

(11) *Número de Publicação:* **PT 86201 B**

(51) *Classificação Internacional:* (Ed. 5)
G01N033/72 A G01N033/52 B

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) <i>Data de depósito:</i> 1987.11.23	(73) <i>Titular(es):</i> SMITHKLINE DIAGNOSTICS, INC. 485 POTRERO AV. SUNNYVALE, CALIFÓRNIA 94086 US
(30) <i>Prioridade:</i> 1986.11.24 US 934035	
(43) <i>Data de publicação do pedido:</i> 1988.12.15	(72) <i>Inventor(es):</i> JOSEFINA TECSON BAKER US JOSEPH FRANK PAGANO US RONALD JOSEPH SCHOENGOLD US
(45) <i>Data e BPI da concessão:</i> 02/93 1993.02.12	(74) <i>Mandatário(s):</i> ANTÓNIO JOÃO COIMBRA DA CUNHA FERREIRA RUA DAS FLORES 74 4/AND. 1294 LISBOA PT
(54) <i>Epígrafe:</i> DISPOSITIVO E MÉTODO PARA RECOLHER E TESTAR AMOSTRAS PARA SANGUE OCULTO NAS FEZES	

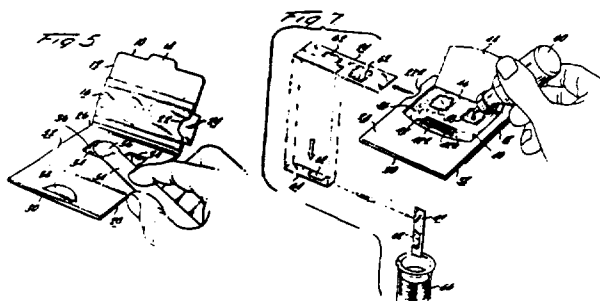
(57) *Resumo:*

"Dispositivo e método para recolher e testar amostras para sangue oculto nas fezes"

para que
SMITHKLINE DIAGNOSTICS, INC., pre-
tende obter privilégio de inven-
ção em Portugal.

R E S U M O

O presente invento refere-se a um dispositivo e método para recolher e testar amostras em relação a sangue oculto nas fezes que permite análises múltiplas de uma única amostra fecal. O dispositivo contém um elemento semelhante a uma bolsa numa parte do interior da cobertura frontal do dispositivo. Coloca-se na bolsa uma inserção absorvente. Quando a cobertura está numa posição fechada, a bolsa repousa sobre a camada fecal na folha que apresenta o espécime e a inserção pode ser retirada da bolsa. Esta concepção permite realizar uma análise na folha receptora de espécime do dispositivo, juntamente com um segundo teste de confirmação na inserção.



MEMÓRIA DESCRITIVA

Este invento refere-se a um método e dispositivo útil para recolher e detectar sangue oculto na matéria fecal. Mais particularmente, este invento refere-se a um dispositivo de recolha e teste que permite análise múltiplas de uma só amostra fecal. O dispositivo deste invento pode ser usado para recolher, transportar e efectuar uma variedade de análises numa só amostra fecal em dois locais de teste diferentes do dispositivo. O dispositivo pode ser utilizado na privacidade da casa do individuo e é de uso conveniente.

Amostras em lâmina e métodos para detectar sangue oculto na matéria fecal sob bem conhecidos. Tipicamente, no caso de um teste para sangue oculto nas fezes, uma amostra de matéria fecal é espalhada na folha de teste da amostra que tinha sido tratada com guaiaco. Uma solução reveladora, tal como uma solução de peróxido, é aplicada à face oposta da folha. Se há sangue na matéria fecal, a reacção com guaiaco corará o papel de azul. Este processo está revelado na Patente U. S N.º. 3.966.006.

Uma das desvantagens associadas a este teste é que podem ocorrer resultados falsos positivos, i.e., as substâncias interferentes não-hemoglobina positivas na matéria fecal tal como peroxidases, diversos produtos alimentares, drogas e heme animal, que pode ser um resultado de carne na dieta, podem dar um resultado positivo.

A desvantagem acima pode ser minimizada através do uso de testes imunológicos que são específicos para a hemoglobina humana. O imunoensaio enzimático (EIA) para a detecção de hemoglobina humana nas fezes é conhecido na arte. Resumidamente, o teste EIA é uma reacção entre um anticorpo e um antigénio (hemoglobina). A hemoglobina é reagida com um anticorpo anti-hemoglobina humana específico e ligado à fase sólida. Este complexo anticorpo-antigénio é então reagido com anti-hemoglobina humana a qual é conjugada com fosfatase alcalina. A actividade enzimática do complexo resultante ligado à fase sólida é então quantificada. A intensidade da cor é medida instrumentalmente e a absorvância está directamente rela-

-3-

cionada com a quantidade de hemoglobina humana (antigênio) na amostra. Um ensaio EIA típico para a hemoglobina fecal humana é divulgado na Patente E.U.A. Nº. 4.427.769.

No entanto, o ensaio EIA acima descrito tem também as suas desvantagens. A hemoglobina humana nas amostras fecais degrada-se com o tempo. A degradação ocorre com perda de antigenicidade, o que resulta em valores falsamente reduzidos quando se emprega o ensaio EIA. Resumidamente, o teste de imunoenensaio específico para a hemoglobina humana requer que a hemoglobina mantenha a sua integridade estrutural. Verificou-se que o guaiaco é um componente que tem um efeito prejudicial na estabilidade da hemoglobina humana.

Um dispositivo e método conhecidos para conduzir um imunoenensaio com a hemoglobina fecal humana é também divulgado na Patente E.U.A. 4.427.769. Neste dispositivo (Fecatest) os fluidos da amostra fecal são passados através de um papel de filtro impregnado com guaiaco para um material absorvente antes de realizar um ensaio EIA. Os seguintes estudos foram conduzidos após colocar amostras fecais contendo hemoglobina humana no dispositivo Fecatest.

Aplicaram-se e guardaram-se três amostras fecais contendo sangue humano no dispositivo Fecatest durante até 9 dias e analisaram-se depois pelo ensaio FECA-EIA Labsystems. Os resultados, i.e., intensidade da cor medida a uma absorvância de 405 nm são apresentados a seguir na Tabela 1.

Tabela 1

Amostra Nº.	Duração do armazenamento R. T. em dias			
	<u>0</u>	<u>1</u>	<u>3</u>	<u>9</u>
<u>1</u>	2,05	0,48	0,13	0,00
<u>2</u>	1,07	0,31	0,00	0,00
<u>3</u>	2,24	0,89	0,00	0,00

Os dados acima mostram claramente a rápida degradação da hemoglobina com o tempo. Virtualmente não se encontrou cor no dia 3 em todas as amostras.

-4-

Quando as mesmas amostras fecais foram aplicadas a um dispositivo de amostra do presente invento e se armazenou durante até nove dias, observou-se um melhoramento surpreendente na estabilidade da hemoglobina. O conjunto EIA fornecido pela Labsystems como acima mencionado foi também empregue para analisar estas amostras. Os resultados são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2

Amostra <u>Nº.</u>	Duração do armazenamento R.T. em dias			
	<u>0</u>	<u>1</u>	<u>3</u>	<u>9</u>
<u>1</u>	2,62	1,71	1,56	0,86
<u>2</u>	2,36	2,58	1,10	0,26
<u>3</u>	2,06	1,40	0,96	0,32

Em todas as amostras é visível cor mesmo após 9 dias de armazenamento à temperatura ambiente.

É assim desejável que amostras analisadas imunologicamente em relação à hemoglobina humana sejam protegidas do contacto excessivo com guaiaco. O presente invento minimiza a contaminação da amostra com o guaiaco a qual pode ter que ser analisada imunologicamente em relação à hemoglobina humana.

Assim, e um objecto do presente invento proporcionar um dispositivo e processo de teste que minimizam a contaminação da amostra fecal com guaiaco a qual deve ser imunologicamente analisada em relação à hemoglobina humana.

É um outro objecto do presente invento proporcionar um dispositivo e método de teste que permitam análises múltiplas de uma única amostra fecal em dois locais de teste diferentes do dispositivo.

Resumidamente o presente invento consiste num dispositivo de teste para sangue oculto nas fezes melhorado o qual tem uma folha receptora do espécime, tratada com guaiaco entre um painel frontal e um painel posterior com aberturas em cada um dos painéis e coberturas pivotadas para cobrir estas aberturas, semelhante à placa descrita na Patente EUA 3.996.006. Uma

-5-

parte do interior da cobertura frontal tem um elemento semelhante a uma bolsa e uma inserção absorvente que é mantida dentro da bolsa. A concepção é tal, que quando o painel frontal é fechado, uma parte da inserção colocada no elemento semelhante a uma bolsa é exposta para além da linha de fecho da cobertura.

Isto permite que se retire a inserção absorvente da bolsa, permanecendo a cobertura fechada. Após remoção, a inserção que absorve o fluído fecal através da bolsa pode ser selecionada para um ensaio de confirmação tal como um ensaio imunológico. Além disto quando a cobertura está na posição fechada, a bolsa contendo a inserção repousa sobre as aberturas do painel frontal que contém a amostra fecal.

Uma descrição detalhada e uma melhor compreensão deste invento podem ser obtidas com referência aos desenhos anexos que mostram uma concretização preferida do presente invento.

A Fig. 1 é uma vista em perspectiva do dispositivo de teste deste invento visto de frente com a abertura numa posição aberta mostrando o elemento tipo bolsa e a inserção absorvente;

A Fig. 2 é uma vista em perspectiva do dispositivo da Fig. 1 vista de trás, mostrando a tampa posterior aberta expondo a superfície de teste incluindo a área de controlo e uma porção da inserção estendendo-se a partir da placa fechada;

A Fig. 3 é uma vista em plano da peça em bruto antes de ser dobrada para preparar uma placa de acordo com este invento.

A Fig. 4 é uma vista em plano posterior da peça em bruto da Fig. 3.

A Fig. 5 é uma vista em perspectiva da placa vista de frente na posição aberta recebendo uma amostra fecal a ser testada e mostrando a inserção na bolsa na parte interior da cobertura frontal.

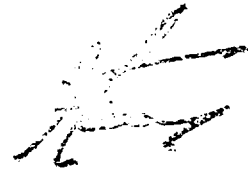
A Fig. 6 é uma vista em perspectiva da placa na posição fechada antes do teste mostrando a pressão a ser aplicada à cobertura para assegurar o contacto da bolsa com a amostra fecal.

A Fig. 7 é uma vista em perspectiva do painel, posterior da placa mostrando uma solução reveladora a ser aplicada à superfície de teste incluindo uma área de controle depois da inserção absorvente ter sido retirada e o teste de confirmação subsequente da mancha fecal na inserção em relação à hemoglobina humana.

Com referência às Figuras 1 e 2 o dispositivo de teste 10 tem um painel frontal 32, um painel posterior 28 e uma cobertura 12. O painel frontal tem um par de aberturas adjacentes 34. Uma folha de papel absorvente 36 é colocada entre o painel frontal e o painel posterior, como se pode ver na inserção 40 do painel posterior. A folha 36 é impregnada ou marcada com um reagente tal como por exemplo guaiaco. Uma parte da folha 36 tem uma área de controle 42 possuindo um controle positivo 42a e um controle negativo 42b. O painel posterior 28 está munido com uma tampa 44 que está fixa ao painel por uma articulação perfurada 46 e, quando aberta, expõe a área de teste 40.

O interior da cobertura 12 tem um elemento semelhante a bolsa 16 que compreende uma folha rectangular 18 com a consistência de um papel de filtro translúcido fino tal, como por exemplo, uma saqueta de chá. Uma inserção absorvente 24 está retida dentro da bolsa. A concepção é tal que quando a cobertura é fechada a bolsa repousa sobre as aberturas 34 e uma parte da inserção 24 colocada na bolsa é exposta para além da linha de fecho. Isto permite retirar a inserção absorvente da bolsa mantendo a cobertura fechada. Um meio para agarrar a inserção quando a cobertura está fechada é proporcionado por um entalhe 22, 22a, 22b cortado através da placa. A inserção que absorve fluído fecal através da bolsa pode ser seccionada para um ensaio de confirmação tal como um ensaio imunológico. A inserção está isenta de guaiaco.

Para formar a placa completa como mostrado nas Figuras 1 e 2, os painéis das peças em bruto feitos em papel ou cartão como mostrado nas Figuras 3 e 4 são dobrados ao longo da linha de vinco 30 para juntar os painéis 32 e 28 e mantê-los



-7-

juntos principalmente através de tiras adesivas 50. A cobertura 12 é agora articulada em torno do vinco 26 e fixada ao painel 32 por uma mancha de adesivo 52 tal como, por exemplo, cola. A cobertura pode também ser fixada pela patilha 14 que joga com o fecho 38.

Para utilizar a placa, o paciente separa a cobertura 12 do painel 32 e com o aplicador 54 aplica uma camada fina de espécime de uma porção das suas fezes 56 na folha 36 através da abertura 34 como apresentado na Figura 5. Como se pode ver na Fig. 6 após a amostra fecal ter sido transferida para a placa e a cobertura frontal ter sido fechada pode-se exercer pressão sobre a cobertura para assegurar contacto da bolsa com a amostra fecal e a impregnação da inserção. Como se poderá ver também a partir da Fig. 6, uma parte da inserção 24 está exposta para além da linha de fecho da cobertura. O paciente devolve a placa ao seu médico ou a um laboratório para análise. Com ilustrado na Fig. 7 a inserção absorvente 24 que estava dentro da bolsa é retirada da placa e posta de lado enquanto o teste com guaiaco é revelado. O técnico puxa então a tampa 44 destacando-a do painel 28 e abre-a para fora. Através da abertura assim formada, uma solução reveladora 60 tal como peróxido de hidrogénio, é aplicada à folha tratada com guaiaco 36 na área manchada 58. A solução reveladora é também aplicada à área de controlo 42 de modo a cobrir os controlos positivo e negativo 42a e 42b. Observam-se então os resultados em que uma cor azul significa um teste positivo.

Se o teste com guaiaco é positivo a inserção que está isenta de guaiaco e que foi posta de lado é utilizada para efectuar um segundo teste de confirmação tal como um teste imunológico específico para a hemoglobina humana. A inserção contendo as manchas fecais 62 pode, ser cortada em tiras 64. As tiras podem ser colocadas no tubo 66 contendo reagentes para eluir a matéria fecal para um ensaio EIA. Alternativamente, a inserção pode ser puncionada em vez de cortada em tiras.

A principal vantagem do presente invento é portanto o facto de num único conjunto ^{de} duas membranas independentes, i.e.,

-8-

a folha receptora do espécime e a inserção absorvente, receberem os componentes da amostra fecal e poderem ser testadas individualmente e independentemente. A matéria fecal é colocada em contacto directo com a folha receptora do espécime que contém guaiaco. O fluido da amostra fecal passa através do elemento em bolsa e é recolhido na inserção que está isenta de guaiaco. Esta concepção permite tanto o teste usual para sangue oculto nas fezes, que depende da oxidação da hemoglobina catalisada por guaiaco, como ^{um} teste de confirmação tal como um ensaio imunológico específico para a hemoglobina humana, no qual a amostra fecal deve estar relativamente isenta de qualquer contacto com guaiaco. Além disto, estes testes podem ser conduzidos sem perturbar ou remover a matéria fecal da placa.

Outra vantagem do dispositivo deste invento é a de a construção não ser estanque ao ar e se proporcionar material absorvente suficiente para que a secagem e arejamento da amostra sejam facilitados. Isto é necessário para minimizar o crescimento microbiano que pode degradar mais a hemoglobina ou outros analitos com interesse. Dispositivos de teste e amostragem conhecidos que são mantidos herméticamente fechados promovem o crescimento de esporos de bolor preto.

Este invento permite também uma selecção de amostras aperfeiçoada. O técnico tem ao seu dispor uma inserção absorvente relativamente grande contendo os componentes fecais para um ensaio EIA. O técnico pode ver a inserção absorvente e punccionar ou cortar amostras para ensaio EIA de áreas de concentração fecal mais elevada, i.e., das áreas mais manchadas. Tal selecção não é possível com os dispositivos da arte anterior nos quais os discos pré-cortados absorvem toda a quantidade de fluido fecal que passa através de uma membrana contendo guaiaco.

As concretizações acima são ilustrativas e não se destinam a ser limitativas.

-9-

REIVINDICAÇÕES

1ª. - Dispositivo de teste de um espécime com sangue oculto tendo um painel frontal posterior, tendo o dito painel frontal uma ou mais aberturas, folhas contendo um reagente de teste entre os painéis de teste frontal e posterior subjacente a cada uma das referidas aberturas, uma cobertura articulada adaptada para repousar sobre uma parte do painel frontal, e sobre as referidas aberturas e uma tampa no painel posterior oposta as ditas aberturas e pivotável para expor a face inferior da folha, caracterizado por compreender um elemento semelhante a uma bolsa fixado a uma parte do interior da referida cobertura articulada e uma inserção absorvente colocada na referida bolsa pelo que, quando a cobertura está numa posição fechada, a bolsa é posicionada de modo a repousar sobre as coberturas do painel frontal e a inserção que tem uma parte exposta para além da linha de fecho da cobertura poder ser removida por deslizamento da bolsa.

2ª. - Dispositivo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o reagente de teste ser guaiaco.

3ª. - Método para determinar a presença de sangue oculto nas fezes com um dispositivo de teste de um espécime de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por compreender:

(a) espalhar a matéria fecal sobre a folha reagente através de uma abertura no painel frontal;

(b) fechar a cobertura frontal da placa de teste pelo que a bolsa repousa sobre a abertura e a inserção tem uma parte exposta para além da linha de fecho;

(c) remover a inserção que contém fluidos fecais que passaram através da bolsa a partir da matéria fecal;

(d) abertura da cobertura posterior e aplicação de uma solução reveladora à folha reagente na abertura correspondente do painel posterior, e

(e) condução de um segundo teste de confirmação na inserção, sendo a referida inserção isenta de guaiaco.

4ª. - Método, de acordo com a reivindicação 3, caracte

-10-

terizado por o teste de confirmação ser um ensaio imunológico específico para a hemoglobina humana.

5ª. - Método, de acordo com a reivindicação 3, caracterizado por o reagente ser guaiaco.

6ª. - Método para determinar a presença de sangue oculto nas fezes com um dispositivo de teste de um espécime de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por compreender:

(a) espalhar a matéria fecal sobre a folha reagente através de uma abertura no painel frontal;

(b) fechar a cobertura frontal da placa de teste pelo que a bolsa repousa sobre a abertura e a inserção tem uma parte exposta para além da linha de fecho;

(c) remover a inserção que contém fluidos fecais que passaram através da bolsa a partir da matéria fecal;

(d) abrir a cobertura posterior e aplicar uma solução reveladora à folha reagente na abertura correspondente do painel posterior, e se o teste for positivo;

(e) conduzir um segundo teste de confirmação na inserção sendo a referida inserção isenta de guaiaco.

7ª. - Conjunto de teste para recolher e testar amostras para sangue oculto nas fezes o qual compreende o dispositivo da reivindicação 2 e uma solução reveladora que reage com o referido guaiaco para corar a folha de azul.

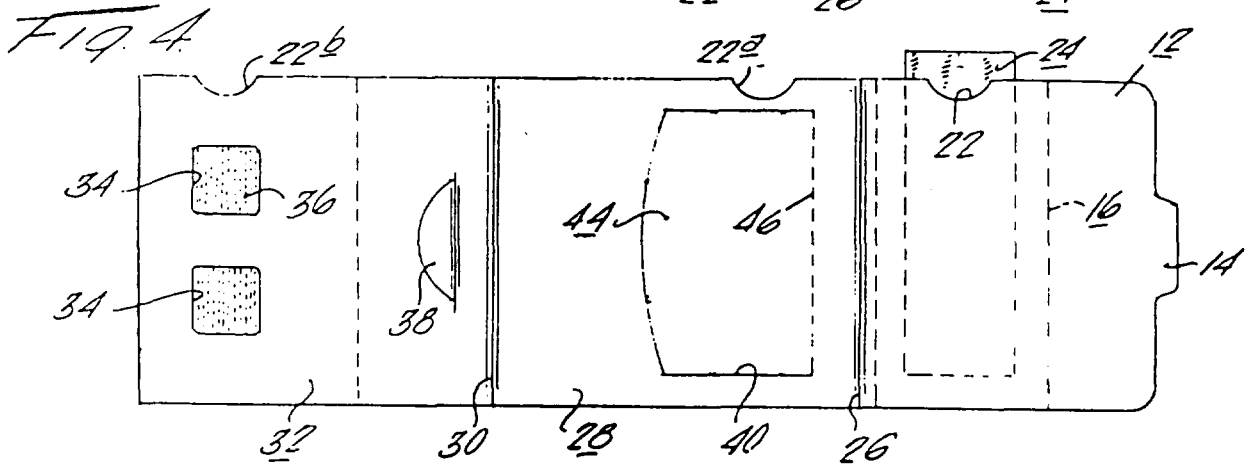
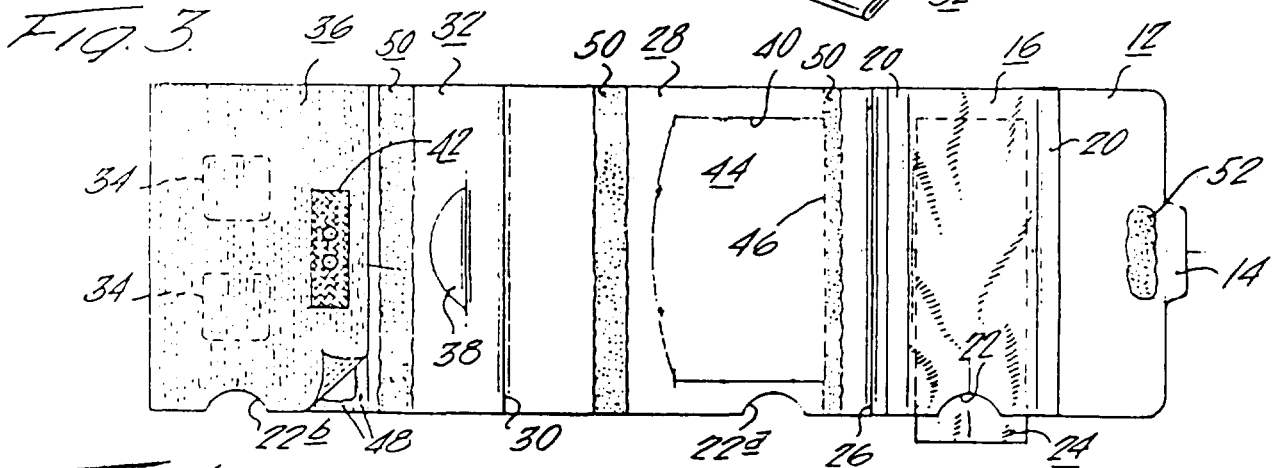
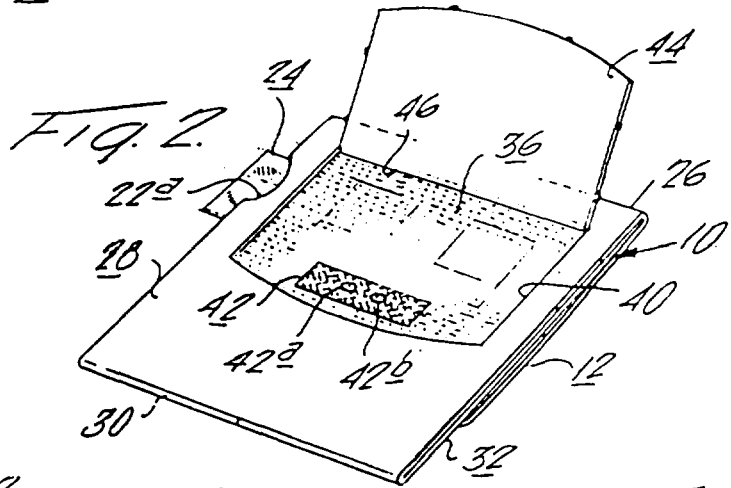
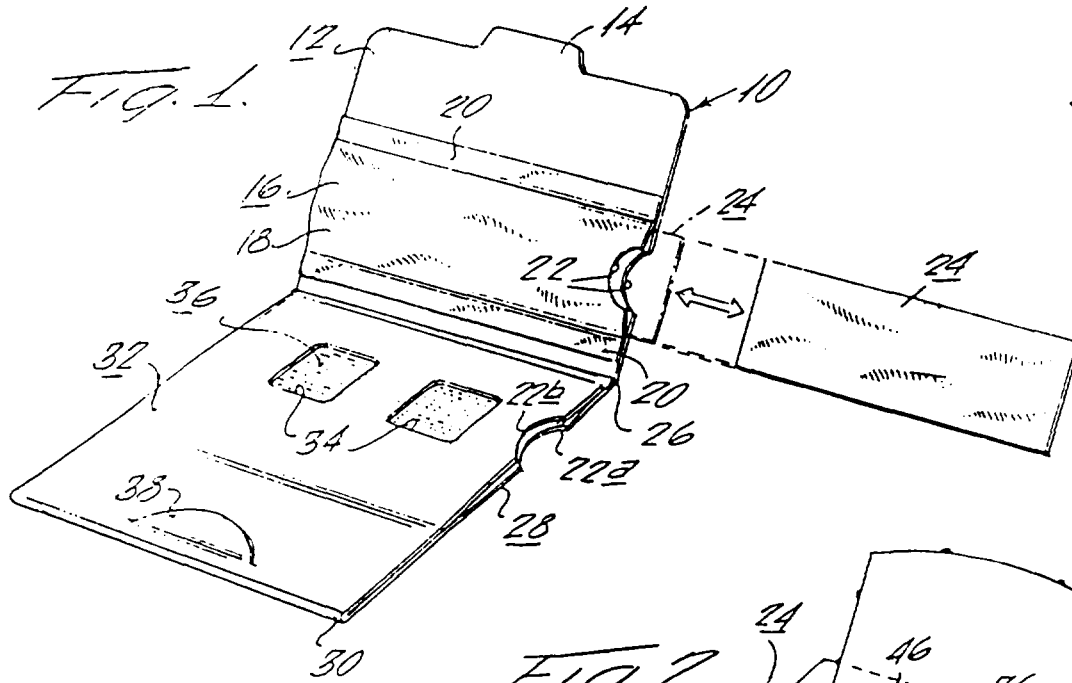
Lisboa,

Pela SMITHKLINE DIAGNOSTICS, INC.

- O AGENTE OFICIAL-



1/2



SmithKline Diagnostics, Inc.

