (FVIII THPSD), utilizado en Francia desde 1988, y exento de toda contaminación por virus con cubierta (VIH, HBV, HCV) (Y. Lauriau *et al.*, 1<sup>er</sup> congreso de la Sociedad Francesa de Transfusión (1994)).

10 Esta observación muestra claramente que, sin nuevos métodos de desactivación viral destinados a la eliminación selectiva de los parvovirus, en particular del parvovirus B19 de los productos sanguíneos, la probabilidad de contaminación es elevada.

15 Los parvovirus son extremadamente resistentes, incluso a alta temperatura. Sus propiedades de hemaglutinación y su potencial infeccioso no se ven afectados por tratamientos químicos como el cloroformo, diferentes ácidos, y la mayoría de ellos son resistentes a digestiones enzimáticas por RNase, DNase, papaína y tripsina.

### Estado actual de la técnica

20 En la solicitud internacional de patente WO95/00631 se describe un proceso de desactivación viral de productos sanguíneos que supone el añadido a estos productos sanguíneos de productos fotoactivables por rayos UVA y que se volverían tóxicos para los virus presentes en estos productos sanguíneos. Dicho proceso incluye una etapa que permite aislar estos reactivos tóxicos de los productos sanguíneos de manera que éstos no resulten contaminados por dichos agentes tóxicos.

25 Entre estos agentes tóxicos debe hacerse mención especial al psoraleno.

30 No obstante, este proceso presenta el inconveniente de que no se puede garantizar que los productos sanguíneos tratados se hallen totalmente desprovistos de dichos agentes fotoactivables, que serían susceptibles de desnaturalizar y/o desactivar los productos sanguíneos tratados y provocar toxicidad en seres humanos o en animales cuando se los reinyecta de forma repetitiva, incluso en pequeñas dosis, junto con los productos sanguíneos tratados.

35 Se sabe igualmente que es posible esterilizar un gran número de productos sometiendo a rayos ultravioleta. En concreto, gracias al documento "Sterilization By Ultraviolet Radiation" (chapter 31, IL SHECHMEISTER), se sabe que los rayos ultravioleta son capaces de destruir contaminantes como los virus, micoplasmas, bacterias y hongos. Dichos rayos se pueden utilizar sobre todo en medios como los gases o los líquidos.

40 En el documento WO94/03054 se describe un proceso de desactivación de microorganismos presentes en los productos sanguíneos, proceso que comprende el añadido a estos productos de 8-metoxipsoraleno, seguido de una exposición de dichos productos a los rayos UV (180 nm-400 nm), con el fin de volver activo el 8-metoxipsoraleno.

En el documento WO94/28120 se describe un proceso de desactivación viral de productos sanguíneos que comprende la exposición de estos productos a los rayos UVC en presencia de compuestos amortiguadores.

45 En el documento de Hart H. *et al.* (Vox Sang 1993; 64: 82-88) se describe la irradiación por rayos UVC de preparados a base de albúmina y de inmunoglobinas contaminadas por diferentes tipos de virus, entre ellos los virus sin cubierta. El equipo utilizado consiste en un emisor UVC y una botella que contiene el producto en cuestión, así como dosímetros. La botella se halla sometida a un movimiento rotatorio continuo.

50 Igualmente, por el documento de Chin S. *et al.* (Blood, volumen 86, n° 11, diciembre de 1995, pág. 4331-4336) y por el documento de Marx G. *et al.* (Photochemistry and Photobiology, 1996, 63 (11): 541-546), se conoce el tratamiento de los productos sanguíneos por rayos ultravioleta de tipo C en presencia o en ausencia de agentes antioxidantes como la rutina, así como la forma de conseguir la desactivación de virus sin cubierta, especialmente los parvovirus.

55 Además, los procesos de desactivación viral del estado actual de la técnica pueden afectar la integridad y la actividad de los productos sanguíneos (sobre todo la configuración tridimensional de factores de coagulación como el factor VIII), y por consiguiente sus actividades.

60 Por otra parte, los procesos de desactivación viral según el estado actual de la técnica presentan a menudo dificultades en cuanto a su validación, puesto que plantean problemas de reproducibilidad o de control. En efecto, hay que modificar algunos parámetros de tratamiento para que puedan mantenerse con facilidad, sobre todo cuando hay que vigilar el grado de humedad si se efectúa un tratamiento por calor seco. Además, es difícil controlar las diferentes etapas de los procesos operativos.

### Objetivos de la invención

65 La presente invención pretende obtener una instalación de desactivación de contaminantes virales presentes en productos sanguíneos que no presente los inconvenientes del estado actual de la técnica y que sea simple, rápido, poco costoso y reproducible.

## ES 2 290 957 T3

El proceso de desactivación viral respeta la integridad de los productos sanguíneos, en particular la de los factores de coagulación como el factor VIII, el factor IX, el factor de von Willebrand, la fibronectina, el fibrinógeno . . .

5 Un objetivo complementario de la presente invención pretende obtener una instalación que se pueda validar fácilmente y que se ajuste a las buenas prácticas de producción farmacéutica (GMP) y a las normas europeas.

10 Un último fin de la presente invención pretende obtener una instalación de desactivación viral de productos sanguíneos que permita desactivar virus sin cubierta, sobre todo los de cadena simple, como los parvovirus, especialmente los parvovirus B19 y H1.

15 La presente invención se refiere a una instalación para la preparación de un producto sanguíneo que incluya un dispositivo para asegurar una desactivación viral física, dispositivo que consta de:

- 20 - un emisor de rayos ultravioleta de tipo C (UVC),
- un tubo de cuarzo o de un material polimerizado *que no permita la absorción de los rayos ultravioleta de tipo C*, y que permita, mediante un sistema de turbulencia, mantener un flujo homogéneo del producto sanguíneo que circule por dicho tubo, cuyo diámetro se halla adaptado al volumen que hay que tratar para que los productos sanguíneos no estén en capas finas y evitar así los fenómenos de perturbaciones a nivel de la superficie sólida/líquida de dicho tubo.
- un recinto reflectante que reenvía los rayos ultravioleta de tipo C hacia el producto sanguíneo que hay que tratar.

25 La presente invención se refiere también a esta instalación, caracterizada porque el dispositivo comprende un sistema de control de la dosis de rayos ultravioleta C que irradia el producto sanguíneo bajo tratamiento.

30 La presente invención se refiere a esta instalación, caracterizada porque el dispositivo comprende un sistema de control de la temperatura del producto sanguíneo bajo tratamiento.

La presente invención se refiere a esta instalación, caracterizada porque la temperatura se controla y registra tanto en el interior del dispositivo como en el producto sanguíneo bajo tratamiento.

35 La presente invención se refiere a esta instalación, caracterizada porque los rayos ultravioleta de tipo C tiene una longitud de onda comprendida entre 250 y 270 nm, a ser posible una longitud de onda de 354 nm.

La presente invención se refiere a esta instalación, caracterizada porque la instalación está hecha de una sola pieza o en módulos móviles yuxtapuestos dispuestos en serie.

40 La presente invención se refiere también a la utilización de esta instalación, para la desactivación viral de virus sin cubierta presentes en un producto sanguíneo.

45 Se entiende por "producto sanguíneo" todo producto sanguíneo, líquido o sólido, obtenido de manera natural a partir del cuerpo humano o animal o mediante síntesis, como la sangre total, sus compuestos celulares, derivados suyos como el suero o el plasma, y los compuestos proteicos de la sangre, a saber, los factores de coagulación (factor VIII, factor IX, factor de von Willebrand, . . .), el fibrinógeno, la fibronectina, las inmunoglobinas, la albúmina, . . . incluidos los compuestos proteicos obtenidos por genio biológico, tales como las proteínas recombinantes o los péptidos de síntesis.

50 Estos productos pueden ser igualmente factores producidos por ciertas líneas celulares sanguíneas, por ejemplo los interferones, las interleuquinas o los receptores celulares de estas moléculas obtenidos de manera natural o por vía sintética, en particular los péptidos o proteínas recombinantes obtenidas mediante la técnica del ADN recombinante. El proceso de desactivación provoca de forma conveniente la desactivación de agentes contaminantes tales como los virus sin cubierta (HAV), con cubierta (VIH, virus de la hepatitis B, C, D, E, G, . . .), agentes bacterianos eventualmente presentes en el producto sanguíneo, etc.

55 El proceso se puede combinar igualmente con uno o varios tratamientos adicionales de desactivación de contaminantes especialmente virales bien conocidos por los experimentados en la técnica, en particular los tratamientos físicos o químicos de desactivación viral escogidos del grupo constituido por una varias etapas de calentamiento seco o húmedo, el añadido de compuestos químicos, en especial de solvente-detergente o de productos que se vuelven activos bajo radiación ultravioleta, una o varias etapas de pasteurización, la sumisión a una o varias emisiones de radiaciones específicas, como los rayos Y o los rayos X, o bien una combinación de dichos procesos. De los productos activos susceptibles de ser añadidos a los productos sanguíneos, hay que hacer mención especial a los agentes protectores contra los radicales libres (vitamina C, . . .) y a la beta-propiolactona, que provoca un fenómeno de alquilación de las proteínas. Dichos productos deberán utilizarse en dosis que no provoquen fenómenos de toxicidad o desnaturalización de los productos sanguíneos tratados. No obstante, con las dosis de irradiación utilizadas según la invención no es necesario el añadido de dichos productos para provocar una desactivación de los virus sin cubierta o para asegurar la protección contra los radicales libres.

## ES 2 290 957 T3

El proceso de desactivación viral puede combinarse con un proceso general de aislamiento o de separación de derivados sanguíneos a partir de la sangre total.

5 Este proceso puede constar de una o dos etapas de filtración, de precipitación, de separación por cromatografía, . . . lo que permite separar unos de otros los diferentes componentes de la sangre total.

Según la invención, la mayoría de la emisión de los rayos UVC se efectúa entre 250 y 270 nm, a ser posible en la longitud de onda de 254 nm, es decir, la mejor zona de absorción de los ácidos nucleicos, mientras que las dosis de irradiación recibidas por los productos están comprendidas entre 10 y 2.000 julios/m<sup>2</sup>, a ser posible entre 230 y 400 julios m<sup>2</sup>.

15 En el proceso se elige las dosis de irradiación y la longitud de onda utilizada de manera que las dosis de irradiación recibidas por el producto sanguíneo tratado afecten esencialmente los ácidos nucleicos de los contaminantes, sin perturbar la estructura de los péptidos o de las proteínas presentes en el producto sanguíneo tratado.

De forma inesperada, los inventores se encontraron con que era posible tratar productos sanguíneos en finas capas ("monolayers" o capas llamadas laminares) o no, es decir, que no existen factores que limiten los volúmenes tratados. Esta propiedad es particularmente conveniente, pues cuando se tratan productos sanguíneos que no están en finas capas es posible evitar los fenómenos de perturbación existentes a nivel de la superficie sólido/líquido cuando se trabaja en finas capas. Por otra parte, cuando no se trabaja en finas capas es posible tratar grandes cantidades de productos sanguíneos y evitar los problemas de calentamiento y de corte de los productos tratados (BAILEY, Bioch. Fond, McGraw-Hill).

25 La longitud de onda de la emisión de rayos UVC y las dosis de irradiación pueden ser adaptadas por las personas del oficio en función de la cantidad y del tipo de productos sanguíneos que se deben tratar. Hay que advertir que cuanto más elevadas sean las dosis de irradiación recibidas por el producto sanguíneo que se debe tratar, más se asegura la desactivación de los contaminantes presentes. No obstante, a fin de reducir el fenómeno de desnaturalización del producto sanguíneo, las personas del oficio adaptarán la dosis de irradiación de la longitud de onda de la emisión de UVC de forma que se reduzca la desnaturalización y la pérdida de actividad de dichos productos sanguíneos. Esta adaptación se deberá hacer de conformidad con las normas europeas CPMP (CPMP/BWP268/95 y 269/95).

Es posible obtener una desactivación viral total de los parvovirus presentes (es decir, que ya no se puede detectar virus más allá del umbral de detección) limitando las dosis de irradiación recibidas y permitiendo una reducción de pérdida de actividad de dicho producto inferior al 10%-15%, a ser posible inferior al 5%.

35 La instalación de la invención comprende igualmente dispositivos que aseguran el aislamiento de o la separación de derivados sanguíneos a partir del equipo total.

Estos dispositivos pueden comprender medios de precipitación, de centrifugado/decantación, de filtración, de concentración, de diálisis del producto sanguíneo que se debe tratar y adaptables por las personas del oficio en función de los productos sanguíneos separados y tratados.

A ser posible, el producto sanguíneo, puesto en contacto con los rayos ultravioleta C, se dispone en un tubo de cuarzo o en un material polimerizado y generalmente no absorbente en la zona de longitud de onda emitida por los rayos ultravioleta C. La instalación puede constar así mismo de un dispositivo que permita el añadido al producto sanguíneo de un agente protector contra los radicales libres susceptibles de ser generados por los rayos ultravioleta. Dichos agentes pueden consistir en vitaminas como el ascorbato de sodio, el glutatión u otros productos (SOD) bien conocidos a las personas del oficio. Además, la instalación puede constar así mismo de un dispositivo que permita el añadido al producto sanguíneo de diferentes compuestos químicos susceptibles de desactivar ciertos contaminantes presentes en el producto químico que se debe tratar. Es preferible que estos compuestos sean productos que se vuelvan activos bajo irradiación ultravioleta y sean susceptibles de combinarse con el proceso de desactivación viral a fin de obtener un efecto sinérgico sobre otros contaminantes presentes en dicho producto sanguíneo. No obstante, es importante advertir que, contrariamente a las técnicas que utilizan rayos UV penetrantes que se aplican sobre todo a los productos sanguíneos presentados en finas capas, es posible, según la invención, tratar un producto sanguíneo sin recurrir a la aplicación de finas capas y sin añadir aditivos tóxicos de desactivación viral.

La presente invención se describe de manera más detallada en los siguientes ejemplos no excluyentes con referencia a las figuras adjuntas.

### 60 Breve descripción de las figuras

Las figuras 1 y 2 representan ejemplos esquemáticos de instalación según la presente invención.

65 La figura 3 representa un detalle esquemático de la instalación según la presente invención,

La figura 4 representa el porcentaje de la actividad conservada del factor VIII medida en un medio cromógeno en función de dosis de irradiación crecientes de rayos ultravioleta recibidas por el factor VIII.

## ES 2 290 957 T3

La figura 5 representa la titulación del parvovirus MVMP inoculado en una solución de factor VIII tratada con dosis de irradiación en rayos ultravioleta crecientes, siendo las dosis de irradiación las dosis recibidas. Esta medida se representa igualmente dando los valores logarítmicos.

### 5 Descripción de una forma de ejecución elegida de la invención

En las figuras 1 a 3 se representa una instalación para la preparación de un producto sanguíneo según la invención.

Esta instalación 1 consta de dispositivos (2, 3) que aseguran especialmente la precipitación, la centrifugación/de-  
cantación, la filtración, la concentración y la diálisis de productos sanguíneos como el factor VIII o el fibrinógeno, y  
adaptables por las personas del oficio en función de otro derivado sanguíneo tratado.

Esta instalación consta igualmente del dispositivo 4, que asegura mediante un tratamiento físico la desactivación  
viral de dicho producto sanguíneo.

El producto sanguíneo es conducido por una bomba en un tubo de cuarzo hacia el dispositivo 4.

Este dispositivo consta de una lámpara de rayos UV 7, a ser posible de tipo tubo UV de desinfección, de la que el  
90% de emisión se efectúa entre 230 y 270 nm, a ser posible en una longitud de onda del orden de 254 nm, estando  
montada esta lámpara en un recinto reflectante 8, cilíndrico o no, que reenvía la radiación hacia el tubo de cuarzo 6  
dispuesto al nivel del foco del recinto reflectante 8.

En el dispositivo no es posible ningún contacto entre el producto que circula por el tubo de cuarzo 6 y la lámpara  
de rayos UV 7.

Un sistema de turbulencia, por ejemplo un deflector o una inyección de nitrógeno, permite mantener un flujo  
homogéneo en el tubo de cuarzo 6.

La instalación consta igualmente de una bomba 5 y de un medidor de caudal 11 que permiten controlar el caudal  
del producto sanguíneo que se debe tratar y modular el tiempo de paso del producto sanguíneo por delante de la  
lámpara de rayos UV 7.

Por otra parte, el dispositivo puede constar de uno o varios filtros 9 dispuestos entre el tubo de cuarzo 6 y la lámpara  
de rayos UV 7. La elección adecuada de los filtros permite modular las dosis de irradiación recibidas por el producto  
sanguíneo que se debe tratar y la selección específica de las longitudes onda emitidas. Es igualmente posible modular  
las dosis de irradiación recibidas por el producto sanguíneo que se debe tratar adaptando la elección de la lámpara de  
rayos UV utilizada (se puede utilizar diferentes potencias de lámpara), seleccionando los filtros utilizados y adaptando  
el caudal del producto sanguíneo que pasa por delante de la lámpara. Las personas del oficio pueden adaptar estas  
modificaciones en función de la cantidad y del tipo de producto sanguíneo tratado. Además, un sistema de control 10  
de la cantidad de rayos ultravioleta C que irradia el tubo de cuarzo 6 (y por lo tanto la dosis de irradiación recibida por  
el producto sanguíneo) se halla situado al lado opuesto con relación a la lámpara de rayos UV 7.

Este sistema de control consta, como aparece representado en las figuras, de uno o varios captores 12 dispuestos  
convenientemente a cada lado del tubo de cuarzo 6 y eventualmente a cada lado del filtro 9, de forma que las personas  
del oficio puedan adaptar el caudal del flujo del producto sanguíneo en función del tipo de producto sanguíneo que se  
debe tratar y en función de las dosis de irradiación emitidas por la lámpara de rayos UV 7.

El tiempo de residencia del producto sanguíneo puede ajustarse para obtener una dosis constante de irradiación.  
El diámetro del tubo puede adaptarse al volumen que se debe tratar, así como la potencia o la longitud de la lámpara  
de desinfección. La temperatura se controla y registra tanto en el interior del dispositivo como en el líquido (producto  
sanguíneo).

La instalación según la invención y el dispositivo pueden constar igualmente de medios de control de la temperatura  
de los productos sanguíneos, los cuales pueden consistir en medios de refrigeración, como un dispositivo refrigerador  
o un ventilador.

Es conveniente que los diferentes materiales utilizados en el dispositivo y la instalación según la invención sean  
productos esencialmente desechables, como el inox 316L, el teflón, . . . que se atienen a las buenas prácticas de  
producción farmacéutica (GMP) y que pueden recibir tratamiento sanitario en el lugar mismo.

Es conveniente que el dispositivo de desactivación viral por rayos ultravioleta C se halle dispuesto más abajo del  
proceso de tratamiento y de separación general de un producto sanguíneo, por ejemplo antes de la filtración esteriliza-  
dora o después de la ultrafiltración del producto sanguíneo. La simplicidad y el poco estorbo que supone el dispositivo  
móvil permite de forma conveniente su utilización para la desactivación de cualquier tipo de producto sanguíneo sin  
modificar de manera excesiva una instalación de preparación, de purificación o de separación de productos sanguíneos.

El dispositivo y la instalación según la invención pueden hacerse de una sola pieza o en módulos móviles yuxta-  
puestos dispuestos en serie. Las dosis de irradiación recibidas por el producto sanguíneo son especialmente débiles

## ES 2 290 957 T3

y oscilan entre 10 y 2.000 julios/m<sup>2</sup>, a ser posible del orden de 230 a 400 julios/m<sup>2</sup>. De manera inesperada, se ha descubierto que estas dosis de irradiación bastan para obtener la desactivación viral buscada.

5 Es conveniente que la potencia de la lámpara ultravioleta se halle comprendida entre 4 y 132 W, a ser posible entre 8 y 60 vatios, de forma que se respete la integridad de los productos tratados. Debe observarse que, a causa del proceso de desactivación viral, la actividad del producto sanguíneo (en especial los factores de coagulación, el fibrinógeno o las inmunoglobinas) apenas resulta afectada (la actividad se reduce en una media de menos del 5%).

10 Es conveniente que la lámpara de rayos UV utilizada en la instalación según la invención sea de tipo SPA<sup>®</sup>, a ser posible la fabricada por la compañía AQUAFIN VALENCIA (California, E.E.U.U.).

En los ejemplos siguientes, se dan diferentes medidas de desactivación viral obtenidas en muestras de productos sanguíneos infectados por parvovirus y otros virus sin cubierta.

15 Ejemplo

### 1. Material y Métodos

20 A causa de los problemas que plantea el empleo de ciertos parvovirus humanos y de los problemas de cultivo *in vitro* de dichos parvovirus, en particular el parvovirus B19, se utiliza el parvovirus Murino MVMP, de dimensión y configuración muy parecidas, como modelo para la puesta a punto de métodos que permiten la desactivación del parvovirus B19. Se ha elegido el parvovirus Murino MVMP porque este tipo de parvovirus es menos sensible que el parvovirus B19 a la desactivación por rayos ultravioleta o por modificación de temperatura.

25 Las pruebas son comparables a la desactivación de un virus de RNA sin cubierta.

30 La EMC (Encefalomiocarditis) es un miembro de la familia de las Picornaviridae, cuya desactivación ha sido estudiada como modelo de virus de RNA sin cubierta. El virus EMC es un virus Murino utilizable como modelo de contaminación por el virus de la hepatitis A en el ser humano. 10<sup>6</sup> pfu/ml para EMC y 10<sup>12</sup> pfu/ml para MVMP se inoculan en diferentes muestras de producto sanguíneo (crioprecipitado, factor VIII o inmunoglobinas).

### Medida de la titulación del virus activo

35 El índice de reducción de los virus se ha determinado según las recomendaciones de las Comunidades Europeas (EEC Regulatory Document not for guidance [*Documento de regulación no orientativo*], Biologicals 1991, 19, pág. 251) y se ha expresado en reducción logarítmica. La medición de la titulación puede realizarse según los métodos descritos por Tattersall, P. (J. Virol. 10, pág. 586-590 (1972)) y por Russell, S.J. *et al.* (J. Virol. 66, pág. 2821-2828 (1992)).

40 La titulación se efectúa con la hibridación *in situ* de los centros infecciosos (centros replicativos), mediante la utilización de una sonda marcada de forma radioactiva. La detección se realiza en filtros de nitrocelulosa. La determinación del título de virus puede hacerse por halo o por dilución límite (TCID<sub>50</sub>-método de Sperman-Kärber).

45 Los productos sanguíneos tratados mediante este proceso son un crioprecipitado de plasma, factor VIII, previamente tratado o no mediante el añadido de solvente/detergente, fibrinógeno e inmunoglobinas.

### 3. Resultados

50 El proceso (cada etapa) e instalación de la invención se ajustan a las exigencias de las validaciones exigidas por las autoridades de la Unión Europea (CPMP/BWP/268/95 y CPMP/BWP/269/95, en vigor desde el 14 de agosto y el 13 de septiembre de 1996 (incorporadas aquí como referencia)). De conformidad con las recomendaciones de dichas autoridades (§ 5.2.1 (1) (CPMP/BWP/269/95, el proceso e instalación de la invención constan al menos de una etapa operativa de tratamiento eficaz contra los virus sin cubierta, en particular el parvovirus B19 (§ 5.2.1 (iii)). La invención cumple en particular con las actuales exigencias de desactivación, a saber, reducción de 5 a 9 log (véase Anexo I (CPMP/BWP/269/95), es decir, que es posible eliminar todos los virus inoculados. En efecto, los inventores no han observado tras el tratamiento ninguna multiplicación de virus más allá del umbral límite de detección.

60 Como se indica en la figura 4, dosis crecientes de rayos ultravioletas provocan la desactivación de los derivados sanguíneos como el factor VIII. No obstante, los inventores han descubierto de manera inesperada que es posible obtener la desactivación de los parvovirus por irradiación mediante rayos ultravioleta C de los virus inoculados en las soluciones que contienen el factor VIII limitando las dosis de irradiación sin afectar de manera importante la actividad de los derivados sanguíneos (véase figura 5).

65 En la tabla I más abajo, se observa una reducción logarítmica (log<sub>10</sub>) de los virus inoculados en un compuesto que comprende inmunoglobinas. Estos valores de reducción logarítmica son dados por dosis crecientes de irradiación mediante rayos ultravioleta C recibidas por dichas inmunoglobinas.

TABLA I

Reducción logarítmica ( $\log_{10}$ )						
Tipo de virus	Dosis (julios/m <sup>2</sup> )					
	60	120	180	240	600	1000
<b>MVMp</b>	3.08	4.73	5.60	6.33	n.d.	n.d.
<b>EMC</b>	1.53	3.04	3.84	4.49	5.07	n.d.

La concentración de inmunoglobinas en la solución es de 2 mg/ml.

Con los demás productos sanguíneos tratados se obtiene resultados similares.

#### Referencias citadas en la descripción

*Esta lista de referencias citadas por el solicitante es sólo para comodidad del lector y no forma parte del documento de la patente europea. Aunque se ha tenido mucho cuidado al recopilar las referencias, no se puede excluir errores u omisiones y la Oficina Europea de Patentes declina toda responsabilidad a este respecto.*

#### Documentos de Patentes citados en la descripción

- WO 9500631 A
- WO 9428120 A
- WO 9403054 A

#### Literatura no de patentes citada en la descripción

- Desinfection, Sterilization and Preservation. Handbook of Parvoviruses. (*Desifeción, esterilización y conservación. Manual de parvovirus*) Lea & Febiger, vol. 1, 1-30

- Y. LAURIAU *et al.* 1er congrés de la Société Française de Transfusion, 1994 (1<sup>er</sup> congreso de la Sociedad Francesa de Transfusión)

- Sterilization By Ultraviolet Irradiation (Esterilización por rayos ultravioleta).

- HART H. *et al.* *Vox Sang*, 1993, vol. 64, 82-88.

- CHIN S. *et al.* *Blood*, (Sangre), 11 Décembre 1995, vol. 86, 4331-4336.

- MARX G. *et al.* *Photochemistry and Photobiology*, (Fotoquímica y Fotobiología) 1996, vol. 63 (11), 541-546.

- BAILEY. Bioch. Fond. (Fundamentos de Bioquímica) *McGraw-Hill*.

- Biologicals (Temas de Biología), 1991, vol. 19, 251

- TATTERSALL P. J. *J. Virol.*, 1972, vol. 10, 586-590

- RUSSELL S. J. *et al.* *J. Virol.*, 1992, vol. 66, 2821-2828.

## ES 2 290 957 T3

### REIVINDICACIONES

5 1. Instalación para la preparación de un producto sanguíneo que comprende un dispositivo que asegura una desactivación viral física, dispositivo que consta de:

- un emisor de rayos ultravioleta de tipo C (UVC),
- 10 - un tubo de cuarzo o de material polimerizado que no permite la absorción de los rayos ultravioleta de tipo C, y que permite, mediante un sistema de turbulencia, mantener un flujo homogéneo del producto sanguíneo que circula por dicho tubo, cuyo diámetro se halla adaptado al volumen que se debe tratar con el fin de que los productos sanguíneos no estén en finas capas para evitar los fenómenos de perturbaciones a nivel de la superficie sólida/líquida de este tubo.
- 15 - un recinto reflectante que reenvía los rayos ultravioleta de tipo C hacia el producto sanguíneo que se debe tratar.

2. Instalación según la reivindicación 1, **caracterizada** porque el dispositivo comprende un sistema de control de la dosis de rayos ultravioleta C que irradia el producto sanguíneo que se debe tratar.

20 3. Instalación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, **caracterizada** porque el dispositivo comprende un sistema de control de la temperatura del producto sanguíneo que se debe tratar.

25 4. Instalación según la reivindicación 3, **caracterizada** porque la temperatura se halla controlada y registrada tanto en el interior del dispositivo como en el producto sanguíneo que se debe tratar,

5. Instalación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizada** porque los rayos ultravioleta de tipo C tienen una longitud de onda comprendida entre 250 y 270 nm, a ser posible una longitud de onda de 254 nm.

30 6. Instalación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, **caracterizada** porque la instalación está hecha de una sola pieza o en módulos móviles yuxtapuestos dispuestos en serie.

35 7. Utilización de una instalación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para la desactivación viral de virus sin cubierta presentes en un producto sanguíneo.

40

45

50

55

60

65

70

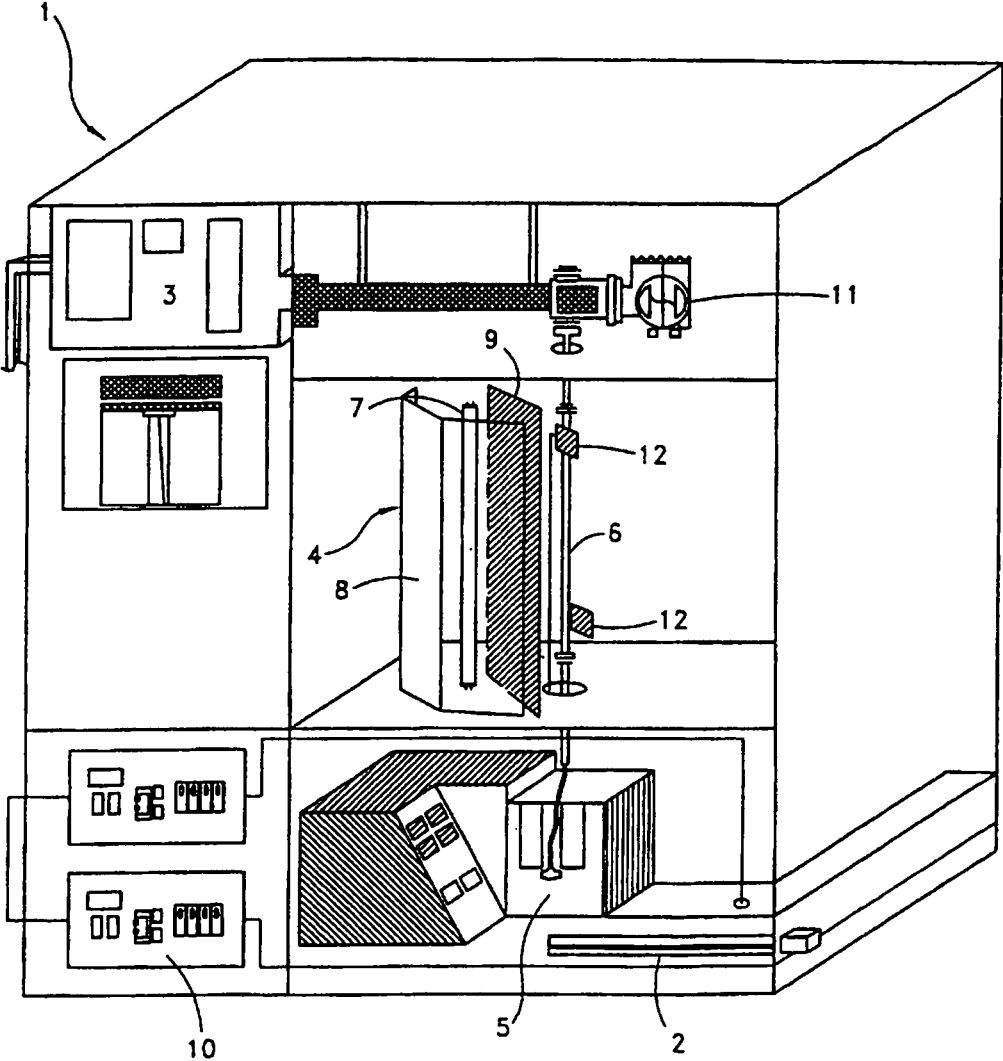
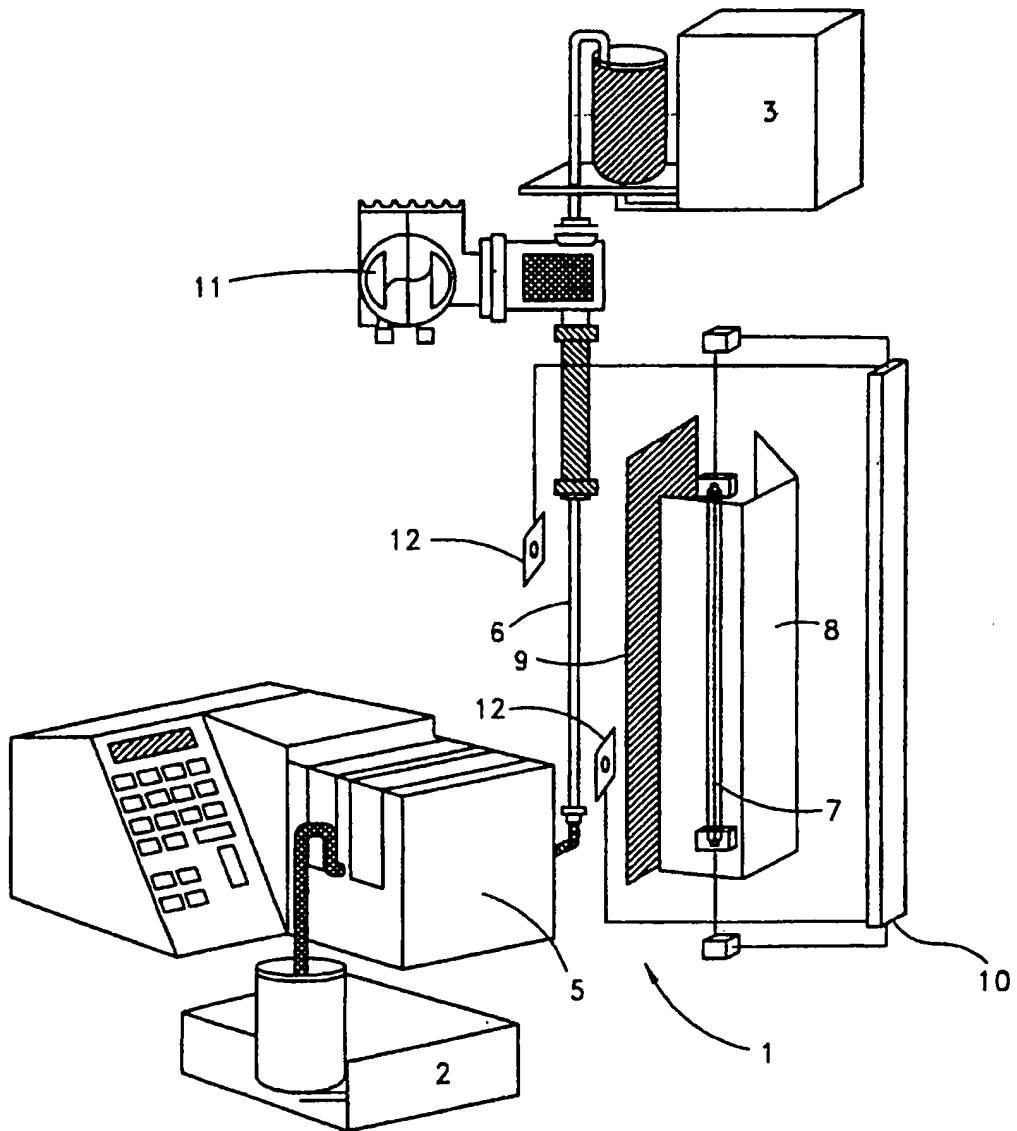


Fig. 1



*Fig. 2*

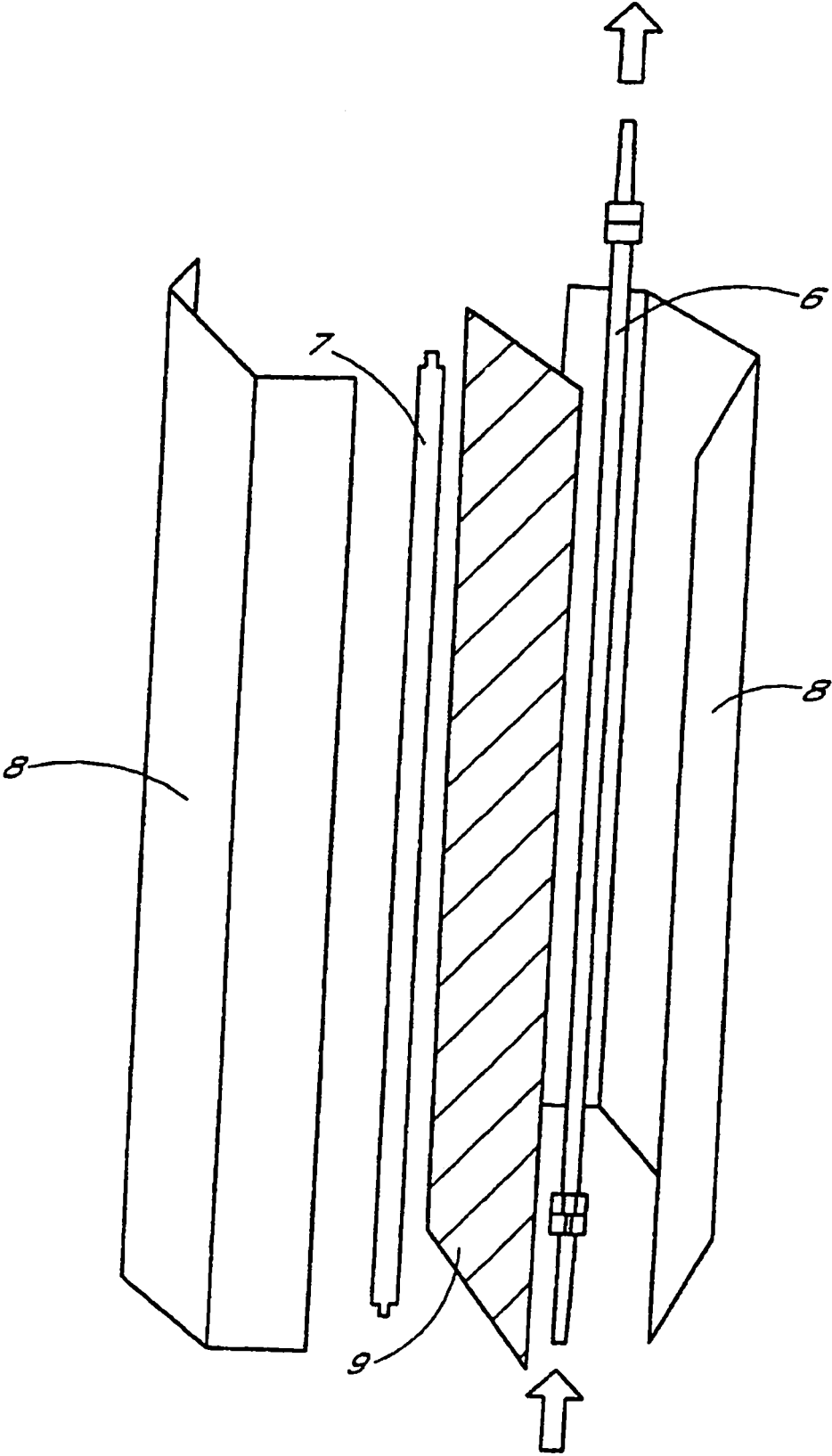


FIG. 3

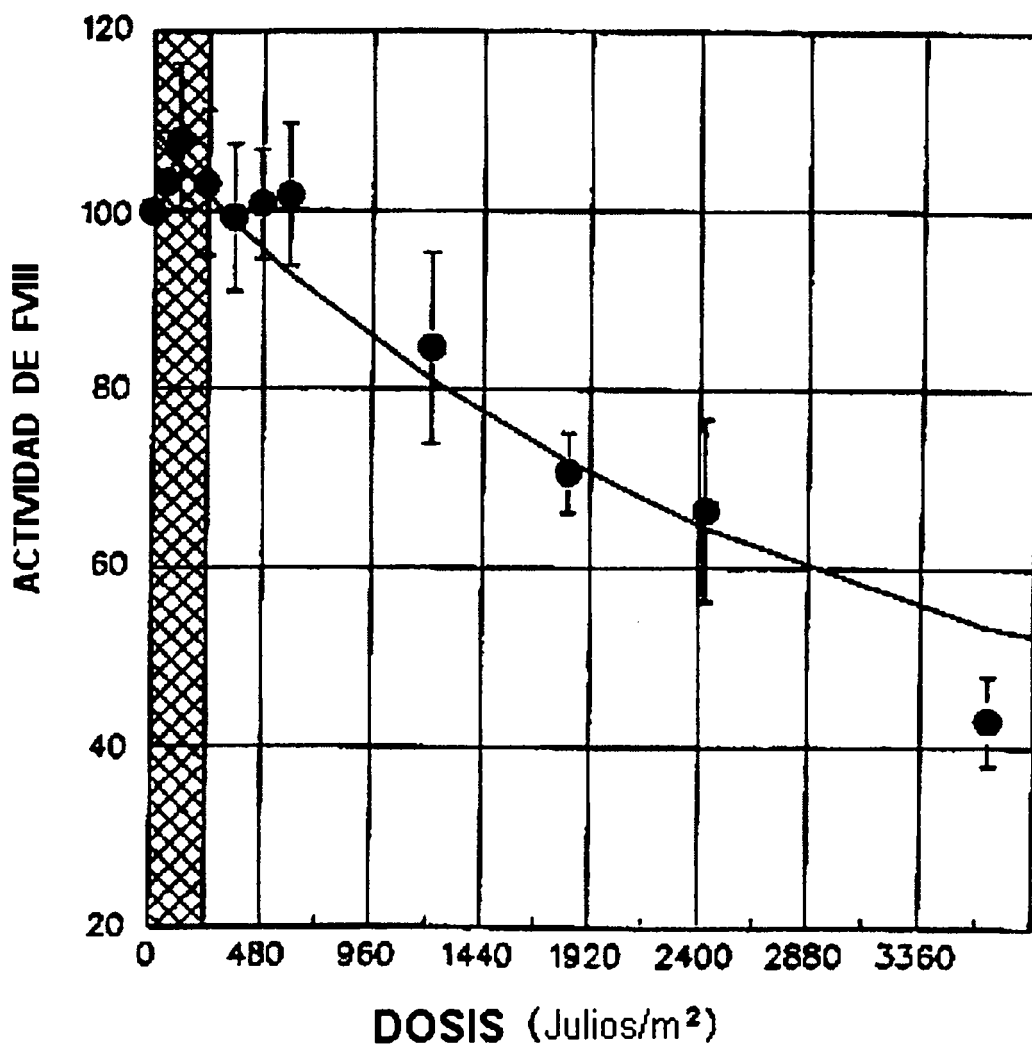


FIG. 4

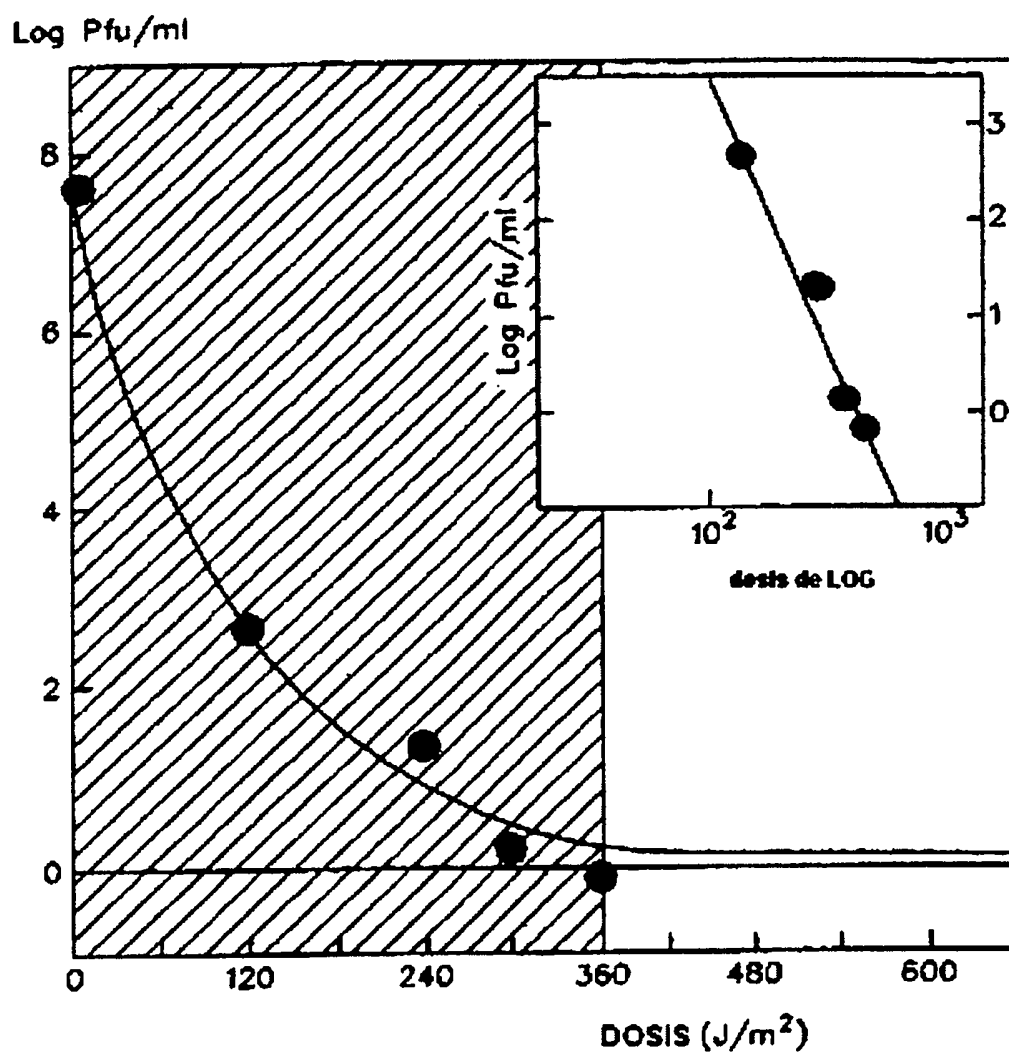


FIG. 5