



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 218 118**

51 Int. Cl.:
A61L 2/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA MODIFICADA

T5

- 96 Número de solicitud europea: **00903788 .8**
96 Fecha de presentación : **19.01.2000**
97 Número de publicación de la solicitud: **1144015**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **17.10.2001**

54 Título: **Tratamiento de líquidos que contienen proteínas.**

30 Prioridad: **19.01.1999 GB 9901139**
07.05.1999 GB 9910476

45 Fecha de publicación de la mención y de la
traducción de patente europea: **16.11.2004**

45 Fecha de la publicación de la mención de la
patente europea modificada BOPI: **06.04.2011**

45 Fecha de publicación de la traducción de patente
europea modificada: **06.04.2011**

73 Titular/es: **COMMON SERVICES AGENCY**
Trinity Park House, South Trinity Road
Edinburgh EH5 3SE, GB

72 Inventor/es: **Foster, Peter, Reynolds y**
Welch, Anne, Gillian

74 Agente: **Díez de Rivera de Elzaburu, Alfonso**

ES 2 218 118 T5

DESCRIPCIÓN

La presente invención se refiere a un método para la eliminación de proteínas de príon infectivas anormales asociadas con las encefalopatías espongiformes transmisibles (TSEs, del inglés "transmissible spongiform encephalopathies") a partir de un líquido acuoso que contiene productos naturales, especialmente proteínas biológicamente activas.

Existe una preocupación acerca de la transmisión potencial de TSEs tales como la Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD) vía sangre entera o vía productos biofarmacéuticos derivados de la sangre. Esta preocupación ha aumentado por la postulación de un nexo de unión entre la encefalopatía espongiforme bovina (BSE) y una nueva forma variante de la CJD en humanos (vCJD). La CJD es una enfermedad neurodegenerativa progresiva provocada por un agente infeccioso poco común que se reproduce en el tejido linforeticular y en el sistema nervioso central de su hospedante. La naturaleza del agente se desconoce en el momento actual pero se han propuesto dos hipótesis principales. La primera es la hipótesis de la proteína infecciosa o príon; y la segunda es la hipótesis del virión que abarca una combinación de proteína codificada del hospedante con un ácido nucleico regulador.

Se han preparado composiciones medicinales para infusión intravenosa, infusión intramuscular y aplicación tópica a partir de plasma de sangre humana a lo largo de cuatro décadas en una sección especializada, pero significativa, de la industria de procesamiento farmacéutico. Una fuente principal de preocupación con respecto a la seguridad de estos productos ha sido la potencial contaminación con virus nacidos en la sangre. Sin embargo, el desarrollo de métodos de monitorización, junto con el de la tecnología para la desactivación o eliminación de virus potencialmente contaminantes, ha mejorado en gran medida la seguridad de la sangre y de preparaciones derivadas.

Actualmente existe una considerable preocupación acerca de la posibilidad de que los productos biofarmacéuticos procedentes de fuentes humanas o animales puedan transmitir TSEs. Aunque la naturaleza concreta del agente infeccioso en las TSEs no está clara todavía, TSEs tales como el scrapie en ovejas y el CJD o el vCJD en humanos están asociadas a proteínas relacionadas con priones anormales (PrPs). Todavía no se han desarrollado monitorizaciones adecuadas para las PrPs anormales, las cuales son también extremadamente resistentes a los medios químicos o físicos de desactivación. Por ejemplo, el documento regulador EEC (CPM Guidelines for Minimising the Risk of Transmitting Agents causing Spongiform Encephalopathies by Medicinal Products: Biologicals, 20, pag. 155-158, 1992) recomienda un tratamiento en autoclave a aproximadamente 130°C durante hasta una hora, un tratamiento con hidróxido de sodio 1N durante 1 hora o un tratamiento con hipoclorito de sodio durante 1 hora. Dichas técnicas son, sin embargo, bastante inadecuadas para el tratamiento de materiales que contienen proteínas activas biológicamente, puesto que dan como resultado una total desactivación de la proteína.

Existe por tanto una necesidad por desarrollar métodos para la eliminación o la desactivación de proteínas de príon infectivas anormales procedentes de animales, o de productos de comida o medicinales derivados del ser humano que sean eficaces y aún así no degraden y/o eliminen sustancialmente la actividad biológica o el valor alimenticio del producto,

Un problema importante es el que se refiere a la naturaleza mal definida de la proteína de príon anormal. La forma normal de esta proteína se encuentra en células de mamífero y está presente a altos niveles en el cerebro y los tejidos linforeticulares. Está compuesta de glicoproteína de fosfoinositol de 33-35 KDa altamente asociada a membrana, que es totalmente sensible a la digestión con proteinasa K. Se ha mostrado que la forma infecciosa (anormal) de la proteína existe en una forma conformacional alterada, contiene un elevado nivel de hoja plegada β , y es resistente a la digestión con proteinasa K. Se cree que el cambio en la conformación da como resultado que la proteína se haga altamente insoluble, formando agregados que a continuación se depositan en el tejido afectado como fibrilos o plaquetas amiloides. Las propiedades desconocidas de las proteínas de príon anormales, y particularmente el estado de agregación, hacen que la predicción de técnicas de eliminación o desactivación adecuadas sea muy difícil.

En estudios previos, se ha intentado la eliminación o desactivación mediante técnicas de cromatografía. Hunter y Millson (J. Gen. Microbiol., 1964, vol. 37, pag. 251-258) mostraron ejemplos del comportamiento cromatográfico de homogenato de cerebro infectado por scrapie en columnas de adsorción de celulosa DEAE y de fosfato de calcio. La solicitud de patente internacional W097/3454 se refiere a la eliminación de proteínas de príon anormales procedentes de disoluciones de albúmina o de suero animal de grado analítico, usando fases sólidas mixtas hidrofóbicas y de intercambio iónico típicamente caras.

Blum y col. (Biopharm. 11 (4), pag. 28-34, 1998) investigaron la eficacia de varias etapas (es decir, calefacción, precipitación, absorción con ayuda de filtros y cromatografía de intercambio iónico) en la producción de aprotinina y de albúmina de suero bovino durante la eliminación de contaminación de scrapie como una fuente modelo de TSE. Sin embargo, no está claro cuales de los anteriores elementos son esenciales o necesarios en la eliminación del agente de scrapie.

La especificación de patente EP0798003 describe la filtración como un modo de eliminar contaminantes no

deseados. Se usó un filtro profundo cargado positivamente de 0,25 a 2,0 μm de tamaño de poro, portando también una resina catiónica, para la eliminación de virus procedentes de disoluciones de proteínas biológicamente activas. Morgenthaler (TSE issues, Cambridge Health Tech. Institute CHI, Noviembre, 1998, Lisboa, Portugal) ha demostrado que las etapas de filtración (que incluyen la nanofiltración) pueden eliminar sustancialmente la contaminación de TSE añadida en el fraccionamiento de plasma humano.

Un objetivo de la presente invención es profundizar más en el desarrollo y la caracterización de la eliminación de proteínas de prión infectivas anormales procedentes de líquidos que contienen proteínas, particularmente aquellos derivados de plasma humano, sin efectos inaceptables en la naturaleza o en la actividad biológica de las proteínas.

Otro objetivo adicional de la presente invención es proporcionar un filtro profundo que puede ser un filtro de un solo uso y que puede ser desechado habiendo eliminado las proteínas de prión anormal de la comente de proceso.

La invención está basada en el sorprendente descubrimiento de que la filtración usando un filtro profundo que comprende partículas y que tiene un tamaño de poro inferior a 6 micrómetros es sorprendentemente eficaz en la eliminación de proteínas de prión infectivas anormales.

En particular, la invención proporciona el uso de un filtro profundo para la eliminación de proteínas de prión infectivas anormales asociadas a las encefalopatías espongiformes transmisibles (TSEs) procedentes de un líquido acuoso que contiene un producto natural, que comprende hacer pasar el líquido a través del filtro profundo, que está formado por una matriz que comprende partículas sólidas de material poroso y que tiene un tamaño de poro que proporciona una retención inferior a 6 μm , siendo las partículas porosas sólidas una mezcla de Kieselguhr (conocido también como tierra diatomácea) y partículas de perlita; y de este modo eliminar cualquier proteína de prión infectiva anormal que pueda estar presente en el líquido; estando el líquido y el filtro libres de material cargado canónicamente.

Con el término "eliminación" se entiende la eliminación física real de la proteína de prión infectiva anormal procedente de un líquido que contiene la proteína deseada. A efectos prácticos, la recuperación de la proteína deseada en su estado biológico original debería mantenerse sustancialmente al menos en un nivel en exceso del 50%, preferiblemente 80%, más preferiblemente 90%.

La eliminación de la proteína de prión infectiva anormal puede lograrse en una extensión de al menos $10^{2,5}$, 10^3 , preferiblemente 10^4 , más preferiblemente 10^5 .

El tamaño de poro de la matriz del filtro está preferiblemente en el intervalo entre 0,6 y 6 micrómetros, particularmente entre 0,6 y 1,5 micrómetros. El tamaño de poro se define en términos del tamaño de partícula de las partículas retenidas en el filtro. Típicamente, se utilizan partículas de tamaño definido tales como microorganismos confines de calibración.

De particular importancia para el fraccionamiento de productos de plasma de sangre, es el descubrimiento de que la filtración puede ser llevada a cabo de forma eficaz en condiciones no desnaturalizantes para la proteína activa biológicamente, y en condiciones que no reducen la solubilidad de la proteína producto. Adicionalmente, se puede usar filtración con o sin ayuda de filtro para eliminar sólidos suspendidos.

El método puede ser llevado a cabo a un pH en el intervalo 4 a 10, preferiblemente 5 a 9, y especialmente 6 a 8.

La aplicación de calor no es necesaria y el proceso puede ser llevado a cabo prácticamente a temperatura ambiente o por debajo, en particular en el intervalo entre -5°C y $+20^{\circ}\text{C}$.

El líquido y el filtro están libres de materia cargada canónicamente y preferiblemente también de materia cargada aniómicamente, que puede contribuir a la reducción de la actividad biológica de la proteína activa biológicamente, y en particular puede provocar la activación de factores de coagulación de la sangre sensibles. El proceso es aplicable en particular al tratamiento de sangre entera o de líquidos que contienen albúmina, inmunoglobulinas, Factor IX, trombina, fibronectina, fibrinógeno, Factor VIII y Factor II, VII, IX y X, y otras proteínas derivadas del plasma. También es aplicable al tratamiento de plasma, Factor XI, Factor XIII, hemoglobina, alfa-2-macroglobulina, haptoglobina, transferrina, apolipoproteína, proteína de unión de mannan, proteína C, proteína S, caeruloplasmina, inhibidor de C-1-esterasa, inhibidor de inter-alfa-trisina, factor de Van Willebrand. También pueden tratarse los análogos recombinantes de los anteriores. Adicionalmente, la invención es aplicable al tratamiento de otros productos naturales que incluyen comidas, bebidas, cosméticos, etc. También es aplicable a otros productos no derivados del plasma, tales como la heparina y las hormonas.

El filtro profundo generalmente comprende un ligante, tal como celulosa, junto con el material sólido poroso particulado.

El filtro profundo generalmente tiene un espesor en la región de 1 a 10 mm, particularmente de 2 a 5 mm. El

material usado para el filtro profundo debería tener poco o ningún efecto sobre la proteína deseada en cuestión.

Ahora se describirán varias realizaciones de la presente invención, sólo a modo de ejemplo.

METODOLOGÍA

1. Preparación de contaminación de scrapie de hámster

5 Se preparó un agente (cepa 263K) de scrapie (H_S) adaptado de Hámster mediante homogeneización de tejido cerebral infectado en una disolución salina tamponada de fosfato (PBS). El título del agente producido de este modo es normalmente del orden de 10^7 - 10^9 unidades $DL_{50} \text{ ml}^{-1}$, determinado por ensayo de la ruta intracraneal en hamsters. Se almacena un lote del agente (263K) de cepa de scrapie adaptado de hámster a, o por debajo de, -70°C.

10 Se usó una fracción microsomal derivada de homogenato de cerebro crudo para todos los experimentos de contaminación.

La fracción microsomal fue preparada de acuerdo con el método de Millson y col. (Millson GC, Hunter GD y Kimberlin RH (1971); "An experimental examination of the scrapie agent in the cell membrane mixtures. The association of scrapie activity with membrane fractions", J. Comp. Path. 81, 255-265). Se fabricaron pelets de homogenato de cerebro crudo, preparado a partir de cerebros infectados con 263K mediante homogeneización Dounce, a 10.000 g durante 7 minutos para eliminar los núcleos, las células no rotas y las mitocondrias. Los microsomas que quedaron en el sobrenadante fueron peletizados a continuación a 100.000 g durante 90 minutos, seguido de una resuspensión en PBS.

2. Cálculo de los resultados

20 El factor de despeje (C, del inglés "clearance") y el de reducción (R) fueron calculados en base al punto final de dilución de las muestras después del análisis mediante el ensayo Western blot. El punto final de dilución se calcula en base a la primera dilución en la que no se puede detectar ninguna proteína de príon de scrapie (PrP^{Sc}). Entonces se toma el recíproco de esta dilución como título del agente, y, de este modo, todos los títulos son expresados en unidades arbitrarias. En base al título determinado mediante el punto de dilución final, la cantidad total de PrP^{Sc} en la muestra se calcula en base al volumen de muestra y teniendo cuenta cualquier factor de corrección que se necesite aplicar. Los factores de despeje se calculan en relación a la contaminación de entrada teórica. Los factores de reducción se calculan referidos al nivel de PrP^{Sc} detectado en la muestra cargada.

30 Cuando no se detecta PrP^{Sc} en la mayor concentración de muestra evaluada, entonces el recíproco de la dilución se toma como 1, y los factores de despeje y de reducción se expresan con un signo procedente del valor logarítmico.

3. Ensayo Western Blot para la Infectividad de Scrapie

35 El título del lote de 263K usado en este estudio, así como el título presente en todas las muestras generadas durante el estudio, fue determinado mediante un procedimiento Western blot. Este procedimiento se basa en la diferencia en la susceptibilidad de las partículas infecciosas (PrP^{Sc}) y no infecciosas (PrP^C) frente a la digestión de proteinasa K. Las muestras fueron tratadas con proteasa K para digerir cualquier PrP^C , puestas en un gel de poliacrilamida SDS seguido de tinción sobre nitrocelulosa. Cualquier PrP que permanezca después de la digestión de proteasa, correspondiente a PrP^{Sc} , fue detectada a continuación usando un anticuerpo específico de PrP . El nivel relativo de scrapie en las muestras, en comparación con el lote, fue determinado mediante dilución en serie hasta el punto final (el punto en el que no se detecta señal) de todas las muestras.

40 Se puede encontrar más información en A. Bailey, "Strategies for the Validation of Biopharmaceutical Processes for the Removal of TSE's", Cambridge Healthtech Institute, Nov. 1998, Lisboa, Portugal.

45 La Tabla 1 muestra la eficacia de eliminación de proteínas de príon de contaminadas con scrapie de hámster (PrP^{Sc}) usando varios filtros profundos. La eliminación se expresa como factor de despeje C (cantidad del inóculo/cantidad en el filtrado) o como factor de reducción R (cantidad en la alimentación/cantidad en el filtrado). El filtro Seitz KS80 de tamaño de poro entre 0,6 y 1,5 micrómetros de acuerdo con la presente invención, es altamente eficaz en la eliminación de proteínas de príon. Otros filtros presentados a modo de comparación, que tienen mayores tamaños de poro o que incluyen especies catiónicas, son menos eficaces.

EJEMPLOS

Ejemplo 1 (Tratamiento de Albúmina)

50 Se estableció un sistema modelo para reproducir en una escala experimental la filtración en profundidad de albúmina en el proceso convencional de fraccionamiento del plasma, empleando diferentes tipos de filtro. La muestra que contiene albúmina (fracción V) fue contaminada con proteína de príon de scrapie de hámster producida como se ha descrito anteriormente, y su concentración fue determinada mediante el análisis de Western blot también descrito

anteriormente.

El filtro fue una almohadilla Seitz KS80 (marca comercial) cortada con un diámetro de disco de 142 mm, con un área de filtración efectiva de 128 cm². El filtro fue pretratado haciendo pasar a través de él alcohol y NaCl durante 35 minutos. El material de la muestra fue de aproximadamente 1 litro de fracción V resuspendida a pH 6,9 y con una concentración de 85,0 g/l tomado del proceso convencional de fraccionamiento de plasma y mantenida a + 4°C.

El proceso convencional incluye la filtración de 853 ml de muestra. En este experimento, se hizo pasar el mismo volumen total de muestra a través del filtro, pero sólo los últimos 100 ml fueron contaminados con scrapie microsomal de hámster. Se contaminó 100 ml de la muestra del material de partida con 9,5 ml de la preparación de scrapie microsomal de hámster (263K), y se retiró una muestra del material contaminado para el análisis del nivel de PrP^{Sc}. Se hizo pasar el material contaminado a través del filtro con un caudal de 6,4 ml/min y el filtrado fue recogido para analizar el nivel de PrP^{Sc}. Todas las muestras fueron almacenadas a -70°C o menos hasta que se llevase a cabo el análisis del nivel de PrP^{Sc}. Antes de que las muestras fueran analizadas con el método de Western blot, cualquier scrapie presente en la muestra fue concentrado mediante ultracentrifugación.

La Tabla 1 muestra que la eliminación, establecida según el factor de despeje C y el factor de reducción R, excede las cuatro unidades logarítmicas (el límite de detección) sin que se detecte ninguna proteína de príon anormal en el filtrado. Por lo tanto, el filtro es el más eficaz en la eliminación de contaminación añadida de proteína de príon de scrapie de hámster.

Ejemplo 2 (Tratamiento de Albúmina - Comparación)

La muestra de fracción V que contiene albúmina fue filtrada con un filtro diferente de forma similar a como se hizo en el Ejemplo 1.

El filtro usado fue un minicartucho Cuno (marca comercial) Delipid Del 1, con un área de filtración efectiva de 27 cm². El filtro fue pretratado con etanol y NaCl.

El material muestra fue fracción V a pH 6,9 y con una concentración de 85 g/l, tomado después de la filtración convencional a través de un filtro Seitz KS80 y mantenido a + 4°C.

En este caso, sólo los últimos 50 ml fueron contaminados con scrapie microsomal de hámster. Se hizo pasar el material contaminado a través del filtro con un caudal de 3,2 ml/min y el filtrado fue analizado en busca de proteína de príon como antes. La extensión del despeje se muestra en la Tabla 1. El despeje y la eliminación fueron sólo 2,8 y 2,3 unidades logarítmicas, respectivamente; detectándose proteína de príon anormal en el filtrado.

Ejemplo 3 (IGG - Comparación)

Se repitió el procedimiento del Ejemplo 1 con sobrenadantes I y III que contienen IgC procedentes de fraccionamiento convencional de plasma.

El filtro fue un disco Millipore lifegard CP20 de 47 mm de diámetro que proporciona un área de filtración efectiva de 12,5 cm². El material muestra fue aproximadamente 800 ml de sobrenadante I y III (prefiltración) procedente de un procedimiento convencional de fraccionamiento de plasma, y se mantuvo a + 4°C. Contenía aproximadamente un 12% de etanol y tenía un pH de 5,1.

Se trataron 680 ml de muestra y los últimos 50 ml fueron contaminados con scrapie microsomal de hámster.

La extensión de la eliminación de proteínas de príon se presenta en la Tabla 1. El factor de despeje C fue de 3,0 unidades logarítmicas y el de eliminación R fue de menos de 1 unidad logarítmica; detectándose la presencia de proteínas de príon en el filtrado.

Ejemplo 4 (IGG - Invención)

El procedimiento general del Ejemplo 1 fue repetido con una suspensión de la fracción II que contiene IgG, procedente del fraccionamiento convencional de plasma.

El filtro fue un Seitz K200 (marca comercial) de 142 mm de diámetro con un área de filtración efectiva de 128 cm². El material muestra fue fracción II resuspendida procedente de fraccionamiento convencional de plasma, mantenida a + 4°C.

Se hizo pasar 600 ml de muestra a través del filtro y los últimos 100 ml fueron contaminados con scrapie microsomal de hámster. La extensión de la eliminación de PrP^{Sc} fue determinada como antes y los resultados se presentan en la Tabla 1. Tanto el despeje C como la eliminación R demostraron la ausencia de proteína de príon anormal en el filtrado, hasta el límite de detección (C = 3,4 y R = 2,8).

Por tanto, se puede observar a partir de los Ejemplos que se puede lograr una eliminación de proteínas de

prión infectivas anormales superior a 10^4 usando un filtro neutro que tiene un tamaño de poro inferior a 2 micrómetros, y una eliminación superior a $10^{2.5}$ usando un filtro neutro de tamaño de poro entre 3,5 y 6,0 micrómetros. Estos son los límites de detección. En otras palabras, en el filtrado no había ninguna proteína de prión anormal detectable.

5 **Ejemplo 5 (filtros de fibras - Comparación)**

Se ensayaron cuatro filtros compuestos de fibras en la eliminación de priones de forma similar a como se hizo en el Ejemplo 1.

Se contaminó sangre entera con 3,8 $\log_{10}$ de scrapie de hámster (Hs 263K), y se determinaron tanto el despeje C como la eliminación R.

10 Los resultados mostrados en la Tabla 2 demuestran que estos filtros de fibras proporcionaron una eliminación $< 1 \log$ y, por lo tanto, fueron ineficaces en la eliminación de proteínas de prión.

TABLA 1

Eliminación de PrP^{Sc} con filtración profunda

Filtro (Producto)	Composición	Retención (μm)	C	R
Seitz, KS80 (Albúmina)	Celulosa, Kieselguhr Perlita	0,6-1,5	4,1	4,9
Seitz, K200P (IgG)	Celulosa, Kieselguhr Perlita	3,5-6,0	3,4	2,8
Cuno, Delipid 1 (Albúmina)	Celulosa, Kieselguhr Resina catiónica	0,6	2,8	2,3
Millipore CP20 (IgG)	Vidrio de borosilicato	2,0	3,0	$<1^*$

* Una gran caída en la PrP^{Sc} medida después de la adición del inóculo a la alimentación del proceso

TABLA 2

Filtro (Producto)	Composición	Retención (μm)	C	R
Baxter/Asahi Optiplus R7456 (RS2000)	Fibras de poliéster cargadas negativamente	n/a	<1	<1
Filtro de sangre entera Fresenius compoflex T2916	Fibra de poliéster tejido-no-tejido soplado en fundido Superficie no iónica	n/a	<1	<1
Macopharma eucoflex LST-1	Poliéster superficial no tejido no iónico/ mezcla de polipropileno 4 capas de poliéster/22 capas de polipropileno/1 capa de poliéster	6-13	<1	<1
Pall leukotrap BPF-4	Vidrio de borosilicato	n/a	<1	<1

n/a – no disponible

REIVINDICACIONES

1. El uso de un filtro profundo para la eliminación de proteínas de prión infectivas anormales asociadas a encefalopatías espongiformes transmisibles (TSEs) procedentes de un líquido acuoso que contiene un producto natural, que comprende hacer pasar el líquido a través de un filtro profundo que está formado por una matriz que comprende partículas sólidas de material poroso y que tiene un tamaño de poro que proporciona una retención inferior a 6 μm , siendo las partículas porosas sólidas una mezcla de Kieselguhr y partículas de perlita, eliminando de este modo cualquier proteína de prión infectiva que pueda estar presente en el líquido; estando el líquido y el filtro libres de material catiónico cargado.
2. El uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la matriz comprende un ligante.
3. El uso de acuerdo con la reivindicación 2, en el que el ligante es celulosa.
4. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes llevado a cabo en ausencia de material aniónico cargado alguno.
5. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes llevado a cabo a un pH en el intervalo de 4 a 10.
6. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el tamaño de poro está en el intervalo de 0,6 a 6 micrómetros.
7. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el tamaño de poro está en el intervalo de 0,6 a 1,5 micrómetros.
8. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el filtro profundo tiene un espesor de 2 a 5 mm.
9. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el producto natural es una proteína.
10. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el líquido acuoso comprende un producto de plasma sanguíneo.
11. El uso de acuerdo con la reivindicación 10, en el que el producto de plasma sanguíneo es albúmina, una inmunoglobulina, el Factor IX, trombina, fibronectina, fibrinógeno, Factor VIII, Factor II, Factor VII, Factor IX, o Factor X.