

Brevet N°

86 1 7 3

du 21 novembre 1985

Titre délivré :

24 MARS 1986



Monsieur le Ministre
de l'Économie et des Classes Moyennes
Service de la Propriété Intellectuelle
LUXEMBOURG

Demande de Brevet d'Invention

I. Requête

Humán Oltóanyagtermelő és Kutató Intézet, 5-7 Szállás u., Budapest, Hongrie, représentée par Monsieur Jean Waxweiler, 21-25 Allée Scheffer, Luxembourg, agissant en qualité de mandataire (1)

dépose(nt) ce vingt-et-un novembre mil neuf cent quatre-vingt-cinq à 15,00 heures, au Ministère de l'Économie et des Classes Moyennes, à Luxembourg :

1. la présente requête pour l'obtention d'un brevet d'invention concernant :
Moyen de diagnostic rapide pour le groupage sanguin et procédé pour sa préparation.

2. la délégation de pouvoir, datée de _____ le _____
3. la description en langue française de l'invention en deux exemplaires
4. _____ / _____ planches de dessin, en deux exemplaires;
5. la quittance des taxes versées au Bureau de l'Enregistrement à Luxembourg,
le vingt-et-un novembre mil neuf cent quatre-vingt-cinq

déclare(nt) en assumant la responsabilité de cette déclaration, que l'(es) inventeur(s) est (sont) :
Dr. József ZSIDAI, 23, Népköztársaság utja, H-Budapest VI; Rozália BANKUTI, 45, Jókai u., H-Budapest III; István MASEK, 3, Mongol u., H-Budapest X; Gizella VESZELY, 18, Berend u., H-Budapest III; József SZOKOL, 66, Fogarasi ut., H-Budapest XIV

revendique(nt) pour la susdite demande de brevet la priorité d'une (des) demande(s) de (6) brevet déposée(s) en (7) Hongrie le 23 novembre 1984 sous le No. 4358/84

au nom de Humán Oltóanyagtermelő és Kutató Intézet

élit(é lisent) pour lui (elle) et, si désigné, pour son mandataire, à Luxembourg Jean Waxweiler, 21-25 Allée Scheffer, Luxembourg

solicite(nt) la délivrance d'un brevet d'invention pour l'objet décrit et représenté dans les annexes susmentionnées, — avec ajournement de cette délivrance à _____ / _____ mois. (11)
Le mandataire Jean Waxweiler

II. Procès-verbal de Dépôt

La susdite demande de brevet d'invention a été déposée au Ministère de l'Économie et des Classes Moyennes, Service de la Propriété Intellectuelle à Luxembourg, en date du :

à 15,00 heures



Pr. le Ministre
de l'Économie et des Classes Moyennes,
p. d.

Brevet N°

86173

du 21 novembre 1985

Titre délivré :



Monsieur le Ministre
de l'Économie et des Classes Moyennes
Service de la Propriété Intellectuelle
LUXEMBOURG

Demande de Brevet d'Invention

I. Requête

Humán Oltóanyagtermelő és Kutató Intézet, 5-7 Szállás u., (1)
Budapest, Hongrie, représentée par Monsieur Jean Waxweiler,
21-25 Allée Scheffer, Luxembourg, agissant en qualité de (2)
mandataire

dépose(nt) ce vingt-et-un novembre mil neuf cent quatre-vingt-cinq (3)
à 15,00 heures, au Ministère de l'Économie et des Classes Moyennes, à Luxembourg :

1. la présente requête pour l'obtention d'un brevet d'invention concernant :
Moyen de diagnostic rapide pour le groupage sanguin et procé- (4)
dé pour sa préparation.

2. la délégation de pouvoir, datée de le

3. la description en langue française de l'invention en deux exemplaires;

4. / planches de dessin, en deux exemplaires;

5. la quittance des taxes versées au Bureau de l'Enregistrement à Luxembourg,
le vingt-et-un novembre mil neuf cent quatre-vingt-cinq

déclare(nt) en assumant la responsabilité de cette déclaration, que l'(es) inventeur(s) est (sont)
Dr. József ZSIDAI, 23, Népköztársaság utja, H-Budapest VI; Rozália BANKUTI
45, Jókai u., H-Budapest III; István MASEK, 3, Mongol u., H-Budapest X;
Gizella VESZELY, 18, Berend u., H-Budapest III; József SZOKOL, 66, Fogarasi
ut., H-Budapest XIV

revendique(nt) pour la susdite demande de brevet la priorité d'une (des) demande(s) de
(6) brevet déposée(s) en (7) Hongrie
le 23 novembre 1984 sous le No. 4358/84

au nom de Humán Oltóanyagtermelő és Kutató Intézet (8)

élit(é lisent) pour lui (elle) et, si désigné, pour son mandataire, à Luxembourg
Jean Waxweiler, 21-25 Allée Scheffer, Luxembourg (10)

solicite(nt) la délivrance d'un brevet d'invention pour l'objet décrit et représenté dans les
annexes susmentionnées, — avec ajournement de cette délivrance à / mois. (11)

Le mandataire

(Signature)

II. Procès-verbal de Dépôt

La susdite demande de brevet d'invention a été déposée au Ministère de l'Économie et des
Classes Moyennes, Service de la Propriété Intellectuelle à Luxembourg, en date du :

à 15,00 heures



Pr. le Ministre
de l'Économie et des Classes Moyennes,
p. d.

REVENDICATION DE PRIORITÉ

L-3033

Dépôt de la demande de brevet

en Hongrie

du 23 novembre 1984 sous le numéro 4358/84

M E M O I R E D E S C R I P T I F

DEPOSE A L'APPUI D'UNE DEMANDE

DE BREVET D'INVENTION

AU GRAND-DUCHE DE LUXEMBOURG

par: HUMÁN Oltóanyagtermelő és Kutató Intézet

pour: Moyen de diagnostic rapide pour le groupage sanguin
et procédé pour sa préparation.

Cette invention concerne un moyen de diagnostic rapide pour le groupage sanguin et un procédé pour sa préparation.

5 Le groupage sanguin est une des tâches courantes, mais pas simples, du service de santé, qui est réglementée par des prescriptions rigoureuses. Il existe plusieurs situations (catastrophes, guerres, etc.) où un grand nombre de groupages sanguins est nécessaire sans qu'il y ait le support de laboratoire indispensable (équipements, appareils, machines stériles, etc.). Dans cer-
10 tains pays, plusieurs moyens de diagnostic rapide ont été mis au point, qui sont utiles dans de telles situations ainsi que pour le groupage sanguin rapide, de type dépistage, au lit du malade. Le principe commun à ces moyens de diagnostic consiste en ce que les sérums
15 utilisés pour le groupage sont séchés sur un support papier spécial trempé par des agents d'imprégnation. De tels moyens de diagnostic rapide sont, par exemple, les réactifs secs "ABO-D Kit" et
20 "Eldoncard CDE" commercialisés par le Nordisk Insulinlaboratorium (Danemark), le "Serafol" commercialisé par le Biotest Diagnostics (République fédérale d'Allemagne) de même que le "Bed-side ABO" fabriqué par la Germed, Berlin (République démocratique d'Allemagne).
25 L'emploi de ces réactifs secs est rapide et simple, un de leurs inconvénients consiste en ce qu'ils ne sont utilisables que pour un groupage sanguin simple.

30 Un nouveau moyen de diagnostic rapide a été développé, dont l'emploi est simple et fiable et qui peut être conservé pendant un temps relativement long.

Ainsi, l'objet de l'invention est un moyen de diagnostic rapide pour le groupage sanguin, qui comprend les réactifs anti-A, anti-B, anti-AB et facultativement anti-D, anti-C et anti-E qui sont fixés dans des creux
 5 pratiqués sur une feuille d'aluminium à surface traitée. En outre, l'invention concerne un procédé de préparation du moyen de diagnostic rapide dont il est question plus haut, qui comprend le dépôt de gouttes de réactifs anti-A, anti-B, anti-AB et facultativement
 10 anti-D, anti-C et anti-E dans les creux d'une feuille d'aluminium à surface traitée et la fixation des réactifs sur la feuille d'aluminium par un séchage sous vide en deux temps.

15 Comme support pour le moyen de diagnostic rapide de l'invention, on utilise une feuille d'aluminium de 0,25 à 0,5 mm d'épaisseur. Sur la feuille, des creux de 10 à 30 mm de diamètre et de 0,3 à 0,6 mm de profondeur sont réalisés par pressage. Le nombre de creux
 20 à réaliser dépend du nombre désiré de réactifs devant être appliqué sur le support; et un creux supplémentaire est nécessaire pour l'échantillon testé. La feuille support, pressée et coupée aux dimensions voulues, subit un traitement de surface dans un bain
 25 d'hydroxyde de potassium et en rinçant abondamment à l'eau chaude et froide et finalement à l'alcool.

Pour le moyen de diagnostic rapide de l'invention, on utilise les réactifs anti-A, anti-B et anti-AB
 30 appartenant aux principaux groupes sanguins ainsi que les réactifs anti-D, anti-C, anti-E, etc., appartenant au système Rh.

Les réactifs appartenant aux principaux groupes sanguins

sont préparés de telle façon que le sérum ou le plasma débarrassé du fibrinogène, respectivement, de sangs appartenant aux groupes sanguins A (anti-B), D (anti-A) et O (anti-AB) ayant une avidité très favorable (déclenchant l'agglutination en 2 à 5 secondes et développant une quadruple agglutination de groupe en 3 minutes) sont mélangés en accord avec chacun des groupes sanguins dans des conditions aseptiques, inactivés par traitement à la chaleur, stabilisés, additionnés d'un adjuvant et filtrés pour les rendre stériles.

L'inactivation est réalisée par un traitement à la chaleur d'une durée d'environ 30 minutes à 50-60°C. Les réactifs traités à la chaleur peuvent être stabilisés, par exemple, par l'azide de sodium. Comme agent adjuvant, un additif lyophilisant (auxiliaire), par exemple, du saccharose, peut être ajouté en quantité d'environ 3%.

Les réactifs appartenant au système Rh sont préparés à partir de sérum ou de plasma, respectivement, des sangs anti-D, anti-C, anti-E, etc. de la même façon que les réactifs appartenant aux principaux groupes sanguins, cependant, des agents adjuvants accélérant l'agglutination, par exemple, ficoll, glycine et méthylcellulose, sont aussi ajoutés aux réactifs.

Sur les feuilles préparées, les réactifs sont déposés en gouttes de 0,03 à 0,05 ml dans des conditions aseptiques. A côté des réactifs appartenant au système Rh, des gouttes de 0,03 à 0,05 ml d'une solution de papaïne à 1 % activée par la cystine ou la cystéine sont également déposées pour la détermination par le procédé

enzymatique, puis les réactifs sont fixés sur le support par un séchage sous vide en deux temps. Ce séchage est effectué dans un équipement (machine) de lyophilisation ou dans un appareil de séchage sous vide. La première étape de séchage est effectuée sous 100 - 300 mm Hg, de préférence à 200 mm Hg, et à une température entre 15 et 25°C, de préférence à 20°C; la seconde étape de séchage est effectuée sous une pression inférieure à 0,5 mm Hg, de préférence sous une pression entre 0,1 et 0,05 mm Hg et à une température entre 30 et 50°C, de préférence à 40°C. Toute la période de séchage dure environ 3 à 5 heures.

Au moment de l'emploi, les réactifs sont dissous avec une goutte d'eau de robinet chacun et une goutte d'échantillon testé est déposée dans le creux prévu à cet effet. Le groupage sanguin peut être effectué en utilisant des échantillons de sang prélevés directement dans la pulpe d'un doigt, provenant de sang coagulé ou de sang contenant un anticoagulant. L'échantillon testé est mis en contact avec les réactifs à l'aide d'un dispositif approprié, de façon adéquate en mélangeant avec des baguettes en polystyrène emballées avec le moyen de diagnostic. On incline la feuille plusieurs fois, puis on la place sur une surface horizontale et l'évaluation se fait après 3 minutes.

Le moyen de diagnostic rapide de l'invention présente les avantages suivants. Le support est une feuille d'aluminium à surface traitée, ce qui rend superflus toute imprégnation, un revêtement spécial ou une couche isolante. L'application des réactifs et le groupage

sanguin sont facilités par la réalisation des creux. L'adhérence (fixation) des réactifs à la surface de la feuille d'aluminium est stable, au moment de l'emploi les réactifs sont solubles dans l'eau de robinet et la dissolution est immédiate. La réaction est parfaitement perceptible sur la feuille d'aluminium. Le moyen de diagnostic rapide contient également un réactif anti-AB, ainsi les possibilités d'erreur sont réduites et le groupage sanguin peut être effectué sans échec. Le groupage sanguin effectué de cette façon équivaut au groupage effectué dans les conditions de laboratoire. Comme conséquence de la capacité de transfert de chaleur de la feuille d'aluminium, la teneur en eau des réactifs peut être réduite au minimum par séchage sous vide, de sorte que le moyen de diagnostic peut être conservé même à température ambiante sans altération de sa qualité pendant un temps relativement long (2 à 5 ans).

L'invention est illustrée en détail à l'aide de l'exemple suivant.

Exemple

Préparation des réactifs appartenant aux principaux groupes sanguins

Les sérums sanguins avec un titre, respectivement, d'au moins 1:64 anti-A, anti-B ou d'au moins 1:32 anti-AB, ayant une bonne avidité (déclenchant l'agglutination en 2 à 5 secondes et développant une quadruple agglutination de groupe en 3 minutes) sont mélangés en accord avec chacun des groupes sanguins dans des

conditions aseptiques, stabilisés par addition de 0,1% d'azide de sodium et, après addition de 3% de saccharose, inactivés par traitement à la chaleur à 56°C pendant 30 minutes, puis filtrés sur un filtre clarifiant et stérilisant.

Les plasmas sanguins avec un titre respectivement d'au moins 1:128 anti-A, anti-B ou d'au moins 1:64 anti-AB, ayant une bonne avidité, sont mélangés en accord avec chacun des groupes sanguins dans des conditions aseptiques, stabilisés par addition de 0,1% d'azide de sodium et débarrassés du fibrinogène par addition de lévulinate de calcium ou de chlorure de calcium dihydraté, puis traités de la même façon que les sérums.

15 Préparation des réactifs appartenant au système Rh

Les sérums sanguins avec un titre d'au moins 1:128 anti-D, anti-C, anti-E, etc. sont stabilisés par addition de 0,1% d'azide de sodium, mélangés en accord avec chacun des groupes sanguins dans des conditions aseptiques et inactivés à 56°C pendant 60 minutes. Ensuite les agglutinines irrégulières sont éliminées par absorption, on ajoute 3% de saccharose, 2% de glycine et, pour favoriser l'agglutination, 0,3 à 0,5% de ficoll de même que 0,01 à 0,02% de méthylcellulose et on filtre pour la stérilisation.

Les plasmas sont stabilisés de la même façon par addition de 0,1% d'azide de sodium, débarrassés du fibrinogène par addition de chlorure de calcium dihydraté

ou de thrombine, puis traités de la même manière que les sérums.

5 L'avidité d'un réactif est appropriée lorsque la réaction démarre en une minute et augmente jusqu'au maximum en trois minutes.

10 Pour la détection des hémagglutinines incomplètes, une solution de papaïne à 1% est également nécessaire, cette solution étant préparée avec un tampon phosphate de 1/15 mole/litre, activé par addition de L-cystine et L-cystéine sous forme de chlorhydrate et contenant 0,0125% de méthylcellulose.

Préparation du support

15 En utilisant les réactifs anti-A, anti-B, anti-AB et anti-D, cinq creux sont formés par pressage sur une feuille d'aluminium d'une épaisseur de 0,25 à 0,5 mm. La profondeur de ces creux est de 0,3 à 0,6 mm. Quatre creux sont de 15 mm de diamètre, le cinquième est plus grand, par exemple, de 30 mm de diamètre. Après avoir été pressées et coupées aux dimensions voulues, les
20 feuilles sont maintenues dans une solution d'hydroxyde de potassium à 20% à 90°C pendant 3 minutes, puis rincées abondamment à l'eau chaude et froide et finalement à l'alcool.

Préparation du moyen de diagnostic

25 Les réactifs anti-A, anti-B et anti-AB sont déposés en gouttes de 0,03 ml dans trois des plus petits creux de la feuille préparée et dont la surface a été traitée.

Le quatrième petit creux est laissé vide pour recevoir l'échantillon de sang. Dans le plus grand creux on dépose une goutte de 0,03 ml de réactif anti-D et un peu plus loin 0,05 ml d'une solution de papaïne active.

5 Le réactif appartenant au système Rh peut également être appliqué sur une autre feuille.

Ensuite les feuilles sont placées dans un équipement de lyophilisation et le séchage sous vide en deux temps est démarré. On utilise au cours de la première

10 étape un vide modéré (environ 200 mm Hg) et une température basse (20°C), au cours de la seconde étape un vide poussé (0,1 à 0,05 mm Hg) et une température plus élevée (40°C). En utilisant ce procédé, la substance est

15 séchée à une température relativement basse même sans congélation de sorte que l'altération de la structure protéique et la diminution d'activité qui l'accompagne comme conséquences de la congélation peuvent être évitées.

Le moyen de diagnostic ainsi préparé est emballé avec

20 des baguettes en polystyrène dans des pochettes en feuille d'aluminium qui sont fermées hermétiquement.

Revendications

1. Moyen de diagnostic rapide pour le groupage sanguin consistant en réactifs anti-A, anti-B, anti-AB et facultativement anti-D, anti-C et anti-E qui sont fixés dans des creux formés sur une feuille d'aluminium à surface traitée.
2. Procédé pour la préparation d'un moyen de diagnostic rapide pour le groupage sanguin, qui comprend le dépôt de gouttes de réactifs anti-A, anti-B, anti-AB et facultativement anti-D, anti-C et anti-E dans les creux d'une feuille d'aluminium à surface traitée et la fixation des réactifs sur la feuille d'aluminium par séchage sous vide.
3. Procédé selon la revendication 2, qui comprend la réalisation de la première étape de séchage sous vide sous une pression de 100 à 300 mm Hg à une température de 15 à 25°C et de la seconde étape de séchage sous vide sous une pression inférieure à 0,5 mm Hg et à une température entre 30°C et 50°C.
4. Procédé selon la revendication 2, qui comprend la préparation des réactifs à partir du sérum ou du plasma débarrassé du fibrinogène, respectivement, de sang contenant anti-A, anti-B, anti-AB, anti-D, anti-C ou anti-E, de telle façon que les sérums ou les plasmas débarrassés du fibrinogène, respectivement, mélangés en accord avec chacun des groupes sanguins sont stabilisés, inactivés et, après addition d'adjuvants, filtrés pour les rendre stériles.

5. Procédé selon la revendication 4, qui comprend l'addition d'adjuvants favorisant l'agglutination aux réactifs appartenant au système Rh.