

ALMACENAMIENTO ANAERÓBICO DE SANGRE Y MÉTODO DE INACTIVACIÓN DE PATÓGENOS

REFERENCIA CRUZADA CON SOLICITUDES RELACIONADAS

La presente solicitud invoca prioridad sobre la Solicitud provisional de Estados Unidos N.º 62/342,756, presentada el 27 de mayo de 2016, y sobre la Solicitud provisional de Estados Unidos N.º 62/445,081, presentada el 11 de enero de 2017. Todas las solicitudes precedentes se incorporan a la presente en su totalidad por referencia.

CAMPO DE LA INVENCION

La presente divulgación se refiere a métodos para mejorar la calidad y la seguridad de la sangre y de los productos sanguíneos para su uso en la medicina de transfusión.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El uso de sangre y de componentes sanguíneos para la transfusión es una práctica común en la medicina actual, pero presenta un riesgo para los pacientes con respecto al potencial de exposición a contaminantes inmunogénicos y patógenos. La práctica de almacenar la sangre y los componentes sanguíneos recolectados durante hasta varias semanas exacerba este riesgo. La sangre completa normalmente se procesa mediante filtración para eliminar leucocitos (leucorreducción), y luego se la centrifuga para separar los tres componentes sanguíneos principales de plasma, plaquetas y glóbulos rojos. Luego, los glóbulos rojos concentrados leucorreducidos (LRpRBC, por sus siglas en inglés) normalmente se suspenden en una solución aditiva, tales como AS-1 (Adsol®), AS-3 (Nutricel®), AS-5 (Optisol®) y AS-7 (SOLX®) en los Estados Unidos, o SAGGM o PAGGSM en la UE, para prolongar la vida útil en almacenamiento antes del almacenamiento refrigerado durante hasta 42 días. El plasma normalmente se congela dentro de las 24 horas de la flebotomía y la separación (“Plasma fresco congelado” —FFP o FP24, por sus siglas en inglés). El FFP se descongela antes del uso y se lo debe utilizar dentro de los 5 días posteriores al descongelamiento. Las plaquetas (PLT, por sus siglas en inglés) se recolectan mediante aféresis o mediante acumulación de las fracciones de PLTs separadas de múltiples unidades de sangre completa. Las PLTs recolectadas mediante aféresis normalmente se suspenden en soluciones aditivas, tales como PAS-C (Intersol®) o PAS-F (Isoplate®) en la UE (no aún en los EE.UU.). Las PLTs se mantienen agitadas a temperatura ambiente para

evitar la activación de las PLTs, y se deben utilizar dentro de los 5 a 7 días de la recolección. Si bien todos los componentes sanguíneos son susceptibles a la contaminación viral y bacteriana de los donantes, debido a las condiciones de almacenamiento, las PLTs son más susceptibles a la contaminación y la proliferación bacterianas que otros componentes sanguíneos.

Los avances recientes en el estado de la técnica han proporcionado la inactivación de patógenos bacterianos y virales mediante la utilización de luz UV para irradiar los componentes sanguíneos con fotosensibilizadores antes del almacenamiento (véase, por ejemplo, el sistema INTERCEPT® basado en psoralenos, el sistema MIRASOL® basado en riboflavina), y también sin fotosensibilizadores (sistema de plaquetas-UV THERAFLEX®). Estos sistemas entrecruzan e inactivan el ADN en la especie patógena y, de esta manera, reducen el riesgo que presentan para el paciente. El sistema INTERCEPT® utiliza amotosaleno HCl (un psoraleno sintético) y luz UV-A entregada a una exposición radiante de 3 J/cm² para entrecruzar el ADN patógeno, con la eliminación o la reducción de amotosaleno y fotoproductos residuales después del tratamiento. El sistema Mirasol® utiliza riboflavina y luz UV centrada cerca de 313 nm para abordar la absorción mediante complejos de riboflavina-nucleótidos. Los sistemas sin fotosensibilizadores normalmente utilizan luz UV-C a 254 nm. Los efectos a largo plazo de algunos fotosensibilizadores y fotoproductos en estos sistemas aún no se han establecido.

Otros avances en el estado de la técnica incluyen el uso de S-303 (Cerus Corporation, Concord, CA), un agente alquilante basado en mostaza de quinacrina que incluye un grupo de anclaje frangible, para entrecruzar ácidos nucleicos e inactivar bacterias infecciosas y otros patógenos (véase Henschler *et al.* “*Development of the S-303 pathogen inactivation technology for red blood cell concentrates*” [Desarrollo de la tecnología de inactivación de patógenos con S-303 para concentrados de glóbulos rojos] *Transfus Med Hemother* [Med. transf. y hemot.] 38:33-42 (2011) (“Henschler 2011”). Sin ánimo de quedar limitados por la teoría, se cree que hay dos reacciones que forman la base del proceso de inactivación de patógenos con S-303. La primera reacción es la formación de aductos covalentes de ADN y ARN mediante la reacción con la molécula de S-303. Esta primera reacción se completa dentro de aproximadamente 30 minutos. La segunda reacción es la degradación del S-303 en exceso en un subproducto menos tóxico, S-300. Esta descomposición ocurre simultáneamente con la reacción de los aductos y se completa dentro de las 16-18 horas.

Si bien no se limita a una teoría particular, se cree que la formación de aductos covalentes de ADN y ARN con S-303 se basa en la intercalación de la molécula con un

polímero de ácido nucleico (p. ej., ADN o ARN). Según el entendimiento actual, cuando se agrega S-303 a los RBCs, rápidamente (dentro de segundos a minutos) pasa a través de las membranas, incluidas las de las células y las envolturas víricas debido a su carácter anfipático, y se intercala en las regiones helicoidales del ácido nucleico. Se hipotetiza que la presencia de un ancla frangible en la molécula ayuda al proceso de intercalación mediante la atracción de los grupos amino con carga positiva en la molécula hacia las cargas negativas en las cadenas de ácidos nucleicos del ADN o del ARN. La proximidad cercana de la molécula S-303 permite que ocurran rápidamente reacciones de cicloadición térmica, que unen de manera covalente la molécula S-303 al ADN o al ARN. Se cree que el enlace covalente impide que ocurran procesos de replicación o traducción y que detiene, además, la producción de patógenos adicionales. Durante el proceso de formación del aducto covalente, el ancla frangible se elimina mediante hidrólisis, y se logra el compuesto S-300 menos tóxico.

La descomposición espontánea de S-303 en el S-300 menos tóxico es la segunda reacción en el proceso de inactivación de patógenos. Normalmente se agrega un exceso de S-303 (aproximadamente 0,2 mM) a los RBCs para proporcionar un reactivo suficiente para reaccionar por completo con la totalidad de ADN y ARN en la muestra. Sin embargo, el S-303 es un compuesto tóxico, por lo que, para transfundir de manera segura el producto resultante, se debe eliminar el S-303 residual. En el proceso de inactivación de patógenos de Cerus, esto se logra principalmente permitiendo que el S-303 se degrade a S-300, un compuesto con toxicidad significativamente menor. El proceso de degradación ocurre mediante hidrólisis; la hidrólisis del S-303 se activa mediante el cambio en el pH de bajo a alto cuando el reactivo S-303 se mezcla inicialmente con los RBCs. La cinética de descomposición del S-303 residual es rápida en concentraciones por encima de los 10 nM/L con una semivida de alrededor de 20 minutos.

Según el entendimiento actual, el S-303 también tiene el potencial de reaccionar con otros nucleófilos en una unidad de RBCs, incluidas moléculas pequeñas, tales como fosfatos, agua y macromoléculas, tales como proteínas. Si bien no se limita a ninguna teoría en particular, para reducir estas interacciones no específicas con proteínas, se agregan 20 mM de glutatión (GSH, por sus siglas en inglés) simultáneamente a los RBCs durante el proceso de inactivación de patógenos. (*Véase* Henschler 2011). El glutatión (GSH) es un antioxidante natural presente en la mayoría de las células en una concentración intracelular de alrededor de 5 mM. Según el entendimiento actual, el GSH se distribuye solo en el espacio de plasma extracelular, mientras que el S-303 se difunde a través de las membranas y se equilibra dentro y fuera de las células. Esto permite al GSH aplacar las reacciones extracelulares de S-303 sin

un impacto significativo sobre la inactivación de patógenos (*Véase Olcina et al. Hypoxia and the DNA damage response. Hypoxia and Cancer in Cancer Drug Discovery and Development* [Hipoxia y la respuesta al daño del ADN. Hipoxia y cáncer en el descubrimiento y el desarrollo de medicamentos para el cáncer]. 2014; Capítulo 2:21-30; Melillo G (ed)).

Los avances recientes en el estado de la técnica también incluyen el uso de glóbulos rojos concentrados almacenados anaeróbicamente en solución aditiva para reducir la cantidad de lesiones de almacenamiento asociadas comúnmente al uso de sangre más vieja (*véase Bitensky, et al. US 5,789,152; Bitensky, et al. US 6,162,396; y Bitensky, et al. US 8,071,282*). Se cree que estas lesiones de almacenamiento derivan de los procesos metabólicos y los subproductos que surgen como resultado del almacenamiento de la sangre sin el entorno fisiológico normal del sistema circulatorio, y que la eliminación o la reducción del oxígeno disponible en la sangre almacenada reduce la creación de especies oxidativas dañinas dentro del glóbulo rojo durante el almacenamiento.

La hemólisis se reconoce como un indicador importante de la calidad y la seguridad de la sangre. Durante el almacenamiento, los niveles de hemólisis aumentan con el tiempo, y la presencia de la hemoglobina libre es un indicador de que la sangre ha excedido su vida útil en almacenamiento. A partir de esto, se han desarrollado normas y directrices que limitan los tiempos de almacenamiento aceptables para las unidades de productos sanguíneos que se pueden utilizar para transfusiones. La importancia de la hemólisis para la seguridad de la sangre ha llevado a Europa a establecer un límite superior de 0,8 % antes de que la sangre se deba desechar. La FDA recomienda que el nivel de hemólisis no exceda 1,0 %. De este modo, los métodos que reducen la hemólisis extienden la vida útil en almacenamiento segura de la sangre, reducen los costos y aumentan la disponibilidad de la sangre.

Otro indicador de la salud y la seguridad de la sangre almacenada son las micropartículas. *Véase, Cognasse et al., "The role of microparticles in inflammation and transfusion: A concise review"* [El papel de las micropartículas en la inflamación y en la transfusión: una reseña concisa]. *Transfus. Apher. Sci.* [Ciencia afér. transfus.] 53(2):159-167 (2015). Las micropartículas (Mps) son producidas por los glóbulos rojos, los leucocitos, las plaquetas y las células endoteliales. Se cree que las micropartículas se producen como resultado de la fisiología, la apoptosis o el daño celular normales. Generalmente, se describen como partículas de menos de 1000 nm. Un rango más bajo se indica, a veces, a 50 nm, pero no existe una definición o acuerdo claros con respecto al límite inferior. Usualmente, se utiliza un citómetro de flujo junto con un anticuerpo de superficie fluorescente para la

cuantificación, pero no existe un método generalmente aceptado para la medición de las MPs, y las mediciones pueden depender del instrumento utilizado. Véase Poncelet *et al.*, “*Tips and tricks for flow cytometry-based analysis and counting of microparticles*” [Consejos y trucos para el análisis y el recuento de micropartículas basados en la citometría de flujo]. *Transfus.*

5 *Apher. Sci.* [Ciencia afér. transfus.] 53(2):110-126 (2015). La composición de las Mps refleja la célula madre de la cual derivan, si bien solo se incluyen o exponen moléculas seleccionadas en la superficie de las MPs resultantes. Algunas de las MPs se consideran altamente trombógenas (especialmente las MPs de origen plaquetario). Generalmente, las Mps en componentes de RBC almacenados son dañinas para los receptores como fuentes de
10 inmunomodulación, hipercoagulación, barrido de óxido nítrico (perfusión sanguínea deficiente), o desarrollo de aloinmunidad. Por consiguiente, los métodos que provocan niveles reducidos de micropartículas proporcionan una salud y seguridad mejoradas de la sangre almacenada.

Aquí demostramos que los niveles de oxígeno reducidos en la sangre completa
15 proporciona reducciones inesperadas en la cantidad de hemólisis y la producción de micropartículas cuando se tratan productos sanguíneos para reducir virus, bacterias y parásitos multicelulares que provocan enfermedades, y para reducir los glóbulos blancos. Los métodos proporcionados en la presente memoria descriptiva proporcionan la extensión de la vida útil de los productos sanguíneos con niveles de patógenos reducidos mediante la
20 reducción de la hemólisis.

La inactivación de patógenos de la sangre y de los productos sanguíneos se ha desarrollado para mejorar su seguridad. Si bien se pueden inactivar una variedad de bacterias, virus y parásitos, los estudios de investigación demuestran el impacto negativo sobre los componentes sanguíneos. Actualmente, los concentrados de plasma y de plaquetas se pueden
25 tratar con sistemas de inactivación de patógenos; sin embargo, el tratamiento de los glóbulos rojos aún se está desarrollando. La inactivación de patógenos de la sangre completa después de la donación proporcionaría la ventaja de que todos los productos derivados tienen patógenos inactivados junto con la destrucción de glóbulos blancos residuales. Sin embargo, estudios recientes demostraron que la calidad de los glóbulos rojos derivada de la iluminación
30 de sangre completa con el uso de tecnología de riboflavina/luz UV (Mirasol, TerumoBCT) se reduce significativamente en comparación con el brazo del estudio no tratado en la medida que requeriría un acortamiento de la vida útil en almacenamiento en condiciones de almacenamiento estándares. El distintivo de estos análisis es el desarrollo acelerado de la hemólisis, que alcanza el nivel de aceptación actual de 0,8 % alrededor del día 30 del

almacenamiento en un banco de sangre. La creación de estas especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) durante la iluminación UV es uno de los contribuyentes a la hemólisis.

5 Aquí demostramos que la reducción del oxígeno de la sangre completa antes del tratamiento para los patógenos con el uso del sistema Mirasol mejora la calidad de la sangre. El sistema Hemanext™ (New Health Sciences) diseñado para eliminar oxígeno de la sangre completa y de los concentrados de glóbulos rojos combinado con la reducción de patógenos provoca como resultado una mejor calidad de los glóbulos rojos en comparación con la reducción de patógenos en condiciones sin niveles de oxígeno reducidos. El procesamiento
10 de Hemanext™ combinado con el tratamiento Mirasol de reducción de patógenos provoca como resultado sangre que tiene menos de 0,8 % de hemólisis sanguínea después de 42 días de almacenamiento en condiciones de niveles de oxígeno reducidos.

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente divulgación proporciona un método para inactivar patógenos de la sangre
15 y reducir la hemólisis durante el almacenamiento mediante la eliminación de oxígeno de un producto sanguíneo, el agregado de riboflavina hasta una concentración final de entre 40 y 60 μM , y la irradiación del producto sanguíneo que contiene riboflavina con luz UV a entre 265-400 nm.

La presente divulgación proporciona un método para reducir la formación de
20 micropartículas e inactivar patógenos de la sangre mediante la eliminación de oxígeno de un producto sanguíneo, el agregado de riboflavina hasta una concentración de entre 40 y 60 μM , y la irradiación del producto sanguíneo que contiene riboflavina con luz UV a entre 265-400 nm.

La presente divulgación proporciona sangre completa con niveles de oxígeno
25 reducidos que comprende sangre completa recolectada en CPD, que tiene entre 40 y 60 μM de riboflavina, que tiene una saturación de oxígeno (SO_2) de menos de 25 %, y que tiene una pCO_2 de 90 mmHg o menos a 37 °C, donde la sangre completa con niveles de oxígeno reducidos se ha irradiado con luz UV a entre 265 y 400 nm

La presente divulgación proporciona sangre completa con niveles de oxígeno y de
30 dióxido de carbono reducidos que comprende sangre completa recolectada en CPD, que tiene entre 40 y 60 μM de riboflavina, que tiene una saturación de oxígeno (SO_2) de menos de 25 %, y que tiene una pCO_2 de 20 mmHg o menos a 37 °C, donde la sangre completa con niveles de oxígeno reducidos se ha irradiado con luz UV a entre 265 y 400 nm

La presente divulgación proporciona un método para inactivar patógenos de la sangre y reducir la hemólisis mediante la eliminación de oxígeno de un producto sanguíneo, el agregado de S-303 hasta una concentración final de 0,2 mM, y el agregado de GSH hasta una concentración final de entre 2 y 20 mM.

5 La presente divulgación proporciona un método para inactivar patógenos de la sangre y reducir la producción de micropartículas mediante la eliminación de oxígeno y de dióxido de carbono de un producto sanguíneo, el agregado de S-303 hasta una concentración final de 0,2 mM, y el agregado de GSH hasta una concentración final de entre 2 y 20 mM.

10 La presente divulgación proporciona glóbulos rojos con niveles de oxígeno reducidos que tienen una concentración final de aproximadamente 0,2 mM de S-303, que tienen una saturación de oxígeno (SO₂) de menos de 25 %, y que tienen una pCO₂ de 90 mmHg o menos a 37 °C.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

15 La presente divulgación se divulga con referencia a los dibujos que se acompañan, en los cuales:

La Figura 1 presenta un diagrama que ilustra un sistema de recolección y almacenamiento de una bolsa de sangre de acuerdo con un aspecto de la presente memoria descriptiva.

20 La Figura 2 presenta un diagrama que ilustra un sistema de aféresis discontinuo de acuerdo con un aspecto de la presente memoria descriptiva.

La Figura 3 presenta un diagrama que ilustra un sistema de aféresis discontinuo de acuerdo con un aspecto de la presente memoria descriptiva.

25 La Figura 4 es un gráfico que presenta los resultados de un experimento de acuerdo con la presente divulgación, que compara la hemólisis promedio de sangre completa de control con solución salina estéril (1 prom), de sangre completa de control con riboflavina (2 prom), de RBCs concentrados con niveles de oxígeno reducidos y con solución salina estéril (3 prom), de pRBCs con niveles de oxígeno reducidos y con riboflavina (4 prom), de sangre completa con niveles de oxígeno reducidos y con solución salina estéril (5 prom), y de sangre completa con niveles de oxígeno reducidos y con riboflavina (6 prom).

30 La Figura 5 es un gráfico que presenta los resultados de un experimento de acuerdo con la presente divulgación, que compara la cantidad promedio de micropartículas de sangre completa de control con solución salina estéril (1 prom), de sangre completa de control con riboflavina (2 prom), de RBCs concentrados con niveles de oxígeno reducidos y con solución

salina estéril (3 prom), de pRBCs con niveles de oxígeno reducidos y con riboflavina (4 prom), de sangre completa con niveles de oxígeno reducidos y con solución salina estéril (5 prom), y de sangre completa con niveles de oxígeno reducidos y con riboflavina (6 prom).

Las Figuras 6A a 6G son gráficos que presentan los resultados de un experimento de acuerdo con la presente divulgación, que compara la fragilidad osmótica (6A), el potasio (6B), la hemoglobina total (6C), la saturación de oxígeno (6D), la glucosa (6E), el lactato (6F) y el pH (6G) de sangre completa de control con solución salina estéril (1 prom), de sangre completa de control con riboflavina (2 prom), de RBCs concentrados con niveles de oxígeno reducidos y con solución salina estéril (3 prom), de pRBCs con niveles de oxígeno reducidos y con riboflavina (4 prom), de sangre completa con niveles de oxígeno reducidos y con solución salina estéril (5 prom), y de sangre completa con niveles de oxígeno reducidos y con riboflavina (6 prom).

Los caracteres de referencia correspondientes indican partes correspondientes a lo largo de las varias vistas. Los ejemplos presentados en la presente ilustran aspectos de la presente memoria descriptiva, pero no se debería interpretar que limitan el alcance de la presente memoria descriptiva de ninguna manera.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Aquí mostramos que los efectos secundarios dañinos de irradiar muestras de sangre con luz UV se pueden mitigar mediante la reducción de la cantidad de oxígeno presente en la muestra. Sin ánimo de quedar limitados por la teoría, se cree que la reducción del oxígeno disminuye la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS). Se cree que la reducción de las ROS aumenta los aspectos beneficiosos de la irradiación con luz UV para la inactivación de patógenos en muestras de sangre, independientemente de si la muestra es de sangre completa o de cualquier componente sanguíneo, tales como plasma, plaquetas o glóbulos rojos.

De acuerdo con aspectos de la presente memoria descriptiva, un sistema de procesamiento y almacenamiento de sangre puede recolectar, separar, desoxigenar e irradiar componentes sanguíneos con luz UV antes del almacenamiento. El sistema de procesamiento de sangre puede ser un sistema de bolsa accionado por gravedad, tal como el que se utiliza comúnmente en la leucorreducción de la sangre completa. En algunos aspectos, el sistema de procesamiento de la sangre puede ser un sistema de aféresis de un tipo de flujo ya sea continuo o discontinuo, como se conoce comúnmente en el estado de la técnica, donde la sangre se recolecta y se separa en componentes deseados, y los componentes deseados luego

se desoxigenan y se irradian de acuerdo con la presente memoria descriptiva antes del almacenamiento. En algunos aspectos, la sangre se recolecta y se desoxigena antes de la separación y de la irradiación UV del componente sanguíneo deseado antes del almacenamiento. En algunos aspectos, la sangre se recolecta y se separa antes de la desoxigenación y de la irradiación UV del componente sanguíneo deseado antes del almacenamiento. En algunos aspectos, la sangre se recolecta, se desoxigena y se somete a irradiación UV antes de la separación y el almacenamiento de los componentes sanguíneos deseados.

Las personas con capacidad ordinaria en la técnica apreciarán que los siguientes ejemplos y dibujos tienen propósitos ilustrativos solamente y que no tienen por objeto limitar el alcance de la invención. Para los fines de la presente memoria descriptiva y descripción, se entiende que las definiciones y los términos siguientes tienen su significado común. El término “UV” se refiere a luz ultravioleta, que tiene una longitud de onda de alrededor de 220 nm a alrededor de 400 nm, y generalmente incluye el pico de una lámpara de arco de mercurio a 405 nm. El término “muestra de sangre” tiene por objeto referirse a una muestra de sangre de un animal o un humano, e incluye sangre completa y componentes de sangre completa, incluidos glóbulos rojos (RBCs), plaquetas (PLTs), plasma, leucocitos, proteínas que se hallan comúnmente en la sangre, tales como albúmina, enzimas, factores de coagulación, y también incluye combinaciones de dichos componentes que se hallan comúnmente en la sangre, tales como fracciones de sangre completa separadas parcialmente, componentes recombinados separados previamente, e incluye muestras de sangre recolectadas o almacenadas recientemente. El término “aféresis” tiene por objeto tener su significado común en el estado de la técnica e incluye la recolección y la separación de sangre mediante métodos tanto continuos como discontinuos, como se los conoce comúnmente en el estado de la técnica. El término “sistema de aféresis” tiene por objeto tener su significado común en el estado de la técnica e incluye dispositivos y sistemas para la recolección y la separación de sangre mediante métodos tanto continuos como discontinuos, como se los conoce comúnmente en el estado de la técnica. El término “envase de sangre” tiene por objeto referirse a cualquier envase fabricado de materiales poliméricos con el fin de almacenar sangre, independientemente de la duración del almacenamiento, e incluye el término genérico “bolsa de sangre” según se utiliza comúnmente en el estado de la técnica. El término “PVC” tiene por objeto referirse al polímero que comprende cloruro de polivinilo, e incluye PVC con cualquier material agregado, tales como plastificantes, estabilizadores,

inhibidores y otros materiales conocidos comúnmente en el estado de la técnica y utilizados en la fabricación de PVC.

La Figura 1 muestra un aspecto de la presente memoria descriptiva que comprende una bolsa de recolección de sangre 1, una bolsa de procesamiento de sangre 4, una cámara de irradiación UV 10, y una bolsa de almacenamiento de sangre 13. La bolsa de recolección de sangre 1 se conoce comúnmente en el estado de la técnica y normalmente está fabricada de plástico flexible, tal como cloruro de polivinilo (PVC), pero puede estar fabricada de otros materiales poliméricos, tales como uretano, silicona, u otros materiales biocompatibles. La bolsa de recolección de sangre 1 tiene una vía de transferencia de sangre 3. La vía de transferencia de sangre 3 también está fabricada de plástico flexible, como se sabe comúnmente en el estado de la técnica, y normalmente está fabricada de PVC, pero también puede estar fabricada de otros materiales poliméricos biocompatibles. La vía de transferencia de sangre 3 tiene instalado un dispositivo de control de flujo 2, tal como un sujetador de pellizco, un sujetador de trinquete, o una junta frangible para impedir el flujo de sangre desde la bolsa de recolección 1 a través de la vía de transferencia 3 hacia adentro de la bolsa de procesamiento 4 hasta que dicho flujo y dicha transferencia de sangre se deseen. En algunos aspectos, el dispositivo de control de flujo está diseñado para controlar la velocidad de flujo.

La bolsa de procesamiento 4 comprende una bolsa de barrera externa 5 y una bolsa de sangre interna 6, donde la bolsa de barrera externa 5 es sustancialmente impermeable al oxígeno. Los materiales adecuados para la construcción de la bolsa de barrera 5 se conocen comúnmente en el estado de la técnica e incluyen láminas metálicas, tales como papel de aluminio, películas poliméricas que tienen propiedades de barrera adecuadas, tales como etil vinil alcohol (EVA), alcohol polivinílico (PVA, por sus siglas en inglés), poliacrilonitrilo (Barex®), poliolefinas cíclicas, policlorotrifluoroetileno (PCTFE o Aclar®), cloruro de polivinilideno (PVDC, por sus siglas en inglés), películas poliméricas con recubrimientos para proporcionar propiedades de barrera adecuadas, tales como mediante el recubrimiento de una película de polietileno o nailon con un recubrimiento de óxido de silicio, óxido de aluminio, o películas de capas múltiples que comprenden una combinación de películas y/o recubrimientos poliméricos para proporcionar propiedades de barrera adecuadas. En aspectos, la bolsa de barrera está fabricada con película RollPrint ClearFoil® Z o con película Renolit Solmed Wrapflex®. Los métodos a modo de ejemplo para la producción de bolsas de procesamiento se proporcionan en la Solicitud de patente internacional N.º PCT/US2016/021794, presentada el 10 de marzo de 2016, que se incorpora a la presente en su totalidad por referencia.

La bolsa de sangre interna 6 está fabricada de materiales poliméricos flexibles que tienen propiedades de transferencia alta de oxígeno que se conocen comúnmente en el estado de la técnica, e incluyen PVC, uretanos, siliconas, polietileno, polipropileno, poliétersulfona, fluoruro de polivinilideno (PVDF, por sus siglas en inglés). En un aspecto, la bolsa de sangre interna 6 está fabricada de silicona, tal como, por ejemplo, de película de silicona Wacker Silpuran® de 30 µm de espesor. En otro aspecto, la bolsa de sangre interna 6 está fabricada de membrana de PVDF Millipore GVHP29325. Un material sorbente de absorción de oxígeno 7 se dispone entre la bolsa de barrera externa 5 y la bolsa de sangre interna 6. El material sorbente de absorción de oxígeno 7 se conoce comúnmente en el estado de la técnica y normalmente comprende un material sorbente a base de hierro, tales como la serie de absorbedores de oxígeno Mitsubishi Ageless®, u otros materiales o sistemas de absorción de oxígeno, tales como sistemas de ascorbato/sal metálica, catalizadores de metal tal como platino, o polímeros de absorción de oxígeno, tal como nailon MXD6. En algunos aspectos, la bolsa de barrera externa 5 y la bolsa de sangre interna 6 pueden estar laminadas una con otra con el material de absorción de oxígeno 7 dispuesto dentro de la estructura laminada, tal como la película Mitsubishi Ageless® OMAC®.

El material sorbente de absorción de oxígeno 7 normalmente se dispone en un *sachet* transpirable y está adaptado para absorber el oxígeno en el espacio libre superior para gases entre la bolsa de barrera externa 5 y la bolsa de sangre interna 6. En algunos aspectos, el material sorbente de absorción de oxígeno 7 se fija a una estructura de malla de plástico (no se muestra) para proporcionar espacio entre las bolsas interna y externa y, de esta manera, proporcionar una mejor transferencia de gases en el espacio libre superior para gases. En algunos aspectos, una pluralidad de *sachets* de absorción de oxígeno se disponen en el espacio libre superior para gases. En aspectos, el material sorbente de absorción de oxígeno 7 está formulado para ser de actuación rápida y absorber niveles elevados de oxígeno rápidamente, con una capacidad de absorber el contenido entero de oxígeno de una unidad completa de sangre. En aspectos, la capacidad de absorción de oxígeno del material sorbente de absorción de oxígeno 7 es de al menos 100 cc de oxígeno y, más preferentemente, al menos 200 cc. En algunos aspectos, se dispone una etiqueta indicadora de oxígeno (no se muestra) en el espacio libre superior para gases para indicar mediante color la presencia o ausencia de oxígeno en un nivel particular, tal como, por ejemplo, la etiqueta Tell-Tab® de Sorbent Systems. En la Solicitud de patente internacional N.º PCT/US2016/021794, presentada el 10 de marzo de 2016, se proporcionan detalles adicionales de bolsas de

procesamiento 4 y de bolsas de sangre internas 6 adecuadas para la presente memoria descriptiva.

El camino de fluido de la bolsa de sangre interna 6 se conecta a la cámara de irradiación UV 10 mediante la vía de transferencia de sangre 9 que tiene un dispositivo de control de flujo 8, tal como un sujetador de pellizco, un sujetador de trinquete, o una junta frangible para impedir el flujo de sangre desde la bolsa de sangre interna 6 a través de la vía de transferencia 9 hacia adentro de la cámara de irradiación UV 10 hasta que dicho flujo y dicha transferencia de sangre se deseen. En algunos aspectos, el dispositivo de control de flujo está diseñado para controlar la velocidad de flujo. La cámara de irradiación UV 10 además está conectada de manera fluidica a una bolsa de almacenamiento de sangre 13 mediante una vía de transferencia de sangre 12 que tiene un dispositivo de control de flujo 11, tal como un sujetador de pellizco, un sujetador de trinquete, o una junta frangible para impedir el flujo de sangre desde la cámara de irradiación UV 10 a través de la vía de transferencia 12 hacia adentro de la bolsa de almacenamiento de sangre 13 hasta que dicho flujo y dicha transferencia de sangre se deseen. En algunos aspectos, el dispositivo de control de flujo 11 está diseñado para controlar la velocidad del flujo y, en algunos aspectos, el dispositivo de control de flujo está en comunicación con la lámpara UV para proporcionar una exposición controlada a la irradiación de la muestra de sangre contenida dentro de la cámara de irradiación UV.

La cámara de irradiación UV 10 además comprende una lámpara UV (no se muestra) que se conecta funcionalmente a una fuente de energía (no se muestra), y proporciona irradiación UV de la sangre contenida dentro de la cámara o que pasa a través de esta. En algunos aspectos, la cámara de irradiación UV está adaptada para recibir una sección de una manguera de transferencia de sangre 9 e irradiar luz UV a través de la manguera. Las personas con capacidad ordinaria en la técnica apreciarán que la mayoría de los plásticos absorben luz UV a longitudes de onda más bajas y serían inadecuados para el uso de luz UV con longitudes de onda más bajas para el procesamiento, tal como luz UV-C a 254-nm, pero, para ciertos fotosensibilizadores que absorben a longitudes de onda más altas, tales como UV-B (~290-320 nm) o UV-A (~320-400 nm) las secciones de plástico delgadas pueden ser adecuadas. De este modo, en algunos aspectos, una porción de la manguera de transferencia de sangre 9 está adaptada para ser muy delgada en cuanto al espesor de la pared para adaptarse dentro de la cámara de irradiación UV 10 para proporcionar una penetración mejorada de la luz a través de la manguera de plástico en la muestra de sangre. En algunos aspectos, el espesor de la pared de la porción de la manguera de transferencia en la cámara de

irradiación UV es de alrededor de 0,1 a alrededor de 1,0 mm y, en aspectos, el espesor de la pared de la manguera de transferencia tiene de alrededor de 0,2 a alrededor de 0,5 mm de espesor.

En algunos aspectos, la cámara de irradiación UV 10 está adaptada para tener una porción transparente a UV-C, tal como una sección de material de cuarzo (SiO_2) o de zafiro (Al_2O_3) en comunicación de fluido con la manguera de transferencia de sangre 9 y la manguera de transferencia de sangre 12. En algunos aspectos, la vía de transferencia de sangre 9 está adaptada para tener una porción transparente a UV-C, tal como una sección de manguera de cuarzo (SiO_2) o de zafiro (Al_2O_3) anidada entre la manguera de transferencia de sangre 9 y la manguera de transferencia de sangre 12, de modo tal que la porción transparente a UV-C se pueda insertar fácilmente dentro de la cámara de irradiación UV 10. En algunos aspectos, la cámara de irradiación UV 10 está fabricada de material transparente a UV-C, tal como cuarzo (SiO_2) o zafiro (Al_2O_3), y se adapta de manera conectiva a la manguera de transferencia de sangre 9 y a la manguera de transferencia de sangre 12, y en comunicación de fluido con ellas. En algunos aspectos, la cámara de irradiación UV 10 está fabricada de un material que no es transparente a UV-C, pero que es transparente a longitudes de onda UV-A y/o UV-B, tales como vidrio o polímeros, tales como policarbonato, acrílico, PVC, uretano y otros, y está adaptada conectivamente a la manguera de transferencia de sangre 9 y a la manguera de transferencia de sangre 12 y en comunicación de fluido con ellas. En algunos aspectos, la cámara de irradiación UV 10 está fabricada de un material polimérico, tal como silicona, que es lo suficientemente transparente a longitudes de onda UV-C, UV-A y UV-B como para ser eficaz en la transmisión de luz UV hacia adentro del área interior de la cámara de irradiación.

La bolsa de almacenamiento de sangre 13 comprende una bolsa de barrera externa 14 y una bolsa de sangre interna 15, donde la bolsa de barrera externa 14 es sustancialmente impermeable al oxígeno. En la Solicitud de patente internacional PCT/US2016/029069, presentada el 22 de abril de 2016, y que se incorpora a la presente en su totalidad por referencia, se describen bolsas de almacenamiento de sangre 13 adecuadas. Dicho brevemente, se proporcionan materiales adecuados para la construcción de la bolsa de barrera externa 14; la bolsa de barrera externa 14 es sustancialmente equivalente a la bolsa de barrera externa 5. La bolsa de sangre interna 15 es sustancialmente equivalente a la bolsa de recolección de sangre 1 descrita más arriba, con la excepción de que además comprende puertos de adición 17, donde los puertos de adición 17 se conocen comúnmente en el estado de la técnica de la medicina de transfusión y están adaptados para una conexión estéril de una

espiga de infusión para recibir la sangre contenida dentro de la bolsa de sangre interna 15 al momento del uso en el paciente. La bolsa de almacenamiento de sangre 13 además comprende un material de absorción de oxígeno 16 dispuesto entre la bolsa de barrera externa 14 y la bolsa de sangre interna 15. En aspectos, el material de absorción de oxígeno 16 está
5 formulado para funcionar a temperaturas refrigeradas durante períodos de tiempo extendidos y adsorber niveles de oxígeno bajos.

La Figura 2 muestra un sistema de aféresis discontinuo de tres vías, donde se extrae sangre completa de un sujeto a través de un dispositivo de acceso venoso 110 que se puede insertar en el brazo del sujeto. La vía de succión de sangre 120 conecta de manera fluidica el
10 dispositivo de acceso venoso 110 a un dispositivo de separación de componentes sanguíneos 150 para la separación de los componentes sanguíneos. Una bomba de succión 122 ubicada en la vía de succión 120 controla la dirección, la velocidad y la duración del flujo a través de la vía de succión 120.

Mientras se extrae la sangre completa del sujeto, se puede agregar anticoagulante a la
15 sangre completa para impedir que la sangre se coagule dentro de las vías o dentro del dispositivo de separación de componentes sanguíneos 150. Con ese fin, el sistema incluye una vía de anticoagulante 130 conectada de manera fluidica a una fuente de anticoagulante 134 (p. ej., una bolsa de anticoagulante) en un extremo, y al dispositivo de acceso venoso 110 (o la vía de succión 120) en el otro extremo. Una bomba de anticoagulante 132, a través de la
20 cual pasa la vía de anticoagulante 130, controla el flujo a través de la vía de anticoagulante 130 y la cantidad de anticoagulante introducido en la sangre completa. La bomba de anticoagulante 132 funciona proporcionalmente a la bomba de succión 122 para garantizar que se agregue la cantidad apropiada de anticoagulante a la sangre completa. El anticoagulante normalmente se introduce en la sangre completa lo más cerca posible del
25 dispositivo de acceso venoso 110. Las vías/los conductos normalmente incluyen una válvula de bloqueo 164 para detener el flujo dentro de la vía.

Una vez que se extrae la cantidad deseada de sangre completa anticoagulada del sujeto y se la contiene dentro del dispositivo de separación de componentes sanguíneos 150, el dispositivo de separación de componentes sanguíneos separa la sangre completa en varios
30 componentes sanguíneos, normalmente, plasma, plaquetas, glóbulos rojos y, opcionalmente, glóbulos blancos.

Algunos aspectos del sistema de procesamiento de sangre 100 incluyen una bomba de transferencia 210 y una vía de dilución/extracción 160 conectada a la bolsa de plasma 158. La bomba de transferencia 210 y la vía de dilución/extracción 160 se pueden utilizar para una

variedad de propósitos, incluida la dilución de la sangre succionada anticoagulada que se introduce en el dispositivo de separación de componentes sanguíneos. Por ejemplo, si el usuario desea que la sangre succionada tenga un contenido mayor de plasma, el sistema puede diluir la sangre succionada mediante el encendido de la bomba de transferencia y la introducción de plasma proveniente de la bolsa de plasma 158 en la sangre extraída dentro de la vía de succión 120. Además o alternativamente, la bomba de transferencia se puede utilizar durante el aumento de la elutriación para introducir plasma proveniente de la bolsa de plasma 158 en el dispositivo de separación de componentes sanguíneos 150 para extraer plaquetas (u otros componentes sanguíneos).

Después de que la muestra de sangre se separa en el dispositivo de separación de componentes sanguíneos 150 y de que los componentes deseados se retiran y se almacenan en el envase de almacenamiento 156 o 158 apropiado, el sistema envía los componentes no extraídos y/o no deseados de regreso al sujeto por medio de vías específicas.

La Figura 3 muestra un aspecto de la presente memoria descriptiva para su uso con un sistema de aféresis discontinuo de tres vías, donde la porción mejorada se muestra dentro de las líneas discontinuas. En particular, el sistema de procesamiento de sangre mediante aféresis 100 además comprende una bomba de transferencia de fluido 172, un dispositivo de desoxigenación 173, un depósito de procesamiento 174, y una cámara de irradiación UV 177, que están conectadas de manera fluidica mediante la vía de transferencia 170 y la vía de recirculación 175. El control del flujo de fluido en la vía de transferencia 170 y en la vía de recirculación 175 se mantiene mediante el control de las válvulas de control de flujo 171, 176, 178, y 179 que actúan en cooperación para dirigir el fluido hacia adentro de los dispositivos deseados.

Tras completar la separación de los componentes sanguíneos en el dispositivo de separación de la sangre 150, el flujo del componente sanguíneo deseado se dirige hacia adentro de la vía de transferencia 170 de la presente memoria descriptiva mediante el cierre de la válvula de control de flujo 179 y la abertura de la válvula de control de flujo 171 de la presente memoria descriptiva. De este modo, el componente sanguíneo deseado se dirige a la bomba de transferencia 172 de la presente memoria descriptiva en lugar de a la vía de transferencia 152 y, en última instancia, a la bolsa de plasma 158 o a la bolsa de plaquetas 156. El flujo de fluido en la vía de transferencia 170 se puede dirigir mediante el flujo de fluido desde la bomba de transferencia 122 o la bomba de transferencia 210, o mediante la bomba de transferencia 172 de la presente memoria descriptiva, o una combinación de ellas.

El flujo de fluido en la vía de transferencia 170 está controlado por la válvula de control de flujo 171 y fluye hacia adentro de la bomba de transferencia 172 y continúa fluyendo hacia adentro del dispositivo de desoxigenación 173 y el depósito de procesamiento 174, como se muestra mediante la flecha en el dibujo. Durante el proceso de desoxigenación, las válvulas de control de flujo 178 estarían cerradas y la válvula de control de flujo 176 dispuesta en la vía de recirculación 175 estaría abierta, permitiendo, de esta manera, que el fluido sea recirculado por la bomba de transferencia 172 a través del dispositivo de desoxigenación 173, el depósito de procesamiento 174 y la vía de recirculación 175 hasta que se logre el nivel deseado de oxígeno en el fluido. En algunos aspectos, el dispositivo de desoxigenación 173 comprende fibras porosas huecas conocidas comúnmente en el estado de la técnica y utilizadas para la desgasificación de fluidos, tales como los dispositivos Membrana Liqui-Cel® y MiniModule®, y para la oxigenación de la sangre en la perfusión de *bypass* cardiopulmonar, tales como los oxigenadores de la serie Medtronic Affinity® y los oxigenadores de la serie Sorin Inspire®. En algunos aspectos, el dispositivo de desoxigenación 173 está conectado funcionalmente a un suministro de gas nitrógeno (no se muestra) para proporcionar a las fibras porosas huecas gas nitrógeno para eliminar el oxígeno de la sangre. En algunos aspectos, el dispositivo de desoxigenación 173 está conectado funcionalmente a un medio de medición del contenido de oxígeno del fluido contenido en él (no se muestra) para proporcionar un medio para determinar cuándo la muestra de fluido se ha desoxigenado hasta un nivel de alrededor de 25 % de oxígeno o menos y, en aspectos, hasta alrededor de 10 % de oxígeno o menos. En algunos aspectos, la bomba de transferencia está conectada funcionalmente a un medio de control para apagar la bomba después de un período de tiempo predeterminado que se ha mostrado experimentalmente que es eficaz para el volumen de fluido que se está tratando.

Después de que la muestra de fluido se ha desoxigenado adecuadamente, la muestra de sangre es bombeada a través de la cámara de irradiación UV 177 por la bomba 172 mediante la abertura de las válvulas de control de flujo 178. La muestra de sangre se irradia con luz UV proveniente de una fuente de luz UV adecuada (no se muestra). La fuente de luz UV puede estar contenida dentro de la cámara de irradiación UV 177 y conectada funcionalmente a una fuente de energía (no se muestra), o la fuente de luz UV puede estar conectada funcionalmente a la cámara de irradiación UV, tal como mediante un tubo o un espejo de luz (no se muestra). La fuente de luz UV se conoce en el estado de la técnica y se selecciona en base a la salida espectral deseada y a la química involucrada en el tratamiento del componente sanguíneo, y se puede seleccionar de entre el grupo que comprende una

lámpara de arco de mercurio, una lámpara de xenón, una lámpara de destellos, una lámpara de deuterio, una lámpara de halógeno, una lámpara de tungsteno, una lámpara fluorescente, y un LED de emisión UV.

5 El flujo de fluido en la cámara de irradiación UV preferentemente está controlado de modo tal que se logre una exposición radiante objetivo de luz UV en el fluido, ya sea mediante una irradiación UV temporizada de una muestra estática contenida dentro de la cámara de irradiación UV 177, o mediante el flujo controlado de una muestra dinámica que pasa a través de la cámara de irradiación UV 177 y está controlada por las válvulas de flujo 178. En algunos aspectos, la exposición radiante de luz UV es de alrededor de 1-8 J/cm² y, en 10 aspectos, es de alrededor de 3 J/cm². El componente sanguíneo desoxigenado e irradiado con luz UV luego fluye a través de la vía de transferencia 180 hacia adentro de la vía de transferencia 152 para su recolección y almacenamiento. Después de haber sido tratado para reducir patógenos y de haber sido desoxigenado hasta un nivel de menos de alrededor de 25 % de oxígeno de acuerdo con la presente memoria descriptiva, el componente sanguíneo se 15 transfiere a una bolsa de almacenamiento de sangre. En algunos aspectos, la vía de transferencia 180 incluye un dispositivo de absorción de componentes (no se muestra) para proporcionar la reducción de fotosensibilizador y fotoproductos en exceso, tal como el que se utiliza con fotosensibilizadores de psoralenos y se conoce comúnmente en el estado de la técnica.

20 La presente divulgación proporciona e incluye métodos para la reducción de patógenos que tienen una hemólisis reducida que comprenden eliminar oxígeno de un producto sanguíneo para preparar un producto sanguíneo con niveles de oxígeno reducidos, reducir patógenos de la sangre del producto sanguíneo, lo que comprende agregar riboflavina hasta una concentración final de entre 40 y 60 µM, irradiar dicho producto sanguíneo que 25 contiene riboflavina con luz UV a entre 265 y 400 nm. En ciertos aspectos, el método además incluye almacenar dicho producto sanguíneo con niveles de oxígeno reducidos y niveles de patógenos reducidos en condiciones anaeróbicas. En la presente memoria descriptiva también se incluyen y se proporcionan métodos para la reducción de patógenos que tienen una hemólisis reducida que comprenden eliminar oxígeno y dióxido de carbono de un producto 30 sanguíneo para preparar un producto sanguíneo con niveles de oxígeno y de dióxido de carbono reducidos, reducir patógenos de la sangre del producto sanguíneo, lo que comprende agregar riboflavina hasta una concentración final de entre 40 y 60 µM, e irradiar dicho producto sanguíneo que contiene riboflavina con luz UV a entre 265 y 400 nm. Según su uso en la presente, “condiciones anaeróbicas” incluyen tanto condiciones con depleción de

dióxido de carbono como condiciones que contienen dióxido de carbono. En la mayoría de los aspectos, condiciones anaeróbicas se refieren a condiciones de almacenamiento con depleción tanto de oxígeno como de dióxido de carbono.

La presente divulgación proporciona e incluye métodos para la reducción de patógenos que tienen una hemólisis reducida que comprenden eliminar oxígeno de un producto sanguíneo para preparar un producto sanguíneo con niveles de oxígeno reducidos, reducir patógenos de la sangre del producto sanguíneo, lo que comprende agregar S-303 hasta una concentración final de entre aproximadamente 0,1 y 0,5 mM, y agregar glutatión (GSH) hasta una concentración final de entre 2 y 20 mM. En ciertos aspectos, los métodos para la reducción de patógenos que tienen hemólisis reducida comprenden eliminar oxígeno de un producto sanguíneo para preparar un producto sanguíneo con niveles de oxígeno reducidos antes de reducir los patógenos de la sangre. En otros aspectos, los métodos para la reducción de patógenos que tienen hemólisis reducida comprenden eliminar oxígeno de un producto sanguíneo para preparar un producto sanguíneo con niveles de oxígeno reducidos después de reducir los patógenos de la sangre. En otros aspectos, los métodos para la reducción de patógenos que tienen hemólisis reducida comprenden eliminar oxígeno de un producto sanguíneo para preparar un producto sanguíneo con niveles de oxígeno reducidos al mismo tiempo que se reducen los patógenos de la sangre. En la presente memoria descriptiva también se incluyen y se proporcionan métodos para la reducción de patógenos que tienen una hemólisis reducida que comprenden eliminar oxígeno y dióxido de carbono de un producto sanguíneo para preparar un producto sanguíneo con niveles de oxígeno y de dióxido de carbono reducidos, reducir patógenos de la sangre del producto sanguíneo, lo que comprende agregar S-303 hasta una concentración final de aproximadamente 0,2 mM, y agregar glutatión (GSH) hasta una concentración final de entre 5 y 20 mM. En otros aspectos, los métodos para la reducción de patógenos que tienen hemólisis reducida comprenden eliminar oxígeno y dióxido de carbono de un producto sanguíneo para preparar un producto sanguíneo con niveles de oxígeno y de dióxido de carbono reducidos, y reducir patógenos de la sangre del producto sanguíneo, lo que comprende agregar S-303 hasta una concentración final de entre aproximadamente 0,1 y 0,5 mM y agregar glutatión (GSH) hasta una concentración final de entre 2 y 20 mM. En otro aspecto, los métodos para la reducción de patógenos que tienen hemólisis reducida comprenden eliminar oxígeno y dióxido de carbono de un producto sanguíneo para preparar un producto sanguíneo con niveles de oxígeno y de dióxido de carbono reducidos, y reducir patógenos de la sangre del producto sanguíneo, lo que comprende agregar S-303 hasta una concentración final de entre aproximadamente 0,1 y

0,4 mM y agregar glutatión (GSH) hasta una concentración final de entre 5 y 20 mM. En incluso otro aspecto, los métodos para la reducción de patógenos que tienen hemólisis reducida comprenden eliminar oxígeno y dióxido de carbono de un producto sanguíneo para preparar un producto sanguíneo con niveles de oxígeno y de dióxido de carbono reducidos, y
5 reducir patógenos de la sangre del producto sanguíneo, lo que comprende agregar S-303 hasta una concentración final de entre aproximadamente 0,1 y 0,3 mM y agregar glutatión (GSH) hasta una concentración final de entre 5 y 10 mM. En un aspecto más, los métodos para la reducción de patógenos que tienen hemólisis reducida comprenden eliminar oxígeno y dióxido de carbono de un producto sanguíneo para preparar un producto sanguíneo con
10 niveles de oxígeno y de dióxido de carbono reducidos, y reducir patógenos de la sangre del producto sanguíneo, lo que comprende agregar S-303 hasta una concentración final de entre aproximadamente 0,1 y 0,3 mM y agregar glutatión (GSH) hasta una concentración final de entre 2 y 10 mM.

Según su uso en la presente, los patógenos incluyen virus, parásitos y bacterias.
15 También, según su uso en la presente, los niveles bajos de leucocitos que permanecen después de la leucorreducción se consideran patógenos. De este modo, los métodos de reducción de patógenos además pueden proporcionar la reducción de leucocitos que pueden permanecer después de la reducción de leucocitos.

Según su uso en la presente, el término “reducir”, “reducción” o “reducido” tiene por
20 objeto referirse a una cantidad final más baja que una cantidad inicial, o más baja con relación a una muestra de control. Un nivel reducido de un patógeno significa que el nivel del patógeno se reduce al menos en un orden de magnitud en comparación con una muestra similar no tratada. Por lo general, para los fines de la medicina de transfusión, los niveles de patógeno se reducen al menos 1,8 log. En un aspecto de la presente divulgación, los niveles
25 de patógeno se reducen al menos 3 log. En otro aspecto, los niveles de patógeno se reducen al menos 4 log. En otro aspecto, los niveles de patógenos se reducen entre 3 y 10 log. En otro aspecto, los niveles de patógeno se reducen al menos 7 log.

Según su uso en la presente, “reducir el oxígeno” o “reducir la saturación de oxígeno” se refiere a reducciones en la saturación de oxígeno de los glóbulos rojos hasta 25 % o
30 menos. Según su uso en la presente, “reducir el dióxido de carbono” se refiere a reducir el dióxido de carbono hasta 90 mmHg o menos cuando se lo mide a 37 °C. Un producto sanguíneo con depleción de oxígeno tiene una saturación de oxígeno de menos de 25 %, generalmente, de menos de 10 %, y puede tener una SO₂ de alrededor de 5 %. Un producto

sanguíneo con depleción de dióxido de carbono es un producto sanguíneo que tiene un nivel de dióxido de carbono por debajo de 20 mmHg cuando se lo mide a 37 °C.

Según su uso en la presente, “producto sanguíneo” incluye sangre completa o cualquier componente derivado de la sangre completa, incluidos glóbulos rojos, plaquetas, plasma, y glóbulos blancos.

Según su uso en la presente, “sangre completa” incluye glóbulos blancos (WBCs, por sus siglas en inglés), plaquetas suspendidas en plasma, e incluye electrolitos, hormonas, vitaminas, anticuerpos, etc. En la sangre completa, los glóbulos blancos normalmente están presentes en el rango de entre 4,5 y 11,0 x 10⁹ células/L, y el rango normal de RBCs a nivel del mar es 4,6-6,2 x 10¹²/L para los hombres y 4,2-5,4 x 10¹²/L para las mujeres. El hematocrito normal o el volumen porcentual normal de células concentradas es de alrededor de 40-54 % para los hombres y alrededor de 38-47 % para las mujeres. El recuento de plaquetas normalmente es de 150-450 x 10⁹/L tanto para hombres como para mujeres. La sangre completa se recolecta de un donante de sangre y, usualmente, se combina con un anticoagulante. La sangre completa, cuando se la recolecta, está inicialmente a alrededor de 37 °C y se enfría rápidamente hasta alrededor de 30 °C durante la recolección y poco después de ella, pero se enfría lentamente hasta la temperatura ambiente a lo largo de alrededor de 6 horas. La sangre completa se puede procesar de acuerdo con métodos de la presente divulgación en la recolección, comenzando a 30-37 °C, o a temperatura ambiente (normalmente, alrededor de 25 °C).

Según su uso en la presente, los “glóbulos rojos” (RBCs), los glóbulos rojos almacenados, los glóbulos rojos con niveles de oxígeno reducidos, y los glóbulos rojos con niveles de oxígeno y de dióxido de carbono reducidos, incluyen los RBCs presentes en la sangre completa, los RBCs leucorreducidos, los RBCs con plaquetas reducidas, los RBCs con leucocitos y plaquetas reducidos, y los glóbulos rojos concentrados (pRBCs, por sus siglas en inglés). Los glóbulos rojos humanos *in vivo* están en un estado dinámico. Los glóbulos rojos contienen hemoglobina, la proteína que contiene hierro que transporta oxígeno a través del cuerpo y le otorga a la sangre roja su color. El porcentaje de volumen de sangre compuesto de glóbulos rojos se llama el hematocrito. Según su uso en la presente, a menos que se limite de otro modo, los RBCs también incluyen glóbulos rojos concentrados (pRBC). Los glóbulos rojos concentrados se preparan a partir de sangre completa mediante el uso de técnicas de centrifugación conocidas comúnmente en el estado de la técnica. Según su uso en la presente, a menos que se indique lo contrario, el hematocrito de los pRBCs es de alrededor de 70 %. Según su uso en la presente, los RBCs con niveles de oxígeno reducidos (OR-RBC, por sus

siglas en inglés) pueden incluir RBCs con niveles de oxígeno y de dióxido de carbono reducidos (OCR-) (OCR-RBC, por sus siglas en inglés).

Según su uso en la presente, “sangre completa leucorreducida” (LRWB, por sus siglas en inglés) incluye sangre completa que tiene un anticoagulante que se ha tratado para
5 eliminar glóbulos blancos y plaquetas, usualmente, mediante filtración o centrifugación. La sangre completa leucorreducida tiene niveles de glóbulos blancos que se reducen al menos 5 log.

Según su uso en la presente, “sangre completa leucorreducida con niveles de oxígeno reducidos” (OR-LRWB, por sus siglas en inglés) puede incluir sangre completa
10 leucorreducida con niveles de oxígeno y de dióxido de carbono reducidos (OCR-LRWB, por sus siglas en inglés).

Según su uso en la presente, “glóbulos rojos concentrados leucorreducidos” (LRpRBC) incluyen glóbulos rojos concentrados que tienen sangre completa con niveles de oxígeno reducidos (OR-) que se ha tratado para eliminar glóbulos blancos. Según su uso en la
15 presente, los glóbulos rojos concentrados leucorreducidos con niveles de oxígeno reducidos (OR-LRpRBC, por sus siglas en inglés) pueden incluir glóbulos rojos concentrados leucorreducidos con niveles de oxígeno y de dióxido de carbono reducidos (OCR-LRpRBC, por sus siglas en inglés).

De acuerdo con aspectos de la presente memoria descriptiva, los virus reducidos por
20 los métodos mencionados incluyen virus con envoltura. En otros aspectos, los métodos proporcionan la reducción de virus sin envoltura. En aspectos de la presente memoria descriptiva, los patógenos virales que se reducen incluyen uno o más de los siguientes: HIV-1, HIV-2, virus de la Hepatitis B (HBV, por sus siglas en inglés), virus de la Hepatitis C (HCV, por sus siglas en inglés), virus linfotrópico de células T humanas I y II (HTLV-1 y -II,
25 por sus siglas en inglés), citomegalovirus asociado a células (CMV, por sus siglas en inglés), virus de la diarrea viral bovina (BVDV, por sus siglas en inglés), virus de la hepatitis B del pato (DHBV, por sus siglas en inglés), virus de la pseudorrabia (PRV, por sus siglas en inglés), virus del Nilo occidental, coronavirus humano, virus de chikungunya, virus de la influenza, herpesvirus suino (SuHV-1, por sus siglas en inglés), virus de la virus estomatitis
30 vesicular (VSV, por sus siglas en inglés), virus Sindbis, virus del herpes simple (HSV, por sus siglas en inglés), virus Epstein-Barr (EBV, por sus siglas en inglés), virus de la pseudorrabia porcina (PPRV, por sus siglas en inglés), virus de la pseudorrabia (PRV, por sus siglas en inglés), o virus del bosque Semliki (SLFV, por sus siglas en inglés). En algunos aspectos, los virus inactivados incluyen virus sin envoltura, que comprenden el virus de la

lengua azul, Calicivirus, Adenovirus-5 humano, Parvovirus porcino (PPV, por sus siglas en inglés), virus de la encefalomiocarditis (EMCV, por sus siglas en inglés), virus de la Hepatitis A (HAV, por sus siglas en inglés), virus de Coxsackie, y virus de la poliomielitis. Se comprenderá que los métodos de reducción de parásitos virales incluyen todos los virus y no están limitados a los mencionados más arriba. Las personas con capacidad ordinaria en la técnica reconocerían que los métodos de inactivación se dirigen al material genético de los diversos patógenos, mientras que la reducción del oxígeno reduce, por ejemplo, la hemólisis del componente de glóbulos rojos del producto sanguíneo, y mejora, de otro modo, la calidad de la sangre.

En aspectos de acuerdo con la presente memoria descriptiva, los métodos proporcionan una hemólisis reducida y la inactivación de parásitos. En algunos aspectos de la presente memoria descriptiva, los parásitos inactivados incluyen *Plasmodium falciparum* (malaria), *Trypanosoma cruzi* (enfermedad de Chagas), *Leishmania mexicana*, *Leishmania major*, *leishmania infantum* (leishmaniosis), *Babesia microti*, y *Babesia divergens* (babesiosis). En algunos aspectos, las bacterias patógenas inactivadas pueden incluir *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Propionibacterium acnes*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes*, y *Acinetobacter baumannii*.

Los métodos de la presente divulgación proporcionan e incluyen la reducción de la hemólisis de los glóbulos rojos después del tratamiento de patógenos. Los métodos de reducción de patógenos aplicados a la sangre con niveles de oxígeno reducidos o a la sangre con niveles de oxígeno y de dióxido de carbono reducidos provocan como resultado niveles de hemólisis significativamente reducidos. Los métodos de reducción de patógenos aplicados a la sangre con niveles de oxígeno reducidos o a la sangre con niveles de oxígeno y de dióxido de carbono reducidos provocan como resultado niveles de micropartículas significativamente reducidos. Incorporar una etapa adicional de reducción de oxígeno a los métodos de reducción de patógenos provoca como resultado mejoras en la calidad de la sangre almacenada, lo que conduce a una mejor vida útil en almacenamiento. Es importante mencionar que la aplicación de métodos de reducción de oxígeno en la sangre a métodos existentes de reducción de patógenos provoca como resultado mejoras significativas. De este modo, los métodos de la presente memoria descriptiva se pueden aplicar a métodos de reducción de patógenos conocidos en el estado de la técnica. Los métodos adecuados para la eliminación de patógenos compatibles con la inactivación de patógenos con niveles de

oxígeno reducidos incluyen, pero sin limitación, los métodos analizados en Wagner *et al.*, “*Developing pathogen reduction technologies for RBC suspensions*” [Desarrollo de tecnologías de reducción de patógenos para suspensiones de RBCs] en *Vox Sanguinis*, 100:112-121 (2011), Pidcock *et al.*, “*Primary hemostatic capacity of whole blood: a comprehensive analysis of pathogen reduction and refrigeration effects over time*” [Capacidad hemostática primaria de la sangre completa: un análisis completo de los efectos de la reducción de patógenos y la refrigeración a lo largo del tiempo] en *Transfusion* [Transfusión], 53:137-149 (2013), Henschler *et al.*, “*Development of the S-303 pathogen inactivation technology for red blood cell concentrates*” [Desarrollo de la tecnología de inactivación de patógenos mediante S-303 para concentrados de glóbulos rojos] en *Transfusion Medicine and Hemotherapy* [Medicina transfusional y hemoterapia], 38:33-42 (2011), Guignard *et al.*, “*The clinical and biological impact of new pathogen inactivation technologies on platelet concentrates*” [El impacto clínico y biológico de tecnologías nuevas de inactivación de patógenos sobre los concentrados de plaquetas] en *Blood Reviews* [Reseñas sobre la sangre], 28: 235-241 (2014), Picker *et al.*, “*Current methods for the reduction of blood-borne pathogens: a comprehensive literature review*” [Métodos actuales para la reducción de patógenos de transmisión hemática: una reseña literaria completa] en *Blood Transfusion* [Transfusión sanguínea], 11:343-348 (2014), Irsch *et al.*, “*Pathogen inactivation of platelet and plasma blood components for transfusion using the INTERCEPT Blood System™*” [Inactivación de patógenos de componentes sanguíneos de plaquetas y plasma para la transfusión con el uso del sistema INTERCEPT Blood System™] en *Transfusion Medicine and Hemotherapy* [Medicina transfusional y hemoterapia], 38:19-31 (2010), y la Patente de Estados Unidos N.º 5,120,659, emitida el 9 de junio de 1992, a nombre de King, *et al.*

Los métodos proporcionan reducciones en la hemólisis que proporcionan la extensión del tiempo de almacenamiento permisible después de la inactivación de patógenos mediante el mantenimiento de los niveles de hemólisis por debajo de 0,8 % o, en ciertos aspectos, por debajo de 1,0 %. En un aspecto, la hemólisis no es mayor que 0,2 % después de 14 días de almacenamiento en condiciones anaeróbicas. En un aspecto, la hemólisis no es mayor que 0,4 % después de 21 días de almacenamiento en condiciones anaeróbicas. En un aspecto, la hemólisis no es mayor que 0,5 % después de 28 días de almacenamiento en condiciones anaeróbicas. En un aspecto más, la hemólisis no es mayor que 0,8 % después de 35 días de almacenamiento en condiciones anaeróbicas. En otros aspectos, la hemólisis no es mayor que 0,8 % después de 42 días de almacenamiento en condiciones anaeróbicas. En otros aspectos,

la hemólisis no es mayor que 0,8 % después de 49 días de almacenamiento en condiciones anaeróbicas. En algunos aspectos, la hemólisis no es mayor que 1,0 % después de 35 días de almacenamiento en condiciones anaeróbicas. En otros aspectos, la hemólisis no es mayor que 1,0 % después de 42 días de almacenamiento en condiciones anaeróbicas. En otros aspectos, la hemólisis no es mayor que 1,0 % después de 49 días de almacenamiento en condiciones anaeróbicas. En otro aspecto, la hemólisis no es mayor que 0,1 % después de 14 días de almacenamiento en condiciones anaeróbicas. En otro aspecto, la hemólisis es de entre 0,01 y 0,2 % después de 14 días de almacenamiento en condiciones anaeróbicas. En un aspecto, la hemólisis es de entre 0,2 y 0,4 % después de 21 días de almacenamiento en condiciones anaeróbicas. En un aspecto, la hemólisis es de entre 0,05 y 0,4 % después de 21 días de almacenamiento en condiciones anaeróbicas. En un aspecto, la hemólisis no es mayor que 0,6 % después de 28 días de almacenamiento en condiciones anaeróbicas. En otro aspecto, la hemólisis es de entre 0,1 y 0,4 % después de 28 días de almacenamiento en condiciones anaeróbicas. En otro aspecto, la hemólisis es de entre 0,1 y 0,5 % después de 28 días de almacenamiento en condiciones anaeróbicas. En un aspecto, la hemólisis no es mayor que 0,4 % después de 35 días de almacenamiento en condiciones anaeróbicas. En otro aspecto, la hemólisis es de entre 0,1 y 0,8 % después de 35 días de almacenamiento en condiciones anaeróbicas. En otro aspecto, la hemólisis es de entre 0,2 y 1,0 % después de 35 días de almacenamiento en condiciones anaeróbicas. En otro aspecto, la hemólisis es de entre 0,2 y 0,8 % después de 42 días de almacenamiento en condiciones anaeróbicas. En otro aspecto, la hemólisis es de entre 0,2 y 1,0 % después de 42 días de almacenamiento en condiciones anaeróbicas. En otro aspecto, la hemólisis es de entre 0,2 y 0,8 % después de 49 días de almacenamiento en condiciones anaeróbicas. En otro aspecto, la hemólisis es de entre 0,2 y 1,0 % después de 49 días de almacenamiento en condiciones anaeróbicas. Los métodos de reducción de patógenos que utilizan productos sanguíneos con niveles de oxígeno y de dióxido de carbono reducidos proporcionan las reducciones en la hemólisis según lo proporcionado más arriba.

Según lo proporcionado en la presente, los métodos proporcionan la reducción del nivel de hemólisis en glóbulos rojos con niveles de oxígeno reducidos y patógenos tratados en comparación glóbulos rojos sin niveles de oxígeno reducidos. En un aspecto, la reducción de patógenos en condiciones de niveles de oxígeno reducidos provoca como resultado un 30 % de los niveles de hemólisis observados en la reducción de patógenos en preparaciones sin niveles de oxígeno reducidos. En un aspecto, se observa una reducción de al menos alrededor de 30 % después de 21 días de almacenamiento anaeróbico. En un aspecto, la reducción de

alrededor de 30 % en la hemólisis se observa a 35 días del almacenamiento anaeróbico. En un aspecto más, la reducción de alrededor de 30 % se observa a 42 días del almacenamiento anaeróbico.

5 Según lo proporcionado en la presente, los métodos proporcionan la reducción del nivel de hemólisis en sangre completa leucorreducida con niveles de oxígeno reducidos y con patógenos tratados (OR-LRWB) en comparación con sangre completa leucorreducida sin niveles de oxígeno reducidos (LRWB). En un aspecto, la reducción de patógenos en condiciones de niveles de oxígeno reducidos provoca como resultado un 30 % de los niveles de hemólisis observados en la reducción de patógenos en preparaciones sin niveles de oxígeno reducidos. En un aspecto, se observa una reducción de al menos alrededor de 30 % después de 21 días de almacenamiento anaeróbico. En un aspecto, la reducción de alrededor de 30 % en la hemólisis se observa a 35 días del almacenamiento anaeróbico. En un aspecto más, la reducción de alrededor de 30 % se observa a 42 días del almacenamiento anaeróbico.

15 En algunos aspectos, la reducción de la hemólisis en comparación con métodos convencionales de reducción de patógenos es de al menos 20 %. En un aspecto, la reducción de al menos 20 % se observa después de 21 días de almacenamiento anaeróbico. En un aspecto, la reducción de al menos 20 % en la hemólisis se observa a 35 del almacenamiento anaeróbico. En un aspecto más, la reducción de al menos 20 % se observa a 42 días del almacenamiento anaeróbico. En algunos aspectos, la reducción de la hemólisis en comparación con métodos convencionales de reducción de patógenos es de al menos 25 %. En un aspecto, la reducción de al menos 25 % se observa después de 21 días de almacenamiento anaeróbico. En otro aspecto, la reducción de al menos 25 % se observa después de 35 días de almacenamiento anaeróbico. En un aspecto más, la reducción de al menos 25 % se observa después de 42 días de almacenamiento anaeróbico. En algunos aspectos, la reducción de la hemólisis en comparación con métodos convencionales de reducción de patógenos es de al menos 35 %. En un aspecto, la reducción de al menos 35 % se observa después de 21 días de almacenamiento anaeróbico. En otro aspecto, la reducción de al menos 35 % se observa después de 35 días de almacenamiento anaeróbico. En un aspecto más, la reducción de al menos 35 % se observa después de 42 días de almacenamiento anaeróbico. En algunos aspectos, la reducción de la hemólisis en comparación con métodos convencionales de reducción de patógenos es de al menos 40 %. En un aspecto, la reducción de al menos 40 % se observa después de 21 días de almacenamiento anaeróbico. En otro aspecto, la reducción de al menos 40 % se observa

después de 35 días de almacenamiento anaeróbico. En un aspecto más, la reducción de al menos 40 % se observa después de 42 días de almacenamiento anaeróbico.

En algunos aspectos, la reducción de la hemólisis en comparación con métodos convencionales de reducción de patógenos es de al menos 45 %. En un aspecto, la reducción de al menos 45 % se observa después de 21 días de almacenamiento anaeróbico. En otro aspecto, la reducción de al menos 45 % se observa después de 35 días de almacenamiento anaeróbico. En un aspecto más, la reducción de al menos 45 % se observa después de 42 días de almacenamiento anaeróbico. En algunos aspectos, la reducción de la hemólisis en comparación con métodos convencionales de reducción de patógenos es de al menos 50 %. En un aspecto, la reducción de al menos 50 % se observa después de 21 días de almacenamiento anaeróbico. En otro aspecto, la reducción de al menos 50 % se observa después de 35 días de almacenamiento anaeróbico. En un aspecto más, la reducción de al menos 50 % se observa después de 42 días de almacenamiento anaeróbico.

Según lo proporcionado en la presente, los métodos proporcionan la reducción del nivel de hemólisis en glóbulos rojos con niveles de oxígeno y de dióxido de carbono reducidos y con patógenos tratados en comparación con glóbulos rojos sin niveles de oxígeno reducidos. En un aspecto, la reducción de patógenos en condiciones de oxígeno y dióxido de carbono reducidos provoca como resultado un 30 % de los niveles de hemólisis observados en la reducción de patógenos en preparaciones sin oxígeno y dióxido de carbono reducidos. En un aspecto, se observa una reducción de al menos alrededor de 30 % después de 21 días de almacenamiento anaeróbico. En un aspecto, la reducción de alrededor de 30 % en la hemólisis se observa a 35 días del almacenamiento anaeróbico. En un aspecto más, la reducción de alrededor de 30 % se observa a 42 días del almacenamiento anaeróbico.

Según lo proporcionado en la presente, los métodos proporcionan la reducción del nivel de hemólisis en sangre completa leucorreducida con niveles de oxígeno y de dióxido de carbono reducidos y con patógenos tratados (OR-LRWB) en comparación con sangre completa leucorreducida sin niveles de oxígeno reducidos (LRWB). En un aspecto, la reducción de patógenos en condiciones de oxígeno y dióxido de carbono reducidos provoca como resultado 30 % de los niveles de hemólisis observados en la reducción de patógenos en preparaciones sin niveles de oxígeno reducidos. En un aspecto, se observa una reducción de al menos alrededor de 30 % después de 21 días de almacenamiento anaeróbico. En un aspecto, la reducción de alrededor de 30 % en la hemólisis se observa a 35 días del almacenamiento anaeróbico. En un aspecto más, la reducción de alrededor de 30 % se observa a 42 días del almacenamiento anaeróbico.

En algunos aspectos, la reducción de la hemólisis en productos sanguíneos con depleción de oxígeno y de dióxido de carbono en comparación con métodos convencionales de reducción de patógenos es al menos 20 %. En un aspecto, la reducción de al menos 20 % se observa después de 21 días de almacenamiento anaeróbico. En un aspecto, la reducción de al menos 20 % en la hemólisis se observa a 35 días del almacenamiento anaeróbico. En un aspecto más, la reducción de al menos 20 % se observa a 42 días del almacenamiento anaeróbico. En algunos aspectos, la reducción de la hemólisis en comparación con métodos convencionales de reducción de patógenos es de al menos 25 %. En un aspecto, la reducción de al menos 25 % se observa después de 21 días de almacenamiento anaeróbico. En otro aspecto, la reducción de al menos 25 % se observa después de 35 días de almacenamiento anaeróbico. En un aspecto más, la reducción de al menos 25 % se observa después de 42 días de almacenamiento anaeróbico. En algunos aspectos, la reducción de la hemólisis en comparación con métodos convencionales de reducción de patógenos es de al menos 35 %. En un aspecto, la reducción de al menos 35 % se observa después de 21 días de almacenamiento anaeróbico. En otro aspecto, la reducción de al menos 35 % se observa después de 35 días de almacenamiento anaeróbico. En un aspecto más, la reducción de al menos 35 % se observa después de 42 días de almacenamiento anaeróbico. En algunos aspectos, la reducción de la hemólisis en comparación con métodos convencionales de reducción de patógenos es de al menos 40 %. En un aspecto, la reducción de al menos 40 % se observa después de 21 días de almacenamiento anaeróbico. En otro aspecto, la reducción de al menos 40 % se observa después de 35 días de almacenamiento anaeróbico. En un aspecto más, la reducción de al menos 40 % se observa después de 42 días de almacenamiento anaeróbico.

En algunos aspectos, la reducción de la hemólisis en productos sanguíneos con depleción de oxígeno y de dióxido de carbono en comparación con métodos convencionales de reducción de patógenos es de al menos 45 %. En un aspecto, la reducción de al menos 45 % se observa después de 21 días de almacenamiento anaeróbico. En otro aspecto, la reducción de al menos 45 % se observa después de 35 días de almacenamiento anaeróbico. En un aspecto más, la reducción de al menos 45 % se observa después de 42 días de almacenamiento anaeróbico. En algunos aspectos, la reducción de la hemólisis en comparación con métodos convencionales de reducción de patógenos es de al menos 50 %. En un aspecto, la reducción de al menos 50 % se observa después de 21 días de almacenamiento anaeróbico. En otro aspecto, la reducción de al menos 50 % se observa

después de 35 días de almacenamiento anaeróbico. En un aspecto más, la reducción de al menos 50 % se observa después de 42 días de almacenamiento anaeróbico.

Debido a la salud mejorada de los glóbulos rojos según lo indicado por la hemólisis reducida, mediante la reducción del nivel de oxígeno en la sangre antes de la inactivación de patógenos, el período de almacenamiento seguro (p. ej., la vida útil en almacenamiento) de un producto sanguíneo con niveles de patógenos reducidos se puede extender. Sin ánimo de quedar limitados por la teoría, se cree que la seguridad y la utilidad de un producto sanguíneo almacenado se refleja en varios parámetros que se pueden medir. Entre los parámetros se encuentran los niveles totales de hemólisis y el nivel de micropartículas. Por consiguiente, la hemólisis reducida y la formación reducida de micropartículas observadas con el uso de los métodos de la presente memoria descriptiva pueden reflejar mejoras subyacentes a la fisiología de la sangre roja que no están caracterizadas o que se desconocen.

Debido a la salud inicial mejorada de los glóbulos rojos proporcionada por la reducción del oxígeno en la sangre antes del tratamiento de los patógenos, la presente memoria descriptiva proporciona e incluye la extensión del período de almacenamiento seguro (p. ej., la vida útil en almacenamiento) de un producto sanguíneo con niveles de patógenos reducidos. Según lo proporcionado en la presente, la vida útil en almacenamiento de un producto sanguíneo con niveles de patógenos reducidos se puede aumentar una semana o más. En un aspecto, la vida útil en almacenamiento se puede aumentar dos semanas. En otros aspectos, la vida útil en almacenamiento se puede aumentar tres semanas, donde la sangre retiene los niveles de hemólisis por debajo de 0,8 %.

Según lo proporcionado más arriba, una variedad de métodos de reducción de patógenos proporcionan el agregado de uno o más fotosensibilizadores al producto sanguíneo antes de la irradiación con una o más longitudes de onda de luz. La Tabla 1 presenta varios fotosensibilizadores adecuados. Según su uso en la presente, los fotosensibilizadores incluyen aquellos que producen productos reactivos, así como también los fotosensibilizadores que son reactivos en sí mismos (por ejemplo, los fotosensibilizadores relacionados con psoralenos).

Tabla 1: Fotosensibilizadores y métodos de reducción de patógenos

Autor	Componente sanguíneo	Agente de entrecruzamiento	Conc. de agente de entrecruzamiento (μM)	Exposición radiante	Cita	Cita secundaria
Pidcoke	WB	Riboflavina	50	80 J/mL a 265-400 nm; 6,2 J/cm ² a 265-400 nm	<i>Transfusion</i> 2013, Vol. 53, Págs. del suplemento 139S-149S	n/d
Irsch	PLT, Plasma	Amotosaleno	150	3 J/cm ² UV-A	<i>Transfus Med Hemother</i> 2011;38:19–31 DOI: 10.1159/000323937	Lin L, Dikeman R, Molini B, Lukehart SA, Lane R, Dupuis K, Metzel P, Corash L: <i>Photochemical treatment of platelet concentrates with amotosalen and UVA inactivates a broad spectrum of patho-genic bacteria</i> . [El tratamiento fotoquímico de concentrados de plaquetas con amotosaleno y UVA inactiva un espectro amplio de bacterias patógenas]. <i>Transfusion</i> [Transfusión] 2004; 44:1496–1504.
Picker	PLT	n/d	n/d	0,2 J/cm ² UV-C	<i>Blood Transfus</i> 2013; 11: 343-8 DOI 10.2450/2013.0218-12	Seltsam A, Müller TH. <i>UVC irradiation for pathogen reduction of platelet concentrates and plasma</i> . [Irradiación UVC para la reducción de patógenos de concentrados de plaquetas y plasma]. <i>Transfus Med Hemother</i> [Med. transf. y hemoter.] 2011; 38: 43-54.
Picker	Plasma	Azul de metileno	1	1,0 J/cm ² UV-C seguidos de 180 J/cm ² a 590 nm	<i>Blood Transfus</i> 2013; 11: 343-8 DOI 10.2450/2013.0218-12	Sandler SG. <i>The status of pathogen-reduced plasma</i> . [El estado del plasma con reducción de patógenos]. <i>Transfus Apher Sci</i> [Ciencia afér. transfus.] 2010; 43: 393-9.
Wagner	RBC	Hipericina	10	19,8 J/cm ² a 590 nm	<i>Vox Sanguinis</i> (2011) 100, 112–121	Prince AM, Pascual D, Meruelo D, et al.: <i>Strategies for evaluation of enveloped virus inactivation in RBC concentrates using hypericin</i> . [Estrategias para la evaluación de la inactivación de virus con envoltura con el uso de hipericina]. <i>Photochem</i>

						<i>Photobiol</i> [Fotobiol. fotoquím.] 2000; 71:188–195
Wagner	RBC	Hipericina	2	15 J/cm ² Luz fluorescente	<i>Vox Sanguinis</i> (2011) 100, 112–121	“ “
Wagner	RBC	Ftalocianina de aluminio	25	44 J/cm ² Luz roja	<i>Vox Sanguinis</i> (2011) 100, 112–121	Howorowitz B, Williams B, Rywkin S, <i>et al.</i> : <i>Inactivation of viruses in blood with aluminum phthalocyanine derivatives</i> . [Inactivación de virus en la sangre con derivados de ftalocianina de aluminio]. <i>Transfusion</i> [Transfusión] 1991; 31:102–108
Wagner	RBC	Ftalocianina de silicio	2	45 J/cm ² Luz roja	<i>Vox Sanguinis</i> (2011) 100, 112–121	Ben-Hur E, Rywkin S, Rosenthal I, <i>et al.</i> : <i>Virus inactivation in RBC concentrates by photosensitization with phthalocyanines: protection of RBCs but not of vesicular stomatitis virus with a water-soluble analogue of vitamin E</i> . [Inactivación de virus en concentrados de RBCs mediante la fotosensibilización con ftalocianinas: protección de los RBCs, pero no de virus de estomatitis vesicular con un análogo soluble en agua de la vitamina E]. <i>Transfusion</i> [Transfusión] 1995; 35:401–406
Wagner	RBC	Ftalocianina de silicio	5	15 J/cm ² a 670 nm	<i>Vox Sanguinis</i> (2011) 100, 112–121	Ben-Hur E, Chan WS, Yim Z, <i>et al.</i> : <i>Photochemical decontamination of red blood cell concentrates with the silicon phthalocyanine PC4 and red light</i> . [Descontaminación fotoquímica de concentrados de glóbulos rojos con la ftalocianina de silicio PC4 y luz roja]. <i>Dev Biol</i> [Des. Biol.] (Basel) 2000; 102:149–156
Wagner	RBC	Tinte fenotiazina MB	5	3,2 J/cm ² Luz fluor.	<i>Vox Sanguinis</i> (2011) 100, 112–121	Wagner SJ, Storry JR, Mallory DA, <i>et al.</i> : <i>RBC membrane alterations associated with virucidal methylene blue phototreatment</i> . [Alteraciones en la membrana de los RBCs asociadas al fototratamiento viricida con azul de

						metileno]. <i>Transfusion</i> [Transfusión] 1992; 33:30–36
Wagner	RBC	Tinte fenotiazina DMMB	4	13,5 J/cm ² Luz fluor.	<i>Vox Sanguinis</i> (2011) 100, 112–121	Wagner SJ, Skripchenko A, Robinette D, <i>et al.</i> : <i>Preservation of RBC properties after virucidal phototreatment with dimethylmethylene blue</i> . [Preservación de las propiedades de los RBCs después del fototratamiento viricida con azul de dimetilmetileno]. <i>Transfusion</i> [Transfusión] 1998; 38:729–737
Wagner	RBC	Tinte fenotiazina DMMB	6	0,187 J/cm ² a 670 nm	<i>Vox Sanguinis</i> (2011) 100, 112–121	Wagner S, Skripchenko A, Thompson-Montgomery D: <i>Use of a flow-cell system to investigate virucidal dimethylmethylene blue phototreatment in two RBC additive solutions</i> . [Uso de un sistema de celda de flujo para investigar el fototratamiento viricida con azul de dimetilmetileno en dos soluciones aditivas de RBCs]. <i>Transfusion</i> [Transfusión] 2002; 42:1200–1205
Wagner	RBC	Tiopirilio	160	1,1 J/cm ² Luz roja	<i>Vox Sanguinis</i> (2011) 100, 112–121	Skripchenko A, Balch A, Mackin A, <i>et al.</i> : <i>In vivo recovery and survival of RBCs after photodynamic treatment with thiopyrylium and red light using a canine model</i> . [Recuperación <i>in vivo</i> y supervivencia de los RBCs después del tratamiento fotodinámico con tiopirilio y luz roja con el uso de un modelo canino]. <i>Vox Sang</i> 2007; 92:157–159
Wagner	RBC	Naranja de tiazol	80	1,1 J/cm ² Luz fluor.	<i>Vox Sanguinis</i> (2011) 100, 112–121	Skripchenko A, Wagner SJ, Thompson-Montgomery D, <i>et al.</i> : <i>Thiazole orange, a DNA-binding photosensitizer with flexible structure, can inactivate pathogens in red blood cell suspensions while maintaining RBC storage properties</i> . [El naranja de tiazol, un fotosensibilizador de unión al ADN con estructura flexible, puede inactivar los patógenos en suspensiones de glóbulos

						rojos a la vez que mantiene las propiedades de almacenamiento de los RBCs]. <i>Transfusion</i> [Transfusión] 2006; 46:213–219
Henschler	RBC	S-303	200	n/d	<i>Transfus Med Hemother</i> 2011;38:33–42	Stassinopoulos A, Mababangloob RS, Dupuis KW, <i>et al.</i> : <i>Bacterial inactivation in leukoreduced PRBC treated with HELINX</i> . [Inactivación bacteriana en PRBCs leucorreducidos tratados con HELINX]. <i>Transfusion</i> [Transfusión] 2000; 40 (Sup-pl):38S (resumen S139-0401)

En aspectos de acuerdo con la presente memoria descriptiva, los métodos de reducción de patógenos pueden incluir uno o más fotosensibilizadores. En un aspecto, el fotosensibilizador es riboflavina. En un aspecto de la presente divulgación, la concentración final de riboflavina es de entre 40 y 60 μM . En otro aspecto, la concentración final de riboflavina es de al menos 40 μM . En otro aspecto, la concentración final de riboflavina es de, como máximo, 60 μM . En otro aspecto, la concentración final de riboflavina es de entre 40 y 55 μM . En otro aspecto, la concentración final de riboflavina es de entre 45 y 55 μM . En un aspecto más, la concentración final de riboflavina es de entre 50 y 60 μM . En un aspecto, la concentración final de riboflavina es 50 μM .

La presente divulgación proporciona y incluye irradiar productos sanguíneos con niveles de oxígeno reducidos que tienen un fotosensibilizador agregado para reducir los niveles de patógenos. Según su uso en la presente, el término “irradiación” se refiere a la iluminación de la sangre con el uso de longitudes de onda tanto visibles como ultravioletas.

En un aspecto de la presente divulgación, un producto sanguíneo con niveles de oxígeno reducidos que tiene riboflavina se irradia con entre 265 y 400 nm. En otro aspecto, un producto sanguíneo se irradia con entre 300 y 400 nm. En otro aspecto, un producto sanguíneo se irradia con entre 265 y 350 nm. Las longitudes de onda adecuadas para la irradiación de un producto sanguíneo con niveles de oxígeno reducidos se determinan en base al fotosensibilizador, por ejemplo, según lo proporcionado en la Tabla 1. Según lo proporcionado por la presente memoria descriptiva, la reducción en los niveles de oxígeno provoca como resultado una hemólisis disminuida y una formación disminuida de micropartículas que normalmente surge como resultado del proceso de reducción de patógenos, y refleja la salud mejorada de los glóbulos rojos en los productos sanguíneos con patógenos inactivados.

La presente memoria descriptiva proporciona e incluye irradiar el producto sanguíneo con niveles de oxígeno reducidos que tiene riboflavina con una exposición radiante a UV de entre 3,2 y 7,0 J/cm^2 . En otro aspecto, la sangre completa con niveles de oxígeno reducidos que contiene riboflavina se irradia con una exposición radiante a UV de entre 5 y 7,0 J/cm^2 . En otro aspecto, la sangre completa con niveles de oxígeno reducidos que contiene riboflavina se irradia con una exposición radiante a UV de entre 5 y 6,0 J/cm^2 . En otro aspecto, la sangre completa con niveles de oxígeno reducidos que contiene riboflavina se irradia con una exposición radiante a UV de entre 4 y 7,0 J/cm^2 . En otro aspecto, la sangre completa con niveles de oxígeno reducidos que contiene riboflavina se irradia con una exposición radiante a UV de al menos 3,2 J/cm^2 . En otro aspecto, la sangre completa con

niveles de oxígeno reducidos que contiene riboflavina se irradia con una exposición radiante a UV de al menos 5 J/cm². En un aspecto más, la sangre completa con niveles de oxígeno reducidos que contiene riboflavina se irradia con una exposición radiante a UV de, como máximo, 7,0 J/cm².

5 La presente divulgación proporciona e incluye dosis totales de hasta 100 J/mL. En un aspecto, la dosis es de entre 10 y 100 J/mL. En otro aspecto, la dosis es de entre 50 y 100 J/mL. En otro aspecto, la dosis es de entre 50 y 80 J/mL. En otro aspecto, la dosis es de menos de 150 J/mL. En un aspecto, la dosis es de al menos 25 J/mL. Se pueden determinar otras dosis adecuadas.

10 La presente memoria descriptiva proporciona e incluye un método de inactivación de patógenos que reduce el nivel de micropartículas en la sangre almacenada. En aspectos de acuerdo con la presente memoria descriptiva, el método comprende obtener un producto sanguíneo con niveles de oxígeno reducidos, agregar un fotosensibilizador, e irradiar dicho producto sanguíneo con niveles de oxígeno reducidos que contiene el fotosensibilizador. En
15 ciertos aspectos, el método además incluye almacenar el producto sanguíneo con niveles de oxígeno reducidos irradiado que contiene el fotosensibilizador durante un período de almacenamiento. En otros aspectos, el producto sanguíneo con niveles de oxígeno reducidos irradiado que contiene el fotosensibilizador se almacena en condiciones anaeróbicas durante un período de almacenamiento.

20 Según lo proporcionado en la presente, el período de almacenamiento puede ser de hasta 9 semanas en condiciones ya sea aeróbicas o anaeróbicas y proporciona una formación reducida de micropartículas. En un aspecto, el período de almacenamiento en condiciones ya sea aeróbicas o anaeróbicas es de 2 semanas. En otro aspecto, el período de almacenamiento en condiciones ya sea aeróbicas o anaeróbicas es de 3 semanas. En un aspecto más, el período
25 de almacenamiento en condiciones ya sea aeróbicas o anaeróbicas es de 3 semanas. Los presentes métodos además proporcionan períodos de almacenamiento en condiciones ya sea aeróbicas o anaeróbicas de 4 semanas. En otros aspectos, el período de almacenamiento que sigue a la inactivación de patógenos puede ser de 5 semanas. En incluso otros aspectos, el período de almacenamiento aeróbico o anaeróbico es de 6 semanas. En un aspecto adicional,
30 el período de almacenamiento aeróbico o anaeróbico es de 6 semanas. Se debe tener en cuenta que, a medida que el período de almacenamiento se extiende, la mejora observada en la calidad de los glóbulos sanguíneos aumenta. Sin ánimo de quedar limitados por la teoría, se cree que la reducción en la formación de micropartículas es el resultado de una calidad mejorada de los glóbulos rojos que es inmediata. Es decir, la calidad de los glóbulos rojos se

mejora antes del almacenamiento y la formación disminuida de micropartículas es evidencia de esa mejora. Se cree que otros cambios no caracterizados pueden subyacer a la reducción observada de micropartículas.

En aspectos de acuerdo con la presente memoria descriptiva, los métodos de reducción de patógenos que proporcionan una formación reducida de micropartículas pueden incluir uno o más fotosensibilizadores. En un aspecto, el fotosensibilizador es riboflavina. En un aspecto de la presente divulgación, la concentración final de riboflavina es de entre 40 y 60 μM . En otro aspecto, la concentración final de riboflavina es de al menos 40 μM . En otro aspecto, la concentración final de riboflavina es de, como máximo, 60 μM . En otro aspecto, la concentración final de riboflavina es de entre 40 y 55 μM . En otro aspecto, la concentración final de riboflavina es de entre 45 y 55 μM . En un aspecto más, la concentración final de riboflavina es de entre 50 y 60 μM . En un aspecto, la concentración final de riboflavina es de 50 μM .

La presente divulgación proporciona y incluye irradiar productos sanguíneos con niveles de oxígeno reducidos que tienen un fotosensibilizador agregado para reducir los niveles de patógenos y reducir la formación de micropartículas. Según su uso en la presente, el término “irradiación” se refiere a la iluminación de la sangre con el uso de longitudes de onda tanto visibles como ultravioletas.

En un aspecto de la presente divulgación, un producto sanguíneo con niveles de oxígeno reducidos que tiene riboflavina se irradia con entre 265 y 400 nm para provocar como resultado una formación reducida de micropartículas. En otro aspecto, un producto sanguíneo se irradia con entre 300 y 400 nm. En otro aspecto, un producto sanguíneo se irradia con entre 265 y 350 nm. Las longitudes de onda adecuadas para la irradiación de un producto sanguíneo con niveles de oxígeno reducidos se determinan en base al fotosensibilizador, por ejemplo, según lo proporcionado en la Tabla 1. Según lo proporcionado por la presente memoria descriptiva, la reducción en los niveles de oxígeno provoca como resultado una formación disminuida de micropartículas que normalmente surge como resultado del proceso de reducción de patógenos y refleja la salud mejorada de los glóbulos rojos en los productos sanguíneos con patógenos inactivados.

Las reducciones en la formación de micropartículas se pueden medir mediante métodos conocidos en el estado de la técnica. Los métodos adecuados para la formación de micropartículas incluyen Schubert *et al.* (Schubert, *et al.*, “Whole blood treated with riboflavin and ultraviolet light: Quality assessment of all blood components produced by the buffy coat method” [Sangre completa tratada con riboflavina y luz ultravioleta: evaluación de

la calidad de todos los componentes sanguíneos producidos por el método de capa leucocítica], *Transfusion* [Transfusión] 55(4):815-823 (2015)). Si bien los valores absolutos de las cantidades de micropartículas se pueden determinar, en general, la reducción de micropartículas se determina con relación a una muestra de control. En la presente memoria descriptiva, el control comprende un producto sanguíneo sin niveles de oxígeno reducidos. Los valores absolutos se pueden determinar mediante la preparación de un conjunto de estándares.

Los métodos de la presente memoria descriptiva proporcionan reducciones en la formación de micropartículas en la sangre almacenada. En algunos aspectos, la sangre almacenada se almacena en condiciones anaeróbicas, manteniendo así el estado de niveles de oxígeno reducidos obtenido para el proceso de inactivación de patógenos. En otros aspectos, la sangre almacenada se mantiene en condiciones de almacenamiento convencionales. Si bien las condiciones de almacenamiento convencionales permiten el ingreso de oxígeno a lo largo del tiempo y disminuyen las mejoras en el ATP y el 2,3-DPG, por ejemplo, el almacenamiento convencional puede disminuir costos y reducir la perturbación a instalaciones de bancos de sangre existentes. En la mayoría de los aspectos, sin embargo, se espera que el almacenamiento ocurra en condiciones anaeróbicas, ya sea con o sin dióxido de carbono.

Según lo proporcionado en la presente, la formación de micropartículas disminuye mediante la reducción del oxígeno hasta una SO_2 de 25 % o menos, antes de completar los métodos de inactivación de patógenos. En un aspecto, las micropartículas se reducen alrededor de dos veces en las muestras con niveles de oxígeno reducidos en comparación con muestras aeróbicas tratadas de manera equivalente después de 2 días. Los métodos además proporcionan reducciones de al menos dos veces en las micropartículas después de una semana. En un aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de cinco veces después de dos semanas de almacenamiento. En un aspecto, las micropartículas se reducen nueve veces después de 3 semanas de almacenamiento. En un aspecto más, el número de micropartículas se reduce nueve veces después de 6 semanas de almacenamiento. Los presentes métodos proporcionan una reducción de al menos dos veces en la formación de micropartículas después de 9 semanas de almacenamiento en condiciones anaeróbicas. En otros aspectos, los métodos proporcionan una reducción de al menos dos veces en la formación de micropartículas después de 9 semanas de almacenamiento en condiciones aeróbicas.

Los presentes métodos también proporcionan reducciones en la formación de micropartículas de al menos tres veces en comparación con los métodos de reducción de

patógenos realizados en presencia de oxígeno. Cuando se lo mide a de dos a seis semanas, el nivel de micropartículas permanece con una reducción de al menos tres veces en comparación con muestras que contienen oxígeno tratadas de manera similar. En otros aspectos, la formación reducida de micropartículas provoca como resultado una reducción de al menos cinco veces después de dos semanas de almacenamiento.

En aspectos de la presente memoria descriptiva, el nivel de formación de micropartículas se reduce a niveles de muestras sin tratamiento de patógenos. Por consiguiente, mediante el uso de los métodos de la presente memoria descriptiva, el aumento en la formación de micropartículas que surge como resultado de la inactivación de patógenos se invierte.

La presente memoria descriptiva proporciona e incluye composiciones sanguíneas mejoradas que tienen vidas útiles en almacenamiento extendidas. En un aspecto, la presente divulgación proporciona e incluye sangre completa con niveles de oxígeno reducidos que comprende sangre completa recolectada en CPD, que tiene entre 40 y 60 μM de riboflavina, que tiene una saturación de oxígeno (SO_2) de 1 a 25 %, y que tiene una pCO_2 de 90 mmHg o menos a 37 °C, donde dicha sangre completa con niveles de oxígeno reducidos se ha irradiado con luz UV a entre 265 y 400 nm.

En aspectos de acuerdo con la presente memoria descriptiva, la sangre completa con niveles de oxígeno reducidos que comprende sangre completa que tiene una saturación de oxígeno (SO_2) de menos de 25 % puede tener una SO_2 de menos de 20 %. En otros aspectos, la sangre con niveles de patógenos reducidos que contiene riboflavina puede tener una SO_2 de menos de 15 %. En un aspecto, el nivel de SO_2 en los productos sanguíneos con niveles de oxígeno reducidos que contienen riboflavina puede tener una SO_2 de menos de 10 %. En ciertos aspectos, la sangre con niveles de patógenos reducidos que contiene riboflavina puede tener una SO_2 de 5 %. La presente memoria descriptiva además proporciona sangre completa con niveles de oxígeno reducidos que tiene una SO_2 de entre 5 y 20 %. En otro aspecto, la SO_2 puede ser de entre 5 y 25 %. En otro aspecto, la SO_2 puede ser de entre 5 y 15 %. En un aspecto más, la SO_2 se reduce hasta entre 5 y 10 %.

En aspectos de acuerdo con la presente memoria descriptiva, la sangre completa con niveles de oxígeno reducidos que contiene riboflavina se irradia con una dosis de UV de entre 3,2 y 7,0 J/cm^2 . En otro aspecto, la sangre completa con niveles de oxígeno reducidos que contiene riboflavina se irradia con una dosis de UV de entre 5 y 7,0 J/cm^2 . En otro aspecto, la sangre completa con niveles de oxígeno reducidos que contiene riboflavina se irradia con una dosis de UV de entre 5 y 6,0 J/cm^2 . En otro aspecto, la sangre completa con niveles de

oxígeno reducidos que contiene riboflavina se irradia con una dosis de UV de entre 4 y 7,0 J/cm². En otro aspecto, la sangre completa con niveles de oxígeno reducidos que contiene riboflavina se irradia con una dosis de UV de al menos 3,2 J/cm². En otro aspecto, la sangre completa con niveles de oxígeno reducidos que contiene riboflavina se irradia con una dosis de UV de al menos 5 J/cm². En un aspecto más, la sangre completa con niveles de oxígeno reducidos que contiene riboflavina se irradia con una dosis de UV de, como máximo, 7,0 J/cm².

La presente memoria descriptiva proporciona e incluye composiciones sanguíneas mejoradas que tienen vidas útiles en almacenamiento extendidas. En un aspecto, la presente divulgación proporciona e incluye sangre completa con niveles de oxígeno y de dióxido de carbono reducidos que comprende sangre completa recolectada en CPD, que tiene entre 40 y 60 µM de riboflavina, que tiene una saturación de oxígeno (SO₂) de 1 a 25 %, y que tiene una pCO₂ de 20 mmHg o menos a 37 °C, donde dicha sangre completa con niveles de oxígeno reducidos se ha irradiado con luz UV a entre 265 y 400 nm. En otro aspecto, la sangre completa con niveles de oxígeno y de dióxido de carbono reducidos comprende sangre completa recolectada en CPD, tiene entre 40 y 60 µM de riboflavina, tiene una saturación de oxígeno (SO₂) de 1 a 25 %, y tiene una pCO₂ de entre 20 y 40 mmHg a 37 °C, donde dicha sangre completa con niveles de oxígeno reducidos se ha irradiado con luz UV a entre 265 y 400 nm. En otro aspecto, la sangre completa con niveles de oxígeno y de dióxido de carbono reducidos comprende sangre completa recolectada en CPD, tiene entre 40 y 60 µM de riboflavina, tiene una saturación de oxígeno (SO₂) de 1 a 25 %, y tiene una pCO₂ de entre 40 y 70 mmHg a 37 °C, donde dicha sangre completa con niveles de oxígeno reducidos se ha irradiado con luz UV a entre 265 y 400 nm. En otro aspecto, la sangre completa con niveles de oxígeno y de dióxido de carbono reducidos comprende sangre completa recolectada en CPD, tiene entre 40 y 60 µM de riboflavina, tiene una saturación de oxígeno (SO₂) de 1 a 25 %, y tiene una pCO₂ de entre 10 y 20 mmHg a 37 °C, donde dicha sangre completa con niveles de oxígeno reducidos se ha irradiado con luz UV a entre 265 y 400 nm. En otro aspecto, la sangre completa con niveles de oxígeno y de dióxido de carbono reducidos comprende sangre completa recolectada en CPD, tiene entre 40 y 60 µM de riboflavina, tiene una saturación de oxígeno (SO₂) de 1 a 25 %, y tiene una pCO₂ de menos de 15 mmHg a 37 °C, donde dicha sangre completa con niveles de oxígeno reducidos se ha irradiado con luz UV a entre 265 a 400 nm.

Los métodos de la presente memoria descriptiva proporcionan e incluyen una mejora en parámetros seleccionados del grupo que comprende hemograma completo (CBC, por sus

siglas en inglés), concentración de patógenos residuales, hemólisis porcentual, ATP, 2,3-DPG, deformabilidad, formación de micropartículas, exposición de la fosfatidilserina en la superficie de la membrana celular, %SO₂, y cinética de descomposición de S-303, y una combinación de estos en la sangre almacenada en comparación con los métodos de reducción de patógenos realizados en presencia de oxígeno. En algunos aspectos, la sangre almacenada se almacena en condiciones anaeróbicas, manteniendo así el estado de niveles de oxígeno reducidos obtenido para el proceso de inactivación de patógenos. En otros aspectos, la sangre almacenada se mantiene en condiciones de almacenamiento convencionales. Si bien las condiciones de almacenamiento convencionales permiten el ingreso de oxígeno a lo largo del tiempo y disminuyen las mejoras en el ATP y el 2,3-DPG, por ejemplo, el almacenamiento convencional puede disminuir costos y reducir la perturbación a instalaciones de bancos de sangre existentes. En la mayoría de los aspectos, sin embargo, se espera que el almacenamiento ocurra en condiciones anaeróbicas, ya sea con o sin dióxido de carbono.

Los métodos de la presente memoria descriptiva proporcionan reducciones en la hemólisis de un producto sanguíneo, que comprenden eliminar oxígeno de un producto sanguíneo, agregar S-303 hasta una concentración final de 0,2 mM, y agregar GSH hasta una concentración final de entre 2 y 20 mM. En otro aspecto, la reducción de la hemólisis comprende eliminar oxígeno de un producto sanguíneo, agregar S-303 hasta una concentración final de 0,2 mM, y agregar GSH hasta una concentración final de entre 5 y 10 mM. En otros aspectos, la reducción de la hemólisis comprende eliminar oxígeno y dióxido de carbono de un producto sanguíneo, agregar S-303 hasta una concentración final de 0,2 mM, y agregar GSH hasta una concentración final de entre 2 y 20 mM. En un aspecto más, las reducciones en la hemólisis comprenden eliminar oxígeno de un producto sanguíneo, agregar S-303 hasta una concentración final de 0,2 mM, agregar GSH hasta una concentración final de entre 2 y 20 mM, y el almacenamiento en condiciones anaeróbicas. En incluso otro aspecto, la reducción de la hemólisis de un producto sanguíneo comprende mezclar una solución aditiva con el producto sanguíneo, eliminar oxígeno de un producto sanguíneo, agregar S-303 hasta una concentración final de 0,2 mM, agregar GSH hasta una concentración final de entre 2 y 20 mM, y el almacenamiento en condiciones anaeróbicas.

Los métodos de la presente memoria descriptiva también proporcionan reducciones en la hemólisis en productos sanguíneos con patógenos inactivados mediante S-303 y con niveles de oxígeno reducidos, mediante el mantenimiento de los niveles de hemólisis por debajo de 1,0 %. En un aspecto, la hemólisis es inferior a 0,8 %. En otro aspecto, la hemólisis no es superior a 0,2 %. En un aspecto más, la hemólisis no es superior a 0,4 %. En incluso otro

aspecto, la hemólisis no es superior a 0,6 %. En otro aspecto, la hemólisis es de entre 0,01 y 0,2 %. En ciertos aspectos, la hemólisis es de entre 0,2 y 0,8 %. En otros aspectos, la hemólisis es de entre 0,2 y 0,6 %. En otro aspecto, la hemólisis es de entre 0,5 y 1,0 %.

Los métodos de la presente memoria descriptiva proporcionan una formación reducida de micropartículas de un producto sanguíneo, lo que comprende eliminar oxígeno de un producto sanguíneo, agregar S-303 hasta una concentración final de 0,2 mM, y agregar GSH hasta una concentración final de entre 2 y 20 mM. En otro aspecto, la reducción en la formación de micropartículas comprende eliminar oxígeno de un producto sanguíneo, agregar S-303 hasta una concentración final de 0,2 mM, y agregar GSH hasta una concentración final de entre 2 y 10 mM. En otros aspectos, la reducción en la formación de micropartículas comprende eliminar oxígeno y dióxido de carbono de un producto sanguíneo, agregar S-303 hasta una concentración final de 0,2 mM, y agregar GSH hasta una concentración final de entre 2 y 20 mM. En un aspecto más, la reducción en la formación de micropartículas comprende eliminar oxígeno de un producto sanguíneo, agregar S-303 hasta una concentración final de 0,2 mM, agregar GSH hasta una concentración final de entre 2 y 20 mM, y el almacenamiento en condiciones anaeróbicas. En incluso otro aspecto, la reducción en la formación de micropartículas de un producto sanguíneo comprende mezclar una solución aditiva con el producto sanguíneo, eliminar oxígeno de un producto sanguíneo, agregar S-303 hasta una concentración final de 0,2 mM, agregar GSH hasta una concentración final de entre 2 y 20 mM, y el almacenamiento en condiciones anaeróbicas. En un aspecto más, la reducción en la formación de micropartículas de un producto sanguíneo comprende mezclar una solución aditiva con el producto sanguíneo, eliminar oxígeno de un producto sanguíneo, agregar S-303 hasta una concentración final de 0,2 mM, agregar GSH hasta una concentración final de entre 2 y 20 mM, centrifugar el producto sanguíneo, y el almacenamiento en condiciones anaeróbicas. Los métodos de la presente memoria descriptiva también proporcionan reducciones en la formación de micropartículas en productos sanguíneos con patógenos inactivados mediante S-303 y con niveles de oxígeno reducidos, mediante la reducción del nivel de micropartículas en más de cinco veces después de al menos una semana de almacenamiento. En un aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de cuatro veces después de al menos una semana de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de tres veces después de al menos una semana de almacenamiento. En incluso otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de dos veces después de al menos una semana de almacenamiento. En un aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de 10 % después de al menos una semana de almacenamiento.

En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de 25 % después de al menos una semana de almacenamiento. En un aspecto más, el nivel de micropartículas se reduce entre 10 y 50 % después de al menos una semana de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce entre 20 y 60 % después de al menos una semana de almacenamiento. En un aspecto más, el nivel de micropartículas se reduce más de 60 % después de al menos una semana de almacenamiento. En un aspecto, el nivel de micropartículas se reduce entre 60 y 90 % después de al menos una semana de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce entre 90 y 100 % después de al menos una semana de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de 80 % después de al menos una semana de almacenamiento. Los métodos de la presente memoria descriptiva también proporcionan reducciones en la formación de micropartículas en productos sanguíneos con patógenos inactivados mediante S-303 y con niveles de oxígeno reducidos, mediante la reducción del nivel de micropartículas en más de cinco veces después de al menos tres semanas de almacenamiento. En un aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de cuatro veces después de al menos tres semanas de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de tres veces después de al menos tres semanas de almacenamiento. En incluso otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de dos veces después de al menos tres semanas de almacenamiento. En un aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de 10 % después de al menos tres semanas de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de 25 % después de al menos tres semanas de almacenamiento. En un aspecto más, el nivel de micropartículas se reduce entre 10 y 50 % después de al menos tres semanas de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce entre 20 y 60 % después de al menos tres semanas de almacenamiento. En un aspecto más, el nivel de micropartículas se reduce más de 60 % después de al menos tres semanas de almacenamiento. En un aspecto, el nivel de micropartículas se reduce entre 60 y 90 % después de al menos tres semanas de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce entre 90 y 100 % después de al menos tres semanas de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de 80 % después de al menos tres semanas de almacenamiento. Los métodos de la presente memoria descriptiva también proporcionan reducciones en la formación de micropartículas en productos sanguíneos con patógenos inactivados mediante S-303 y con niveles de oxígeno reducidos, mediante la reducción del nivel de micropartículas en más de cinco veces después de tres semanas de almacenamiento. En un aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más

de cuatro veces después de tres semanas de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de tres veces después de tres semanas de almacenamiento. En incluso otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de dos veces después de tres semanas de almacenamiento. En un aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de 10 % después de tres semanas de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de 25 % después de tres semanas de almacenamiento. En un aspecto más, el nivel de micropartículas se reduce entre 10 y 50 % después de tres semanas de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce entre 20 y 60 % después de tres semanas de almacenamiento. En un aspecto más, el nivel de micropartículas se reduce más de 60 % después de tres semanas de almacenamiento. En un aspecto, el nivel de micropartículas se reduce entre 60 y 90 % después de tres semanas de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce entre 90 y 100 % después de tres semanas de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de 80 % después de tres semanas de almacenamiento. Los métodos de la presente memoria descriptiva también proporcionan reducciones en la formación de micropartículas en productos sanguíneos con patógenos inactivados mediante S-303 y con niveles de oxígeno reducidos, mediante la reducción del nivel de micropartículas en más de cinco veces después de al menos seis semanas de almacenamiento. En un aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de cuatro veces después de al menos seis semanas de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de tres veces después de al menos seis semanas de almacenamiento. En incluso otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de dos veces después de al menos seis semanas de almacenamiento. En un aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de 10 % después de al menos seis semanas de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de 25 % después de al menos seis semanas de almacenamiento. En un aspecto más, el nivel de micropartículas se reduce entre 10 y 50 % después de al menos tres semanas de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce entre 20 y 60 % después de al menos seis semanas de almacenamiento. En un aspecto más, el nivel de micropartículas se reduce más de 60 % después de al menos seis semanas de almacenamiento. En un aspecto, el nivel de micropartículas se reduce entre 60 y 90 % después de al menos seis semanas de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce entre 90 y 100 % después de al menos seis semanas de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de 80 % después de al menos seis semanas de almacenamiento.

La presente memoria descriptiva proporciona e incluye composiciones sanguíneas mejoradas que tienen vidas útiles en almacenamiento extendidas. En un aspecto, la presente divulgación proporciona e incluye glóbulos rojos con niveles de oxígeno reducidos que comprenden glóbulos rojos que tienen una concentración final de aproximadamente 0,2 mM de S-303, que tienen una saturación de oxígeno (SO₂) de menos de 25 %, y que tienen una pCO₂ de 90 mmHg o menos a 37 °C. En otro aspecto, los glóbulos rojos con niveles de oxígeno reducidos comprenden glóbulos rojos que tienen una concentración final de aproximadamente 0,2 mM de S-303 y una concentración final de entre aproximadamente 5 y 20 mM de GSH. En un aspecto, los glóbulos rojos con niveles de oxígeno reducidos también son glóbulos rojos con niveles de dióxido de carbono reducidos que comprenden glóbulos rojos que tienen una concentración final de aproximadamente 0,2 mM de S-303, que tienen una saturación de oxígeno (SO₂) de menos de 25 %, y que tienen una pCO₂ de 90 mmHg o menos a 37 °C. En otro aspecto, los glóbulos rojos con niveles de oxígeno y de dióxido de carbono reducidos comprenden glóbulos rojos que tienen una concentración final de aproximadamente 0,2 mM de S-303 y una concentración final de entre aproximadamente 2 y 20 mM de GSH. La presente memoria descriptiva también proporciona e incluye composiciones sanguíneas mejoradas que tienen una mejora en al menos uno, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, o al menos cinco parámetros seleccionados del grupo que consiste en CBC, concentración de patógenos residuales, hemólisis porcentual, ATP, 2,3-DPG, deformabilidad, formación de micropartículas, exposición de la fosfatidilserina en la superficie de la membrana celular, %SO₂, y cinética de descomposición de S-303. En un aspecto, las composiciones sanguíneas mejoradas tienen una mejora en dos parámetros seleccionados del grupo que consiste en CBC, concentración de patógenos residuales, hemólisis porcentual, ATP, 2,3-DPG, deformabilidad, formación de micropartículas, exposición de la fosfatidilserina en la superficie de la membrana celular, %SO₂, y cinética de descomposición de S-303. En otro aspecto, las composiciones sanguíneas mejoradas tienen una mejora en tres parámetros seleccionados del grupo que consiste en CBC, concentración de patógenos residuales, hemólisis porcentual, ATP, 2,3-DPG, deformabilidad, formación de micropartículas, exposición de la fosfatidilserina en la superficie de la membrana celular, %SO₂, y cinética de descomposición de S-303. En un aspecto más, las composiciones sanguíneas mejoradas tienen una mejora en tres parámetros seleccionados del grupo que consiste en CBC, concentración de patógenos residuales, hemólisis porcentual, ATP, 2,3-DPG, deformabilidad, formación de micropartículas, exposición de la fosfatidilserina en la superficie de la membrana celular, %SO₂, y cinética de descomposición de S-303. En incluso

otro aspecto, las composiciones sanguíneas mejoradas tienen una mejora en cuatro parámetros seleccionados del grupo que consiste en CBC, concentración de patógenos residuales, hemólisis porcentual, ATP, 2,3-DPG, deformabilidad, formación de micropartículas, exposición de la fosfatidilserina en la superficie de la membrana celular, %SO₂, y cinética de descomposición de S-303. En otro aspecto, las composiciones sanguíneas mejoradas tienen una mejora en cinco parámetros seleccionados del grupo que consiste en CBC, concentración de patógenos residuales, hemólisis porcentual, ATP, 2,3-DPG, deformabilidad, formación de micropartículas, exposición de la fosfatidilserina en la superficie de la membrana celular, %SO₂, y cinética de descomposición de S-303. En otro aspecto, las composiciones sanguíneas mejoradas tienen una mejora en entre cinco y nueve parámetros seleccionados del grupo que consiste en CBC, concentración de patógenos residuales, hemólisis porcentual, ATP, 2,3-DPG, deformabilidad, formación de micropartículas, exposición de la fosfatidilserina en la superficie de la membrana celular, %SO₂, y cinética de descomposición de S-303.

La presente memoria descriptiva proporciona composiciones sanguíneas mejoradas con patógenos inactivados mediante S-303 y con niveles de oxígeno reducidos que tienen una concentración mejorada de patógenos residuales mediante la reducción del nivel de patógenos en más de 10 %. En ciertos aspectos, la concentración de patógenos residuales se reduce más de 20 %. En otros aspectos, la concentración de patógenos residuales se reduce 30 %. En otro aspecto, la concentración de patógenos residuales se reduce más de 40 %. En incluso otro aspecto, la concentración de patógenos residuales se reduce más de 60 %. En un aspecto más, la concentración de patógenos residuales se reduce más de 80 %. En ciertos aspectos, la concentración de patógenos residuales se reduce entre 10 y 50 %. En otros aspectos, la concentración de patógenos residuales se reduce entre 50 y 95 %. En otro aspecto, la concentración de patógenos residuales se reduce entre 60 y 100 %. En algunos aspectos, la presente memoria descriptiva proporciona composiciones sanguíneas mejoradas con patógenos inactivados mediante S-303 y con niveles de oxígeno reducidos que tienen una concentración de patógenos residuales mejorada por tener, además, niveles dióxido de carbono reducidos.

La presente memoria descriptiva proporciona composiciones sanguíneas mejoradas con patógenos inactivados mediante S-303 y con niveles de oxígeno reducidos que tienen niveles de hemólisis por debajo de 1,0 %. En un aspecto, la hemólisis es inferior a 0,8 %. En otro aspecto, la hemólisis no es superior a 0,2 %. En un aspecto más, la hemólisis no es superior a 0,4 %. En incluso otro aspecto, la hemólisis no es superior a 0,6 %. En otro

aspecto, la hemólisis está entre 0,01 y 0,2 %. En ciertos aspectos, la hemólisis está entre 0,2 y 0,8 %. En otros aspectos, la hemólisis está entre 0,2 y 0,6 %. En otro aspecto, la hemólisis está entre 0,5 y 1,0 %. En algunos aspectos, la presente memoria descriptiva proporciona composiciones sanguíneas mejoradas con patógenos inactivados mediante S-303 y con niveles de oxígeno reducidos que tienen una hemólisis mejorada por tener, además, niveles de dióxido de carbono reducidos.

La presente memoria descriptiva proporciona composiciones sanguíneas mejoradas con patógenos inactivados mediante S-303 y con niveles de oxígeno reducidos que tienen una deformabilidad mejorada. En ciertos aspectos, la deformabilidad se incrementa más de 5 %. En otros aspectos, la deformabilidad se incrementa más de 10 %. En otro aspecto, la deformabilidad se incrementa entre 10 y 50 %. En otros aspectos, la deformabilidad se incrementa más de 50 %. En algunos aspectos, la presente memoria descriptiva proporciona composiciones sanguíneas mejoradas con patógenos inactivados mediante S-303 y con niveles de oxígeno reducidos que tienen una deformabilidad mejorada por tener, además, niveles de dióxido de carbono reducidos.

La presente memoria descriptiva proporciona composiciones sanguíneas mejoradas con patógenos inactivados mediante S-303 y con niveles de oxígeno reducidos que tienen niveles mejorados de ATP por tener niveles aumentados de ATP. En ciertos aspectos, el nivel de ATP se incrementa más de 10 %. En otros aspectos, el nivel de ATP se incrementa entre 5 y 40 %. En otro aspecto, el nivel de ATP se incrementa después de una semana de almacenamiento. En otros aspectos, el nivel de ATP se incrementa después de dos semanas de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de ATP se incrementa después de cuatro semanas de almacenamiento. En incluso otro aspecto, el nivel de ATP se incrementa después de cinco semanas de almacenamiento. En un aspecto más, el nivel de ATP se incrementa después de seis semanas de almacenamiento. En algunos aspectos, la presente memoria descriptiva proporciona composiciones sanguíneas mejoradas con patógenos inactivados mediante S-303 y con niveles de oxígeno reducidos que tienen un nivel mejorado de ATP por tener, además, niveles de dióxido de carbono reducidos.

La presente memoria descriptiva proporciona composiciones sanguíneas mejoradas con patógenos inactivados mediante S-303 y con niveles de oxígeno reducidos que tienen niveles mejorados de 2,3-DPG por tener niveles aumentados de 2,3-DPG. En ciertos aspectos, el nivel de 2,3-DPG se incrementa más de 10 %. En otros aspectos, el nivel de 2,3-DPG se incrementa más de 20 %. En más aspectos, el nivel de 2,3-DPG se incrementa más de 30 %. En otros aspectos, el nivel de 2,3-DPG se incrementa entre 5 y 40 %. En otro aspecto,

el nivel de 2,3-DPG se incrementa después de una semana de almacenamiento. En otros aspectos, el nivel de 2,3-DPG se incrementa después de dos semanas de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de 2,3-DPG se incrementa después de cuatro semanas de almacenamiento. En incluso otro aspecto, el nivel de 2,3-DPG se incrementa después de cinco semanas de almacenamiento. En un aspecto más, el nivel de 2,3-DPG se incrementa después de seis semanas de almacenamiento. En algunos aspectos, la presente memoria descriptiva proporciona composiciones sanguíneas mejoradas con patógenos inactivados mediante S-303 y con niveles de oxígeno reducidos que tienen un nivel mejorado de 2,3-DPG por tener, también, niveles de dióxido de carbono reducidos.

La presente memoria descriptiva proporciona composiciones sanguíneas mejoradas con patógenos inactivados mediante S-303 y con niveles de oxígeno reducidos que tienen niveles mejorados de micropartículas mediante la reducción de los niveles de micropartículas en cinco veces después de al menos una semana de almacenamiento. En un aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de cuatro veces después de al menos una semana de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de tres veces después de al menos una semana de almacenamiento. En incluso otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de dos veces después de al menos una semana de almacenamiento. En un aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de 10 % después de al menos una semana de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de 25 % después de al menos una semana de almacenamiento. En un aspecto más, el nivel de micropartículas se reduce entre 10 y 50 % después de al menos una semana de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce entre 20 y 60 % después de al menos una semana de almacenamiento. En un aspecto más, el nivel de micropartículas se reduce más de 60 % después de al menos una semana de almacenamiento. En un aspecto, el nivel de micropartículas se reduce entre 60 y 90 % después de al menos una semana de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce entre 90 y 100 % después de al menos una semana de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de 80 % después de al menos una semana de almacenamiento. En un aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de 10 % después de al menos tres semanas de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de 25 % después de al menos tres semanas de almacenamiento. En un aspecto más, el nivel de micropartículas se reduce entre 10 y 50 % después de al menos tres semanas de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce entre 20 y 60 % después de al menos tres semanas de almacenamiento. En un aspecto más, el nivel de

micropartículas se reduce más de 60 % después de al menos tres semanas de almacenamiento. En un aspecto, el nivel de micropartículas se reduce entre 60 y 90 % después de al menos tres semanas de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce entre 90 y 100 % después de al menos tres semanas de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de 80 % después de al menos tres semanas de almacenamiento. En un aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de 10 % después de al menos seis semanas de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de 25 % después de al menos seis semanas de almacenamiento. En un aspecto más, el nivel de micropartículas se reduce entre 10 y 50 % después de al menos seis semanas de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce entre 20 y 60 % después de al menos seis semanas de almacenamiento. En un aspecto más, el nivel de micropartículas se reduce más de 60 % después de al menos seis semanas de almacenamiento. En un aspecto, el nivel de micropartículas se reduce entre 60 y 90 % después de al menos seis semanas de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce entre 90 y 100 % después de al menos seis semanas de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de 80 % después de al menos seis semanas de almacenamiento. En algunos aspectos, la presente memoria descriptiva proporciona composiciones sanguíneas mejoradas con patógenos inactivados mediante S-303 y con niveles de oxígeno reducidos que tienen niveles mejorados de micropartículas por tener, también, niveles de dióxido de carbono reducidos.

La presente memoria descriptiva también proporciona composiciones sanguíneas mejoradas con patógenos inactivados mediante S-303 y con niveles de oxígeno reducidos que tienen una exposición de la fosfatidilserina mejorada en la superficie de la membrana celular mediante el mantenimiento de una distribución asimétrica de la fosfatidilserina a lo largo de la superficie citosólica de la membrana celular. En ciertos aspectos, la expresión de la fosfatidilserina se puede medir a través del etiquetado de la membrana celular con anexina-V fluorescente y cuantificación con citometría de flujo o un microscopio. En algunos aspectos, la presente memoria descriptiva proporciona composiciones sanguíneas mejoradas con patógenos inactivados mediante S-303 y con niveles de oxígeno reducidos que también tienen niveles de dióxido de carbono reducidos.

La presente memoria descriptiva proporciona composiciones sanguíneas mejoradas con patógenos inactivados mediante S-303 y con niveles de oxígeno reducidos que tienen niveles mejorados de %SO₂ por tener un %SO₂ de menos de 30 %. En un aspecto, el %SO₂

es menos de 25 %. En otro aspecto, el %SO₂ es menos de 20 %. En incluso otro aspecto, el %SO₂ es menos de 20 %. En un aspecto más, el %SO₂ es de menos 10 %. En otro aspecto, el %SO₂ es menos de 5 %. En ciertos aspectos, el %SO₂ es entre 5 y 20 %. En otros aspectos, el %SO₂ es entre 3 y 15 %. En algunos aspectos, la presente memoria descriptiva proporciona composiciones sanguíneas mejoradas con patógenos inactivados mediante S-303 y niveles de oxígeno reducidos que también tienen niveles de dióxido de carbono reducidos.

La presente memoria descriptiva proporciona composiciones sanguíneas mejoradas con patógenos inactivados mediante S-303 y con niveles de oxígeno reducidos que tienen niveles reducidos de S-303 después del proceso de inactivación de patógenos de 3 horas. En un aspecto, los niveles de S-303 se reducen después del proceso de inactivación de patógenos de 6 horas. En otro aspecto, los niveles de S-303 se reducen después del proceso de inactivación de patógenos de 9 horas. En incluso otro aspecto, los niveles de S-303 se reducen después del proceso de inactivación de patógenos de 12 horas. En un aspecto más, los niveles de S-303 se reducen después del proceso de inactivación de patógenos de 24 horas. En algunos aspectos, la presente memoria descriptiva proporciona composiciones sanguíneas mejoradas con patógenos inactivados mediante S-303 y con niveles de oxígeno reducidos que también tienen niveles de dióxido de carbono reducidos.

Los métodos de la presente memoria descriptiva proporcionan la mejora de la eficacia de la inactivación de patógenos de S-303 en un producto sanguíneo, lo que comprende eliminar oxígeno de glóbulos rojos, agregar S-303 hasta una concentración final de 0,2 mM, y agregar GSH hasta una concentración final de entre 2 y 20 mM. En otro aspecto, la mejora en la eficacia de la inactivación de patógenos de S-303 en un producto sanguíneo comprende eliminar oxígeno de un producto sanguíneo, agregar S-303 hasta una concentración final de 0,2 mM, y agregar GSH hasta una concentración final de entre 2 y 10 mM. En otros aspectos, la mejora en la eficacia de la inactivación de patógenos de S-303 en un producto sanguíneo comprende eliminar oxígeno y dióxido de carbono de un producto sanguíneo, agregar S-303 hasta una concentración final de 0,2 mM, y agregar GSH hasta una concentración final de entre 2 y 20 mM. En un aspecto más, la mejora en la eficacia de la inactivación de patógenos de S-303 en un producto sanguíneo comprende eliminar oxígeno de un producto sanguíneo, agregar S-303 hasta una concentración final de 0,2 mM, agregar GSH hasta una concentración final de entre 2 y 20 mM, y el almacenamiento en condiciones anaeróbicas. En incluso otro aspecto, la mejora en la eficacia de la inactivación de patógenos de S-303 en glóbulos rojos comprende mezclar una solución aditiva con el producto sanguíneo, eliminar oxígeno de un producto sanguíneo, agregar S-303 hasta una concentración final de 0,2 mM,

agregar GSH hasta una concentración final de entre 2 y 20 mM, y el almacenamiento en condiciones anaeróbicas. En ciertos aspectos, la mejora en la eficacia de la inactivación de patógenos de S-303 se logra mediante la reducción de la concentración de patógenos residuales en más de 10 %. En ciertos aspectos, la concentración de patógenos residuales se reduce más de 20 %. En otros aspectos, la concentración de patógenos residuales se reduce 30 %. En otro aspecto, la concentración de patógenos residuales se reduce más de 40 %. En incluso otro aspecto, la concentración de patógenos residuales se reduce más de 60 %. En un aspecto más, la concentración de patógenos residuales se reduce más de 80 %. En ciertos aspectos, la concentración de patógenos residuales se reduce entre 10 y 50 %. En otros aspectos, la concentración de patógenos residuales se reduce entre 50 y 95 %. En otro aspecto, la concentración de patógenos residuales se reduce entre 60 y 100 %.

En un aspecto más, la reducción en la formación de micropartículas de un producto sanguíneo comprende mezclar una solución aditiva con el producto sanguíneo, eliminar oxígeno de un producto sanguíneo, agregar S-303 hasta una concentración final de 0,2 mM, agregar GSH hasta una concentración final de entre 2 y 20 mM, centrifugar el producto sanguíneo, y el almacenamiento en condiciones anaeróbicas. En ciertos aspectos, la reducción en la formación de micropartículas en un producto sanguíneo comprende reducir los niveles de micropartículas cinco veces después de al menos una semana de almacenamiento. En un aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de cuatro veces después de al menos una semana de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de tres veces después de al menos una semana de almacenamiento. En incluso otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de dos veces después de al menos una semana de almacenamiento. En un aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de 10 % después de al menos una semana de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce más de 25 % después de al menos una semana de almacenamiento. En un aspecto más, el nivel de micropartículas se reduce entre 10 y 50 % después de al menos una semana de almacenamiento. En otro aspecto, el nivel de micropartículas se reduce entre 20 y 60 % después de al menos una semana de almacenamiento.

La presente memoria descriptiva proporciona composiciones sanguíneas con patógenos inactivados mediante S-303 y con niveles de oxígeno reducidos que tienen parámetros mejorados seleccionados del grupo que consiste en CBC, concentración de patógenos residuales, hemólisis porcentual, ATP, 2,3-DPG, deformabilidad, formación de micropartículas, exposición de la fosfatidilserina en la superficie de la membrana celular, %SO₂, y cinética de descomposición de S-303 en sangre almacenada en comparación con

una muestra acumulada de sangre. En ciertos aspectos, las mejoras en el CBC, la concentración de patógenos residuales, la hemólisis porcentual, el ATP, el 2,3-DPG, la deformabilidad, la formación de micropartículas, la exposición de la fosfatidilserina en la superficie de la membrana celular, el %SO₂, y la cinética de descomposición de S-303 en la sangre almacenada son las que se describen más arriba.

La presente memoria descriptiva proporciona unidades de sangre con patógenos inactivados mediante S-303 y con niveles de oxígeno reducidos que tienen parámetros mejorados seleccionados del grupo que comprende CBC, concentración de patógenos residuales, hemólisis porcentual, ATP, 2,3-DPG, deformabilidad, formación de micropartículas, exposición de la fosfatidilserina en la superficie de la membrana celular, %SO₂, y cinética de descomposición de S-303 en sangre almacenada en comparación con unidades de sangre en las que se realizaron métodos de reducción de patógenos en presencia de oxígeno.

Los términos "comprende", "que comprende", "incluye", "que incluye", "que tiene" y sus conjugaciones, significan "con inclusión, pero sin limitación, de".

El término "que consiste en" significa "que incluye y está limitado a".

El término "que consiste esencialmente en" significa que la composición, el método o la estructura pueden incluir ingredientes, etapas y/o partes adicionales, pero solo si los ingredientes, las etapas y/o las partes adicionales no alteran significativamente las características básicas e innovadoras de la composición, el método o la estructura reivindicados.

Según su uso en la presente, las formas singulares "un/a" y "el/la" incluyen las referencias plurales, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por ejemplo, la expresión "un compuesto" o "al menos un compuesto" puede incluir una pluralidad de compuestos, con inclusión de mezclas de estos.

Si bien la presente divulgación se ha descrito con referencia a aspectos particulares, las personas capacitadas en la técnica comprenderán que se pueden realizar diversos cambios y que se pueden sustituir equivalentes por elementos de los mismos sin apartarse del alcance de la presente divulgación. Además, se pueden realizar muchas modificaciones para adaptar una situación o un material particulares a la información dada a conocer en la presente divulgación sin apartarse del alcance de la presente divulgación.

Por lo tanto, se pretende que la presente divulgación no esté limitada a los aspectos particulares divulgados como el mejor modo contemplado para llevar a cabo la presente divulgación, sino que la presente divulgación incluya todos los aspectos incluidos dentro del

alcance y el espíritu de las reivindicaciones adjuntas.

EJEMPLOS

EJEMPLO 1: RECOLECCIÓN DE SANGRE Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Se recolectan seis unidades de sangre completa igualadas para ABO, se las acumula y se las divide en seis muestras en tres pares, según lo proporcionado en la Tabla 2. Se recolectan seis unidades de sangre completa (450 mL + 10 %) en CPD y se las mantiene en bandejas de refrigeración hasta el tratamiento de inactivación de patógenos. El día de la donación (D_0), estas seis unidades de sangre completa se acumulan y se dividen. La desoxigenación de la sangre completa se realiza de la manera descrita más adelante. Las unidades se tratan con la provisión de solución salina o riboflavina, según lo indicado en la Tabla 2. Las muestras 3 y 4 tienen niveles de oxígeno reducidos después del tratamiento de patógenos y de la separación de componentes y la preparación de glóbulos rojos concentrados. Las muestras 5 y 6 tienen niveles de oxígeno reducidos en la etapa de sangre completa, y niveles de patógenos reducidos antes de la separación de componentes y la preparación de glóbulos rojos concentrados. Las unidades que contienen riboflavina se transfieren a una bolsa de iluminación de sangre completa MIRASOL® y todas las unidades se colocan en una bandeja de enfriamiento. Dentro de las 24 horas de la donación, las unidades de sangre completa se procesan mediante el método de capa leucocítica, y los concentrados de glóbulos rojos se almacenan después del agregado de solución aditiva SAGM. Los concentrados de glóbulos rojos con niveles de oxígeno reducidos se preparan de la manera descrita en el Ejemplo 2.

Tabla 2: Muestras para la reducción de patógenos con fotosensibilizador de riboflavina

Tratamiento	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6
Con niveles de oxígeno reducidos	No	No	RBCs	RBCs	Sangre completa	Sangre completa
Riboflavina (50 μ M finales)	No	35 ml	No	35 ml	No	35 ml
Solución salina estéril	35 ml	No	35 ml	No	35 ml	No
O ₂ eliminado antes de la	n/d	No	n/d	No	n/d	Sí

reducción de patógenos						
------------------------	--	--	--	--	--	--

EJEMPLO 2: RECOLECCIÓN, LEUCORREDUCCIÓN Y DEPLECIÓN DE GASES DE LA SANGRE COMPLETA

Las unidades de glóbulos rojos acumuladas y divididas (“Unidades de sangre”) en CPD se leucorreducen de acuerdo con las instrucciones del fabricante después del tratamiento de Mirasol y de la separación de componentes.

Cada unidad de sangre completa (muestras 5 y 6) se procesa para la depleción de oxígeno mediante su transferencia a una bolsa de recolección de sangre completa conectada a un oxigenador de membrana Sorin D100 y a una velocidad de flujo de 700 ml/minuto con una mezcla de gases de 95 % de N₂ y 5 % de CO₂ para lograr un %SO₂ previo al almacenamiento de menos de 3 % y una pCO₂ de 70 mmHg (37 °C). Para la Muestra 6, el O₂ de los elementos desechables de Mirasol[®] (sin incluir la solución de riboflavina) se purga antes del procesamiento. Inmediatamente después de la preparación de cada muestra, se determinan los niveles de gases en sangre según el ABL90 de acuerdo con las instrucciones del fabricante para establecer la SO₂ y la pCO₂ de referencia (p. ej., T₀). Para la Muestra 6, la sangre con niveles de oxígeno reducidos luego se transfiere a la bolsa de tratamiento de Mirasol. Después de agregar riboflavina, se la coloca en el dispositivo fotosensibilizador de Mirasol y se la expone a luz UV de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Después del tratamiento Mirasol (Muestra 6), el contenido se transfiere de regreso a la bolsa de recolección de sangre original, y luego se procesan los componentes de acuerdo con el método estándar de capa leucocítica de arriba a abajo. Los RBCs separados se leucorreducen con un filtro de leucorreducción adjunto y se los almacena en un contenedor anaeróbico. Para la Muestra 5, las etapas del tratamiento Mirasol se saltean de lo anterior.

Para las Muestras 3 y 4, una bolsa de RBCs leucorreducidos y separados se conecta a un oxigenador de membrana Sorin D100 y a una velocidad de flujo de 700 ml/minuto con una mezcla de gases de 95 % de N₂ y 5 % de CO₂ para lograr un %SO₂ previo al almacenamiento de menos de 3 % y una pCO₂ de 70 mmHg (37 °C). Inmediatamente después de la preparación de cada muestra, se determinan los niveles de gases en sangre según el ABL90 de acuerdo con las instrucciones del fabricante para establecer la SO₂ y la pCO₂ de referencia (p. ej., T₀). Los RBCs con niveles de O₂ reducidos se transfieren de regreso a la bolsa de almacenamiento de RBCs original y se los almacena en un contenedor anaeróbico.

EJEMPLO 3: REDUCCIÓN DE PATÓGENOS MEDIANTE MIRASOL®

Las muestras se procesan mediante el uso del Iluminador Mirasol de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El experimento se repite cinco veces para un total de n=5 muestras en cada punto de datos.

5 EJEMPLO 4: ALMACENAMIENTO DE PRODUCTOS DE EVALUACIÓN ANAERÓBICOS

La sangre con niveles de oxígeno reducidos y la sangre con niveles de oxígeno y de dióxido de carbono reducidos en bolsas de transferencia se envuelven en una malla, se aseguran con un elástico y se colocan en contenedores anaeróbicos con 4 *sachets* sorbentes (Mitsubishi, SS-300). Los contenedores se sellan, y el aire de los contenedores se purga con el uso de gas nitrógeno. La sangre anaeróbica y la aeróbica se colocan en un refrigerador de Banco de sangre a entre 1 y 6 °C. Los medidores de los contenedores se monitorean diariamente para garantizar que su lectura sea de 5 ± 1 psi. Los contenedores que caen por debajo de 2 psi se ajustan.

15 EJEMPLO 5: ANÁLISIS DE MUESTRAS

Los días 2, 7, 14, 21, 28 y 42, se realizan las siguientes mediciones de cada una de las seis muestras preparadas de acuerdo con los Ejemplos precedentes. El experimento se repite cinco veces para un total de n=5 muestras en cada punto de datos.

a. Preparación de muestras

Las personas capacitadas en la técnica conocen estos métodos. Se prepara sobrenadante de glóbulos rojos para recuentos de microvesículas MV mediante el uso del procedimiento de Schubert *et al.* (Schubert, *et al.*, “Whole blood treated with riboflavin and ultraviolet light: Quality assessment of all blood components produced by the buffy coat method” [Sangre completa tratada con riboflavina y luz ultravioleta: evaluación de la calidad de todos los componentes sanguíneos producidos por el método de capa leucocítica], *Transfusion* [Transfusión] 55(4):815-823 (2015)). Se determinan el recuento de glóbulos rojos, el volumen corpuscular medio (MCV, por sus siglas en inglés) y la hemoglobina total en las muestras individuales en un analizador de hematología (ADVIA 120, Siemens). Se determina el hematocrito con el uso del dispositivo HAEMATOKRIT 210 de Hettrich Zentrifugen de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se cuantifican los metabolitos (glucosa y lactato) y el potasio (K^+) con el uso de un analizador de gases en sangre Gem Premier 3000 (Instrumentation Laboratories). Se mide el pH con una sonda de pH Ultra

Semi-Micro Orion Ross (Thermo Scientific). Después de las mediciones del día 1, se determinan el estado de la hemoglobina y el gas en sangre con el uso de un analizador de gases en sangre Gem Premier 3000 (Instrumentation Laboratories) (%SO₂, pCO₂, pH, K⁺, glucosa, %Hb-O₂, %Hb-CO, %met-Hb, %Hb). Se determina el grado de hemólisis mediante el método Harboe de Han *et. al*, (2010) *Vox Sang*; 98:116-23). Se cuantifica el nivel de ATP en los glóbulos rojos mediante HPLC después de la extracción de ácido perclórico de los glóbulos rojos. Se lleva a cabo una evaluación bacteriana el día 42 con el uso del sistema BacT/ALERT (bioMérieux).

Los resultados de un análisis de hemólisis se presentan en 4. Como se muestra en la Figura 4, la reducción del oxígeno antes de la reducción de los patógenos reduce en gran medida la hemólisis en todos los puntos temporales. La mejora en la almacenabilidad de los glóbulos rojos se torna evidente comenzando el día 14, aunque se observan mejoras en momentos anteriores.

Los resultados de un análisis de micropartículas que muestran la reducción relativa de las micropartículas se presentan en la Figura 5. Como se muestra en la Figura 5, la reducción del oxígeno antes de la reducción de los patógenos reduce en gran medida la formación de micropartículas en todos los puntos temporales. La mejora en la almacenabilidad de los glóbulos rojos se torna evidente comenzando el día 14, aunque se observan mejoras en momentos anteriores.

Los resultados de la fragilidad osmótica (6A), el potasio (6B), la hemoglobina total (6C), la saturación de oxígeno (6D), la glucosa (6E), el lactato (6F) y el pH (6G) de la sangre completa de control con solución salina estéril (1 prom), de la sangre completa de control con riboflavina (2 prom), de los RBCs concentrados con niveles de oxígeno reducidos y con solución salina estéril (3 prom), los pRBCs con niveles de oxígeno reducidos y con riboflavina (4 prom), de la sangre completa con niveles de oxígeno reducidos y con solución salina estéril (5 prom), y de la sangre completa con niveles de oxígeno reducidos y con riboflavina (6 prom).

EJEMPLO 6: MÉTODOS DE INACTIVACIÓN DE PATÓGENOS PARA SANGRE CON NIVELES DE OXÍGENO REDUCIDOS

Una muestra de sangre a tratar para la inactivación de patógenos se procesa primero para la depleción del oxígeno mediante su transferencia a una bolsa de recolección de sangre completa conectada a un oxigenador de membrana Sorin D100 (Sorin Group, Arvada, CO) y se la bombea a una velocidad de flujo de 700 ml/minuto con una mezcla de gases de 95 % de

N₂ y 5 % de CO₂ para lograr un %SO₂ previo al procesamiento de menos de 25 % y una pCO₂ de alrededor de 70 mmHg a alrededor de 23 °C. Para un componente sanguíneo deseado de la sangre completa (WB, por sus siglas en inglés) con anticoagulante, se utiliza un volumen de 500 +/- 50 mL; para un componente sanguíneo deseado de glóbulos rojos concentrados leucorreducidos con solución aditiva (LRpRBC), se utiliza un volumen de 500 +/- 50 mL; para un componente sanguíneo deseado de plaquetas (PLTs) suspendidas, se combinan muestras para un volumen total de alrededor de 400 +/- 50 mL; para un componente sanguíneo deseado de plasma, se combinan dos unidades de alrededor de 200 mL cada una para un volumen de 400 +/- 50 mL. La muestra de sangre se transfiere a una bolsa de iluminación de cloruro de polivinilo (Terumo BCT, Lakewood, CO) y la bolsa se infunde y se mezcla con la dosis calculada de agente de entrecruzamiento. La bolsa de iluminación luego se coloca en una bandeja y se la ilumina con la fuente de iluminación apropiada de acuerdo con el agente de entrecruzamiento, y la duración de la iluminación se calcula de acuerdo con la dosis requerida para el volumen dado y la dosis requerida para el agente de entrecruzamiento, de acuerdo con la tabla. La bandeja se agita suavemente durante la iluminación para proporcionar una exposición uniforme de los contenidos a la fuente de iluminación durante el período de exposición. Tras completar el ciclo de iluminación, la muestra de sangre se transfiere de la bolsa de iluminación a una bolsa de almacenamiento anaeróbico para un almacenamiento refrigerado. Una muestra de sangre completa además se puede procesar mediante centrifugación y separación en componentes sanguíneos separados. Los métodos de inactivación de patógenos adecuados para los métodos de la presente memoria descriptiva incluyen los métodos presentados en la Tabla 1.

EJEMPLO 7: RECOLECCIÓN PARA AFÉRESIS Y TRATAMIENTO UV DE COMPONENTES SANGUÍNEOS

Se accede a un donante de sangre mediante punción venosa que utiliza una aguja hipodérmica de calibre 17 y se conecta a un sistema de aféresis. Se aspiran alrededor de 450 mL de sangre completa (WB) del donante hacia adentro del sistema de aféresis y se la mezcla con anticoagulante antes de la centrifugación y la separación de los componentes sanguíneos. Los glóbulos rojos (RBCs) separados luego se mezclan con solución aditiva y riboflavina, seguida de su paso a través de una cámara de iluminación UV e irradiación con luz UV para inactivar patógenos y también para inactivar leucocitos residuales. Después de la irradiación UV, los RBCs se recolectan en una bolsa de almacenamiento separada. Las PLTs separadas luego se mezclan con solución aditiva para PLTs y riboflavina, seguida de su paso a través de

una cámara de iluminación UV y su irradiación con luz UV para inactivar patógenos. Después de la irradiación UV, las PLTs se recolectan en una bolsa de almacenamiento separada. El plasma separado luego se mezcla con riboflavina, seguida de su paso a través de una cámara de iluminación UV e irradiación con luz UV para inactivar patógenos. Después de la irradiación UV, el plasma se recolecta en una bolsa de almacenamiento separada. Se envía un volumen de fluido de reemplazo de 0,9 % de solución salina y cristaloide de regreso al donante antes de retirar la aguja de flebotomía.

EJEMPLO 8: RECOLECCIÓN PARA AFÉRESIS Y TRATAMIENTO UV DE LA SANGRE COMPLETA

Se accede a un donante de sangre mediante punción venosa que utiliza una aguja hipodérmica de calibre 17 y se conecta a un sistema de aféresis. Se aspiran alrededor de 450 mL de sangre completa (WB) del donante hacia adentro del sistema de aféresis y se la mezcla con anticoagulante y riboflavina antes de su paso a través de una cámara de irradiación y de su irradiación con luz UV para inactivar patógenos, seguidas de centrifugación y separación de los componentes sanguíneos. Después de la centrifugación y la separación de los componentes sanguíneos, los RBCs se mezclan con solución aditiva y se recolectan en una bolsa de almacenamiento separada. Las PLTs separadas luego se mezclan con solución aditiva para PLTs recolectada en una bolsa de almacenamiento separada. El plasma separado se recolecta en una bolsa de almacenamiento separada. Se envía un volumen de fluido de reemplazo de 0,9 % de solución salina y cristaloide de regreso al donante antes de retirar la aguja de flebotomía.

EJEMPLO 9: EXAMEN DE LA CALIDAD DE LOS RBCS TRATADOS CON INACTIVACIÓN DE PATÓGENOS (S-303)

Se miden cinco unidades de glóbulos rojos concentrados leucorreducidos con solución aditiva (p. ej., AS3) (LRpRBCs) para hemogramas completos (CBC) y porcentaje de saturación de oxígeno (%SO₂). Las cinco unidades se acumulan en una bolsa de sangre de 2-3 litros para crear una reserva homogénea. Se determinan el CBC y el %SO₂ para los LRpRBCs acumulados. Se colocan alícuotas iguales de 300 mL de LRpRBCs en 5 envases de almacenamiento, se las etiqueta de la A a la E, se las trata según lo descrito en la Tabla 3, y se las almacena dentro de un refrigerador estándar de banco de sangre a 4 °C durante 42 días.

Mediante los métodos descritos en el Ejemplo 5, se recolectan alícuotas de las muestras A a la E los días 0 (antes del almacenamiento), 7, 14, 21 y 42, y se las evalúa según

los siguientes parámetros: CBC, hemólisis porcentual, ATP, 2,3-DPG, deformabilidad con el uso del MVA, micropartículas, exposición de la fosfatidilserina (PS) en la membrana de los glóbulos rojos, %SO₂, morfología de los RBCs, y agregabilidad de los RBCs. Se determinar la concentración de S-303 y de S-300 a partir de las alícuotas de las muestras A a la E recolectadas a las 0, 3, 6, 9, 12 y 24 horas. El experimento se repite cinco veces para un total de n=5 muestras en cada punto de datos.

La tendencia central en los datos se mide mediante el uso de los valores medios y medianos, y la extensión de los datos se determina con la desviación estándar.

Tabla 3: Condiciones de tratamiento de los LRpRBC

MUESTRA	CONDICIÓN DE TRATAMIENTO
A	Control sin procesar seguido de almacenamiento convencional a 4 °C durante 42 días
B	Inactivación de patógenos seguida de almacenamiento convencional a 4 °C durante 42 días
C	Inactivación de patógenos seguida de reducción de oxígeno en Bolsa de reducción de oxígeno (ORB, por sus siglas en inglés)
D	Reducción de oxígeno de los RBCs seguida de inactivación de patógenos
E	Conducción durante toda la noche de la inactivación de patógenos dentro de la ORB

EJEMPLO 10: EXAMEN DE LA EFICACIA DE INACTIVACIÓN DE PATÓGENOS MEDIANTE S-303 EN CONDICIONES ANAERÓBICAS

Se miden cinco unidades de glóbulos rojos concentrados leucorreducidos (LRpRBCs) con solución aditiva AS3 para hemogramas completos (CBC) y el porcentaje de saturación de oxígeno (%SO₂). Las cinco unidades se acumulan en una bolsa de sangre de 2-3 litros para crear una reserva homogénea. Se determinan el CBC y el %SO₂ para los LRpRBCs acumulados. A la sangre acumulada se le añade un patógeno o virus modelo seleccionados, de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se colocan alícuotas iguales de 300 mL de LRpRBCs en 5 envases de almacenamiento, se las etiqueta de la A a la E, y se las trata según lo descrito en la Tabla 3. La Muestra B se trata con aproximadamente 0,2 mM de S-303 y aproximadamente 2-20 mM de glutatión (GSH) en condiciones aeróbicas. Las Muestras C y D se tratan con aproximadamente 0,2 mM de S-303 y aproximadamente 2-20 mM de GSH, antes y después de la reducción del nivel de oxígeno, respectivamente. La Muestra E se trata con aproximadamente 0,2 mM de S-303 y aproximadamente 2-20 mM de GSH durante toda la noche en una ORB. Siguiendo el tratamiento descrito, todas las muestras se almacenan dentro de un refrigerador estándar de banco de sangre a 4 °C durante 42 días.

Alternativamente, la cantidad residual de S-300 en las muestras se elimina mediante centrifugación y reemplazo de AS3 fresca.

Mediante los métodos descritos en el Ejemplo 5, se recolectan alícuotas de las muestras A a la E los días 0 (antes del almacenamiento), 7, 14, 21 y 42, y se las evalúa según los siguientes parámetros: CBC, concentración de patógenos residuales, hemólisis porcentual, ATP, 2,3-DPG, deformabilidad con el uso del MVA, micropartículas, exposición de la fosfatidilserina (PS) en la membrana de los glóbulos rojos, y %SO₂. Se determina la concentración de S-303 y de S-300 a partir de las alícuotas de las A a la E recolectadas a las 0, 3, 6, 9, 12 y 24 horas. El experimento se repite cinco veces para un total de n=5 muestras en cada punto de datos.

La tendencia central en los datos se mide mediante el uso de los valores medios y medianos y la extensión de los datos se determina con la desviación estándar. Las diferencias entre las diversas condiciones de las muestras se analizan con las mediciones repetidas del análisis de varianza con una prueba de comparación múltiple de Neuman-Keuls, y el nivel de