

G01N 33/53 (2006.01) **B01D 63/00** (2006.01)
B01D 69/00 (2006.01) **G01N 33/50** (2006.01)
G01N 33/52 (2006.01) **G01N 33/537** (2006.01)
G01N 33/538 (2006.01) **G01N 33/543** (2006.01)
G01N 33/68 (2006.01) **G01N 33/80** (2006.01)

(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: **2018.01.31**

(30) Prioridade(s):

(43) Data de publicação do pedido: **2019.07.31**

(45) Data e BPI da concessão: **2022.02.07**
29/2022

(73) Titular(es):

INSTITUTO POLITÉCNICO DE LEIRIA
RUA GENERAL NORTON DE MATOS,
APARTADO 4133 2411-901 LEIRIA
INSTITUTO POLITÉCNICO DE COIMBRA

PT
PT

(72) Inventor(es):

CÂNDIDA MARIA DOS SANTOS PEREIRA MALÇA
RICARDO JORGE MARQUES TEIXO
CARLOS ALBERTO GASPAR DE JESUS
FERNANDO JOSÉ FIGUEIREDO AGOSTINHO D'ABREU
MENDES
SÓFIA DOS REIS GALVÃO

PT
PT
PT
PT
PT
PT

(74) Mandatário:

PATRICIA ALEXANDRA CORREIA MARQUES
NERLEI - ASSOCIAÇÃO EMPRESARIAL DA REGIÃO DE
LEIRIA - AV. BERNARDO PIMENTA, SALA 9 2404-010 LEIRIA

PT

(54) Epígrafe: **DISPOSITIVO PARA AVALIAÇÃO DE COMPATIBILIDADE TRANSFUSIONAL E DE REAÇÃO ANTIGÊNIO-ANTICORPO**

(57) Resumo:

A PRESENTE INVENÇÃO REFERE-SE A UM DISPOSITIVO QUE PERMITE, DE FORMA SIMPLES, RÁPIDA E ECONÓMICA, DETERMINAR INEQUIVOCAMENTE A COMPATIBILIDADE SANGUÍNEA DE UM DADOR E DE UM RECETOR EM SITUAÇÃO DE TRANSFUSÃO DE SANGUE. RETIRADA A TAMPA DE VÁCUO (4) SÃO ADICIONADOS, NA CÂMARA DE INCUBAÇÃO, OS ERITRÓCITOS DO DADOR E O PLASMA DO RECETOR. RECOLOCADA A TAMPA DE VÁCUO (4), O ÊMBOLO (1) AO SER ACIONADO CRIA UM VALOR DE PRESSÃO CONSTANTE NO INTERIOR DA CÂMARA DO DISPOSITIVO (3) QUE, EM CASO DE INCOMPATIBILIDADE, DÁ ORIGEM A UMA REAÇÃO TRANSFUSIONAL E, CONSEQUENTEMENTE, À FORMAÇÃO DE IMUNOCOMPLEXOS QUE FICARÃO RETIDOS NA MEMBRANA (2).

RESUMO

"DISPOSITIVO PARA AVALIAÇÃO DE COMPATIBILIDADE TRANSFUSIONAL E DE REAÇÃO ANTIGÉNIO-ANTICORPO"

A presente invenção refere-se a um dispositivo que permite, de forma simples, rápida e económica, determinar inequivocamente a compatibilidade sanguínea de um dador e de um recetor em situação de transfusão de sangue. Retirada a tampa de vácuo (4) são adicionados, na câmara de incubação, os eritrócitos do dador e o plasma do recetor. Recolocada a tampa de vácuo (4), o êmbolo (1) ao ser acionado cria um valor de pressão constante no interior da câmara do dispositivo (3) que, em caso de incompatibilidade, dá origem a uma reação transfusional e, conseqüentemente, à formação de imunocomplexos que ficarão retidos na membrana (2).

DESCRIÇÃO

"DISPOSITIVO PARA AVALIAÇÃO DE COMPATIBILIDADE TRANSFUSIONAL E DE REAÇÃO ANTIGÊNIO-ANTICORPO"

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção diz respeito a um dispositivo que permite determinar inequivocamente, pelo valor de pressão constante gerado no interior do dispositivo, a compatibilidade entre os eritrócitos de um dador e o plasma de um recetor. O protocolo existente prevê que a mistura de plasma e eritrócitos seja submetida a um processo de centrifugação moroso, dispendioso, e que apenas seja executado em sede de laboratório com recurso a centrífugas específicas. Ora, tal procedimento exige um tempo de avaliação obrigatório, que em situações críticas pode ser determinante para salvar vidas. A presente invenção vem resolver este problema.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

A medicina transfusional evoluiu da administração empírica de sangue para uma disciplina clínica baseada no laboratório. Alguns fatores contribuíram para essa evolução, nomeadamente: a identificação de antigénios de vários grupos sanguíneos e a compreensão da resposta imune do hospedeiro a tais antigénios; as provas de compatibilidade; o desenvolvimento de métodos de anti coagulação e

armazenamento de sangue; a criação de bolsas plásticas que permitem o fracionamento estéril do sangue total em seus componentes; e o advento do separador de células sanguíneas automatizado. O facto de o sangue poder atuar como um agente de transmissão de doenças tem moldado significativamente tanto o processo de doação como a prática transfusional.

Neste sentido, as decisões acerca da realização ou não de uma transfusão envolvem a ponderação dos benefícios contra os riscos associados. Por um lado, o uso de sangue de tipo específico elimina o risco de incompatibilidade AB0 e Rh. Por sua vez, persiste o risco residual de uma reação imunológica produzida por anticorpos dirigidos contra outros antígenos eritrocitários. Estes anticorpos estão presentes em cerca de 3 a 5% de uma população tomada ao acaso, e também são encontrados em 10 a 15% dos indivíduos recém-transfundidos ou das mulheres com história de gestação. A realização de uma prova de compatibilidade - em que o soro do recetor é testado contra os eritrócitos do dador - permite evitar a ocorrência de transfusões em que estes anticorpos podem causar rejeição da unidade de sangue. Após um determinado período de incubação à temperatura ambiente e 37°C, em dispositivo específico (cartão ou tubo), este é centrifugado em centrífuga específica por cerca de 10 minutos e é validado e interpretado. Uma prova de compatibilidade é utilizada, principalmente, para excluir os erros técnicos, confirmar a compatibilidade AB0 e detetar anticorpos raros que não são detetáveis pelo estudo.

Assim, a presente invenção para além de concorrer de forma inequívoca para uma prática de medicina transfusional mais rápida e económica pela eliminação do

passo da centrifugação no processo laboratorial, apresenta vantagens irrefutáveis como:

- i) drástica redução de tempo e custos (recursos humanos e materiais) na obtenção dos resultados de compatibilidade;
- ii) em países subdesenvolvidos ou em situações de catástrofes naturais ou outras, e em virtude dos escassos recursos existentes, a existência do dispositivo para avaliação de compatibilidade transfusional desenvolvido tornaria possível a realização de provas de compatibilidade;
- iii) possível de ser adaptado para a pesquisa de antigénios ou anticorpos em amostras de dadores ou recetores de sangue, testes essenciais que decorrem ainda antes da prova de compatibilidade.

DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

Figura 1 - Representação em perspetiva esquemática e simplificada, de acordo com o invento, e que ilustra tridimensionalmente todos os componentes que são parte integrante do dispositivo para avaliação de compatibilidade transfusional desenvolvido.

Figura 2 - Representação em perspetiva esquemática e simplificada, de acordo com o invento, e que ilustra tridimensionalmente uma otimização do dispositivo referido na figura 1, apresentando um pequeno motor que controla e mantém a pressão constante a ser exercida neste.

Figura 3 - Representação em perspetiva esquemática e simplificada, e que ilustra, de forma simplificada, a reação entre antigénios e anticorpos e como estes influenciam os resultados das provas de compatibilidade.

Figura 4 - Representação em perspetiva esquemática e simplificada, de acordo com o invento, que ilustra um resultado de compatibilidade e um resultado de incompatibilidade sanguínea.

Figura 5 - Representação em perspetiva esquemática e simplificada, de acordo com o invento, que ilustra a adaptação da membrana para a identificação de grupos sanguíneos, com um resultado positivo e outro negativo para aquele antigénio específico.

Figura 6 - Representação em perspetiva esquemática e simplificada, de acordo com o invento, que ilustra a adaptação da membrana para a pesquisa de anticorpos, com um resultado positivo e outro negativo para aquele anticorpo específico.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

A presente invenção, tal como referido anteriormente, diz respeito a um dispositivo para avaliação de compatibilidade transfusional e que tem como objetivo permitir, de forma simples, rápida e económica, determinar inequivocamente a compatibilidade sanguínea em situação de transfusões de sangue.

A presente invenção, para que se atinja o proposto, é essencialmente constituída por um êmbolo (1), uma membrana (2) e uma câmara (3), a qual se encontra situada acima da membrana (2) e é fechada, por intermédio de uma tampa de vácuo (4), como verificado na Figura 1.

A mistura de plasma e eritrócitos é, após retirada a tampa de vácuo (4), colocada no interior na zona de incubação da câmara (3) do dispositivo para avaliação de compatibilidade transfusional.

A câmara do dispositivo (3) é fechada e ocorre um pequeno tempo de incubação. Neste tempo, há lugar, ou não, a uma reação transfusional da qual resultam, ou não, a formação de imunocomplexos. Na figura 3, secção A, vemos, como exemplo, dois dos vários antigénios existentes na membrana de glóbulos vermelhos que reagem com o seu respetivo anticorpo, como ilustrado na secção B, formando os imunocomplexos referidos anteriormente e ilustrado na secção E. Por vezes, esta reação dos antigénios com os anticorpos não é suficientemente forte e é necessário um outro anticorpo, antiglobulina humana (representado na secção C da figura 3), para a formação desses imunocomplexos pois permite fazer uma "ponte" entre os anticorpos. Quando os antigénios e os anticorpos não reagem uns com os outros, estes imunocomplexos não são formados, como ilustrado na figura secção D da figura 3, sendo este tipo de resultado o necessário para se proceder a uma transfusão de sangue.

Findo o tempo de incubação, o êmbolo (1) é acionado e cria, graças à existência da tampa de vácuo (4), um valor de pressão constante no interior da câmara do dispositivo (3),

ou seja, ocorre o acionamento gradual do êmbolo (1), gerando um aumento de pressão dentro da câmara (3) até este atingir a posição máxima à qual corresponderá uma pressão constante, fazendo com que a mistura de plasma e glóbulos vermelhos a ser testado nesta prova de compatibilidade passe pela membrana seletiva, que apenas deixa passar glóbulos vermelhos e anticorpos no seu estado livre (figura 3, secção D). Tal passagem é seletiva devido às características de porosidade da membrana.

De salientar que a membrana, desenvolvida pelos inventores, é determinante para a obtenção do resultado da prova de compatibilidade e essencial como instrumento facilitador da observação dos resultados. Trata-se de uma membrana rígida cujas características principais residem no tamanho e geometria dos poros de 8 micrómetros de diâmetro. São estas características, dimensão e geometria dos poros, que garantem a passagem apenas dos glóbulos vermelhos e anticorpos na forma livre.

No caso de um resultado compatível e de acordo com o nosso dispositivo, os anticorpos e glóbulos vermelhos encontram-se livres e irão passar pela membrana seletiva, não ficando nenhum aspeto visível na membrana, como ilustrado na figura 4, secção A.

No caso de um resultado incompatível e de acordo com o nosso dispositivo, os anticorpos e glóbulos vermelhos irão reagir, formando imunocomplexos, o que não irá permitir a sua passagem pela membrana seletiva, ficando uma "linha" visível resultante da retenção destes imunocomplexos na membrana, como ilustrado na figura 4B

As reações entre os antigénios e anticorpos são reações que podem desagregar se uma pressão muito elevada for exercida. Assim, de modo a limitar a pressão exercida e a eliminar a variabilidade inter utilizador devido a serem eles a puxar o êmbolo, na figura 2 apresentamos uma otimização do dispositivo onde foi adicionado um motor (5), um veio (6) e um encaixe para o êmbolo (7), bem como uma caixa protetora (8) dos componentes mencionadas anteriormente, que passará a executar uma pressão controlada e limitada, sendo apenas dependente do motor, permitindo eliminar a variabilidade inter utilizador e tornando os resultados mais confiáveis.

Será adiante descrita com detalhe a caracterização do dispositivo para a identificação de antigénios, alvo do presente invento, e que tem como objetivo permitir, de forma simples, rápida e económica, determinar inequivocamente o grupo sanguíneo em situação de testes dos diversos grupos sanguíneos.

Observa-se na figura 5, secção A, que na membrana seletiva foi impregnado um anticorpo para o respetivo antigénio que se pretende detetar. Esta impregnação ocorrerá no processo de produção da membrana, não adicionando passos extras ao protocolo. Uma mistura de glóbulos vermelhos irá passar pela membrana seletiva devido à pressão que será produzida com base na deslocação do êmbolo, como explicado no exemplo anterior, fazendo com que surjam dois possíveis resultados.

Pode obter-se um resultado positivo para o antigénio que se está a pesquisar, o que se traduz na retenção dos glóbulos vermelhos na membrana devido à interação com o respetivo anticorpo, dando cor a esta, como ilustrado na figura 5, secção B, confirmando-se a identificação do respetivo grupo sanguíneo. Pode obter-se um resultado negativo para o antigénio que se está a pesquisar, o que se traduz na não retenção dos glóbulos vermelhos na membrana devido a não ocorrer interação com o respetivo anticorpo, não deixando cor nesta, como ilustrado na figura 5, secção C, confirmando-se a negatividade desse grupo sanguíneo nos glóbulos vermelhos testados.

De salientar que a membrana seletiva pode ser impregnada com diferentes anticorpos contra os antigénios característicos dos grupos sanguíneos, permitindo a identificação dos diversos sistemas sanguíneos, como AB0, Rh, Kell, Kidd, Duffy, Lewis, MNSs, e todos os outros que pertencem aos 36 sistemas aceites pela International Society of Blood Transfusion.

De seguida, vai ser agora descrita com detalhe a caracterização do dispositivo para a identificação de anticorpos, alvo do presente invento, e que tem como objetivo permitir, de forma simples, rápida e económica, determinar inequivocamente a existência de anticorpos no plasma de um indivíduo, sendo útil para confirmação de grupos sanguíneos ou para poder transfundir unidades de sangue em que não conste o respetivo antigénio deste anticorpo.

Na figura 6, secções A e D podemos observar que na membrana seletiva foi impregnado um antigénio para a pesquisa

do seu respetivo anticorpo. Tal como supracitado, esta impregnação ocorrerá no processo de produção da membrana. O plasma do indivíduo que contém o anticorpo, ou não, irá passar pela membrana seletiva devido à pressão que será produzida com base na deslocação do êmbolo, podendo ou não haver interação entre o antigénio impregnado na membrana o anticorpo presente no plasma. Após a passagem do plasma pela membrana, será necessário fazer uma passagem pela membrana de uma mistura de glóbulos vermelhos revestidos com antiglobulina humana para permitir a leitura do resultado, como ilustrado nas secções B e E, da figura 6.

Podemos obter um resultado positivo para o anticorpo que se está a pesquisar, o que se traduz na retenção dos glóbulos vermelhos na membrana devido à interação da antiglobulina humana que reveste os glóbulos vermelhos com o anticorpo presente no plasma do indivíduo e que interagiu com o antigénio impregnado na membrana, dando cor a esta, como ilustrado na figura 6, secção C, confirmando-se a identificação do respetivo anticorpo. Podemos obter um resultado negativo para o anticorpo que se está a pesquisar, o que se traduz na não retenção dos glóbulos vermelhos na membrana devido à não interação da antiglobulina humana que reveste os glóbulos vermelhos com nenhum anticorpo porque, não havendo nenhum anticorpo no plasma do indivíduo contra o antigénio impregnado na membrana, nenhum anticorpo ficou retido na membrana, não deixando cor na membrana, como ilustrado na figura 6, secção F, confirmando-se a inexistência do anticorpo contra o antigénio presente na membrana.

De salientar que a membrana seletiva pode ser impregnada com diferentes antigénios caraterísticos dos grupos sanguíneos, permitindo a identificação dos diversos anticorpos contra os sistemas sanguíneos, como AB0, Rh, Kell, Kidd, Duffy, Lewis, MNSs, e todos os outros que pertencem aos 36 sistemas aceites pela International Society of Blood Transfusion.

Como será evidente a um perito na especialidade, a presente invenção não deverá estar limitada aos modos de realização descritos no presente documento, sendo possíveis diversas alterações que se mantêm no âmbito da presente invenção. Evidentemente, os modos preferenciais acima apresentados são combináveis, nas diferentes formas possíveis, evitando-se aqui a repetição de todas essas combinações.

REIVINDICAÇÕES

1. Dispositivo para avaliação de compatibilidade transfusional e de reação antigénio-anticorpo **caracterizado por** ser constituída por êmbolo (1), membrana (2) rígida impregnada com diferentes antigénios e formada por poros de 8 micrómetros de diâmetro, e câmara (3) localizada acima da membrana (2), a qual é fechada por intermédio de uma tampa de vácuo (4).
2. Dispositivo de acordo com a reivindicação 1 caracterizado por apresentar motor (5), veio (6) e encaixe para o êmbolo (7).
3. Método de avaliação de compatibilidade transfusional e de reação antigénio-anticorpo utilizando dispositivo descrito na reivindicação 1 caracterizado pelas seguintes etapas:
 - a) retirada a tampa de vácuo (4);
 - b) colocada a mistura de plasma/eritrócitos ou antigénios/anticorpos no interior na zona de incubação da câmara (3) do dispositivo;
 - c) fecho da tampa de vácuo (4);
 - d) incubação;
 - e) acionamento gradual do êmbolo (1) até se atingir uma pressão constante dentro da câmara (3);
 - f) existência ou não de reação transfusional e formação de imunocomplexos;
 - g) passagem ou não da mistura de plasma/eritrócitos ou antigénios/anticorpos pela membrana seletiva, respetivamente.
4. Método de acordo com a reivindicação 3 caracterizado por ser adicionalmente utilizada antiglobulina humana para a formação de imunocomplexos.

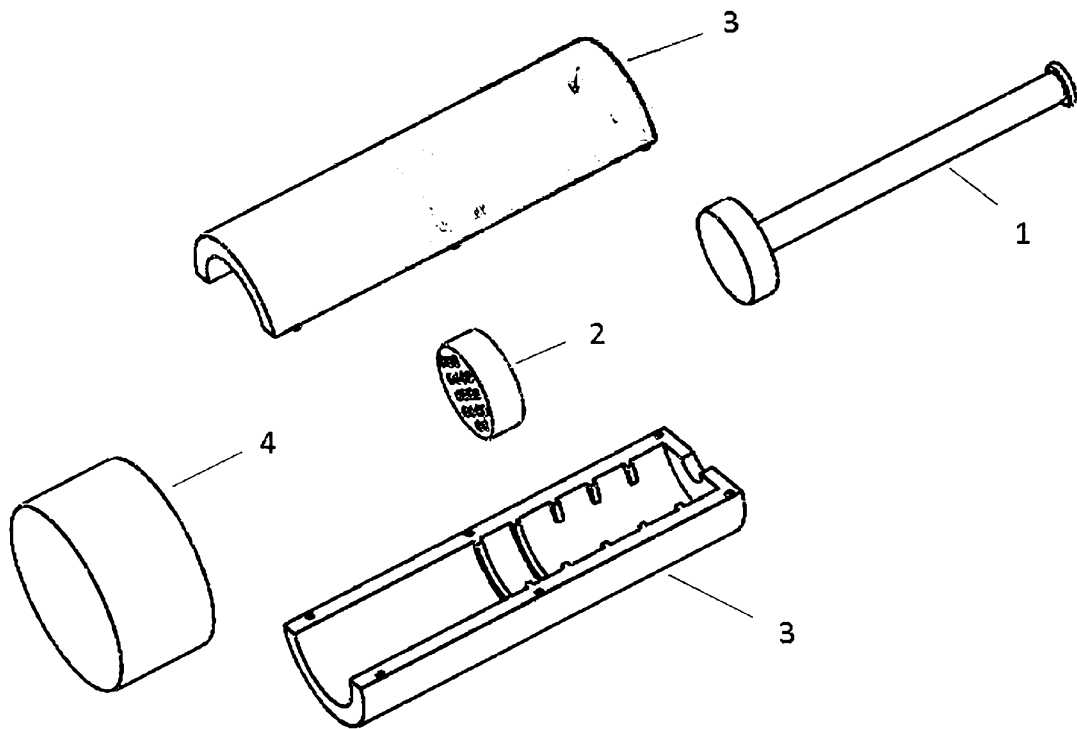


Figura 1

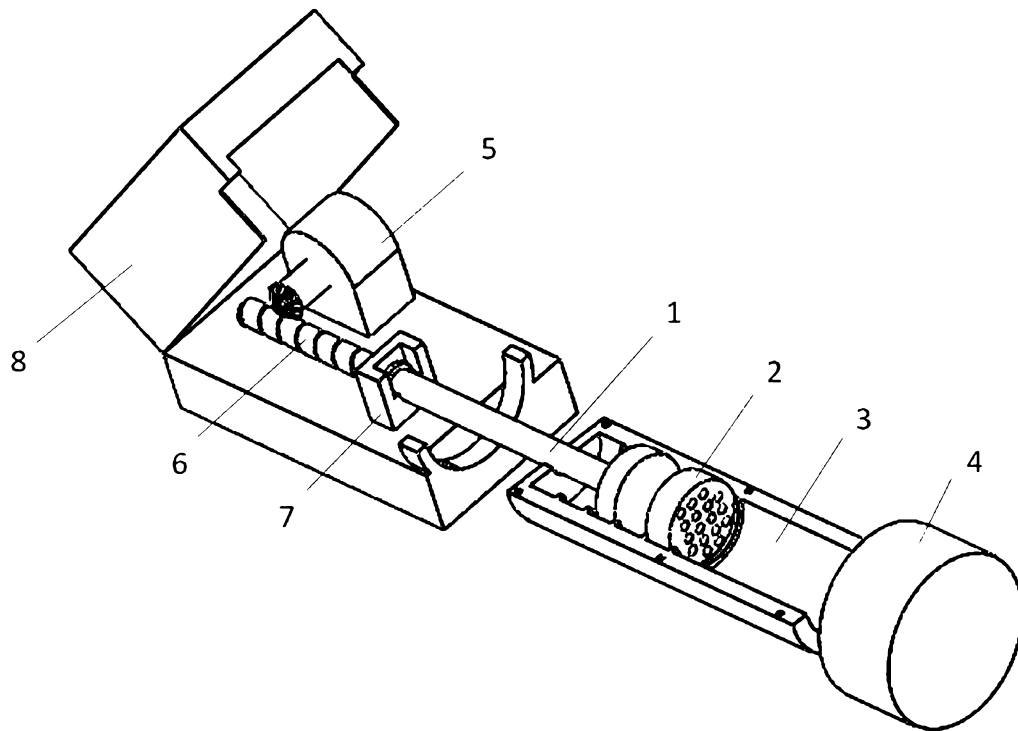


Figura 2

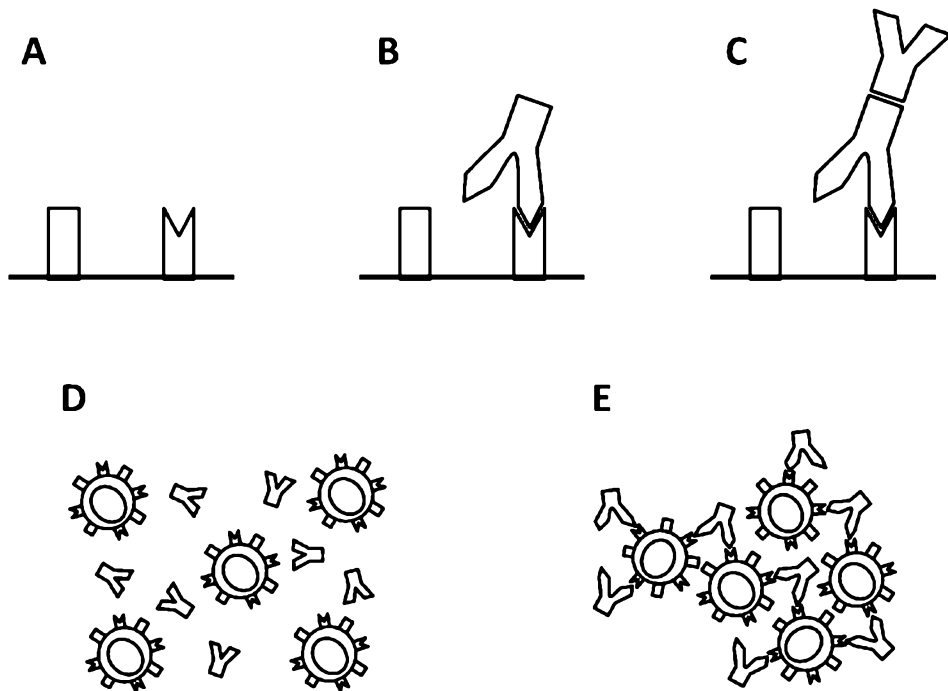


Figura 3

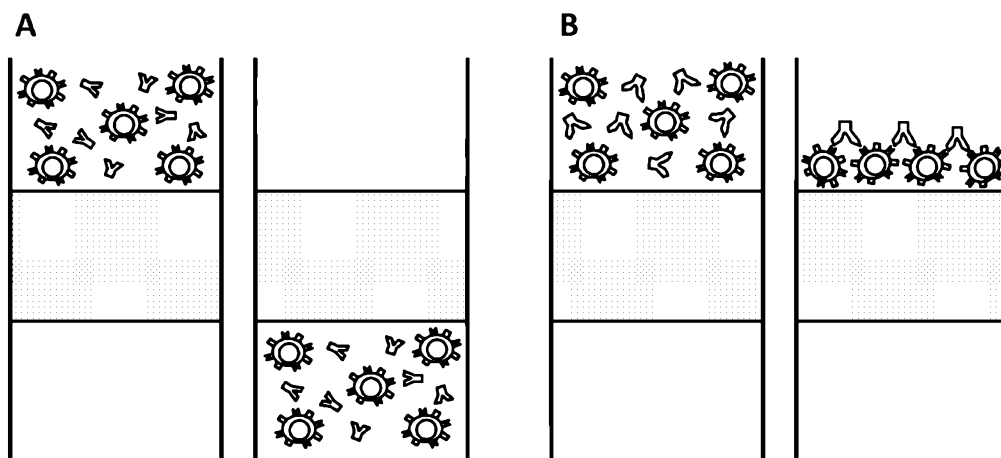


Figura 4

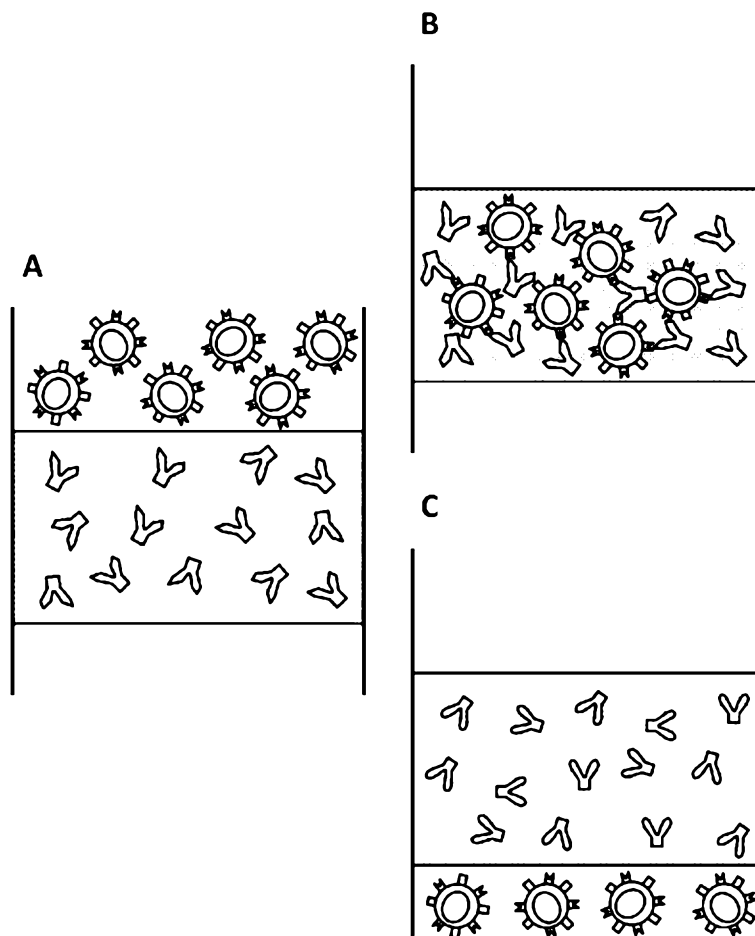


Figura 5

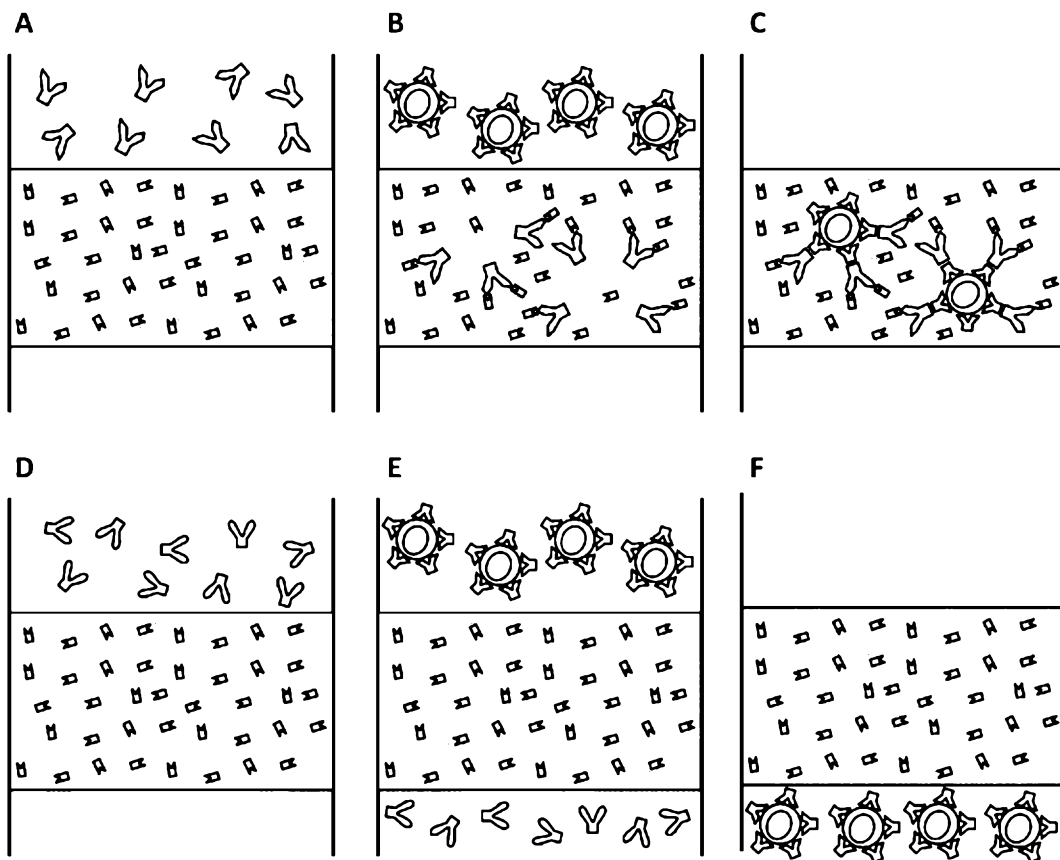


Figura 6