



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 274 565**

51 Int. Cl.:

G01N 21/07 (2006.01)

G01N 21/47 (2006.01)

B04B 5/04 (2006.01)

B04B 11/04 (2006.01)

B04B 13/00 (2006.01)

A61M 1/36 (2006.01)

G01N 33/49 (2006.01)

B01D 21/26 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **98904527 .3**

86 Fecha de presentación : **08.01.1998**

87 Número de publicación de la solicitud: **0951642**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **27.10.1999**

54 Título: **Aparato y procedimientos para la preparación de soluciones de un componente de sangre o plasma de concentración conocida.**

30 Prioridad: **08.01.1997 US 34060**
09.06.1997 US 49014

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.05.2007

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.05.2007

73 Titular/es: **Bristol-Myers Squibb Company**
100 Headquarters Park Drive
Skillman, New Jersey 08558, US

72 Inventor/es: **Holm, Niels, Erik y**
Jorgensen, Glenn, A.

74 Agente: **Carpintero López, Francisco**

ES 2 274 565 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

Aparato y procedimientos para la preparación de soluciones de un componente de sangre o plasma de concentración conocida.

5

Campo de la invención

La invención se refiere a un aparato y a procedimientos de separación de componentes, por ejemplo, un monómero de fibrina de la sangre o plasma. La invención se refiere además a un tipo de aparato y de procedimientos donde la concentración de una solución resultante de dicho componente se puede determinar o controlar usando sensores, por ejemplo, sensores ópticos.

10

Antecedentes de la invención

El documento WO 96/16714 revela un recipiente de separación de un componente de la sangre o de plasma, por ejemplo, monómero de fibrina de la sangre o del plasma por medio de un centrifugado alrededor de un eje vertical. Este recipiente comprende una primera cámara anular definida por una pared cilíndrica exterior y una pared cilíndrica interior, extendiéndose ambas paredes coaxialmente alrededor de un eje común, así como por una pared superior y una pared inferior, donde la pared inferior está formada por un pistón desplazable dentro de la primera cámara. El recipiente comprende además una segunda cámara ubicada debajo de la primera cámara y que comunica con la primera cámara a través de un primer conducto. La segunda cámara está definida por la pared cilíndrica exterior, la pared inferior de la primera cámara y por una segunda pared inferior. Esta segunda cámara sirve de cámara de reacción para la recepción de plasma y el tratamiento del plasma para obtener el componente deseado. Por ejemplo, el tratamiento del fibrinógeno del plasma con trombina o con una enzima similar a la trombina convierte el fibrinógeno en monómero de fibrina que se polimeriza espontáneamente y da lugar a un polímero de fibrina no reticulado. Poniendo este recipiente en una centrifugadora, por la reacción antes descrita se logra que el polímero de fibrina no reticulado se separe del plasma y que se deposite sobre una pared exterior de la cámara de reacción durante el centrifugado. Cuando se acciona posteriormente el pistón, el plasma restante se retira de la cámara de reacción. A continuación, se añade un disolvente para disolver el polímero de fibrina no reticulado depositado y para formar la solución de polímero de fibrina deseada. Como se describe en detalle en el documento EP 592242 esta solución de monómero de fibrina es extremadamente útil, por ejemplo, en procedimientos de sellado con fibrina. Si desea utilizar dispositivos como los descritos en los documentos U.S. 5.603.845, WO 96/16713, WO 96/16714 y WO 96/16715 para preparar productos de sangre tales como los componentes sellantes de fibrina inmediatamente en el momento de una cirugía para poder utilizar sangre autóloga. También puede ser deseable desde la perspectiva de un cirujano utilizar productos sellantes que sean relativamente uniformes de un procedimiento a otro. Sin embargo, esto es casi imposible en productos recién preparados puesto que la concentración de fibrinógeno en la sangre humana de poblaciones de pacientes humanos puede variar en \pm el 300% y los componentes sellantes recién preparados de fuentes individuales también puede variar. La mayoría de los humanos tienen niveles de fibrinógeno entre 2 y 6 mg/ml de plasma y algunos humanos pueden tener un nivel tan bajo como 1 mg/ml y algunos tanto como 10 mg/ml (fibrinógeno en plasma).

15

20

25

30

35

40

Breve descripción de la invención

El objetivo de la invención es proveer un aparato que permita un control del suministro de disolvente en respuesta a la cantidad de una forma polimerizada de un componente deseado presente en la cámara de reacción.

45

Para satisfacer el objetivo anterior se provee un aparato que, de acuerdo con la invención, comprende un dispositivo de medición para medir la cantidad del depósito del componente polimerizado sobre la pared exterior, así como una unidad de control para controlar la adición de disolvente en respuesta a dicha cantidad de componente.

50

El dispositivo de medición, de acuerdo con la invención, puede estar adaptado beneficiosamente para medir continuamente la cantidad de la forma polimerizada del componente deseado en sangre o plasma al menos inmediatamente antes y durante la adición del disolvente.

55

De acuerdo con una realización particular, el dispositivo de medición puede ser, de acuerdo con la invención, un dispositivo óptico y este dispositivo óptico puede ser, de acuerdo con la invención, un fotómetro.

Breve descripción del dibujo

60

A continuación, se describe la invención con mayor detalle haciendo referencia al dibujo adjunto, en el que

La figura 1 es una vista axial de una sección de un recipiente de separación de monómero de fibrina del plasma sanguíneo,

65

La figura 2 es una vista esquemática de un aparato de acuerdo con la invención durante la manipulación de un recipiente del tipo mostrado en la Figura 1,

La figura 2a es una segunda vista esquemática de un aparato de acuerdo con la presente invención, y

La figura 3 ilustra una representación gráfica que muestra las mediciones de un fotómetro a lo largo de un tiempo.

Descripción de una realización preferida de la presente invención

5 La presente invención provee un aparato y procedimientos de preparación de soluciones de componente de sangre o de plasma de concentraciones conocidas o controladas. Esta provee la posibilidad única de preparar dichas soluciones en una unidad de centrifugado automática durante 30 minutos de manera que se pueden utilizar componentes preparados recientemente y, preferiblemente, autólogos. El posible inconveniente del uso de soluciones o componentes preparados recientemente, es decir, el hecho de que los niveles de componente puedan variar de un paciente a otro, está superado en la presente invención. No solamente se puede determinar la concentración de una solución de un componente, por ejemplo, solución de monómero de fibrina, sino también, en respuesta a esta determinación, se puede controlar la cantidad de disolvente o tampón usado para hacer la solución de manera que se puede preparar cualquier concentración deseada.

15 Esencialmente, el procedimiento y el aparato implican la introducción de sangre o plasma en un recipiente que tiene una pared transmisora de la luz y que permite una reacción que da lugar a una forma polimerizada del componente que se deposita en la pared. Una lectura óptica de la diferencia en transmisión de luz a través de la pared solamente y a través de la pared con polímero sobre ella puede estar relacionada con la cantidad total del componente en la muestra de sangre o de plasma. Usados de esta manera, los presentes aparato y procedimientos son útiles para determinar la concentración del componente en la sangre o en el plasma. Además, conociendo la cantidad de disolvente o tampón usada para solubilizar el componente polimerizado y obtener la solución del componente deseado, se consigue fácilmente la concentración de la solución resultante. Además, cuando se hace la determinación óptica de la concentración del componente en sangre o plasma (o la determinación de la cantidad de componente polimerizado), este dato se puede usar para controlar la cantidad de tampón o de disolvente usado para solubilizar el polímero y preparar soluciones con la concentración deseada. Más aún, cuando el tampón o disolvente se usa también para que las soluciones resultantes sean de un pH con un valor o gama de valores determinado, se pueden emplear los límites mínimo y máximo de la cantidad de tampón o disolvente usado. Por ejemplo, cuando una fracción de plasma se somete a reacción para formar polímero de fibrina y se usa un tampón de acetato con pH 4 para solubilizar el polímero y formar una solución deseada de monómero de fibrina, se pueden programar las cantidades mínima y máxima de tampón en el procedimiento y en el aparato para mantener el pH resultante dentro de límites deseados, por ejemplo, 4,0-4,5. Por supuesto que esto introduce algunas limitaciones en la posibilidad de hacer soluciones de concentración constante de fuentes de sangre con niveles de fibrinógeno que varíen entre $\pm 300\%$ como en la población humana. Incluso teniendo en cuenta esta limitación los presentes procedimientos pueden proporcionar soluciones monoméricas de aproximadamente $20 \text{ mg/ml} \pm 25\%$ manteniendo al mismo tiempo el valor del pH entre 4,0-4,5. Esto representa un incremento notable de 10 veces en la reproductibilidad de una solución de monómero de fibrina preparada recientemente o autóloga. También es importante advertir que los presentes aparato y procedimientos de detección óptica se utilizan para determinar cantidades/concentraciones de componentes en un recipiente que gira a altas velocidades, por ejemplo, hasta 9000-10,000 RPM en lugar de tomar las mediciones ópticas en una posición fija. Fue sorprendente que el resultado fueran dichos datos precisos y reproducibles. De hecho, se estima que se obtiene una lectura más precisa, ya que el movimiento rápido del recipiente proporciona más que un promedio del material presente. A lo largo de esta solicitud se describe la presente invención en cuanto a realizaciones preferidas, por ejemplo, aparato, recipientes y procedimientos preferidos útiles para preparar soluciones de monómero de fibrina en sangre o en plasma entera. Sin embargo, sería entendido fácilmente por los expertos en la técnica que se podrían preparar o extraer también otros componentes de la sangre o plasma usando los procedimientos generales descritos en el presente.

45 El recipiente de la figura 1 es conocido por el anterior documento WO 96/16714 y está construido de partes que presentan sustancialmente simetría en la rotación lo que implica que el recipiente se puede colocar en un aparato de centrifugado, mostrado en la figura 2, para ser centrifugado alrededor de un eje 1 central. Preferiblemente, el recipiente es de un material plástico de calidad médica y se prefiere material de policarbonato. Por supuesto, el material debe ser transmisor de luz de la gama de longitudes de onda concordante con el sensor óptico utilizado. El recipiente comprende una parte 2 externa del recipiente y una parte 3 interna del recipiente que encajan totalmente entre sí y por todas partes están adosadas estrechamente entre sí excepto en la parte en la que está provisto un canal 4 que se extiende en medio. El canal 4 está constituido por un surco conformado en la parte 5 interior del recipiente. Las dos partes 2 y 3 del recipiente comprenden sus respectivas partes inferiores 5 y 6, respectivamente, definiendo dichas partes inferiores una abertura 7 central que permite el paso de una biela 8 de pistón. Alrededor de la abertura 7, las dos partes del recipiente comprenden partes 9 y 10, respectivamente, que se extienden axialmente estrechamente próximas a la biela 8 de pistón hueco en una dirección que se aleja del interior de las partes del recipiente. La parte 2 exterior del recipiente linda con la biela de pistón hueco a lo largo de un saliente 11 corto que se extiende radialmente provisto con un entrante 12 receptor de un anillo 13 sellante.

60 Como se ilustra en la figura 1, el canal 4 continúa entre las partes interna y externa del recipiente hasta el final desde las paredes cilíndricas exteriores de dichas partes interior y exterior del recipiente, a lo largo de las partes inferiores 5 y 6 y de las partes axiales 9 y 10 de la abertura inmediatamente debajo del anillo 13 sellante de la abertura 7. La parte 10 axial de la parte 3 externa del recipiente que linda con la abertura 7 está dimensionada de manera tal que existe un paso estrecho pero libre hacia el interior de las partes 2 y 3 del recipiente alrededor de la biela 8 de pistón hueco.

La parte 2 exterior del recipiente comprende una parte cilíndrica de diámetro uniforme, compárese con la figura 1. Esta parte, vista en el dibujo, continua descendentemente hacia una parte 14 cilíndrica con un diámetro ligeramente

ES 2 274 565 T3

mayor a través de una parte 15 corta de transición que forma una superficie 16 interior troncocónica. La parte 3 interior del recipiente termina en el lugar el que la parte 15 de transición de la parte 2 exterior del recipiente continúa hacia la parte 14 cilíndrica con un diámetro mayor. El extremo inferior de la parte 3 interior del recipiente comprende una superficie 17 exterior de forma troncocónica que concuerda con la forma de la superficie 16 troncocónica del lado interior de la parte 2 exterior del recipiente. Un disco anular exterior y otro interior 19 y 20, respectivamente, están provistos inmediatamente debajo del extremo inferior de la parte 3 interior del recipiente, que termina en una superficie 18 radial. Estos discos lindan estrechamente entre sí excepto por el hecho de que definen entre sí un canal 21 que se extiende en un plano axial desde una abertura 22 central y hacia el lado interior de la parte 2 exterior del recipiente, donde el canal 21 comunica con el canal 4 entre la parte 2 exterior del recipiente y la parte 3 interior del recipiente a través de una parte 23 que se extiende axialmente. El canal 21 y la parte 23 que se extiende axialmente están provistos adecuadamente con un surco en el lado del disco 20 interior que da frente al disco 19 exterior. Los dos discos 19 y 20 están conformados con un tipo de curso oblicuo que pueden comprender sustancialmente superficies troncocónicas interior y exterior y con lo que se inclinan descendentemente hacia la abertura 22 central en una dirección que se aleja de la abertura 7 de la biela 8 de pistón hueco de la parte 2 exterior del recipiente. La figura 1 muestra también que el disco 20 interior comprende una superficie 24 radial que linda con la superficie 18 radial contigua en la parte 3 interior del recipiente. La superficie 24 radial del disco 20 interior está provista con un entrante 25 para recibir un anillo 26 sellante.

Los dos discos 19 y 20 se mantienen en posición lindando con la superficie 18 radial de la parte 3 interior del recipiente por medio de una cubierta 17 que cierra la parte 2 exterior del recipiente en la dirección descendente. Esta cubierta comprende una parte 28 en forma de manguito circunferencial 28 adaptada para lindar estrechamente con el lado interior de la parte 2 exterior del recipiente, a la que está asegurada de manera adecuada, tal como por medio de una acción de enganche a presión entre un nervio 29 circunferencial en el lado exterior del manguito 28 y un surco 30 circunferencial concordante en el lado interior de la parte 2 exterior del recipiente. Se asegura una conexión sellante por medio de un anillo 31 sellante en un entrante 32 circunferencial de la periferia exterior del disco 19 exterior. La cubierta 27 comprende además una pared 32 relativamente fina adaptada para formar la parte inferior del recipiente en la posición mostrada en la figura 1. Esta pared 32 se extiende sustancialmente a lo largo de un curso paralelo a los discos 19 y 20 exterior e interior, respectivamente, de manera tal que la pared 32 se extiende desde el lado interior del manguito en una parte contigua a los discos 19 y 20 y descendentemente hacia una parte sustancialmente al mismo nivel que el reborde 33 inferior de la parte 2 exterior del recipiente. Con el fin de reforzar esta pared 32 relativamente fina, están provistos nervios 34 radiales de refuerzo a intervalos regulares, apareciendo solo uno de dichos nervios en la figura 1. Estos nervios 34 están configurados parcialmente con una parte situada fuera de la pared 32 y parcialmente con una parte situada dentro de dicha pared 32, compárese con la figura 1. Esta parte del interior está designada con el numeral 35 de referencia y está configurada de manera tal que linda con el lado inferior del disco 19 exterior con el resultado de que ayuda a mantener los discos 19 y 20 en una posición fiable.

Un medio 36 de partición está apretado entre el disco 19 exterior y la cubierta 27. Este medio 36 de partición comprende un tramo 37 de tubo central. Este tramo de tubo está montado sobre un pasador 38 que se proyecta axialmente hacia dentro y que está conformado integralmente con un disco 39 de pared circunferencial que se extiende hacia fuera desde el tramo 37 de tubo de manera tal que inicialmente se inclina ligeramente descendentemente hacia la pared 32 de la cubierta 27 después de lo cual se extiende a lo largo de un curso axial corto para continuar hacia un curso que se extiende sustancialmente paralelo a la pared 32 de la cubierta. El disco 39 de pared termina en una periferia 40 corta que se extiende radialmente que se apoya en un reborde 41 de las partes 35 de nervio sobre la cubierta 27. Una unidad 42 de filtro anular está apretada entre la periferia 40 exterior del disco 39 de pared y el lado inferior del disco 19 exterior. Esta unidad 42 de filtro anular linda con una superficie 43 configurada sustancialmente radialmente sobre el lado exterior contiguo del disco 19 exterior.

Además, con el fin de asegurar la estabilidad del medio 36 de partición, entre el tramo 37 de tubo y el disco 39 de pared están provistos nervios radiales de refuerzo designados con el numeral 44 de referencia.

Una cápsula, designada en general con el numeral 45 de referencia, está asegurada la cubierta 27 del extremo opuesto del tramo 37 de tubo del medio 36 de partición. Esta cápsula comprende un tramo 46 de tubo alargado configurado integralmente con un disco 47 radial que porta dos discos 48 y 49 adicionales radiales y anulares. Estos discos 48 y 49 radiales están asegurados por medio de un encaje a presión sobre los respectivos lados del disco 47 fijo. Los discos 48 y 49 sueltos están albergados a su respectiva distancia del anillo 47 fijo por medio de los rebordes 50 y 51, respectivamente, circunferenciales, en el tramo 46 de tubo. Los tres discos 47, 48, y 49 tienen todos el mismo diámetro exterior y llevan montado a lo largo de sus respectivas periferias el manguito 52.

Como se ilustra en el dibujo, el disco 49 inferior linda con el extremo superior del tramo 37 de tubo del medio 36 de partición, con lo que la posición de la cápsula 45 en la dirección axial está determinada. Además, esta posición está determinada de manera tal que cuando se desplaza en la dirección axial el manguito 52 desplazable de la cápsula entra en un enganche sellante por su extremo inferior, compárese con el dibujo, con el borde 53 interior del disco 19 exterior en la abertura 22 central. En esta posición del manguito 52, existe todavía una comunicación entre el espacio interior del disco 20 interior que rodea el manguito 52 y la abertura de entrada al canal 21 entre el disco 19 exterior y el disco 20 interior. El tramo axial del manguito 52 desplazable está adaptado de manera tal que el enganche con el disco 20 exterior se produce antes de que el extremo superior del manguito 52, compárese con el dibujo, se desenganche del anillo 47 flojo durante el desplazamiento axial hacia debajo de dicho manguito 52. El diámetro interior del manguito 52 también está adaptado al diámetro exterior de la parte que se extiende axialmente del disco 39 de pared del medio

ES 2 274 565 T3

36 de partición de manera tal que un desplazamiento descendente continuado del manguito 52 hacia la cubierta 27 hace que dicho manguito 52 enganche fijamente el medio 36 de partición una vez que este se ha desenganchado del disco 19 exterior. La longitud de la parte axial del medio 36 de partición se corresponde también con la longitud axial del manguito 52 de manera tal que dicho manguito 52 en la posición inferior es recibido casi totalmente por el medio 36 de partición.

Como se ilustra en el dibujo, la biela 8 de pistón hueco comprende un pistón 55 circunferencial dentro de la parte 2 exterior del recipiente y de la parte 3 interior del recipiente, enganchando dicho pistón 55 de manera sellante el lado interior de la parte 33 interior del recipiente a través de un anillo 56 sellante.

Dentro de la biela del pistón hueco está conformado un acoplamiento Luer 57 para recibir una jeringa 58 convencional con una clavija 59 de actuación del pistón para actuar sobre el contenido de la jeringa 58. El acoplamiento 57 está conformado sustancialmente como un tramo de tubo que comunica con la abertura 61 central del pistón 55 a través de una parte 60 troncocónica. El tramo 57 de tubo está provisto con un filamento 62 que se proyecta radialmente hacia dentro para dirigir el fluido que sale de la jeringa 58 alejándolo de una vía axial y con ello rodear el tramo 46 de tubo alargado debajo del mismo hacia dentro de la cápsula 45. Este tramo 46 de tubo es de una longitud y de una dimensiones tales que puede enganchar sellantemente el tramo 57 de tubo dentro de la biela 8 de pistón hueco cuando el pistón 55 está en su posición inferior cerca de la cubierta 27. Con el fin de promover la conexión sellante anterior, el lado interior del tramo 57 de tubo está formado con un diámetro decreciente gradualmente en el extremo contiguo del pistón 55.

Un faldón 63 que se proyecta axialmente está formado integralmente con el pistón 55 alrededor de la abertura 61 central de dicho pistón. El faldón 63 está conformado con un diámetro y una longitud tales que mediante un desplazamiento adecuado del pistón puede activar el desplazamiento anterior del manguito 52 desplazable de la cápsula 45 hacia dichas posiciones en las que engancha el reborde 53 interior de la abertura 22 central por medio de los dos discos 19 y 20 seguido por un enganche del medio 36 de partición.

Un medio 64 sellante elástico con labio anular está, como se indicó, asegurado alrededor del pistón hueco en el interior de la parte superior de las partes 2 y 3 del recipiente, compárese con la figura 1. Este medio 64 sellante con labio está adaptado para prevenir un paso no deseado de fluido desde el interior de las partes 2 y 3 del recipiente al canal 4, pero permite el paso de fluido cuando se aplica una fuerza a través del pistón 55.

Como se indica en la parte superior de la figura 1, está provista una conexión a una manguera 65 a través de una abertura 66 en las partes 2 y 3, exterior e interior, respectivamente, del recipiente. Esta conexión, que es conocida y, por consiguiente, no se muestra con mayor detalle, permite, cuando se desea, una interrupción de la conexión a la manguera. Además, está provista una abertura de escape de aire con un filtro adecuado de manera convencional, por lo que ni se muestra ni se describe con mayor detalle.

Un paso 69 está provisto desde el área entre el medio 36 de partición y la cubierta 27 y hasta el final hacia arriba a través del interior del tramo 37 de tubo del medio 36 de partición y a través del interior del tramo 48 de tubo de la cápsula 45. Este paso 69 permite una transferencia de fluido a la jeringa 58 desde dicha área cuando este tramo 46 de tubo se acopla al tramo 57 de tubo en el interior de la biela 8 del pistón. El paso 66 está provisto en la parte inferior del Pasador 38 en la cubierta 27, estando conformado dicho pasador 38 con una superficie axial plana, siendo dicho pasador de sección transversal sustancialmente circular. Como consecuencia, está provisto un espacio entre el pasador y la parte contigua del lado interior del tramo 37 de tubo. Inmediatamente encima del pasador 38 está provista un área 61 donde el medio 36 de partición presenta un diámetro interior ligeramente reducido. De esta manera es posible instalar un pequeño filtro 68 inmediatamente encima de dicha área, consúltese la figura 1, con lo que el fluido debe pasar dicho filtro antes de entrar en el tramo 46 de tubo de la cápsula 45.

El recipiente descrito comprende una primera cámara 70 anular definida interiormente por el pistón 8 hueco que forma una pared 71 interior cilíndrica, y exteriormente por una pared 27 exterior cilíndrica formada por la parte 2 exterior del recipiente y por la parte 3 interior del recipiente. Cuando se encuentra en la posición de uso convencional, consúltese la figura 1, la cámara 70 anular está definida ascendentemente por una pared 73 superior formada por las partes inferiores 5 y 6, respectivamente, de la parte 2 exterior del recipiente y de la parte 3 interior del recipiente. Descendentemente, la cámara 70 anular está definida por una pared 74 inferior formada por el pistón 55. Una segunda cámara 75 está definida debajo del pistón 55, estando definida exteriormente dicha segunda cámara por la misma pared 72 exterior cilíndrica que la primera cámara 70. Descendentemente, la segunda cámara 75 está definida por una segunda pared 76 inferior formada por el disco 19 exterior y el disco 20 interior. La cápsula 45 está albergada centralmente en el interior de la segunda cámara. Una tercera cámara 77 está provista debajo de dicha segunda pared 76 inferior, y esta tercera cámara 77 está definida por el medio 36 de separación y la unidad 42 de filtro anular. Además, esta tercera cámara 77 comunica con la segunda cámara 75 a través del paso formado por la abertura 22 central del disco 19 exterior y del disco 20 interior. Finalmente, una cuarta cámara 78 está provista debajo del medio 36 de partición, estando definida dicha cuarta cámara 78 descendentemente por la pared 32 de la cubierta 27 y, además, por partes del manguito 28 de la cubierta 27 y del lado inferior del disco 19 exterior.

Como se describió anteriormente, el recipiente en cuestión es adecuado principalmente para la separación de un componente, tal como monómero de fibrina, de la sangre y, a este fin, la segunda cámara 75 y, preferiblemente, la cámara 80 superior de la cápsula 46, se llena con antelación con una enzima adecuada, que puede catalizar el

ES 2 274 565 T3

desdoblamiento de fibrinopeptidos A y/o B del fibrinógeno, es decir, convertir fibrinógeno en una fibrina, tal como batroxobina. Como se entiende del documento EP-PS N°. 592,242, se puede emplear cualquier enzima similar a trombina. Dichas enzimas incluyen la misma trombina o cualquier otro material con una actividad similar, tal como Ancrod, Acutina, Venima, Asperase, Botropase, Crotabase, Flavorxobin, Gabonase, y la preferida Batroxobina. La batroxobina se puede ligar químicamente a la biotina, que es una sustancia sintética que permite que la batroxobina sea capturada de manera conocida convencionalmente por medio de avidina en una composición de avidina-agarosa. Consecuentemente, se encuentra avidina-agarosa en la cámara 81 inferior de la cápsula. Tanto la composición de biotina-batroxobina como la composición de avidina-agarosa son de llenado relativamente fácil en las respectivas cámaras 80 y 81 dentro de la cápsula 45 antes de poner dicha cápsula dentro del dispositivo.

Finalmente, se prepara una jeringa 58, conteniendo dicha jeringa un tampón de pH 4 preparado con un acetato diluido con ácido acético. Posteriormente, la jeringa 58 se utiliza para recibir la solución de monómero de fibrina deseada.

También se puede usar otro tampón conocido de la técnica anterior. El agente tampón redisolvente puede ser cualquier solución de tampón ácido, preferiblemente las que tienen un pH entre 1 y 5. Los ejemplos adecuados incluyen ácido acético, ácido succínico, ácido glucurónico, ácido cisteico, ácido crotónico, ácido itacónico, ácido glutónico, ácido fórmico, ácido aspártico, ácido adípico, y sales de cualquiera de estos ácidos. Se prefieren el ácido succínico, el ácido aspártico, el ácido adípico, y sales del ácido acético, por ejemplo, acetato de sodio. Asimismo, la solubilización se puede llevar a cabo también con un pH neutro por medio de un agente caotrópico. Los agentes adecuados incluyen urea, bromuro de sodio, hidrócloruro de guanidina, KCNS, yoduro de potasio y bromuro de potasio. Las concentraciones y volúmenes de dicho tampón ácido o de dicho agente caotrópico son los descritos en el documento EP-PS N°. 592,242.

Durante o inmediatamente después del suministro de sangre, la biela 8 del pistón es empujada hacia el interior del recipiente hasta el momento en que el manguito 52 desplazable de la cápsula 45 se desplaza descendentemente hacia un enganche sellante en el paso hasta el final a través de la pared 76 inferior y hacia la segunda cámara 77. Como consecuencia, se abre el acceso simultáneamente a la composición de biotina-batroxobina dentro de la cámara 80 superior de la cápsula.

Cuando el recipiente está listo para su uso, se introduce una muestra de sangre en la primera cámara a través de una aguja no mostrada y de la manguera 65 de una manera conveniente, siendo mezclada preferiblemente en dicha muestra de sangre un anticoagulante también de manera convencional. Durante la introducción de la sangre a través de la manguera 65 y de la abertura 66 en el interior de la primera cámara 70, se extrae el aire de la cámara de manera convencional. Después de la introducción de la sangre se retira la manguera 65, y la abertura 66 se cierra sellantemente. Seguidamente, el recipiente con la sangre se pone en un aparato de centrifugado que, entre otras cosas asiste en la compresión de manera sellante de las diferentes partes. El aparato de centrifugado, que se describe más adelante, hace rotar el recipiente alrededor del eje 1 de rotación. Como consecuencia del centrifugado, la sangre se separa en la primera cámara 70 en una fracción de plasma que se sedimenta radialmente dentro de la parte restante de sangre, conteniendo dicha parte restante las células rojas y las blancas de la sangre. Como se describe en el documento EP-PS N°. 592,242 las plaquetas pueden estar presentes en cualquiera de las fracciones, según se desee, variando la velocidad y la duración del centrifugado.

Cuando la interfaz entre el plasma y la parte restante de la sangre ha sido estabilizada, es decir, cuando se termina la separación, la biela 8 del pistón inicia una reducción del volumen de la primera cámara 70 y, consecuentemente, el pistón 55 es extraído. Como consecuencia, primero una posible capa interior de aire pasa a través de los canales 4 y 21 hacia la segunda cámara 75 y, otro desplazamiento del pistón 55 implica que también el plasma pasa a la segunda cámara 75. El desplazamiento del pistón 55 se detiene cuando toda la capa de plasma ha sido forzada hacia dentro de la segunda cámara 75, es decir, cuando la interfaz entre la fracción de plasma y la parte restante de la sangre ha alcanzado la pared 71 interior de la primera cámara 70.

En la segunda cámara 75, la fracción de plasma se pone en contacto con la batroxobina de enzima con el resultado de que el monómero de fibrina, que se polimeriza inmediatamente en un polímero de fibrina no reticulado, se libera de la fracción de plasma. Este proceso tiene lugar mientras que el recipiente es centrifugado continuamente con el resultado de que el polímero de fibrina se separa eficientemente de la parte restante de la fracción de plasma, formándose dicho polímero de fibrina por la reacción de la composición de biotina-batroxobina y su asentamiento como una capa viscosa a lo largo de la pared 72 exterior cilíndrica. Una vez terminada esta separación, se detiene el centrifugado con lo que la parte de fluido relativamente restante de la fracción de plasma puede ser prensada de nuevo fácilmente dentro de la primera cámara 70 por el pistón 55 que primero se eleva para transferir aire de la primera cámara 70 a la segunda cámara 75 siendo comprimido seguidamente por dicho pistón en su descenso. Esta transferencia se puede llevar a cabo de manera relativamente fácil y rápida antes de que la capa viscosa con polímero de fibrina llegue a la abertura hacia el canal 21. Opcionalmente, se pueden adoptar otras medidas para prevenir que la capa viscosa llegue a la entrada del canal 21 demasiado rápidamente, tal como instalando un anillo con dientes 82 proyectados hacia arriba mostrados con trazo discontinuo en la parte inferior 76.

Una vez que la parte restante de la fracción de plasma ha sido expelida de la segunda cámara 75, el manguito 52 se desplaza más hacia abajo de manera tal que se permite el acceso a la cámara 81 inferior. Al mismo tiempo o en conexión con este desplazamiento del manguito, el obturador o pistón 59 de la jeringa 58 es presionado totalmente

ES 2 274 565 T3

hacia abajo por medio de un vástago que actúa desde el exterior de manera tal que el tampón de pH 4 es transferido a la segunda cámara 75, lo que se puede hacer mientras que se inicia una agitación centrífuga. La adición del tampón de pH 4 permite que el polímero de fibrina se disuelva en su interior, y la presencia de la composición de avidina-agarosa en la cámara 81 inferior dentro de la cápsula 45 implica que la composición de biotina-batroxobina es aglutinada de manera convencional por la avidina. Un desplazamiento continuado del pistón 55 hace que el manguito 52 desplazable de la cápsula 45 enganche el medio 36 de partición 36 y desenganche la pared 76 inferior con el resultado de que se permite un acceso libre a la tercera cámara. Como consecuencia, el contenido de la segunda cámara 75 puede fluir libremente descendentemente hacia la tercera cámara 77. Preferiblemente, la redisolución se lleva a cabo durante la agitación centrífuga que implica centrifugado y una serie de movimientos de agitación de paro e inicio, adelante y atrás.

Un centrifugado continuado tiene el efecto de que la solución de monómero de fibrina se puede separar en una tercera cámara por medio de la unidad 42 de filtro anular que retiene las partículas relativamente grandes de agarosa y la batroxobina ligada a la misma. Una vez que la solución de monómero de fibrina ha pasado hacia dentro de la cuarta cámara 78 inferior como consecuencia del centrifugado anterior, dicho centrifugado se detiene y la solución de de i-fibrina se transfiere fácilmente a la jeringa 58 mediante un nuevo retroceso del pistón 59, enganchándose el extremo superior del tramo 46 de tubo de la cápsula 45 con el tramo 57 de tubo que forma la conexión con la jeringa 58.

La manipulación descrita del recipiente mostrada en la figura 1 se lleva a cabo en un aparato de centrifugado del tipo mostrada esquemáticamente en la figura 2.

El aparato mostrado en la figura 2 comprende un plato giratorio de soporte 101 que está montado rotablemente en un alojamiento, no mostrada en gran detalle, sobre un cojinete 102 de bolas. El plato giratorio de soporte 101 está formado integralmente con un eje 103 de accionamiento vertical. El eje de accionamiento está conectado por medio de un acoplamiento 104 a un motor 105 eléctrico que mantiene el plato giratorio para que siga un movimiento rotatorio alrededor de un eje de rotación vertical. Una barra 106 de activación está montada rotablemente de manera coaxial con el eje de rotación dentro del eje 103 de accionamiento del plato giratorio de soporte 101, estando conectada dicha barra 106 de activación por medio de un acoplamiento 107 a un motor 108 de vástago con un vástago 109 de manera tal que cuando el motor 108 de vástago es activado, la barra 106 de activación se puede desplazar verticalmente hacia arriba o hacia abajo para enganchar o desenganchar un recipiente 110 situado sobre el plato giratorio de soporte 101.

El recipiente 110 se dispone encima del plato giratorio de soporte, siendo dicho recipiente del tipo mostrada en la figura 1. El pistón 55 del recipiente 110 es accionado por medio de la biela 8 del pistón tubular, consulte la figura 1, que se proyecta ascendentemente desde el extremo superior del recipiente 110. La biela 8 del pistón se activa mediante de un medio 113 de sujeción que, a su vez, se active por medio de un motor 115 de vástago a través de un vástago 116 y una barra de activación (no se muestra) conectada integralmente al mismo. El vástago 116 accionado por el motor 115 activa también el pistón 59, consúltese la figura 1, de la jeringa 58 a través de dicha barra de activación.

Además, el medio 113 de sujeción está instalado rotablemente en un alojamiento 118 sobre un cojinete de bolas. El alojamiento 118 y el motor 115 de vástago están asegurados a un portador común indicado por medio de líneas de puntos con el numeral 119 de referencia. Este portador 119 está montado desplazablemente sobre un raíl 120 y es desplazado verticalmente sobre el mismo accionado por un motor 121. El motor 121 coopera por medio de un vástago de rótula con una tuerca 123 esférica asegurada inmóvilmente al aparato de manera tal que una rotación del vástago 122 de rótula por medio del motor 121 produce un desplazamiento del portador 119 y, consecuentemente, del medio 113 de sujeción a lo largo de la corredera 20.

De acuerdo con la presente invención, el aparato y los procedimientos de introducción de la cantidad de tampón de pH 4 y, consecuentemente, la activación de la jeringa 58, consúltese la figura 1, se puede realizar de acuerdo con una cantidad fija predeterminada de tampón a añadir o se puede llevar a cabo en respuesta a la cantidad de polímero de fibrina no reticulado presente en la segunda cámara 75 del recipiente 110. De acuerdo con la presente invención, la cantidad de polímero de fibrina presente en la segunda cámara 75 se mide por medio de un fotómetro 130 dispuesto inmóvilmente en el aparato en frente de la posición de la segunda cámara 75. El fotómetro comprende un dispositivo emisor de luz y un sensor de luz (no se muestran) dispuestos de manera que se puede medir la intensidad de la luz transmitida a través de la pared del recipiente. Se puede usar cualquier emisor de luz dependiendo del material de la pared. Los emisores de luz preferidos están en la gama de longitudes de onda de 400-1100 nanómetros. Se prefieren los LEDs que tienen una longitud de onda de 920 o 654 nm. El modelo SFH460 de Siemens es adecuado a este fin. Este fotómetro 130 mide la cantidad de polímero de fibrina sobre la pared exterior de la segunda cámara 75 observando el decrecimiento de la intensidad de la luz transmitida a través de la pared de la cámara con polímero sobre la misma y la compara con una lectura de referencia de la luz transmitida a través de la pared solamente. Las lecturas de la transmisión se pueden llevar a cabo continuamente al menos durante el periodo que comienza inmediatamente antes de la adición del tampón de pH 4 y que termina una vez finalizada dicha adición. Al comienzo de este periodo, se registra el espesor, y consecuentemente, la cantidad de polímero de fibrina, y sobre la base de dicho registro se determina la cantidad de tampón de pH 4 a añadir. Esta determinación de la cantidad de pH 4 se realiza en una unidad 131 de control 131 que recibe del fotómetro información sobre los valores leídos a través de un conducto 132. Seguidamente, la unidad 131 de control active el motor 115 a través de un conducto 133 para accionar el vástago 116 y, consecuentemente, la barra de activación que, a su vez, activa el pistón 59 de la jeringa 58.

ES 2 274 565 T3

En otra realización preferida ilustrada en la figura 2a, se puede ver un segundo fotómetro 130'. Como se describió anteriormente, la transmisión de luz del emisor de luz es preferiblemente continua durante el proceso de depósito del componente polimerizado del plasma/suero líquido sobre la pared de la cámara transmisora de luz. La figura 2a muestra, en sección transversal parcial, la relación entre el componente polimerizado, el líquido (plasma o suero) y el pistón 55 durante el depósito por centrifugado del componente polimerizado sobre la pared. Puesto que el líquido puede interferir con la precisión de los datos obtenidos por el primer fotómetro o 130, se sitúa el segundo fotómetro 130' en una posición en la que se prevé transmitir luz a través de la pared y del líquido, pero no a través del componente polimerizado. Una comparación de estas lecturas puede eliminar la posible interferencia del líquido en la precisión de las lecturas.

También es útil advertir que en otra realización preferida hay que modular uno o más fotómetros, 130 y 130', de manera que la parte del detector permanece encendida, mientras que el pulso de los LEDs se enciende y se apaga. De esta manera, la parte del detector de los fotómetros puede tener en cuenta la luz de fondo (y ser programada para descartarla) que puede estar próxima al presente aparato. La modulación de los LEDs se hace preferiblemente a una frecuencia no igual a, ni múltiplo de, la velocidad de rotación del centrifugado.

La figura 3 ilustra una representación gráfica de las mediciones del fotómetro a lo largo del tiempo. La representación gráfica muestra las mediciones del fotómetro desde el arranque del aparato de centrifugado hasta la terminación del suministro de tampón de pH 4 a la segunda cámara 75. La parte del gráfico de A a B muestra las mediciones cuando el pistón 55 está en una posición más baja y bloquea el paso de la señal del fotómetro. En C el pistón ha sido elevado y el fotómetro está midiendo la transmisión de luz a través del material plástico solamente del que está hecho el recipiente, mientras que la segunda cámara 75 está aún vacía. La medición en C se usa para calibrar el fotómetro y que las mediciones sucesivas tengan en cuenta la traslucidez del envase, variando dicha traslucidez de un recipiente a otro. De C a O el plasma se transfiera a la segunda cámara 75 junto con algo de aire. De D a E se elimina el aire del plasma, y la enzima, tal como la batroxobina, se libera en la segunda cámara 75. Alrededor del punto E, las mediciones también proporcionan información sobre características, tales como la concentración y la claridad de la sangre, que pueden variar de una parte de la sangre a otra. De E a D, se libera el polímero de fibrina no reticulado de la fracción de plasma. De F a G, la parte del fluido relativamente restante de la fracción de plasma es transferida a la primera cámara 70 por el aire que es extraído desde la primera cámara 70 a la segunda cámara 75 por el pistón 55 que es elevado. Seguidamente, la fracción de plasma fluida restante es transferida a la primera cámara 70 por el pistón que es descendido. Durante el último periodo se realizan más centrifugados y activaciones del pistón con el resultado de que se retira toda la fracción de plasma fluido de polímero de fibrina. En G la medición muestra el espesor del polímero de fibrina puro y con ello la cantidad de polímero de fibrina presente en la segunda cámara 75. Sobre la base de esta última medición, se determina la cantidad de tampón de pH 4 a añadir. De G a H, tiene lugar la disolución del polímero de fibrina por medio del tampón de pH 4 suministrado.

Una vez añadida la cantidad de tampón de pH 4 deseada, se detiene la activación del pistón 59 de la jeringa 58. La cantidad de tampón de pH 4 que permanece opcionalmente en la jeringa 58 no se expelle a la segunda cámara hasta más tarde, a donde es expelido inmediatamente antes de que el tramo 46 de tubo se acople a la jeringa 58 para la aspiración de la solución de monómero de fibrina de la cuarta cámara 78.

De acuerdo con la presente invención y como se expuso anteriormente, la cantidad de polímero de fibrina depositada sobre la pared se puede determinar usando un fotómetro que comprende una fuente de luz, por ejemplo, LED, láser u otro emisor de luz, y un sensor preparado para medir el decrecimiento en la transmisión de luz a través de la pared de la cámara a medida que la fibrina se deposita sobre la misma. Se puede emplear cualquier fotómetro adecuado y la gama de longitudes de onda de la fuente de luz se selecciona para que sea detectable en la variedad del material depositado y tenga en consideración el material de la pared. En el caso de un depósito de polímero de fibrina en la pared de la cámara, se ha observado que un diodo emisor de luz (IED) con una longitud de onda de 654 nm es útil. El decrecimiento en la transmisión de luz se valora tomando una lectura (R) de referencia de la transmisión de luz a través de la pared de la cámara antes del depósito de polímero de fibrina y después la medición de la transmisión de luz final (F) una vez terminado el depósito de polímero de fibrina. Una correlación entre el amortiguamiento natural de una comparación de estas intensidades de transmisión de luz y la masa de la fibrina se puede expresar como

$$\text{Masa de fibrina} = C * \ln (R/F) \quad (1)$$

donde C = un coeficiente del componente, por ejemplo, un coeficiente de la fibrina.

El coeficiente (C) de la fibrina se puede determinar experimentalmente, deteniendo el proceso y midiendo la masa de la fibrina en una serie de tomas de los valores observados de $\ln (R/F)$. Representando los momentos en los que se ha medido experimentalmente la masa de la fibrina y la intensidad de la luz transmitida en cada uno de dichos momentos, es posible definir un coeficiente de la fibrina (la pendiente de la línea representada).

Por consiguiente, los decrecimientos medidos en la transmisión de luz expresados como $\ln (R/F)$, multiplicados por el coeficiente de la fibrina, son indicativos de la cantidad de polímero de fibrina formada, y el conocimiento de una cantidad predeterminada de disolvente o tampón a usar para solubilizar el polímero de fibrina, permite determinar la concentración de la solución de monómero de fibrina resultante. Evidentemente, el coeficiente del componente tendrá

ES 2 274 565 T3

que se para diferentes procesos y diferentes componentes de la sangre o del plasma. Esta concentración se puede expresar como:

$$\text{Conc} = \frac{\text{Masa de fibrina}}{V_T} \quad (2)$$

Donde Conc es concentración, V_T es volumen total y donde $V_T = F_{\text{masa}} + BV$, donde VB es la cantidad de tampón o disolvente añadida para solubilizar la fibrina.

De acuerdo con el proceso descrito anteriormente. Se ha observado también que alguna fuente de suero y otras proteínas de la sangre o plasma puede quedar cogida en y alrededor del polímero de fibrina depositado sobre la pared. Por supuesto, la masa de la fibrina existente solo puede ser una parte pequeña de la masa de fibrina del suero depositada. Esta depende del proceso usado, es decir, puede variar de acuerdo con la velocidad (RPM) y duración del centrifugado durante el depósito del polímero de fibrina sobre la pared. Por ejemplo, en el centrifugado de plasma (obtenida de 120 ml de sangre) a aproximadamente 9000 PRM durante aproximadamente 5-10 minutos en presencia de cantidades suficientes de la enzima que convierte el fibrinógeno en fibrina, se ha observado que la masa de la fibrina existente es solamente aproximadamente el 5-10% de la masa de fibrina/suero depositada sobre la pared. En el caso en que el suero está presente, la concentración se puede expresar como:

$$\text{Conc} = \frac{\text{Masa de fibrina}}{V_S + V_B} \quad (3)$$

donde V_S = volumen de fibrina y de suero retenido en la fibrina.

Se ha determinado experimentalmente que el volumen de la fibrina + suero (V_S) tiene una relación lineal con la masa de fibrina que se puede expresar como:

$$V_S = a + b * \text{Masa de fibrina} \quad (4)$$

donde

a = volumen of suero solamente

b = volumen de fibrina por mg de fibrina + suero

Tanto (a) como (b) se pueden determinar experimentalmente representando gráficamente la masa de fibrina + suero medida en función de la masa de fibrina (a) en el eje Y y de (b) que es la pendiente de la línea trazada. Esto da la relación:

$$\text{Conc} = \frac{\text{Masa de fibrina}}{V_B + a + b * \text{Masa de fibrina}} \quad (5)$$

Sustituyendo "Masa de fibrina" de la formula (1) en la formula (5), se obtiene la siguiente expresión:

$$\text{Conc} = \frac{C * \ln(R/F)}{V_B + a + b * C \ln(R/F)} \quad (6)$$

Por lo tanto, para un proceso dado donde C, a y b han sido determinados experimentalmente, como se describió anteriormente, y donde se conoce el volumen de tampón de solubilización (V_e), se puede determinar la concentración de una solución de un componente de la sangre, por ejemplo, solución de monómero de fibrina, observando el decremento en la transmisión de luz a través de un polímero depositado del que está hecha la solución y utilizando la fórmula (6) anterior.

Dicho de otro modo, un aparato controlado por un microprocesador de acuerdo con la presente invención se puede programar con la formula y las constantes determinadas experimentalmente anteriores para un proceso dado de manera tal que las señales de las lecturas del fotómetro a través de la pared de la cámara antes y después de que dicho componente polimerizado se deposite sobre la misma permitirán que el microprocesador determine la concentración de la solución del componente polimerizado con una cantidad conocida de tampón o disolvente. Además, de acuerdo con la presente invención, se pueden facilitar medios de dispensación medida para el tampón o disolvente de manera que se pueden usar cantidades variables de tampón o disolvente para solubilizar el componente de la sangre polimerizado en la solución deseada.

ES 2 274 565 T3

De esta manera, se puede producir una solución con una concentración deseada del componente de sangre independientemente de la concentración inicial de dicho componente determinando la cantidad del componente de polímero de fibrina (y suero) depositado e introduciendo una cantidad de tampón en respuesta a esta información que dará lugar a la misma concentración de en los diferentes ensayos. Esto se logra reexpresando la fórmula (6) para determinar la cantidad de tampón (V_B) necesaria para producir una solución con la concentración (Conc) deseada como sigue:

$$V_B = C * \ln(R/F) * (1/Conc - b) - a \quad (7)$$

De esta manera, la presente invención provee un aparato y procedimientos de producción de soluciones de componentes de sangre, por ejemplo, soluciones de monómero de fibrina, a concentraciones deseadas constantes incluso cuando se parte con sangre o plasma de concentraciones iniciales variables de fibrinógeno, por ejemplo, 1-10 mg/ml, como se pueden encontrar en la población humana.

La invención ha sido descrita hacienda referencia a una realización preferida. Se puede llevar a cabo muchas modificaciones como en el fotómetro, aparato, materiales del recipiente, procedimiento y componentes deseados sin salir del ámbito de la invención, según definición de las reivindicaciones adjuntas.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento de preparación de una solución de un componente de la sangre o plasma y de determinación de la concentración de dicho componente en dicha solución, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:

a) sometimiento de la sangre o plasma en una cámara (75) de un aparato que tiene una pared (72) transmisora de luz a condiciones que catalizan la formación de una forma polimerizada de dicho componente de dicha sangre o plasma;

b) depósito de dicha forma polimerizada de dicho componente sobre dicha pared (72) transmisora de luz;

c) utilización de una comparación de las intensidades de una luz constante transmitida a través de dicha pared (72) transmisora de luz con y sin dicho componente polimerizado sobre la misma para determinar la cantidad de dicho componente polimerizado; y

d) combinación de la información obtenida en la etapa (c) con la cantidad de tampón o disolvente utilizado para solubilizar dicho componente polimerizado en dicha solución del componente de sangre o plasma para llegar a la concentración de dicho componente en dicha solución.

2. El procedimiento de la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho componente de la sangre o plasma es monómero de fibrina.

3. El procedimiento de la reivindicación 1, **caracterizado** porque la forma polimerizada de dicha masa polimérica del componente se determina a partir de dicha comparación de intensidades de transmisión de luz utilizando la fórmula:

$$\text{Masa - Polimérica} = C * \ln * (R/F)$$

donde

C = un coeficiente del componente;

R es la intensidad de la luz transmitida a través de la pared solamente; y

F es la intensidad de la luz transmitida a través de la pared más polímero.

4. El procedimiento de la reivindicación 1, **caracterizado** porque en un procedimiento constante de preparación de una solución de un componente dado el coeficiente, C, del componente es la pendiente de la representación gráfica de una masa polimérica medida en función de $\ln(R/F)$.

5. El procedimiento de la reivindicación 1, **caracterizado** además porque dicha concentración, Conc, se determina mediante la fórmula:

$$\text{Conc} = \frac{C * \ln * (R/F)}{V_B + C * \ln * (R/F)}$$

donde

V_B = Volumen del tampón o disolvente a añadir;

C = un coeficiente del componente;

R es la intensidad de la luz transmitida a través de la pared solamente; y

F es la intensidad de la luz transmitida a través de la pared más polímero.

6. El procedimiento de la reivindicación 1, **caracterizado** porque algo del suero del plasma es retenido en y alrededor del componente polimerizado.

7. El procedimiento de la reivindicación 6, **caracterizado** porque la concentración, Conc, se determina mediante la fórmula:

$$\text{Conc} = \frac{C * \ln * (R/F)}{V_a + a + b * C * \ln * (R/F)}$$

ES 2 274 565 T3

donde

V_a = Volumen del tampón o disolvente;

5 a = Volumen del suero solamente;

b = Volumen por mg de la masa del polímero/suero:

C = Coeficiente del componente;

10

R es la intensidad de la luz transmitida a través de la pared solamente; y

F es la intensidad de la luz transmitida a través de la pared más polímero.

15

8. El procedimiento de la reivindicación 1, **caracterizado** porque la cantidad de tampón o disolvente es controlada en respuesta a la determinación de la cantidad de componente polimerizado en la etapa (c) para proveer una concentración deseada de dicha solución del componente.

20

9. El procedimiento de la reivindicación 8, **caracterizado** porque la cantidad de tampón o disolvente, V_B , se puede obtener sustituyendo la concentración deseada, $Conc$, en la fórmula:

$$V_a = C * \ln * (R/F) * ((1/Conc) - b) - a$$

donde

25

a = Volumen del suero solamente;

b = Volumen por mg de la masa del polímero/suero;

30

C = Coeficiente del componente;

R es la intensidad de la luz transmitida a través de la pared solamente; y

F es la intensidad de la luz transmitida a través de la pared más polímero.

35

10. Un aparato de preparación de una solución de un componente de sangre o plasma, dicho aparato comprende medios para la determinación de dicho componente que comprenden:

40

a) medio de depósito de una forma polimerizada de dicho componente de dicha sangre o plasma sobre una pared (72) transmisora de luz de una cámara (75) de reacción de dicho aparato;

b) medio (130) óptico de determinación de la cantidad de dicho componente polimerizado depositado sobre dicha pared (72) exterior;

45

c) medio de solubilización de dicho polímero con un disolvente para proveer dicha solución de dicho componente; y

d) medio de cálculo de la concentración de dicha solución de la cantidad de componente polimerizado depositado y la cantidad de disolvente utilizado.

50

11. El aparato de la reivindicación 10, **caracterizado** porque dicho componente es un monómero de fibrina seleccionada de fibrina I, fibrina II o fibrina BB des.

12. El aparato de la reivindicación 10, **caracterizado** porque dicho medio de depósito comprende:

55

i) una cámara (75) de reacción con una pared (72) exterior, dicha cámara (75) de reacción recibe dicha sangre o plasma y la cual incluye además un reactivo para catalizar la polimerización de dicho componente de dicha sangre o plasma que incluye además medios de introducción de dicho reactivo en dicha cámara; y

60

ii) medio de rotación de dicha cámara (75) alrededor de un eje longitudinal de la misma de manera tal que cuando dicha sangre o plasma es rotada en dicha cámara (75) y es sometida a dicho reactivo, dicho componente se deposita como polímero sobre dicha pared (72) exterior.

65

13. El aparato de la reivindicación 10, **caracterizado** porque dicho medio (130) óptico comprende un fotómetro que, a su vez, comprende una o más fuentes de luz de longitud de onda constante y sensores de la misma, estando dispuestas dichas fuentes de luz en dicho aparato de manera que se puede medir la diferencia en intensidad de la luz transmitida a través de dicha pared de la cámara de reacción solamente y a través de dicha pared con componente polimerizado depositado en su interior.

ES 2 274 565 T3

14. El aparato de la reivindicación 12, **caracterizado** porque dicho fotómetro (130) está en comunicación de señales con un medio (131) de control que mide la cantidad de dicho disolvente utilizado para solubilizar dicho componente de manera que se produce una solución con la concentración deseada.

5

10

15

20

25

30

35

40

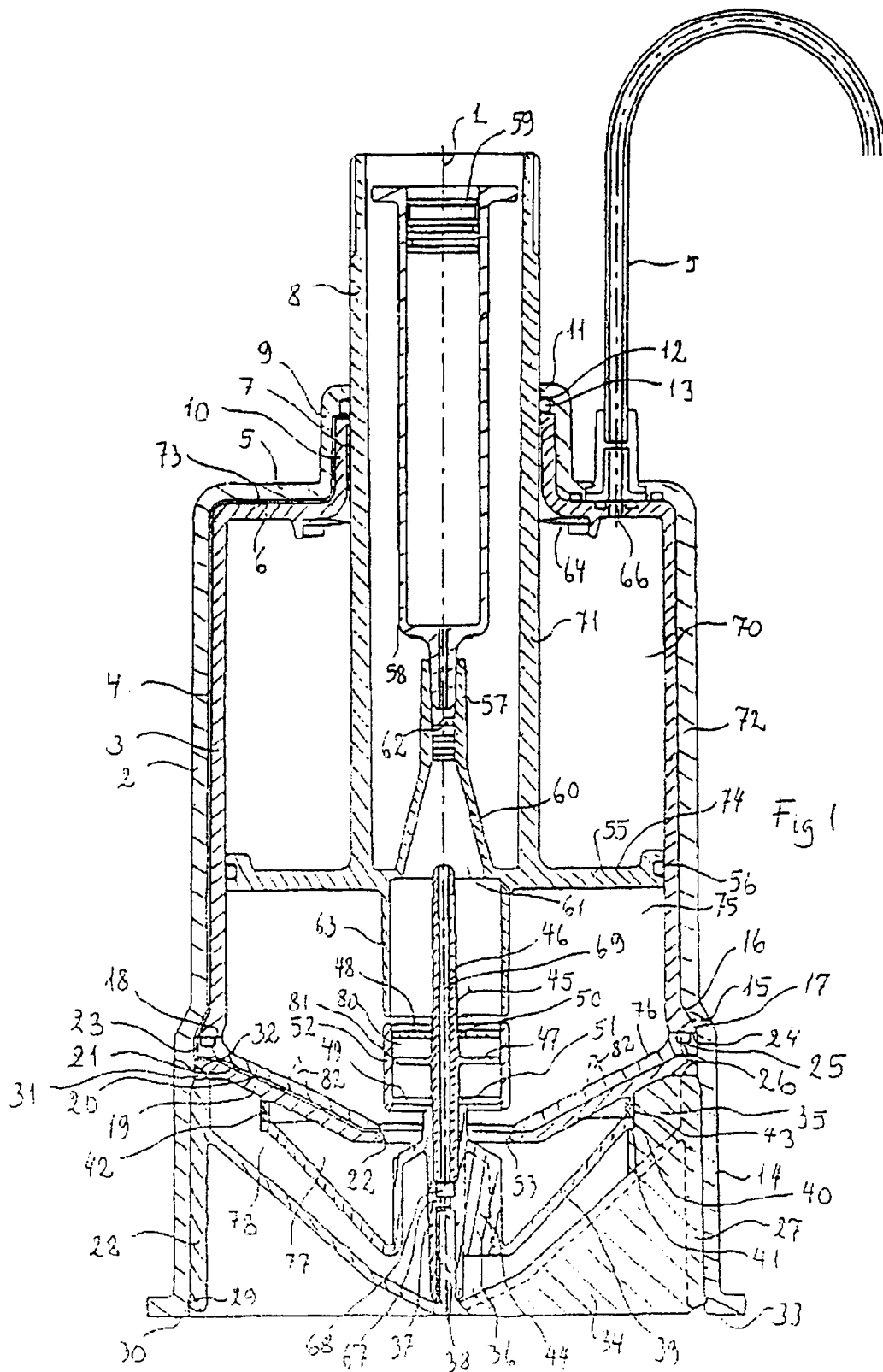
45

50

55

60

65



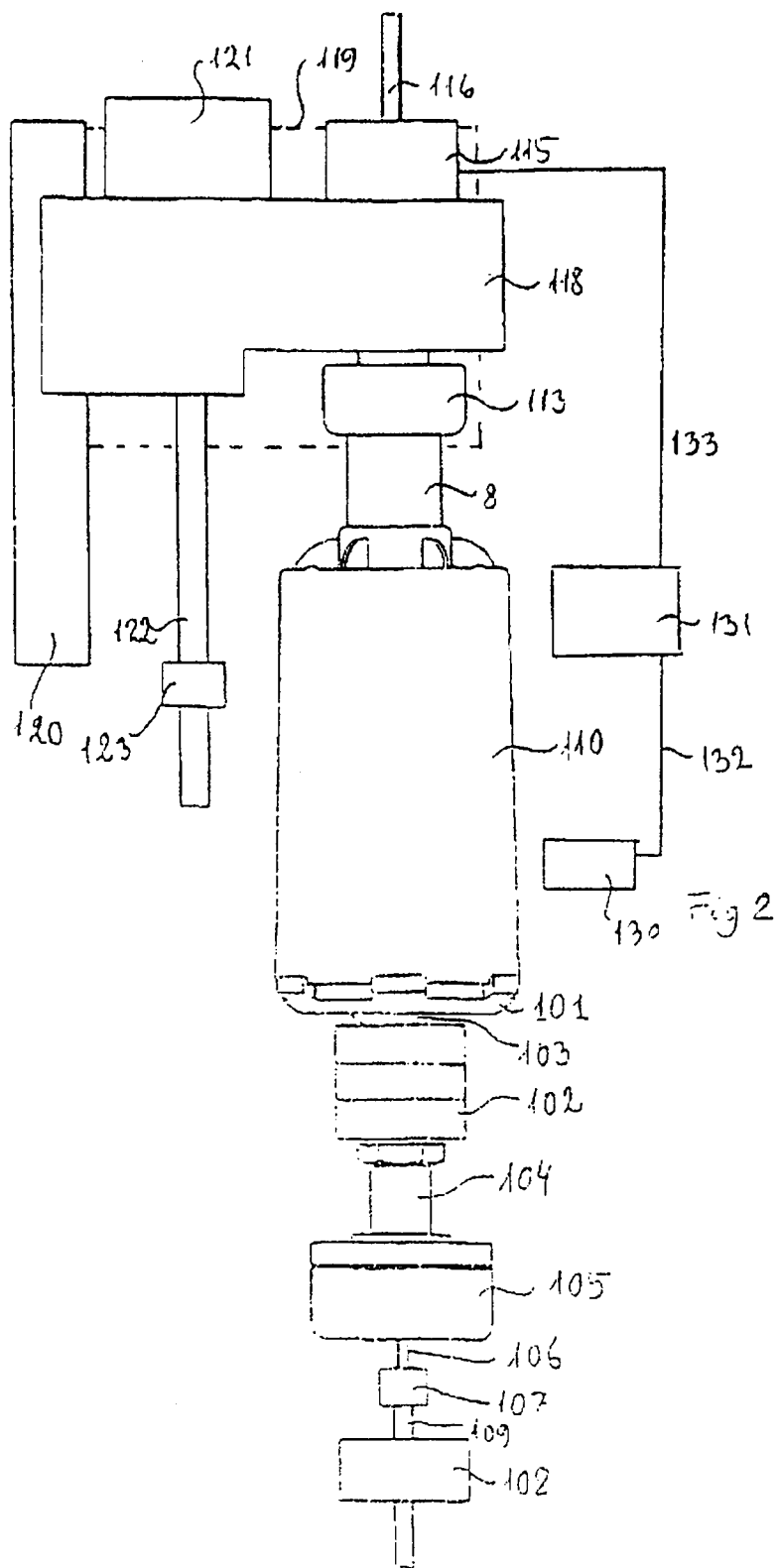
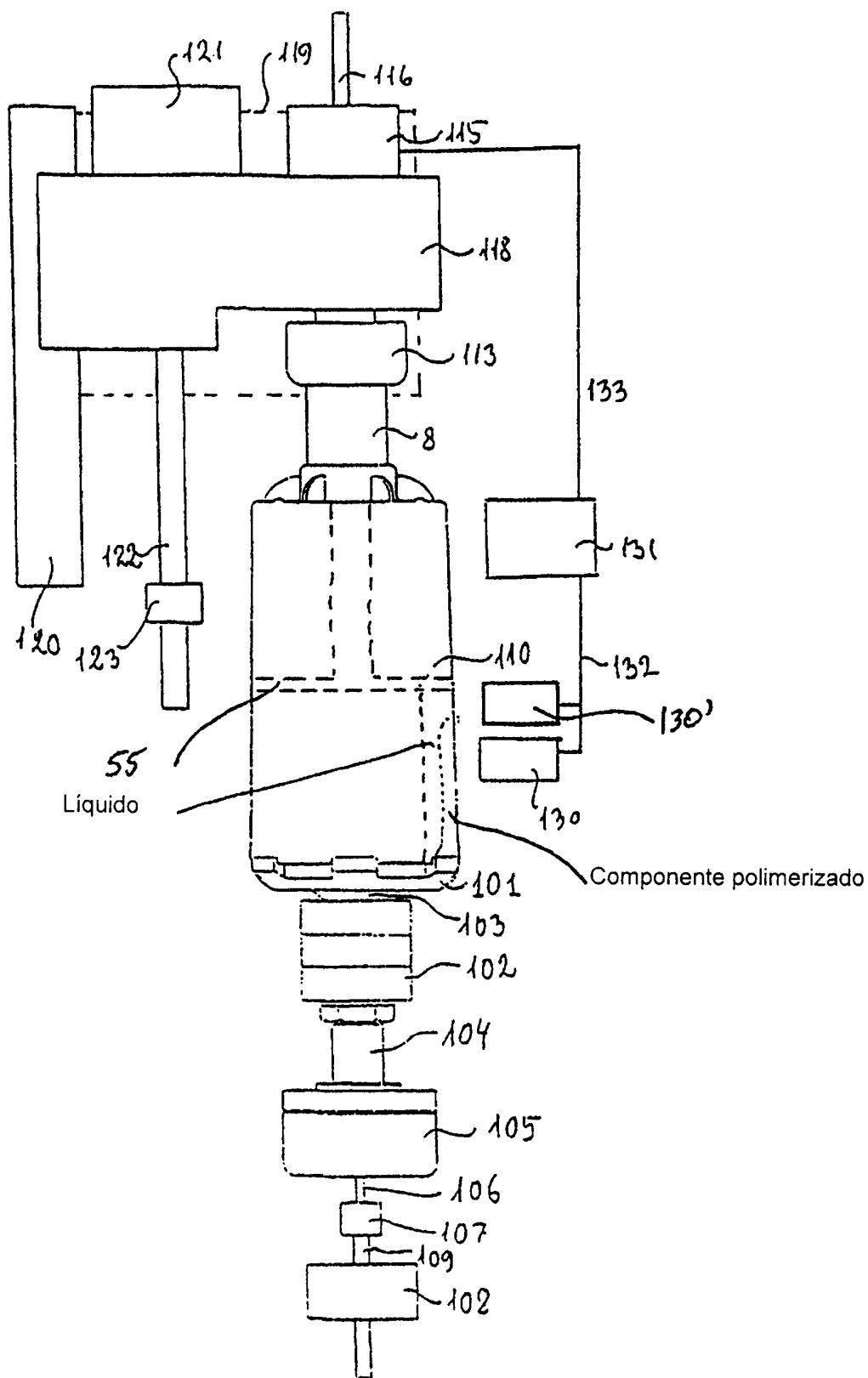


Figura 2a



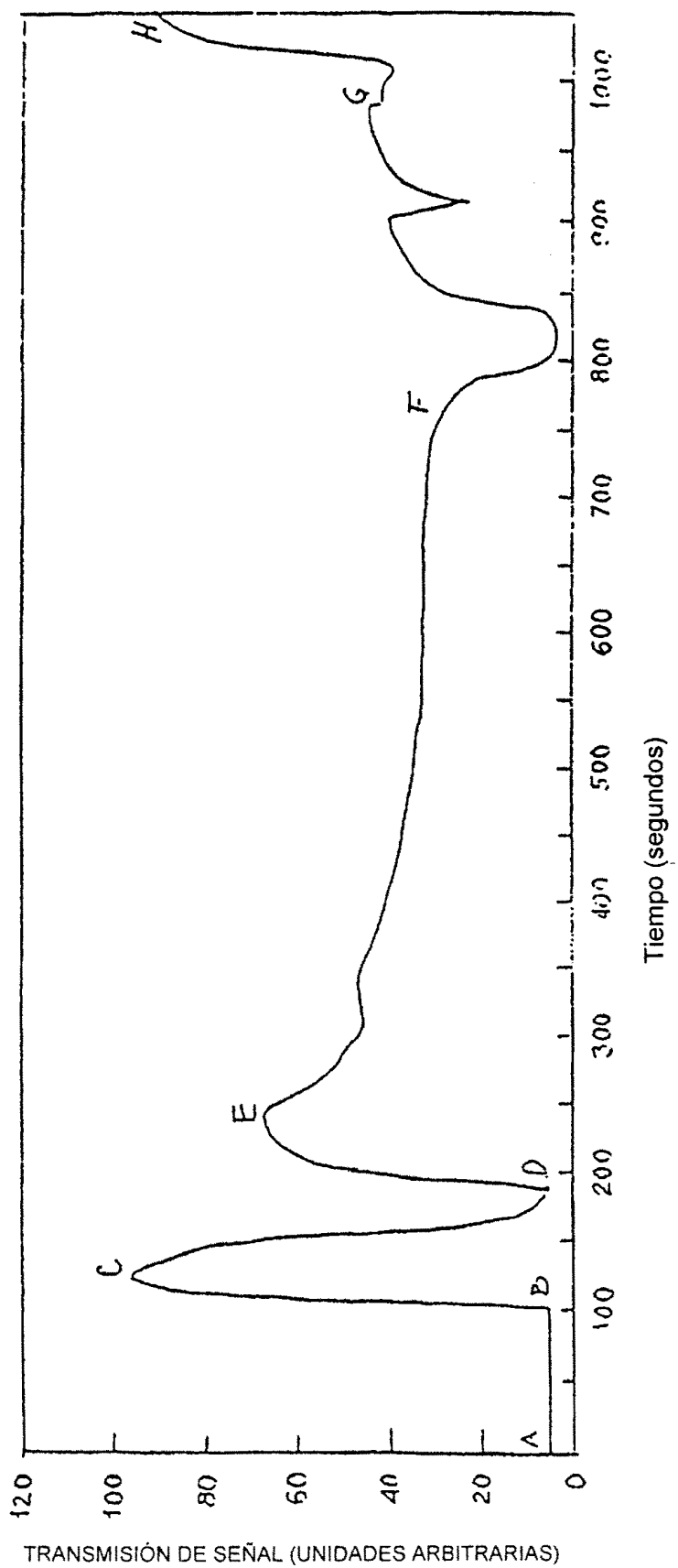


Figura 3