



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2010 00162**

(22) Data de depozit: **18/02/2010**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/09/2016** BOPI nr. **9/2016**

(41) Data publicării cererii:
30/09/2011 BOPI nr. **9/2011**

(73) Titular:
• **UNIVERSITATEA "ȘTEFAN CEL MARE"**
DIN SUCEAVA, STR.UNIVERSITĂȚII NR.13,
SUCEAVA, SV, RO

(72) Inventatori:
• **GUTT SONIA, STR.VICTORIEI**
NR.185 BIS, SAT SFÂNTU ILIE, SV, RO;
• **GUTT GHEORGHE, STR.VICTORIEI**
NR.185 BIS, SAT SFÂNTU ILIE, SV, RO;

• **GUTT ANDREI, STR.VICTORIEI**
NR.185 BIS, SAT SFÂNTU ILIE, SV, RO;
• **PȘIBILSCHI ALINA MIHAELA,**
STR. PROF. LECA MORARIU NR.7, BL.B3,
SC.B, AP.12, SUCEAVA, SV, RO

(56) Documente din stadiul tehnicii:
EP 1239048 A3; MALHOTRA BANSI D.,
ET AL., "BIOSENSORS FOR CLINICAL
DIAGNOSTICS INDUSTRY", SENSORS
AND ACTUATORS B 91, PP. 117-127, 2003

(54) **BIOSENZOR PORTABIL PENTRU GLUCOZĂ ȘI
COLESTEROL**



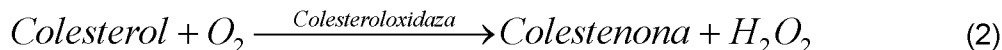
1 Inventția se referă la o structură de biosenzor portabil, cu kit biochimic de unică folo-
sintă, destinat determinării concomitente și *in situ*, direct de către utilizator, a concentrației
3 glucozei și colesterolului dintr-o picătură de sânge.

5 La ora actuală, pentru determinarea *in situ* a glucozei din sânge la diabetici și la spor-
tivi, sunt folosiți biosenzori portabili, pentru analiză fiind necesară o picătură de sânge care
7 se aduce pe un suport de plastic de unică utilizare, pe care sunt lipiți doi electrozi metalici,
sub formă de bandă subțire, peste care este realizată o depunere plană uscată, subțire, obți-
9 nută, la rândul ei, dintr-un polimer conducător de electricitate, în care este distribuită uniform
glucozoxidaza fin măcinată, dozată în așa fel încât să poată cataliza oxidarea rapidă, în
11 câteva secunde, a glucozei din picătura de sânge, rezultând gluconolactonă și apă oxigenată
după reacția:



15 Aplicarea unei tensiuni continue constante celor doi electrozi face ca, prin producții
de reacție, mai precis, prin apa oxigenată rezultată, un electrolit bun, să se închidă un circuit
17 de electroliză. Conform legii lui Faraday, intensitatea curentului de electroliză este proporțio-
nală cu masa apei oxigenate generate în reacție, masă care, la rândul ei, este o măsură a
19 concentrației glucozei dintr-o picătură de sânge transformată integral în gluconolactonă. În
microprocesorul aparatului valoarea intensității curentului este transformată, pe baza unei
21 curbe de calibrare memorată electronic, în unități de concentrație de glucoză ale cărei valori
sunt afișate pe display-ul digital în unități de mg/dl.

23 Pentru determinarea colesterolului poate fi folosit același principiu de oxidare după
reacția:



27 catalizată enzimatic de colesteroloxidaza care este depusă tot pe un suport de plastic,
29 împreună cu un polimer conducător.

31 Autorilor le sunt cunoscute mai multe soluții conceptive și constructive de biosenzori
enzimatici care tratează determinarea concentrației glucozei, respectiv, a colesterolului din
sânge. Aceste soluții se regăsesc atât în propuneri de invenții, EP 1239048 A3, RO 125499
33 A2, RO 126240 A2, cât și în articole de specialitate (Malhorta B., et. al Biosensors for
clinical diagnostic industry, Sensors and actuators, B 91 (2003) 117-127, DOI:
35 10.1016/S0925-4005(03)00075-3). Soluțiile descrise se referă la determinarea concentrației
celor două componente pe cale amperometrică, prin electroliza cantității de apă oxigenată
37 rezultată ca urmare a oxidării catalitice cu enzime a glucozei, respectiv, a colesterolului.

39 Soluțiile descrise nu oferă însă posibilitatea determinării rapide, *in situ* și la un cost
redus, atât a concentrației de glucoză, cât și a concentrației de colesterol, folosind același
biosenzor și doar o singură picătură de sânge, nefiind necesară o dublă înțepătură în deget.

41 Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în realizarea unui biosenzor
combinat, destinat determinării rapide concomitente și *in situ* atât a concentrației glucozei,
43 cât și a colesterolului, dintr-o picătură de sânge, cu folosirea catalizatorului glucozoxidază,
respectiv, colesteroloxidază, depuse pe un suport de plastic special, de unică folosință.

45 În acest scop este folosită o structură modulară de aparat portabil, formată dintr-o
parte electronică, având afișaj digital dual pentru concentrația de glucoză și pentru concen-
47 trația de colesterol, și un kit de unică folosință, format, la rândul lui, dintr-o lamelă de plastic
pe care sunt lipiți patru electrozi lamelari subțiri, grupați câte doi în două locașuri separate

de un perete neconducător, realizat din același material plastic, peste care este depus un strat subțire de amestec omogen dintr-un polimer conducător de electricitate și o cantitate de glucozoxidază, respectiv, de colesteroloxidază fin măcinate. La contactul picăturii de sânge cu cele două zone de analiză de pe Kit au loc reacțiile de oxidare descrise, care provoacă, prin apa oxigenată rezultată, închiderea unui circuit electric compus din polimerul conducător de pe lamela de plastic, sursa de alimentare de curent alternativ pentru cei patru electrozi lamelari, precum și dintr-un conductometru electronic pentru măsurarea conductivității electrice a apei oxigenate rezultată din cele două reacții de oxidare. La rândul ei, conductivitatea electrolitică a apei oxigenate este proporțională cu concentrația acesteia, iar aceasta, la rândul ei, prin stoichiometria reacțiilor, este proporțională cu valoarea concentrației glucozei, respectiv, a concentrației colesterolului din volumul picăturii de sânge analizate.

Separarea informației privind cantitatea de apă oxigenată, rezultată din oxidarea glucozei, de cantitatea de apă oxigenată, provenită din oxidarea colesterolului, se face prin calcul matematic de către microprocesorul aparatului, și are la bază faptul că activitatea enzimatică a celor două oxidaze, respectiv, glucozoxidaza și colesteroloxidaza, se alege în așa fel încât cele două reacții de oxidare să aibă cinetici chimice diferite, oxidarea glucozei fiind mai rapidă decât oxidarea colesterolului, fapt ce se observă și din curbele cinetice de oxidare din fig. 2. Tot din curbele cinetice se observă faptul că, la conductivitatea apei oxigenate rezultate din oxidarea glucozei, se adaugă cea a apei oxigenate rezultate din oxidarea colesterolului. Aceste realități permit determinarea sfârșitului oxidării glucozei și începutului oxidării colesterolului cu ajutorul valorii zero a derivatei 1-a a valorii conductivității electrolitice a apei oxigenate rezultate din oxidarea glucozei în funcție de timp. Extrapolarea automată a celor două valori ale conductivităților electrolitice corespunzătoare valorii zero a derivatei 2-a de pe curba cinetică pe două curbe de etalonare, una pentru glucoză și una pentru colesterol, curbe realizate în coordonate: conductivitate electrolitică - concentrație, dă valorile concentrației glucozei, respectiv, ale colesterolului din picătura de sânge analizată, valori care sunt afișate automat pe display-ul aparatului.

Prin aplicarea invenției se obțin următoarele avantaje:

- este posibilă determinarea concomitentă și *in situ* atât a concentrației glucozei, cât și a concentrației colesterolului, dintr-o singură picătură de sânge, folosind o parte electronică și un kit biochimic de unică utilizare;

- pe lângă folosirea curentă a două echipamente independente, pentru determinarea celor două specii, aplicarea invenției elimină dubla înțepare a degetului, efectele înțepăturii invazive fiind reduse la jumătate.

În fig. 1 este redată schema generală a biosenzorului pentru glucoză și colesterol, conform invenției.

În fig. 2 este redată o vedere din față a biosenzorului cu kit biochimic cuplat la unitatea electronică.

În fig. 3 sunt redate curbele cinetice de oxidare a glucozei, respectiv, a colesterolului, cu elementele de identificare a concentrației lor în sânge, folosind derivata 1-a și derivata 2-a a conductivității electrolitice în funcție de timp.

Se dă în continuare un exemplu de realizare a invenției în legătură cu fig. 1...3.

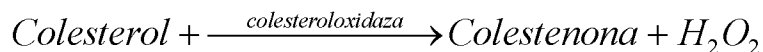
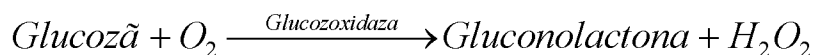
Exemplu

Biosenzorul enzimatic, conform invenției, destinat determinării glucozei și colesterolului dintr-o picătură de sânge **p**, este format dintr-o parte **1** electronică portabilă, microprocesată și echipată cu un display alfanumeric propriu, și dintr-un Kit biochimic de unică folosință, format, la rândul lui, dintr-un material plastic **2** lamelar, având un perete **3** despărțitor median din același material, două perechi de electrozi **4** și **5** lamelari subțiri, lipiți pe suportul **2** din material plastic lamelar, peste care este depus un strat subțire **6** și **7**, format dintr-un amestec omogen de polimer conducător electric și glucozoxidază, respectiv, colesteroloxidază.

Revendicări

1. Biosenzor portabil, pentru glucoză și colesterol, pentru determinarea concomitentă *in situ*, pe bază conductometrică, a concentrației de glucoză și a colesterolului dintr-o picătură de sânge, format dintr-o parte electronică portabilă, microprocesată, echipată cu afișaj alfanumeric, un sistem de măsurare amperometric cu doi electrozi și enzime specifice speciilor care urmează a se determina, **caracterizat prin aceea că** va cuprinde o structură portabilă formată dintr-o parte (1) electronică, având afișaj propriu, și dintr-un kit biochimic de unică folosință, format, la rândul lui, dintr-un material plastic (2) lamelar, având un perete (3) despărțitor median din același material, două perechi (4 și 5) de electrozi lamelari subțiri, lipiți pe suportul (2) din material plastic lamelar, electrozi peste care sunt depuse două straturi (6 și 7) subțiri, formate dintr-un amestec omogen de polimer conductor electric și glucozoxidază, respectiv, colesteroxidază.

2. Biosenzor portabil pentru glucoză și colesterol, conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** determinarea glucozei și colesterolului pe cale conductometrică se efectuează dintr-o singură picătură (p) de sânge, în baza dependenței dintre conductivitatea electrolitică a apei oxigenate, rezultate din reacțiile catalizate enzimatic, și concentrația glucozei, respectiv, a colesterolului din sânge



reacțiile având loc succesiv.

3. Biosenzor portabil pentru glucoză și colesterol, conform revendicărilor 1 și 2, **caracterizat prin aceea că** determinarea concentrației glucozei și a concentrației colesterolului pe cale conductometrică, dintr-o picătură (p) de sânge, se realizează prin extrapolarea, pe curbele de etalonare conductivitate electrolitică - concentrație, a valorii conductivității electrolitice la care derivata a 2-a a acesteia, realizată pe curba cinetică, în funcție de timp, este zero, delimitarea celor două cinetici oxidative fiind asigurată automat, prin valoarea conductivității electrolitice la care derivata 1-a a conductivității în funcție de timp este zero.

(51) Int.Cl.

C12Q 1/26 (2006.01);

C12N 11/18 (2006.01);

G01N 27/327 (2006.01);

G01N 33/49 (2006.01)

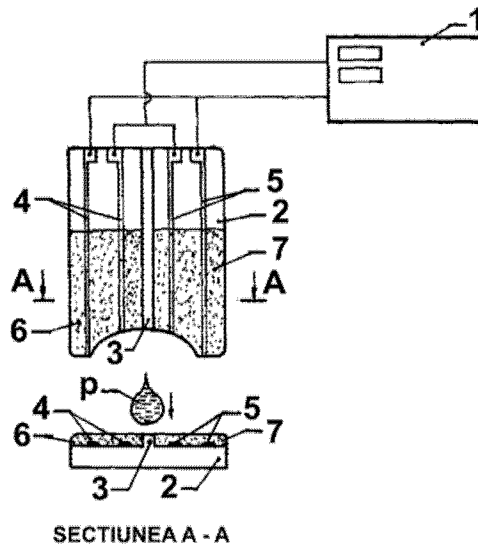


Fig. 1

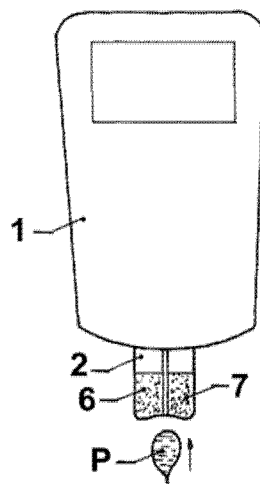


Fig. 2

(51) Int.Cl.

C12Q 1/26 (2006.01),

C12N 11/18 (2006.01),

G01N 27/327 (2006.01),

G01N 33/49 (2006.01)

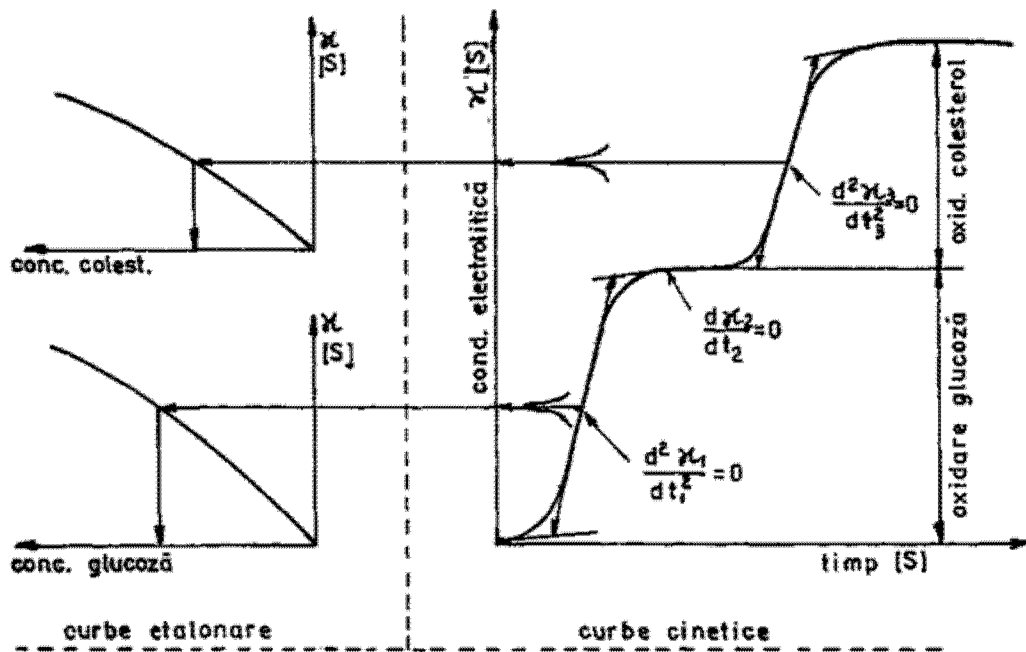


Fig. 3



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM
 Tipărit la: Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci
 sub comanda nr. 419/2016