

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

(22) Data de pedido: <b>2006.12.21</b>	(73) Titular(es): <b>BLUTSPENDEDIENST DER LANDESVERBÄNDE DES DRK NIEDERSACHSEN, SACHSEN- ANHALT, THÜRINGEN, OLDENBURG UND BREMEN GMBH ELDAGSENER STRASSE 38 31830 SPRINGE DE</b>
(30) Prioridade(s): <b>2005.12.23 DE 102005062634</b>	
(43) Data de publicação do pedido: <b>2010.06.23</b>	
(45) Data e BPI da concessão: <b>2011.06.29 186/2011</b>	(72) Inventor(es): <b>HARALD MOHR</b> DE
	(74) Mandatário: <b>ELSA MARIA MARTINS BARREIROS AMARAL CANHÃO RUA DO PATROCÍNIO 94 1399-019 LISBOA</b> PT

(54) Epígrafe: **PROCESSO PARA A INACTIVAÇÃO DE PATOGÉNEOS EM SANGUE DE DADORES, PLASMA SANGUÍNEO OU CONCENTRADOS DE ERITRÓCITOS EM RECIPIENTES FLEXÍVEIS SOB MOVIMENTAÇÃO**

(57) Resumo:

A INVENÇÃO REFERE-SE A UM PROCESSO PARA A INACTIVAÇÃO DE PATOGÉNEOS, COMO BACTÉRIAS E VÍRUS, EM SANGUE DE DADORES, PLASMA SANGUÍNEO E EM CONCENTRADOS DE ERITRÓCITOS POR TRATAMENTO FOTODINÂMICO E/OU A IRRADIAÇÃO COM LUZ ULTRAVIOLETA EM BOLSAS DE IRRADIAÇÃO FLEXÍVEIS, SOB MOVIMENTAÇÃO.

## **DESCRIÇÃO**

### **"PROCESSO PARA A INACTIVAÇÃO DE PATOGÉNEOS EM SANGUE DE DADORES, PLASMA SANGUÍNEO OU CONCENTRADOS DE ERITRÓCITOS EM RECIPIENTES FLEXÍVEIS SOB MOVIMENTAÇÃO"**

É objecto da invenção um processo para a inactivação de patogéneos, como bactérias e vírus, em sangue de dadores (sangue), plasma sanguíneo (plasma) e/ou concentrados de eritrócitos (CE) por tratamento fotodinâmico e/ou irradiação com luz ultravioleta.

É conhecido que a utilização terapêutica de sangue e preparações sanguíneas comporta o risco dos receptores serem infectados com vírus e bactérias. São mencionados, p. ex., os vírus da hepatite B (HBV) e hepatite C (HCV), bem como os agentes da sida, HIV-1 e HIV-2. O risco existe sempre quando na preparação de preparados correspondentes não se aplica qualquer passo para a inactivação ou eliminação de patogéneos.

Existiram ou existem uma multiplicidade de esforços para descontaminar preparações sanguíneas por meio de métodos fotodinâmicos. O princípio baseia-se em expor à luz o produto em questão na presença de uma substância fotoactiva (um fotossensibilizador). A luz irradiada tem que incluir uma gama de comprimento de onda que seja absorvida pelo fotossensibilizador e pela qual ele possa ser activado. A energia absorvida é ou directamente transferida para a estrutura alvo em questão (p. ex., os ácidos nucleicos ou proteínas de

superfície de um vírus) que com isso é destruída, ou então para moléculas de oxigénio dissolvidas, que com isso são activadas. Forma-se oxigénio singuleto que tem uma actividade virucida e bactericida pronunciada.

Idealmente, o fotossensibilizador utilizado possui uma afinidade elevada para componentes essenciais de vírus e outros patogéneos, p. ex. para os seus ácidos nucleicos, e apenas uma afinidade diminuta ou nenhuma afinidade para os componentes do preparado que deve ser descontaminado. Como resultado do tratamento fotodinâmico, neste caso são inactivados os patogéneos enquanto a actividade do produto permanece mantida. É descrito como um fotossensibilizador adequado para o tratamento de plasma, p. ex., o corante de fenotiazina azul de metileno; para a descontaminação de concentrados de trombócitos é utilizada riboflavina (vitamina B2) e para a descontaminação de CE são testadas ftalocianinas. No entanto, os processos para a inactivação fotodinâmica de patogéneos em CE não passaram até à data além da escala laboratorial.

Isto é ainda mais válido para o próprio sangue. Uma importante razão para isso deverá ser pesquisada no facto de a luz irradiada ter que ter uma intensidade determinada para poder activar o fotossensibilizador utilizado e o sangue e CE possuírem apenas uma permeabilidade muito diminuta para a luz de cada comprimento de onda. Naturalmente, o problema também se apresenta no plasma, embora não na mesma extensão.

Também é conhecido que pela simples irradiação com luz ultravioleta (UV) de comprimento de onda curto, isto é, na gama de comprimento de onda entre cerca de 200 e 320 nm, em particular 200 até menos do que 300 nm (UVB e UVC) podem ser

igualmente inactivados patogéneos. Acima de 320 nm, a energia da radiação é demasiado baixa para inactivar microrganismos e vírus. Em oposição aos métodos químicos, fotoquímicos e fotodinâmicos para a inactivação de patogéneos, a simples irradiação com luz UV possui fundamentalmente a vantagem de ser eficaz por si só e de não necessitar da adição de químicos reactivos ou substâncias fotoactivas.

O UVC é o mais eficaz para a inactivação directa de patogéneos. No entanto possui a desvantagem de penetrar apenas até uma profundidade de penetração muito diminuta em soluções contendo proteínas, como plasma ou suspensões turvas (p. ex. sangue e CE). O UVC foi empregue durante a segunda guerra mundial e ainda pouco tempo depois para esterilizar plasma e soluções de albumina, sobretudo para inactivar vírus da hepatite. Nesse tempo, o procedimento era o da solução ser conduzida como um filme delgado diante de uma fonte de luz UVC num aparelho de passagem de líquidos. O método mostrou-se como não suficientemente seguro e foi abandonado (Kallenbach NR, Cornelius PA, Negus D, et al. Inactivation of viruses by ultraviolet light. *Curr. Stud. Hematol. Blood Transfus.* 1989, **56**, 70 - 82).

Na actualidade são empregues processos aperfeiçoados que operam de acordo com o mesmo princípio para esterilizar preparações terapêuticas de proteína plasmática. Em todos os casos esteve ou está em causa tratar maiores volumes, isto é, conjuntos de plasma ou soluções de proteína de algumas centenas de litros e mesmo mais (Hart H, Reid K, Hart W. Inactivation of viruses during ultraviolet light treatment of human intravenous immunoglobulin and albumin. *Vox Sang* 1993; **64** (2): 82 - 88, e Chin S, Williams B, Gottlieb P, et al. Virucidal short

wavelength ultraviolet light treatment of plasma and factor VIII concentrate: protection of proteins by antioxidants; *Blood* 1995; **86** (11): 4331 - 4336).

Para a esterilização de uma multiplicidade de unidades individuais de doações de sangue, plasma ou de CE, com volumes de, no máximo, algumas centenas de mL - os aparelhos de passagem de líquidos mencionados não são adequados. No entanto, é exactamente isto que é indispensável na prática diária de um banco de sangue.

O UVB é igualmente microbiocida e virucida, embora não na mesma extensão que UVC. Este penetra soluções contendo proteínas e suspensões turvas um pouco melhor do que UVC, no entanto a sua profundidade de penetração, p. ex. no plasma, pode observar-se também apenas na gama de poucos milímetros.

O plasma e CE são maioritariamente isolados a partir de doações de sangue isoladas ou então são obtidos por aférese mecânica de dadores individuais. O volume dos preparados encontra-se em geral entre cerca de 200 e 350 mL. O volume de doações de sangue encontra-se maioritariamente entre 450 e 500 mL. Os preparados são armazenados em bolsas plásticas planas, em geral congelados a temperaturas muito baixas (plasma) ou a cerca de 4 °C (doações de sangue, CE).

Seria desejável esterilizar os preparados mencionados em bolsas deste tipo. No entanto persiste neste caso o problema mencionado de eles serem quase impenetráveis para a luz UV, além disso o sangue e CE para a luz visível.

De um modo surpreendente verificou-se que o problema acima é solucionado por um processo de acordo com a reivindicação 1. Formas de realização preferidas são objecto das reivindicações dependentes ou estão descritas a seguir.

De acordo com a presente invenção, os preparados, isto é sangue de dadores (sangue), plasma sanguíneo (plasma) e/ou concentrados de eritrócitos (CE) são movimentados de um modo adequado nas suas bolsas de irradiação, de modo a que resulte uma circulação contínua das amostras no recipiente. O movimento efectua-se neste caso tão intensamente que se formam, em certas áreas, camadas no interior do líquido ou suspensão, que são tão finas que podem ser penetradas pela luz empregue. O movimento tem simultaneamente que ser de modo a que o líquido ou suspensão na bolsa seja eficazmente misturado. Ambos são realizados quando se cumprem as seguintes condições:

1. As bolsas de irradiação são altamente flexíveis e não estão fixas durante a irradiação, p. ex. não são entaladas entre placas de vidro ou quartzo. Estas adaptam-se por conseguinte à alteração de forma do plasma ou da suspensão (sangue, CE) que se produz quando as bolsas são movimentadas.
2. As bolsas de irradiação são cheias no máximo a 30%, de um modo particular no máximo a 15%, do volume de enchimento máximo.
3. As bolsas são vigorosamente movimentadas, p. ex. quer horizontalmente (linearmente na direcção para a frente e para trás ou em forma de círculo ou elipse) ou então verticalmente (balanceadas).

Por movimento vigoroso deve entender-se neste caso (isoladamente ou em conjunto) o seguinte:

1. Este excede um movimento simples, através do qual se provoca uma mistura em líquidos ou suspensões.
2. No interior dos líquidos ou suspensões que são vigorosamente movimentadas formam-se, pelo menos temporariamente, também em diferentes posições, áreas que são tão finas que podem ser penetradas pela luz UV ou luz visível (a última serve para líquidos ou suspensões turvas ou coradas, p. ex. CE).
3. A inversão da direcção do movimento é tão abrupta no caso de movimento vigoroso que a maior parte do preparado que se encontra na bolsa de irradiação move-se adicionalmente na direcção original em consequência da sua inércia e com isso o resíduo remanescente pode formar uma camada fina, que é penetrável para a luz empregue.

Em associação com a mistura contínua que ocorre simultaneamente, o preparado na totalidade é finalmente irradiado (e os patogéneos aí contidos), e com isso é esterilizado.

A bolsa de irradiação no estado cheio horizontal tem apenas alguns mm de espessura, p. ex. menos do que 10 mm, de um modo preferido menos do que 5 mm, e é definida para receber volumes de amostra de p. ex. 200 até 500 mL. A capacidade máxima (volume) da bolsa de irradiação é no entanto maior, no mínimo num factor de 3, em regra no mínimo em 6,66 vezes, de um modo

preferido, no mínimo 10 vezes ou mesmo no mínimo 20 vezes, do que o volume de amostra real a tratar nela contido.

De acordo com um aperfeiçoamento da invenção, o movimento realiza-se, em particular a amplitude do movimento, de modo a que no interior dos preparados se formem áreas em que a espessura da camada seja sempre temporariamente menor do que 0,05 mm.

As bolsas de irradiação têm em particular um volume até 5000 mL.

As bolsas de irradiação são movimentadas, p. ex., por agitação, balanço e/ou por rotação. As bolsas de irradiação são movimentadas, de um modo preferido, durante, pelo menos, três quartos, em particular, pelo menos, cinco sextos da totalidade da duração de irradiação. O movimento ou a agitação pode realizar-se através de um agitador orbital, agitador em plataforma, agitador oscilante ou agitador de queda.

De acordo com um aperfeiçoamento, as bolsas de irradiação são movimentadas durante a irradiação, p. ex. continuamente com uma amplitude maior do que 0,2 mm, de um modo preferido, maior do que 1 cm e, em particular, 1 até 15 cm ou 2 até 8 cm, pelo menos, na direcção x e eventualmente também na direcção y (direcção y perpendicular à direcção x). Independentemente disso, a frequência da alteração de direcção do movimento perfaz mais do que 0,5 Hz, de um modo preferido, 1 até 10 Hz.

De acordo com um aperfeiçoamento adicional da invenção, os preparados provêm de uma unidade de um até 6 dadores, de um modo preferido um dador.



No caso de um tratamento fotodinâmico na presença de uma substância fotoactiva a irradiação realiza-se, de um modo preferido, com comprimentos de onda na gama de absorção (+/- 20 nm) do ou dos fotossensibilizadores empregues.

### **Investigações experimentais**

As experiências descritas ilustram a eficácia do processo e não estão limitadas à inactivação dos vírus mencionados. Também não existe qualquer limitação relativamente aos plasmas ou CE empregues no caso das experiências descritas, que provêm de doações de sangue; o processo de acordo com a invenção também é aplicável no caso de preparados que sejam preparados de outro modo. Todas as experiências descritas foram realizadas três até seis vezes. Os resultados indicados representam respectivamente o valor médio destas experiências.

#### *Unidades de plasma e concentrados de eritrócitos*

As unidades de plasma empregues e os CE foram preparados a partir de doações individuais de sangue por meio de processos usuais. Estes tinham um volume de cerca de 250 até 300 ou até 350 mL e foram conservados em bolsas de plástico usuais para preparados sanguíneos. Os leucócitos ou trombócitos remanescentes foram eliminados por filtração. Os CE foram suspensos em meio de estabilização SAG-M. Os plasmas foram armazenados a temperaturas abaixo de -30 °C e foram descongelados para as experiências em banho de água. Os CE foram armazenados a 4 até 8 °C em câmara fria.

### *Pesquisas virológicas*

Foram inoculadas alíquotas de plasma ou de CE com vírus da estomatite vesicular (VSV, estirpe Indiana, ATCC VR 158) ou vírus Sindbis (ATCC VR-68) ou vírus herpes Suid (SHV-1, vírus pseudo-rábico, estirpe Aujeszky, ATCC VR-135). Os títulos virais foram determinados por meio do ensaio CPE (CPE = efeito citopático). Eles são indicados como TCID<sub>50</sub> (TCID = Dose infectante em cultura de tecido). Células Vero serviram como células indicadoras. A concentração inicial de vírus nas experiências realizadas perfez cerca de 10<sup>5</sup> até 10<sup>7</sup> TCID<sub>50</sub>.

### *Dispositivos de irradiação, bolsas de irradiação*

Um dos dispositivos de irradiação utilizado estava equipado com lâmpadas que emitiam luz UVC (comprimento de onda: 254 nm). A irradiação realizou-se em ambos os lados das bolsas de irradiação aí colocadas, isto é, por cima e por baixo. Um segundo dispositivo de irradiação estava equipado com lâmpadas que emitiam luz UVB (280 - 320 nm). A irradiação realizou-se igualmente de ambos os lados. Um terceiro dispositivo de irradiação estava equipado com LED (diodos emissores de luz), que emitiam luz vermelha intensa na gama de comprimento de onda de 635 nm. Todos os três dispositivos foram colocados em operação num agitador orbital (fabricante firma Bühler, Tübingen; tipo SM 25) que realizava até 100 rotações por minuto. As bolsas de irradiação utilizadas consistiam em folhas plásticas finas permeáveis a UV e altamente flexíveis.

### *Exemplo experimental 1*

*Inactivação de VSV em plasma por UVC: influência da velocidade de agitação e da mobilidade livre do plasma durante a irradiação*

Unidades de plasma em bolsas de irradiação foram inoculadas com VSV e irradiadas durante 2 min com UVC. Uma amostra foi agitada com 100 rpm e foi firmemente fixa entre duas placas de quartzo durante a irradiação. As outras amostras estavam somente colocadas sobre uma placa de quartzo, de modo a que se pudessem movimentar no interior da bolsa durante a agitação. O número de rotações do agitador foi feito variar entre 30 e 100 rpm. Os resultados estão resumidos na tabela 1. Na amostra firmemente fixa, o título viral foi somente reduzido num factor de cerca de  $0,3 \log_{10}$ .

**Tabela 1**

Frequência de agitação (rpm)	Título viral ( $\log_{10}$ TCID <sub>50</sub> )	Observação
0	$6,21 \pm 0,69$	Controlo
30	$5,78 \pm 0,27$	Colocada solta
50	$4,59 \pm 0,04$	Colocada solta
75	$0,92 \pm 0,24$	Colocada solta
100	$0,35 \pm 0,52$	Colocada solta
100	$5,92 \pm 0,11$	Fixa

No caso das amostras colocadas soltas, o número de rotações teve uma influência directa sobre a extensão da inactivação viral; enquanto a 30 ou 50 rpm os factores de inactivação perfizeram apenas cerca de 1,1 ou 2,4  $\log_{10}$  em comparação às amostras controlo não tratadas, estes aumentaram para cerca de

5,1 no caso de 75 rpm e para cerca de 6,6  $\log_{10}$  no caso de 100 rpm. Os resultados desta experiência provam que o plasma tem que ser agitado intensivamente durante o tratamento para que a irradiação com luz UV possa ser eficaz. Para que no entanto o efeito de agitação também tenha impacto, as amostras têm que ser colocadas soltas para que se possam formar camadas finas durante a agitação, que possam ser atravessadas por radiação.

### *Exemplo experimental 2*

#### *Inactivação de VSV, vírus Sindbis e de SHV-1 em plasma pela irradiação com UVC: cinética de inactivação*

Foram inoculadas unidades de plasma com VSV, vírus Sindbis ou SHV-1 e irradiadas durante 1 - 5 min. As amostras colocadas soltas sobre o agitador orbital foram movimentadas com 100 rpm. Amostras controlo foram irradiadas durante 5 min, mas não foram agitadas. Os resultados das experiências estão resumidos na tabela 2. Nas amostras agitadas, o título de VSV foi reduzido num factor de mais de 6,5  $\log_{10}$  no intervalo de 3 min, enquanto o factor de inactivação na amostra controlo não agitada não ultrapassou 1,5  $\log_{10}$ . Os vírus Sindbis mostraram-se como mais estáveis do que VSV; mas a maior diferença entre amostras agitadas e não agitadas mostrou-se também aqui: após um tempo de irradiação de 5 min, o título viral tinha diminuído em cerca de 5,1  $\log_{10}$  na amostra agitada, na não agitada, pelo contrário, apenas em 0,30  $\log_{10}$ .

**Tabela 2**

UVC (min)	Agitação	Título viral ( $\log_{10}$ TCID <sub>50</sub> )		
		VSV	Sindbis	SHV-1
Controlo	–	6,74 ± 0,32	7,01 ± 0,24	4,95 ± 0,23
2	+	0,95 ± 0,31	4,68 ± 0,21	2,56 ± 0,25
3	+	≤0,24 ± 0,00	3,27 ± 0,16	1,67 ± 0,37
4	+	≤0,24 ± 0,00	2,10 ± 0,12	0,66 ± 0,29
5	+	≤0,24 ± 0,00	1,86 ± 0,09	0,42 ± 0,21
5	–	5,69 ± 0,18	6,73 ± 0,16	4,65 ± 0,16

Resultou um quadro semelhante quando foi empregue SHV-1: nas amostras agitadas, o título viral reduziu-se no intervalo de 4 até 5 min num factor de 4,3 até 4,5  $\log_{10}$ ; na amostra não agitada, após 5 min de irradiação, apenas tinha sido reduzido em 0,3  $\log_{10}$ .

### *Exemplo experimental 3*

#### *Inactivação de VSV em plasma pela irradiação com UVB: cinética de inactivação*

Foram inoculadas unidades de plasma com VSV e irradiadas durante 1 até 5 min. As amostras colocadas soltas sobre o agitador orbital foram movimentadas com 100 rpm. Uma amostra controlo foi irradiada durante 5 min, mas não foi agitada. Como se pode ver a partir da tabela 3, nas amostras agitadas o título viral foi reduzido num factor de 6,36  $\log_{10}$  no intervalo de 5 min, pelo contrário, na amostra controlo não agitada foi reduzido em apenas cerca de 1,5  $\log_{10}$ . Os resultados mostram que o fenómeno detectado – o aumento da inactivação de patogéneos em amostras colocadas soltas por agitação intensiva – não está

limitado a UVC.

**Tabela 3**

UVB (min)	Agitação	Título viral ( $\log_{10}$ TCID <sub>50</sub> )
Controlo	–	7,00 ± 0,16
2	+	4,70 ± 0,08
3	+	3,68 ± 0,12
4	+	2,23 ± 0,23
5	+	0,64 ± 0,08
5	–	5,52 ± 0,08

*Exemplo experimental 4*

*Inactivação de VSV em plasma por tratamento fotodinâmico com azul de metileno e luz.*

Foram inoculadas unidades de plasma com VSV, misturadas com 0,25  $\mu\text{mole/L}$  do fotossensibilizador azul de metileno (AM) e irradiadas durante até 30 min com luz LED vermelha sobre o agitador orbital, a um número de rotações de 100 rpm. Foram irradiadas amostras controlo durante 20 min na presença da mesma concentração de AM, mas não foram movimentadas entretanto.

Como mostra a tabela 4, a extensão da inactivação viral nas amostras agitadas foi muito maior do que nas amostras não agitadas. Nas primeiras, o título viral diminuiu num factor de cerca de 4,4  $\log_{10}$  após 20 min; após 30 min em cerca de 5,8  $\log_{10}$ . Nas amostras não movimentadas, o factor de redução após 20 min era, pelo contrário, não superior a cerca de 2,7  $\log_{10}$ .

**Tabela 4**

AM/luz (min)	Agitação	Título viral ( $\log_{10}$ TCID <sub>50</sub> )
Controlo	–	6,72 ± 0,24
10	+	4,95 ± 0,68
20	+	2,30 ± 0,88
30	+	0,94 ± 0,87
20	–	4,04 ± 0,54

*Exemplo experimental 5*

*Inactivação de VSV em CE por tratamento fotodinâmico com azul de metileno e luz.*

Foram inoculadas alíquotas de CE com VSV, misturadas com 5  $\mu$ mole/L do fotossensibilizador azul de metileno (AM) e irradiadas durante até 30 min com luz LED vermelha sobre o agitador orbital, a um número de rotações de 100 rpm. As amostras controlo, pelo contrário, não foram movimentadas durante a irradiação. A tabela 5 mostra o resultado inequívoco da experiência. É evidente que a inactivação viral decorreu significativamente mais depressa nas amostras de CE agitadas do que nas não agitadas. Nas amostras que foram movimentadas durante o tratamento, o vírus tinha sido quase completamente inactivado após 30 min (factor de inactivação 6,7  $\log_{10}$ ). Pelo contrário, o factor de redução nas amostras não movimentadas fez apenas cerca de 2,7  $\log_{10}$  após 30 min.

Os resultados dos exemplos experimentais 4 e 5 provam que a eficácia do tratamento fotodinâmico de plasma ou de concentrados de eritrócitos também é enormemente aumentada quando as amostras são fortemente agitadas durante a irradiação.

**Tabela 5**

<b>AM/luz (min)</b>	<b>Agitação</b>	<b>Título viral (<math>\log_{10}</math> TCID<sub>50</sub>)</b>
Controlo	–	7,04 $\pm$ 0,26
10	+	2,62 $\pm$ 0,31
20	+	0,89 $\pm$ 0,21
30	+	0,30 $\pm$ 0,12
10	–	5,07 $\pm$ 0,26
20	–	5,25 $\pm$ 0,31
30	–	4,35 $\pm$ 0,27

Lisboa, 21 de Setembro de 2011



## **REIVINDICAÇÕES**

1. Processo para a inactivação de patogéneos em sangue de dadores, plasma sanguíneo e/ou concentrados de eritrócitos, compreendendo os passos seguintes:

- proporcionar as doações de sangue ou os preparados obtidos a partir de sangue de dadores e/ou por aférese mecânica,

- (a) adição de uma substância fotoactiva adequada e tratamento fotodinâmico por irradiação com luz compreendendo ou exclusivamente composta por comprimentos de onda na gama de absorção da substância fotoactiva, em que a substância fotoactiva é um ou vários corantes de fenotiazina, um ou vários compostos de ftalocianina e/ou um ou vários compostos de porfirina,

- ou

- (b) exposição dos preparados a uma irradiação com luz ultravioleta (UV) a comprimentos de onda de 200 até 320 nm, em que a irradiação se efectua com UVB de menos de 320 nm até 280 nm e uma energia luminosa de 0,3 até 10 J/cm<sup>2</sup> e/ou UVC de menos de 280 nm até 200 nm,

- em que os preparados são compostos por uma multiplicidade de unidades manuseáveis individualmente e conservadas separadamente e

- os preparados encontram-se respectivamente em bolsas de irradiação planas flexíveis permeáveis à luz (alternativa (a)) ou UV (alternativa (b)),

caracterizado por

- as bolsas de irradiação serem cheias em menos do que 30% do volume máximo de enchimento das bolsas de irradiação, e
  - as bolsas de irradiação, durante o tratamento fotodinâmico e/ou a irradiação com luz UV, serem movimentadas de modo a que o conteúdo da bolsa de irradiação seja revolvido e que através do movimento se formem zonas de espessuras de camada distintas.
2. Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por os patogéneos serem vírus e/ou bactérias.
  3. Processo de acordo com, pelo menos, uma das reivindicações anteriores, caracterizado por, através do movimento, as zonas apresentarem áreas para as quais resultem em regra espessuras de camada temporariamente abaixo de 1 mm, de um modo preferido, abaixo de 0,05 mm.
  4. Processo de acordo com, pelo menos, uma das reivindicações anteriores, caracterizado por a soma das áreas do lado inferior e do lado superior das bolsas de irradiação, que está em contacto ou pode estar em contacto com o conteúdo da bolsa, perfazer mais de 90 por cento da área, de um modo preferido, mais de 99 por cento da área da superfície interna total do conteúdo da bolsa.

5. Processo de acordo com, pelo menos, uma das reivindicações anteriores, caracterizado por, no caso da forma de realização (b), a irradiação ser ou compreender UVB e/ou UVC, em particular UVC de menos de 260 nm até 220 nm e, de um modo preferido, consistir exclusivamente em radiação com comprimentos de onda das gamas indicadas.
6. Processo de acordo com, pelo menos, uma das reivindicações anteriores, caracterizado por a irradiação com UVB se efectuar com uma energia luminosa de 0,5 até 5 J/cm<sup>2</sup>.
7. Processo de acordo com, pelo menos, uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado por a irradiação com UVC se efectuar com uma energia luminosa de 0,01 até 5 J/cm<sup>2</sup>, em particular 0,1 até 2 J/cm<sup>2</sup>.
8. Processo de acordo com, pelo menos, uma das reivindicações anteriores, caracterizado por as bolsas de irradiação serem seguras de forma a serem móveis no dispositivo em que são movimentadas e irradiadas e, em particular, não estarem fixas entre duas superfícies.
9. Processo de acordo com, pelo menos, uma das reivindicações anteriores, caracterizado por os preparados serem plasma e consistirem em mais do que 80% em peso em plasma sanguíneo.
10. Processo de acordo com, pelo menos, uma das reivindicações 1 a 8, em que os preparados são preparados de CE e apresentam um hematócrito entre 10 e 75% em peso, de um modo preferido, entre 20 e 60% em peso.

11. Processo de acordo com, pelo menos, uma das reivindicações anteriores, caracterizado por a substância fotoactiva ser um ou vários corantes de fenotiazina, nomeadamente tionina, azul de metileno, azul de toluidina e/ou os corantes de azure A, B e/ou C.
12. Processo de acordo com, pelo menos, uma das reivindicações anteriores, caracterizado por as bolsas de irradiação serem cheias no máximo a 15% do volume de enchimento máximo.
13. Processo de acordo com, pelo menos, uma das reivindicações anteriores, caracterizado por o plasma sanguíneo ser tratado de acordo com o passo (a) e na ausência de um fotossensibilizador.
14. Processo de acordo com, pelo menos, uma das reivindicações anteriores, caracterizado por as bolsas de irradiação serem colocadas de um lado, de modo a que, durante ou através do movimento ou agitação, a altura das bolsas de irradiação se modifique continuamente em relação à distância (normal à superfície) entre a superfície sobre a qual estão colocadas as bolsas de irradiação e o ponto de intersecção com a superfície superior da bolsa de irradiação, considerada sobre a totalidade da superfície superior da bolsa de irradiação.
15. Processo de acordo com, pelo menos, uma das reivindicações anteriores, caracterizado por a bolsa de irradiação apresentar uma altura de enchimento média de menos de 5 mm e através do movimento serem produzidas continuamente concavidades da onda, que produzam espessuras de camada de menos do que a metade da altura de enchimento média, de

um modo preferido, espessuras de camada de menos de 1 mm ou mesmo de menos de 0,05 mm.

Lisboa, 21 de Setembro de 2011

## **RESUMO**

**"PROCESSO PARA A INATIVAÇÃO DE PATOGÊNEOS EM SANGUE DE DADORES,  
PLASMA SANGUÍNEO OU CONCENTRADOS DE ERITRÓCITOS EM RECIPIENTES  
FLEXÍVEIS SOB MOVIMENTAÇÃO"**

A invenção refere-se a um processo para a inativação de patogêneos, como bactérias e vírus, em sangue de doadores, plasma sanguíneo e em concentrados de eritrócitos por tratamento fotodinâmico e/ou a irradiação com luz ultravioleta em bolsas de irradiação flexíveis, sob movimentação.