



República Federativa do Brasil
Ministério da Indústria, Comércio Exterior
e Serviços
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0620280-2 B1

(22) Data do Depósito: 21/12/2006

(45) Data de Concessão: 28/06/2016



(54) Título: MÉTODO DE INATIVAÇÃO DE PATÓGENOS E / OU LEUCÓCITOS EM
CONCENTRADOS DE PLAQUETAS

(51) Int.Cl.: A61L 2/00

(30) Prioridade Unionista: 23/12/2005 DE 102005062410.3

(73) Titular(es): FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT DER DRK BLUTSPENDEDIENSTE. MACO
PHARMA S.A., LABORATOIRES PHARMACEUTIQUES

(72) Inventor(es): HARALD MOHR, WOLFRAM H. WALKER

**“Método de Inativação de Patógenos e/ou Leucócitos
em Concentrados de Plaquetas”**

Relatório Descritivo

A matéria objeto da invenção é um método de inativação de pató-
5 genos, tais como bactérias e vírus e/ou leucócitos, em concentrados de pla-
quetas (concentrados de trombocitos, PCs) por irradiação com luz ultravioleta.

É sabido que a aplicação terapêutica de preparações de sangue
tem o risco de que os recipientes da preparação de sangue sejam infectados
por vírus e bactérias. São nomeados a hepatite B de vírus (HBV) e a hepatite
10 C (HCV) e os patógenos de Aids HIV 1 e HIV 2 à guisa de exemplo. O risco
sempre existe, quando, durante a produção da preparação, nenhuma provi-
dência é tomada para inativar ou eliminar os referidos patógenos.

A luz ultravioleta (UV) é diferenciada de acordo com o comprimen-
to de onda. No contexto deste Pedido, é aplicada a seguinte definição: UVA:
15 menor do que 400 a 320 nm, UVB: menor do que 320 a 280 nm e UVC menor
do que 280 a 200 nm. É sabido que, por irradiação com luz ultravioleta (UV)
de onda curta, isto é, na faixa de comprimento de onda abaixo de aproxima-
damente 320 nm (UVB e UVC), os vírus e também as bactérias podem ser ina-
tivados, por exemplo, no plasma sanguíneo ou em preparações de células de
20 sangue. Acima de 320 nm, a energia da radiação é muito baixa para inativar
microorganismos e vírus. Em comparação com métodos químicos, fotoquími-
cos e fotodinâmicos de inativação de patógenos, a mera irradiação com luz UV
tem essencialmente a vantagem de ser efetiva sozinha e não exigir a adição de
produtos químicos reativos nem substâncias fotoativas.

25 Esses aditivos ou seus produtos separados ou fotoprodutos exi-
gem freqüentemente a remoção subsequente, porque são tóxicos ou mutagê-
nicos. Além disso, podem causar a formação de estruturas neoantigênicas na
preparação tratada, quando se ligam a proteínas do plasma e às superfícies

celulares. Geralmente, esses aditivos não são capazes de serem removidos completamente; pelo menos, a sua remoção exige esforço adicional. Essas etapas adicionais de trabalho podem, além disso, prejudicar a qualidade das preparações esterilizadas. A UVC é a mais efetiva para a inativação direta de patógenos. Todavia, tem a desvantagem de que só penetra soluções que con-

5 têm proteínas tais como plasma sanguíneo ou suspensões túrbidas (por exemplo, PCs) até uma profundidade de penetração muito pequena.

A UVC foi usada durante a Segunda Guerra Mundial e também brevemente depois disso para esterilizar o plasma sanguíneo e soluções de albumina, especialmente a fim de inativar o vírus da hepatite. Naquele tempo,

10 prosseguiu-se de forma que a solução fosse dirigida num equipamento de fluxo de atravessamento como um filme fino passando uma fonte de luz UVC. O método provou não ser suficientemente confiável e foi abandonado (Kallenbach NR, Cornelius PA, Negus D, e colaboradores. *Inactivation of viruses by ultraviolet light*. *Curr Stud Hematol Blood Transfus* 1989, **56**,70-82).

15

Nos dias presentes, são usados métodos que têm sido mais desenvolvidos, operando de acordo com o mesmo princípio, a fim de esterilizar preparações terapêuticas de proteína do plasma. Em todos os casos, a preocupação era ou é com o tratamento de volumes maiores, isto é, pools de plasma ou soluções de proteína até várias centenas de litros e até mais (Hart H, Reid K, Hart W., *Inactivation of virus during ultraviolet light treatment of human intravenous immunoglobulin and albumin*, *Vox Sang* 1993; **64**(2):82-8, e Chin S., Williams B., Gottlieb P., e colaboradores, *Virucidal short wavelength ultraviolet light treatment of plasma and factor VIII concentrate: protection of*

20 *proteins by antioxidants*; *Blood* 1995; **86**(11):4331-6).

25

Para esterilizar uma pluralidade de unidades individuais de PCs, que foram obtidas a partir de doações de sangue ou por aferese mecânica – com um volume de no máximo até várias centenas de ml – o equipamento de fluxo de atravessamento acima mencionado não é apropriado. Todavia, isto é,

30 de fato, necessário na prática diária de um banco de sangue.

A UVB é igualmente microbiocida e virucida, embora não na mesma extensão que a UVC. Penetra soluções que contêm proteínas e suspensões túrbidas um pouco melhor do que a UVC, mas a sua profundidade de penetração, por exemplo, no plasma ou PCs, pode também ser estabelecida apenas na faixa de alguns milímetros. A irradiação com UVB foi testada, a fim de inativar linfócitos T em PCs, que são consideravelmente mais sensíveis à UV do que os vírus ou as bactérias. Por este meio, deve ser impedida uma aloimunização contra antígenos HLA exógenos nos recipientes das preparações, que pode ocasionar que os recipientes se tornem refratários contra mais transfusões de PCs (Andreu G, Boccaccio C., Lecrubier C., e colaboradores, *Ultraviolet irradiation of platelet concentrates: feasibility in transfusion practice. Transfusion* 1990; **30**(5):401-6 e Pamphilon DH, *The rationale and use of platelet concentrates irradiated with ultraviolet-B light. Transfus Med Rev.* 1999; **13**(4):323-33).

De fato, o método não ganhou, porque a filtração de leucócitos, que foi desenvolvida quase ao mesmo tempo, constitui uma alternativa que é semelhantemente efetiva, mas é mais favorável do ponto de vista de custo e esforço (*Leukocyte reduction and ultraviolet B irradiation of platelets to prevent alloimmunization and refractoriness to platelet transfusions. The Trial to Reduce Alloimmunization to Platelets Group. N. Engl. J. Méd.* 1997; **337**(26):1861-9;).

Foi igualmente descrito que os vírus em suspensões de plaquetas podem ser inativados por irradiação com luz UVB monocromática (comprimento de onda de 308 nm). Um laser de excitação foi aqui usado; o volume de teste era de alguns ml (Prodouz KN, Fratantoni JC, Boone EJ, Bonner RF, *Use of laser-UV for inactivation of virus in blood products. Blood* 1987; **70**(2):589-92). Obviamente, não se passou além deste nível de referência. De fato, nenhum método é conhecido da literatura pelo qual vírus ou bactérias em PCs completos possam ser descontaminados exclusivamente por irradiação com luz UV (isto é, UVB ou UVC).

Os PCs são obtidos por tromboferese mecânica a partir de doadores individuais ou ainda são isolados a partir de doações de sangue, com as plaquetas a partir de várias doações de sangue (geralmente 4-6) sendo colocadas em grupo. O volume do PC que é capaz de ser conseqüentemente obtido está em geral entre cerca de 200 e 350 ml. Todavia, os PCs são também
5 produzidos a partir de doações de sangue individual, cujo volume é correspondentemente menor (entre aproximadamente 40 e 80 ml). Tanto em PCs de *pools* como também em PCs de aférese, as plaquetas são suspensas no plasma sanguíneo ou em meio de armazenamento especial com um conteúdo de
10 plasma residual de aproximadamente 30 a 40 %. Os PCs são armazenados em sacolas plásticas permeáveis a gás a 20-24°C.

Seria desejável esterilizar PCs nessas bolsas com luz UV. Realmente, o problema que foi mencionado existe aqui, isto é, que as preparações são quase impenetráveis pela luz UV. Isto deve ser esclarecido pelo seguinte
15 exemplo de cálculo: se a UVB fosse provida para esterilização e se se supuser um volume de PC de aproximadamente 300 ml, além de uma profundidade de penetração da radiação de UVB de 1mm e exposição de ambos os lados da bolsa, uma bolsa apropriada à exposição teria de ter uma superfície de pelo menos 1.500 cm².

20 Parece ser difícil, se não impeditivo, processar rotineiramente quantidades maiores de bolsas tendo essas dimensões. O problema torna-se até significativamente maior se, em vez de com UVB, se pretender esterilizar os PCs com UVC, porque a sua profundidade de penetração é muito menor.

Surpreendentemente, foi constatado que o problema acima é resolvido por um método de acordo com a Reivindicação 1. As modalidades preferidas são a matéria objeto das Reivindicações dependentes ou são descritas
25 abaixo.

De acordo com a presente invenção, os PCs são deslocados de uma maneira apropriada em suas bolsas de exposição. O movimento ocorre

aqui tão vigorosamente que se formam camadas em áreas internas dos PCs, sendo estas camadas tão finas que podem ser penetradas pela radiação de UV. Ao mesmo tempo, o movimento deve ser tal que as suspensões de PC sejam eficazmente misturadas nas bolsas. Ambas devem ser realizadas, quando
5 existem as condições seguintes:

1 - As bolsas de exposição são altamente flexíveis e não são fixas durante a exposição, por exemplo, presas entre placas de quartzo. Elas, portanto, adaptam-se a cada mudança de forma da suspensão de PC, que ocorre quando as bolsas são deslocadas.

10 2 - O movimento das bolsas ocorre quer horizontalmente (linearmente numa direção para a frente e para trás ou em formato circular ou elipsoidal) ou então verticalmente (balançadas).

3 - As bolsas de exposição são enchidas a um máximo de 30%, em particular a um máximo de 20 % de seu volume de enchimento má-
15 ximo.

Em todos os casos, a reversão da direção do movimento deve ser tão abrupta que a maioria da suspensão de PC se desloque mais na direção original, como resultado de sua inércia, e, portanto, o resíduo que permanece atrás possa formar uma camada fina que seja penetrável pela radiação de UV.
20 Com relação à intermistura constante devido ao movimento das bolsas durante a irradiação, finalmente o PC inteiro (e os vírus e/ou bactérias nele contidos) é exposto à radiação UV. Os PCs ficam, assim, esterilizados.

As bolsas de exposição são feitas de material plástico transparente à UV. Os plásticos apropriados são, por exemplo, acetato de vinil etileno e
25 poliolefinas com espessuras de lâminas de 1 mm e menos, em espessuras de lâminas de particularmente menos do que 0,5 mm. As bolsas de exposição são construídas de maneira a serem planas e, de preferência, a não terem nenhuma absorção máxima na faixa de 200 a 320 nm. No estado cheio horizontal, as bolsas de exposição são apenas de alguns mm de espessura, por e-

xemplo, menos do que 10 mm e, em particular, menos do que 5 mm, de preferência até menos do que 3 mm e pretende-se que contenham volumes de espécimes de, por exemplo, até 200 ou até 300 ml. A capacidade de contenção máxima (volume) da bolsa de exposição é, porém, maior por um fator de pelo menos 3, geralmente pelo menos 5 vezes, de preferência pelo menos 10 ou até pelo menos 20 vezes maior do que o volume de espécime real nela contido, que deve ser tratado.

Pesquisas Experimentais

Os experimentos descritos ilustram a eficácia do método e não ficaram limitados à inativação das bactérias e/ou vírus abaixo mencionados. Não existe também nenhuma limitação para PCs de “doador aleatório”, que eram usadas nas experimentos descritos e o método de acordo com a invenção também é capaz de ser usado em preparações de tromboferese. Todos os experimentos foram realizados de três a seis vezes. Os resultados indicados representam, em cada caso, os valores médios±desvio padrão.

Concentrados de Plaquetas

Os PCs foram produzidos a partir de *pools* de respectivamente 5 revestimentos, que, por sua vez, se originaram a partir de doações de sangue regulares. Os PCs tinham um volume de aproximadamente 300 a 350 ml; a concentração de plaquetas era de aproximadamente 109/ml. As plaquetas foram suspensas em meio de armazenamento SSP+ (produto da companhia MacoPharma). O conteúdo de plasma residual era aproximadamente de 30 a 40%.

Pesquisas Bacteriológicas

Foram usadas as seguintes cepas de bactéria nos experimentos de inativação:

Staphylococcus (S.) epidermis

Staphylococcus (S.) aureus

Bacilo (B.) cereus

Klebsiella (K.) pneumoniae.

As concentrações de bactérias foram determinadas por meio de
5 um ensaio de formação de colônias e são expressas como unidades de forma-
ção de colônias (CFU)/ml. Nos experimentos de inativação de bactérias, PCs
completos ou alíquotas de PC foram pinçadas com 10^4 a 10^5 CFU/ml de uma
das espécies indicadas e, depois, irradiadas com luz UV.

Pesquisas Viroológicas

10 As alíquotas de PC foram pinçadas com vírus herpes suid (SHV-1,
vírus pseudorabies, cepa Aujeszky) ou vírus da estomatite vesicular (VSV, ce-
pa Indian). Os títulos dos vírus foram determinados por meio de ensaio CPE
(CPE = efeito citopático). São indicados como TCID₅₀ (dose infectante de cul-
tura de tecido). As células Vero serviram de células indicadoras. A concen-
15 tração de vírus inicial nos experimentos que foram realizados foi de aproxi-
madamente 10^5 a 10^7 TCID₅₀.

Equipamento de Exposição

Um dos dois equipamentos de exposição usados estava equipado
com tubos que emitiam luz UVB. A irradiação teve lugar a partir de ambos os
20 lados das bolsas de exposição que foram postas no lugar, isto é, a partir de
cima e de baixo. O equipamento de exposição estava provido de um dispositi-
vo de agitação que realizava movimentos para a frente e para trás a uma fre-
quência de 60 mudanças de direção /minuto. Um segundo equipamento de
exposição estava igualmente equipado com tubos que emitiam luz UVB. A ir-
25 radiação teve lugar igualmente a partir de ambos os lados. Um terceiro equi-
pamento (do mesmo tipo de construção que o segundo) estava provido de tu-
bos que emitiam luz UVC (comprimento de onda: 254 nm). Ambos os equi-

pamento puderam ser providos de 2 dispositivos de agitação diferentes: um agitador horizontal, que realizava movimentos elipsoidais para a frente e para trás, e um agitador oscilante.

Bolsas de Exposição

- 5 As bolsas de exposição que foram usadas consistiam em acetato de vinil etileno (EVA), que é penetrável pela luz UV. Foram usados dois tamanhos de bolsas:

1 – 14,5 x 18,5 cm (área externa da bolsa
de aproximadamente 268 cm²)

- 10 2 – 22,5 x 38 cm (área externa da bolsa de
cerca de 855 cm²).

Nos experimentos com os pequenos sacos de EVA, o volume de amostra foi de 80 ml, naqueles com as bolsas grandes, de aproximadamente 300-350 ml (foram tratados PCs completos).

Exemplo Experimental 1

Inativação de S.epidermidis por UVB, com e sem movimento livre

da suspensão de plaquetas durante a agitação

- No experimento, o volume de amostra foi de 80 ml. A mobilidade livre da suspensão de plaquetas durante a agitação e, conseqüentemente, a
20 formação de uma camada fina foram impedidas numa amostra na medida em que as bolsas de exposição foram presas com firmeza entre duas placas de quartzo. A espessura da camada resultante era de aproximadamente 3 mm. Na segunda amostra, a distância entre as placas de quartzo foi aumentada de tal maneira que a suspensão de plaquetas foi bem capaz de se deslocar livre-
25 mente durante a agitação. As duas amostras foram irradiadas com 1 J/cm².

Conforme a Tabela 1 mostra, o título bacteriano nas amostras fixadas foi reduzido de aproximadamente 2 log₁₀, mas em mais de 4 log₁₀ nas colocadas livremente.

Tabela 1

Título da Amostra	Título Bacteriano (log₁₀CFU/ml)
Controle sem tratamento	4,1±0,03
Amostra firmemente segura	1,4±1,29
Amostra livremente colocada	-0,40±0,35

5

Exemplo Experimental 2

Inativação de S.epidermidis por UVB em bolsas de exposição

livres ou presas com firmeza de PCs completos, com agitação

O volume de PC neste experimento era de 330 ml, a espessura de
 10 camada média em sacos grandes de EVA era conseqüentemente de cerca de
 3,9 mm. Os PCs foram irradiados com 3 doses de UVB (0,8; 1,0 e 1,2 J/cm²)
 sob as seguintes condições:

1 - sem agitação, livremente colocados entre placas de
 quartzo;

15 2 - com agitação, comprimidos entre placas de quartzo.

Como os resultados do experimento mostram (Tabela 2), nos PCs
 que estavam presos com firmeza durante a agitação, o título bacteriano foi re-
 duzido pelo tratamento de UVB em até aproximadamente 2 log₁₀, em compa-
 ração com as amostras livremente colocadas, dependendo da dose, em cerca
 20 de 3,4 a mais de 4 log₁₀.

Tabela 2

Colocação simples	Dose de UVB	Título bacteriano
	(J/cm²)	(log₁₀CFU/ml)
Agitado, preso com firmeza	0	4,11±0,00
Agitado, preso com firmeza	0,8	2,14±0,48
Agitado, preso com firmeza	1,0	1,95±0,03
Agitado, preso com firmeza	1,2	1,99±0,03
Agitado, solto	0	4,19±0,11
Agitado, solto	0,8	0,77±0,69
Agitado, solto	1,0	-0,14±0,05
Agitado, solto	1,2	-0,40±0,05

Exemplo Experimental 3*Inativação de mais bactérias em alíquotas de PC*

5

livremente móveis ou fixas por UVB

Pode ser visto a partir dos primeiros dois exemplos experimentais que *S.epidermidis* é eficazmente inativada em PCs sob a condição de que a suspensão de PC possa se mover livremente durante a irradiação de UV. No experimento seguinte, foram testadas as seguintes cepas adicionais de bactéria: *S.aureus*, *B.cereus* e *K.pneumoniae*.

10

As condições eram as mesmas que as descritas no Exemplo Experimental 1. Em todos os três casos, um resultado semelhante ao da *S.epidermidis*: nas amostras de PC livremente colocadas, a bactéria foi inativada por aproximadamente 3,9 a 4,29 log₁₀, ao passo que os títulos nas amostras fixas foi apenas reduzido de aproximadamente 2 a 3,4 log₁₀ (Tabela 3).

15

Tabela 3

Cepa de bactéria	Título	Título bacteriano
	da amostra	(log ₁₀ CFU/ml)
<i>S. aureus</i>	controle sem tratamento	4,88±0,00
<i>S. aureus</i>	firmente presa, agitada	1,49±1,30
<i>S. aureus</i>	colocada solta, agitada	0,97±0,86
<i>B. cereus</i>	controle sem tratamento	4,99±0,09
<i>B. cereus</i>	firmente presa, agitada	2,99±0,13
<i>B. cereus</i>	colocada solta, agitada	0,74±0,68
<i>K.pneumoniae</i>	controle sem tratamento	4,94±0,08
<i>K.pneumoniae</i>	firmente presa, agitada	2,34±0,24
<i>K.pneumoniae</i>	colocada solta, agitada	1,00±0,89

Exemplo Experimental 4*Inativação de S.epidermidis em alíquotas de PC por UVB*

5 *sob varias condições de agitação*

Foi realizada uma pesquisa sobre se a inativação de *S.epidermidis* em alíquotas de PC livremente colocadas também é aumentada, quando diferentes agitadores horizontais são usados a partir daquele usado nos Experimentos de 1 a 3, que, conforme mencionado, faz movimentos para a frente e para trás. Nos experimentos seguintes, foi usado um agitador orbital que realizava um movimento circular (raio: 3 cm, taxa de rotação: 50/minuto), além de um oscilante com 50 movimentos para cima e para baixo por minuto. Novamente, uma das duas amostras (80 ml) foi presa com firmeza entre placas de quartzo, a outra foi colocada livremente. Como pode ser visto a partir dos resultados mostrados na Tabela 4, desta vez, a extensão da inativação das bactérias foi mais alta em 3 a 4 log₁₀ nas amostras de PC livremente colocadas

do que nas presas com firmeza.

Tabela 4

Agitador	Título da amostra	Título bacteriano (log₁₀CFU/ml)
	controle sem tratamento	4,94±0,16
Orbital	firmemente presa	4,23±0,00
Orbital	colocada solta	0,50±0,39
Oscilante	firmemente presa	4,02±0,17
oscilante	colocada solta	0,87±0,78

Exemplo Experimental 5

5 *Inativação de vírus herpes suid por UVB,*

sem ou com movimento livre das alíquotas de PC durante a agitação

A fim de testar se o aumento da inativação de patógenos em PCs que não são fixos durante a irradiação com luz UV se relaciona não só com as bactérias mas também com os vírus, foi realizado o seguinte experimento: ali-

10 quotas de PC de 80 ml foram pinçadas com vírus herpes suid (SHV-1) e foram tratadas com UVB, conforme descrito no Exemplo Experimental 1. Nas amostras livremente colocadas, o título vitótico foi reduzido de quase 4 log₁₀, nas amostras firmemente presas, por outro lado, apenas de aproximadamente 3 log₁₀. Isto confirma que, sob as referidas condições, a inativação de vírus é

15 também distintamente melhorada.

Tabela 5

Título da amostra	Título virótico (Log₁₀TCID₅₀)
controle sem tratamento	4,4±0,2
amostra firmemente presa	1,41±0,18
amostra colocada solta	0,56±0,15

Exemplo Experimental 6

Inativação de vírus da estomatite vesicular por UVB,

5 *sem ou com movimento livre de alíquotas de PC durante a agitação*

O experimento foi realizado conforme descrito no Exemplo Experimental 5, exceto que as alíquotas de PC foram pinçadas com VSV, em vez de com SHV-1. Novamente, a extensão da inativação dos vírus nas amostras livremente colocadas foi maior em mais de 6,46 log₁₀ do que nas amostras comparativas, que foram fixadas entre placas de quartzo durante a exposição (Tabela 6). É, de fato, de notar que também nestas, o título virótico foi relativamente muito reduzido (em aproximadamente 5,4 log₁₀). O VSV é claramente mais sensível a UV do que SHV-1.

Tabela 6

Título da amostra	Título virótico (Log₁₀TCID₅₀)
controle sem tratamento	6,7±1,05
amostra firmemente presa	1,29±1,05
amostra colocada solta	≤0,24±0,00

Exemplo Experimental 7

Inativação de S.epidermidis por UVC,

sem ou com movimento livre das alíquotas de PC durante a agitação

- Neste experimento, a irradiação teve lugar com UVC, em vez de UVB. A dose de UV foi de 0,3 J/cm² (tempo de exposição: 60 segundos). De outra forma, as condições foram conforme descritas no Exemplo Experimental 1. Como pode ser visto a partir da Tabela 7, o título bacteriano nas amostras fixas foi apenas reduzido de aproximadamente 1 log₁₀. Isto reflete claramente a pequena profundidade de penetração da UVC na suspensão de plaquetas.
- Nas amostras livremente colocadas, por outro lado, não foi mais possível encontrar bactérias; o fator de inativação foi maior do que 4 log₁₀.

Tabela 7

Título da amostra	Título bacteriano (log₁₀CFU/ml)
controle sem tratamento	4,08±0,04
amostra firmemente presa	2,99±0,13
amostra colocada solta	≤0,24

Exemplo Experimental 8

Inativação de VSV por UVC,

- sem ou com movimento livre das alíquotas de PC durante a agitação*

- Como no Exemplo Experimental 6, foi usado VSV como vírus de teste. As condições eram as mesmas que no Exemplo Experimental 7. Os resultados exibidos na Tabela 8 mostram que, também neste caso, a extensão da inativação de patógenos foi muito mais marcada nas amostras livremente colocadas do que nas fixas: enquanto o título virótico na última foi reduzido

de apenas cerca de $1,5 \log_{10}$, foi aproximadamente de $6,2 \log_{10}$ nas amostras não fixadas.

Tabela 8

Título da amostra	Título virótico ($\text{Log}_{10}\text{TCID}_{50}$)
controle sem tratamento	$6,92 \pm 0,22$
amostra firmemente presa	$5,47 \pm 0,21$
amostra colocada solta	$0,74 \pm 0,76$

REIVINDICAÇÕES

1 - Método de Inativação de Patógenos e/ou Leucócitos em Concentrados de Plaquetas, (PCs), que compreende as etapas de:

prover PCs obtidos a partir do sangue de doadores ou por aferese mecânica ou por ambos,

expor os PCs à irradiação com luz ultravioleta (UV),

em que os PCs consistem numa pluralidade de unidades que são capazes de serem individualmente manuseadas e armazenadas separadamente e

as unidades de PC são colocadas, cada uma, em bolsas de exposição flexíveis planas, penetráveis pelo UV,

caracterizado por que

as bolsas de exposição são enchidas a menos do que 30% do volume máximo de enchimento das bolsas de exposição

as bolsas de exposição são deslocadas durante a irradiação com luz UV, de forma que o conteúdo das bolsas de exposição seja circulado e sejam formadas zonas de espessuras variáveis de camadas pelo movimento e as bolsas de exposição têm um nível de enchimento médio de menos de 10 mm e através do movimento são constantemente produzidos cavados de ondas que têm espessuras de camadas de menos de metade do nível de enchimento médio,

em que a luz UV compreende irradiação UVC com um comprimento de onda de menos de 280 a 200 nm e a irradiação com UVC tem lugar com uma energia de 0,01 a 2 J/cm².

2 - Método de Inativação de Patógenos e/ou Leucócitos em Concentrados de Plaquetas, de acordo com a Reivindicação 1, **caracterizado por que os**

patógenos são vírus e/ou bactérias.

3 - Método de Inativação de Patógenos e/ou Leucócitos em Concentrados de Plaquetas, de acordo com qualquer uma das Reivindicações precedentes, **caracterizado** por que, através do movimento, as zonas têm regiões irradiadas para as quais são dadas regularmente em tempos espessuras de camada abaixo de 1 mm.

4 - Método de Inativação de Patógenos e/ou Leucócitos em Concentrados de Plaquetas, de acordo com qualquer uma das Reivindicações precedentes, **caracterizado** por que o movimento, em particular a amplitude do movimento, tem lugar de forma que, dentro dos PCs, são formadas regiões irradiadas em que a espessura de camada é regularmente em tempos menor do que 0,5 mm.

5 - Método de Inativação de Patógenos e/ou Leucócitos em Concentrados de Plaquetas, de acordo com qualquer uma das Reivindicações precedentes, **caracterizado** por que as bolsas de exposição têm um lado inferior e um lado superior e a soma das áreas do lado inferior e do lado superior, que está ou pode estar em contato com o conteúdo de bolsa, é mais do que 90 por cento da área, de preferência mais de 99 por cento da área da superfície total interna do conteúdo de bolsa.

6 - Método de Inativação de Patógenos e/ou Leucócitos em Concentrados de Plaquetas, de acordo com qualquer uma das Reivindicações precedentes, **caracterizado** por que a irradiação de UV consiste exclusivamente em irradiação com comprimentos de onda de menos de 280 a 200 nm.

7 - Método de Inativação de Patógenos e/ou Leucócitos em Concentrados de Plaquetas, de acordo com qualquer uma das Reivindicações precedentes, **caracterizado** por que cada unidade é produzida a partir de amostras de até um máximo de 8 doadores, de preferência de até um máximo de 6 doadores.

8 - Método de Inativação de Patógenos e/ou Leucócitos em Concentrados de Plaquetas, de acordo com qualquer uma das Reivindicações precedentes,

caracterizado por que cada unidade se origina a partir de um doador.

9 - Método de Inativação de Patógenos e/ou Leucócitos em Concentrados de Plaquetas, de acordo com qualquer uma das Reivindicações precedentes, **caracterizado** por que o PC contém pelo menos 1×10^8 plaquetas por ml, de preferência pelo menos 5×10^8 plaquetas por ml.

10 - Método de Inativação de Patógenos e/ou Leucócitos em Concentrados de Plaquetas, de acordo com qualquer uma das Reivindicações precedentes, **caracterizado** por que a irradiação com UVB tem lugar com uma energia de luz de 0,3 a 5 J/cm², de preferência de 0,5 até 2,5 J/cm².

11 - Método de Inativação de Patógenos e/ou Leucócitos em Concentrados de Plaquetas, de acordo com qualquer uma das Reivindicações de 1 a 9, **caracterizado** por que a irradiação com UVC tem lugar com uma energia de luz de 0,01 a 2 J/cm², de preferência de 0,1 a 1 J/cm².

12 - Método de Inativação de Patógenos e/ou Leucócitos em Concentrados de Plaquetas, de acordo com qualquer uma das Reivindicações precedentes, **caracterizado** por que os PCs contêm plasma e, se aplicável, um meio de armazenamento apropriado, em que o conteúdo de plasma é, de preferência, maior do que 20% em peso.

13 - Método de Inativação de Patógenos e/ou Leucócitos em Concentrados de Plaquetas, de acordo com qualquer uma das Reivindicações precedentes, **caracterizado** por que os PCs contêm um meio de armazenamento tamponado aquoso.

14 - Método de Inativação de Patógenos e/ou Leucócitos em Concentrados de Plaquetas, de acordo com qualquer uma das Reivindicações precedentes, **caracterizado** por que são inativados vírus, bactérias e/ou leucócitos e a função das plaquetas permanece substancialmente inalterada.

15 - Método de Inativação de Patógenos e/ou Leucócitos em Concentrados

de Plaquetas, de acordo com qualquer uma das Reivindicações precedentes, **caracterizado** por que as bolsas de exposição têm um volume de até 5.000 ml.

16 - Método de Inativação de Patógenos e/ou Leucócitos em Concentrados de Plaquetas, de acordo com qualquer uma das Reivindicações precedentes, **caracterizado** por que as bolsas de exposição são seguras de maneira a serem móveis no equipamento em que são deslocadas e irradiadas e, em particular, não são presas entre duas superfícies, por exemplo, vidro penetrável por UV nem placas de plástico.

17 - Método de Inativação de Patógenos e/ou Leucócitos em Concentrados de Plaquetas, de acordo com qualquer uma das Reivindicações precedentes, **caracterizado** por que as bolsas de exposição são deslocadas durante pelo menos três quartos da duração da exposição total.

18 - Método de Inativação de Patógenos e/ou Leucócitos em Concentrados de Plaquetas, de acordo com qualquer uma das Reivindicações precedentes, **caracterizado** por que as bolsas de exposição são deslocadas por agitação.

19 - Método de Inativação de Patógenos e/ou Leucócitos em Concentrados de Plaquetas, de acordo com qualquer uma das Reivindicações de 1 a 17, **caracterizado** por que as bolsas de exposição são deslocadas por oscilação.

20 - Método de Inativação de Patógenos e/ou Leucócitos em Concentrados de Plaquetas, de acordo com qualquer uma das Reivindicações de 1 a 17, **caracterizado** por que as bolsas de exposição são deslocadas por rotação.

21 - Método de Inativação de Patógenos e/ou Leucócitos em Concentrados de Plaquetas, de acordo com qualquer uma das Reivindicações precedentes, **caracterizado** por que a agitação tem lugar com um agitador orbital, um agitador de plataforma, um agitador oscilante ou um agitador de tambor.

22 - Método de Inativação de Patógenos e/ou Leucócitos em Concentrados de Plaquetas, de acordo com qualquer uma das Reivindicações precedentes,

caracterizado por que as bolsas de exposição são colocadas de um lado de forma que, durante e pelo movimento ou agitação, a altura da bolsa de exposição, vista em relação à distância ao longo da superfície normal entre a superfície sobre a qual estão colocados os sacos de exposição e o ponto de interseção com a superfície superior da bolsa de exposição acima da superfície superior inteira da bolsa de exposição que está em contato com o conteúdo de bolsa muda constantemente.

23 - Método de Inativação de Patógenos e/ou Leucócitos em Concentrados de Plaquetas, de acordo com qualquer uma das Reivindicações precedentes, **caracterizado** por que as bolsas de exposição têm um nível médio de enchimento de 10, de preferência de menos do que 5 mm e, através do movimento, são produzidos constantemente cavados de ondas que têm espessuras de camadas de menos do que metade do nível de enchimento médio, de preferência, camadas de espessuras de menos do que 1 mm ou até menos do que 0,1 mm.

24 - Método de Inativação de Patógenos e/ou Leucócitos em Concentrados de Plaquetas, de acordo com pelo menos uma das Reivindicações precedentes, **caracterizado** por que, durante a exposição, as bolsas de exposição são deslocadas constantemente com uma amplitude de 0,2 a 8 cm pelo menos na direção dos x e, se aplicável, também na direção dos y (direção dos y em ângulo reto com a direção dos x) e independentemente a partir delas a frequência da mudança de direção do movimento de agitação é de 0,5 a 10 Hz.

25 - Método de Inativação de Patógenos e/ou Leucócitos em Concentrados de Plaquetas, de acordo com pelo menos uma das Reivindicações precedentes, **caracterizado** por que, durante a exposição, as bolsas de exposição são enchidas a um máximo de 20% de seu volume máximo de enchimento.

**“Método de Inativação de Patógenos e/ou Leucócitos
em Concentrados de Plaquetas”**

Resumo

A invenção relaciona-se com um método de inativação de patóge-
5 nos tais como bactérias e vírus e/ou leucócitos em concentrados de plaquetas
(concentrados de trombocitos, por irradiação em contentores flexíveis com luz
ultravioleta usando agitação. O produto sanguíneo é embalado numa bolsa
flexível para permitir a intermistura do fluido por agitação (inclinação, rota-
ção, translação). Isto é também promovido pelo enchimento da bolsa a 30%
10 máximo da capacidade de enchimento.