

(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2010 00608

(22) Data de depozit: 13.07.2010

(41) Data publicării cererii:
28.08.2015 BOPI nr. 8/2015

(71) Solicitant:
• MB TELECOM LTD S.R.L.,
CALEA BUCUREȘTIILOR NR.3 A, OTOPENI,
IF, RO

(72) Inventatori:
• VAN STADEN RALUCA-IOANA,
STR. PAȘCANI NR.8, BL.728A, SC.B, ET.4,
AP.52, BUCUREȘTI, B, RO;
• VAN STADEN JACOBUS FREDERICK,
STR. PAȘCANI NR.8, BL.728A, SC.B, ET.4,
AP.52, BUCUREȘTI, B, RO;

• TUDOR MIRCEA,
STR. SMARANDA BRĂESCU NR. 51,
BL. 21F, AP. 33, SECTOR 1, BUCUREȘTI,
B, RO;
• BÎZGAN ADRIAN, BD. BUREBISTA NR.4,
BL.D13, SC.2, AP.63, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO;
• POPOVICI VLAD OVIDIU,
STR. DR. DRĂGHICESCU DIMITRIE NR.13,
SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;
• IACOBIȚĂ ANDREI,
STR.CONSTANTIN DANIEL NR.20,
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO

(54) METODĂ ȘI SISTEM PENTRU DETECTARE, IDENTIFICARE
ȘI EVALUARE CANTITATIVĂ RAPIDĂ A UNOR BIOMARKERI
SPECIFICI DIN FLUIDE BIOLOGICE

(57) Rezumat:

Prezenta invenție se referă la o metodă și la un sistem de detectare, identificare și evaluare cantitativă rapidă a unor biomarkeri specifici unor maladii, din fluide biologice. Metoda de detectare, identificare și evaluare cantitativă constă în determinarea existenței biomarkerilor specifici unor maladii, identificarea tipului de biomarker detectat și evaluarea cu precizie a cantității de biomarker din probă. Sistemul pentru detectare, identificare și evaluare cantitativă rapidă a biomarkerilor specifici unor maladii este compus dintr-un microsenzor stocastic combinat (1) ce intră în contact cu fluidul biologic și elemente de conexiune electrică (5) prin care se conectează la un modul electronic de achiziție de semnal (6), care preia, amplifică, filtrează și digitizează semnalul electric în date ce se transmit digital către un sistem informatic local (7) pe care rulează o aplicație software specializată (8) care analizează datele primite de la modulul de achiziție (6), generează informații agregate și transmite informațiile prelucrate printr-un modem de date (9) către un server central de analiză și diagnostic (10).

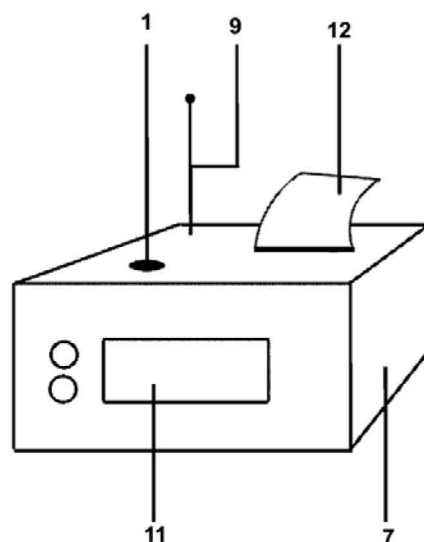


Fig. 1

Revendicări: 5
Figuri: 5

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecția conferită potrivit dispozițiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de invenție a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de invenție este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).



Metoda și sistem pentru detectare, identificare și evaluare cantitativă rapidă a unor biomarkeri specifici din fluide biologice

Prezenta invenție se referă la metodă și sistem de detectare, identificare și evaluare cantitativă rapidă a unor biomarkeri specifici din fluide biologice prelevate de la persoane în cadrul unor programe de examinări medicale de masă.

Zona de interes pe care o vizează prezenta invenție o reprezintă detectia, identificarea și evaluarea cantitativă a biomarkerilor specifici anumitor maladii cautate în timpul examenilor medicale, printr-un proces foarte rapid.

Este cunoscut faptul că depistarea maladiilor în stadiu incipient este un deziderat general în medicină, ce permite oprirea și chiar vindecarea unor maladii precum hepatită sau cancer.

Pentru atingerea acestui deziderat, se utilizează examinări medicale ce utilizează metode complicate și costisitoare, precum spectrometria și chemiluminescența, imunoanaliza la care timpul de analiză este de ordinul zilelor și necesită reactivi de înaltă puritate ce au un cost ridicat.

Principiul de funcționare al examenilor cu metode de chemiluminescență, spectrometrie și imunoanaliză presupune utilizarea unor reactivi care nu sunt întotdeauna selectivi și nu dau o reacție suficient de sensibilă pentru biomarkerii de determinat.

În prezent sunt cunoscute mai multe sisteme de examinare spectrometrică/chemiluminescență/de imunoanaliză precum metodele standard utilizate în analiza clinică practicate în laboratoarele de specialitate numai după ce maladia este declansată în organism. Un astfel de sistem este MicroKit – "Lab-in-a-Cartridge for Fast and Accurate Detection of Cancer and Infectious Diseases" produs de SG Molecular Diagnostics Pte Ltd, aparținând DYAMED Biotech Pte Ltd (Dyamed), Singapore, care cu ajutorul reactivilor introduși într-un cartuș compact poate detecta cancerul și boli infecțioase cum ar fi gripa aviara, H5N1. Principiul de lucru presupune extragerea genelor în 6 minute urmată de detectia lor într-o ora. Sistemul este portabil. Dezavantajele acestui sistem sunt: costul ridicat al reactivilor, fiabilitatea redusă în special prin diminuarea acurateții determinărilor datorate proceselor de prelucrare a fluidelor biologice, cum este extracția, reacția cu reactivul care nu este suficient de selectiv și sensibil, procesarea informației analitice care implică metode chemometrice avansate – cu risc de scădere a acurateții datelor obținute, contaminarea mediului înconjurător prin deversarea în el a conținutului cartușului după efectuarea măsurătorii.

Alte dezavantaje ale sistemelor cunoscute sunt costurile mari la consumabile, reflectat prin costul analizei, timp mare de procesare, capacitatea de utilizare limitată pentru diagnosticare sau screening al maladiilor în stare incipientă din cauza limitei de detecție ridicată pe care o au. Practic determinarea biomarkerului se face indirect, prin intermediul produsului reacției dintre biomarker și reactivul care este cu o selectivitate redusă. Măsurarea produsului se face la o anumită lungime de undă, mărimea fizică determinată fiind absorbția, conform legilor cantitative ale absorbției moleculare, Legea Lambert-Beer. Pentru aceste măsurători se folosesc spectrometre de la producători precum Perkin Elmer, Shimadzu. Aceste metode au ca dezavantaj timpul lung de răspuns, de ordinul zilelor și costul ridicat al consumabilelor utilizate ce le descalifică a fi utilizate în examinări medicale de masă.

Metoda de detectare, identificare și evaluare cantitativă rapidă a unor biomarkeri specifici din fluide biologice, conform invenției, înlătură dezavantajele de mai sus prin aceea că realizează determinarea existenței biomarkerilor specifici unor maladii, numărul lor nefiind limitat, identifică tipul de biomarker detectat și evaluează cu precizie cantitatea de biomarker existentă în probă, dând astfel indicii importante despre stadiul de evoluție al maladii identificate prin calitatea și cantitatea biomarkerului.

Sistemul care pune în aplicare metoda de mai sus, se compune dintr-un microsenzor stocastic combinat ce intra în contact cu fluidul biologic, ce este conectat la un modul electronic de achiziție de semnal, ce preia, amplifică, filtrează și digitizează semnalul electric în date ce se transmit digital către un sistem informatic local pe care rulează o aplicație software specializată ce analizează datele primite de la modulul de achiziție, generează informații agregate despre prezența biomarkerilor vizați, tipul și cantitatea/concentrația lor în proba prezentată și transmite informațiile prelucrate printr-un modem de date către un server colector central. În funcție de aplicație, sistemul poate afișa pe un ecran informații personalizate despre analiză și rezultat sau tiparii un bon de analiză ce conține rezultatul și orice alte informații disponibile.

Sistemul, conform invenției, efectuează examinări medicale prin detectarea automată a prezenței biomarkerilor cunoscuți de către sistem, identificarea automată a elementelor particulare din semnalul electric generat de biomarker, indicând astfel cu precizie tipul biomarkerului și evaluarea cantitativă a biomarkerului direct din proba de fluid biologic fără o prelucrare prealabilă sau în timpul analizei

acesteia, generând concentrația relativă. Concentrația biomarkerului este un factor de diagnostic foarte important pentru stabilirea stadiului de evoluție al maladiilor. Detecția se realizează prin excitarea microsenzorului stocastic combinat cu un potențial nominal constant care este citit după aplicarea pe proba de fluid biologic de către modulul electronic de achiziție de semnal. Forma de undă a semnalului electric primit este digitizată de către modulul electronic de achiziție de semnal și transmisă către aplicația software specializată ce rulează pe sistemul informatic local, unde forma de undă este interpretată. În urma acestui proces, aplicația software furnizează informații despre tipul și cantitatea biomarkerilor identificați, pe care le asociază cu informații privind identitatea persoanelor testate și istoricul medical, în măsura în care îi este disponibil. Adicional, aplicația furnizează la cerere și informații complexe referitor la răspunsul electric al probelor, informații ce pot fi analizate de specialiștii în biochimie sau medicină ulterior realizării analizei, informații ce pot fi utile în diagnostic, screening și tratament.

Un sistem de sisteme pentru detectare, identificare și evaluare cantitativă rapidă a unor biomarkeri specifici din fluide biologice, se compune din sisteme conform invenției ce transmit către un server central de analiză și diagnostic informațiile personale și rezultatele analizelor. Serverul central poate realiza analize integrate despre starea de sănătate a populației verificate, oferind o funcție importantă de centralizare a informațiilor rezultate dintr-un screening de masă.

Toate componentele sistemului sunt interconectate electric și informatic între ele astfel încât să asigure transferul de date între componentele sistemului și pentru a asigura monitorizarea în timp real a tuturor componentelor prin intermediul unui subsistem de senzori interoceptivi, ce are rolul, de a controla, în timp real, starea tuturor componentelor din sistem realizând rapoarte de funcționare.

Folosirea metodei și sistemului pentru detectare, identificare și evaluare cantitativă rapidă a unor biomarkeri specifici din fluide biologice conform invenției prezintă următoarele avantaje:

- Timp de analiză redus considerabil de la câteva zile pentru sistemele existente la câteva secunde;
- Folosirea fluidului biologic ca atare, fără o procesare prealabilă sau în timpul analizei;
- Fiabilitatea ridicată a determinărilor biomarkerilor datorată în special măsurătorii directe a acestora în fluidul biologic;
- Sensibilitatea și selectivitatea ridicate care permit diagnosticarea maladiilor înainte ca ele să prezinte simptomele caracteristice în organism;
- Costuri de operare reduse prin lipsa consumabilelor costisitoare folosite în metodele actuale;
- Caracter general al analizei, ce poate identifica simultan mai mulți biomarkeri, față de metodele existente ce pot identifica doar unul singur, în funcție de programul și reactivul introdus;
- Adaptabilitate mare a sistemului ce permite utilizarea atât de către populația generală cât și de specialiști în medicină și biochimie;
- Utilizare facilă și rapidă prin tipărirea bonului de analiză cu informații strict legate de tipul și cantitatea biomarkerului;
- Aplicabilitatea în medicină și biochimie prin furnizarea informațiilor tehnice de analiză la cerere;
- Scalabilitatea mare a sistemului ce poate fi integrat într-un sistem de sisteme care să ofere managementul integrat al examinărilor medicale de masă.

Se dă în continuare un exemplu de realizare a invenției în legătură cu figurile de la 1 la 5 ce reprezintă:

- fig 1 vedere în perspectivă a sistemului pentru detectare, identificare și evaluare cantitativă rapidă a unor biomarkeri specifici din fluide biologice, conform metodei, obiect al invenției.
- fig 2 schemă bloc a sistemului pentru detectare, identificare și evaluare cantitativă rapidă a unor biomarkeri specifici din fluide biologice, conform invenției.
- fig 3 vedere în perspectivă a microsenzorului stocastic combinat
- fig 4 vedere în perspectivă a microsenzorului principal
- fig 5 schemă de realizare a unui sistem de sisteme conform invenției

Sistemul pentru detectare, identificare și evaluare cantitativă rapidă a unor biomarkeri specifici din fluide biologice se compune (fig 1), conform invenției, dintr-un microsenzor stocastic combinat **1**, compus la rândul lui din microsenzori principali **2**, electrozi de referință **3** și electrozi auxiliari **4** ce intră în contact cu fluidul biologic, precum și elemente de conexiune electrică **5** prin care se conectează la un modul electronic de achiziție de semnal **6**, ce preia, amplifică, filtrează și digitizează semnalul electric în date ce se transmit digital către un sistem informatic local **7** pe care rulează o aplicație software specializată **8** ce analizează datele primite de la modulul de achiziție **6**, generează informații agregate despre prezența biomarkerilor vizați, tipul lor și cantitatea/concentrația lor în proba prezentată și transmite informațiile prelucrate printr-un modem de date **9** către un server central de

analiză și diagnostic **10**. În funcție de aplicație, sistemul poate afișa pe un ecran **11** informații personalizate despre analiză și rezultat sau tiparii un bon de analiză folosind imprimantă integrată **12** ce conține rezultatul și orice alte informații disponibile.

Microsenzorul principal **2**, așa cum rezultă din fig 4, este compus dintr-o parte activă formată din pudră de carbon **13**, elementul 6 din tabelul periodic al elementelor, ulei mineral **14**, o substanță macromoleculară **15** ca substanță electroactivă și electrozi de referință interni **16**. Substanța macromoleculară poate fi porfirină, inulină, ciclodextrină, maltodextrină, derivați sau complecșii metalici ai acestora.

Examinarea medicală se realizează prin punerea în contact a unui fluid biologic cu microsenzorul stocastic combinat **1** căruia modulul electronic de achiziție de semnal **6**, îi aplică un potențial constant și citește în același timp, pentru o perioadă de câteva secunde semnalul electric rezultat prin punerea în contact a fluidului cu microsenzorul stocastic combinat **1**. Semnalul electric citit, este filtrat și digitizat și apoi transmis în format digital către sistemul informatic local **7** și introdus ca parametru de intrare în aplicația software specializată **8**, care analizează forma de undă a semnalului digital preluat și formulează rezultatul simplificat ce nominalizează biomarkerii identificați și cantitatea lor în proba evaluată, precum și rezultatul complet destinat personalului calificat din domeniul medical. Rezultatul simplificat este afișat pe ecranul **11**, tipărit pe bonul de analiză sau transmis prin modemul de date **9** către un server central de analiză și diagnostic **10**. Rezultatul complet este transmis.

Sistemul de sisteme pentru detectare, identificare și evaluare cantitativă rapidă a unor biomarkeri specifici din fluide biologice, adună și corelează date într-un server central de analiză și diagnostic **10**, folosind conexiunile de date stabilite între modem-urile de date **9** ale fiecărui sistem în parte și conexiunea de date pusă la dispoziție serverului.

Revendicări

1. Metodă pentru detectare, identificare și evaluare cantitativă rapidă a unor biomarkeri specifici din fluide biologice pentru diagnosticarea maladiilor la nivel molecular, **caracterizată prin aceea că**, utilizează un microsenzor stocastic combinat format din cel puțin trei electrozi: microsenzorul principal, electrodul de referință și electrodul auxiliar, senzor ce este conectat la un sistem electronic de achiziție specializat pentru preluarea și prelucrarea semnalelor și o aplicație software specializată ce interpretează semnalele și identifică în regim automat markerii biologici.
2. Sistem pentru detectare, identificare și evaluare cantitativă rapidă a unor biomarkeri specifici din fluide biologice pentru diagnosticarea maladiilor în stadii incipiente la nivel molecular prin examinari medicale de masă, care pune în aplicare metoda din revendicarea 1, **caracterizat prin aceea că**, este compus din cel puțin un microsenzor stocastic combinat (1), un modul electronic de achiziție de semnal (6), un sistem informatic (7) pe care rulează o aplicație software specializată (8) ce identifică în regim automat biomarkerii selectați, afișează pe un ecran (11) și tipărește rezultatul folosind imprimanta (12) și transmite către un operator sau un server central de analiză și diagnostic (17), toate informațiile generate privind biomarkerii identificați.
3. Sistem de sisteme pentru detectare, identificare și evaluare cantitativă rapidă a unor biomarkeri specifici din fluide biologice, conform revendicării 2, **caracterizat prin aceea că**, adună și corelează date într-un server central de analiză și diagnostic (17), folosind conexiunile de date stabilite între modem-urile de date (9) ale fiecărui sistem în parte și conexiunea de date pusă la dispoziție serverului.
4. Microsenzor stocastic combinat (1) pentru detectarea, identificarea și evaluarea cantitativă a biomarkerilor specifici din fluide biologice, conform revendicării 2, **caracterizat prin aceea că**, are dimensiuni micrometrice și este constituit din microsenzori principali (2), electrozi de referință (3) și electrozi auxiliari (4), care formează zona activă ce permite contactul cu fluide biologice și este integrat cu elemente de conexiune electrică (5) pentru a fi conectat electric la modulul electronic de achiziție de semnal (6).
5. Microsenzor principal (2) de dimensiuni micrometrice conform revendicării 4, **caracterizat prin aceea că**, este constituit dintr-o parte activă formată din pudră de carbon (13), elementul 6 din tabelul periodic al elementelor, ulei mineral (14), o substanță macromoleculară (15) ca substanță electroactivă și electrozi de referință interni.

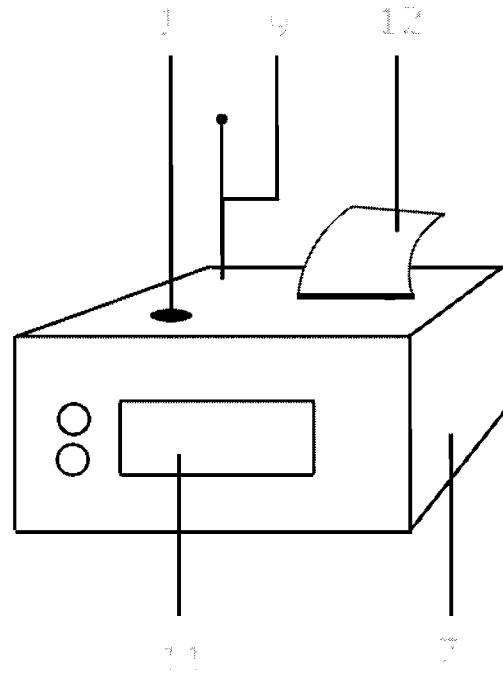


Fig 1

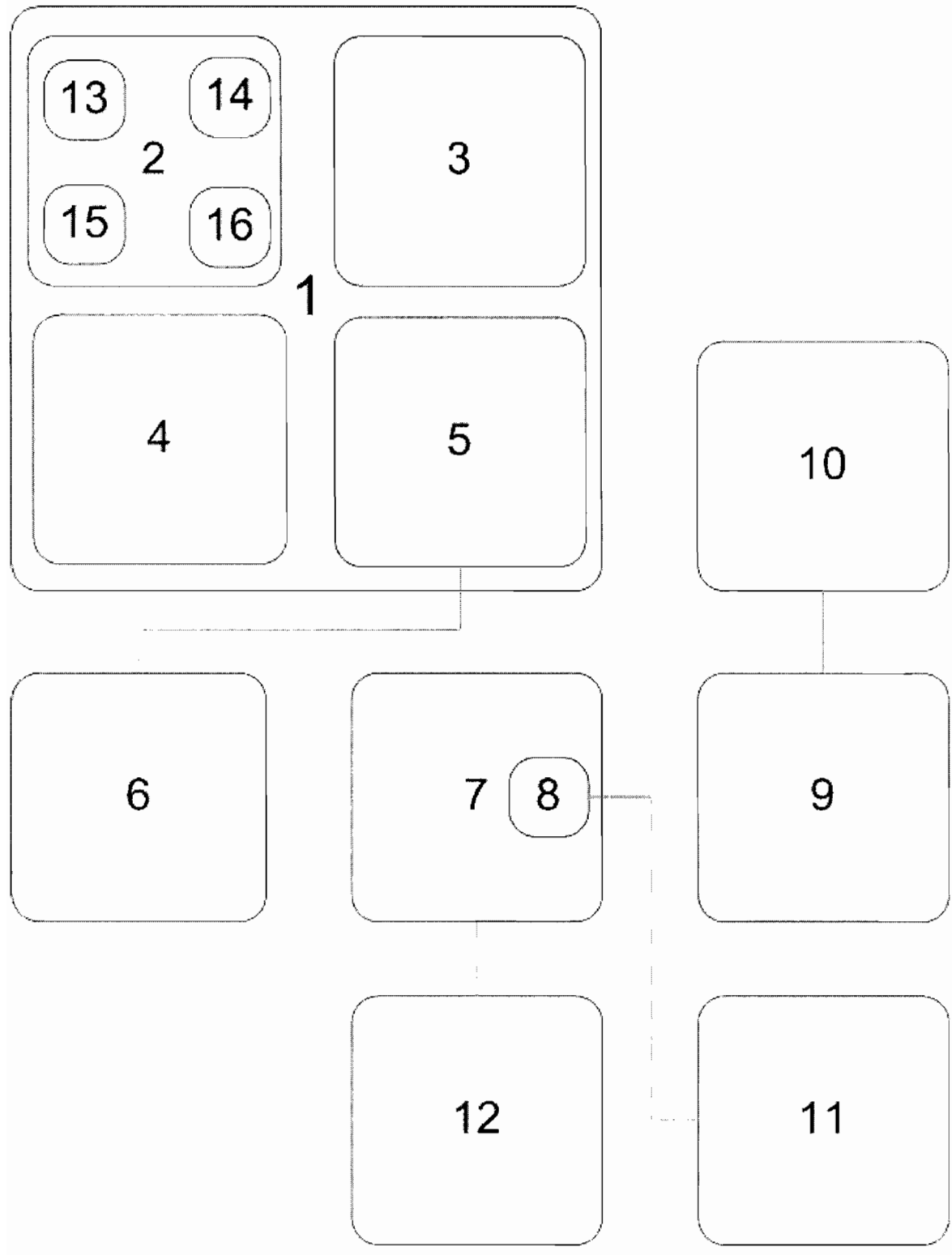


Fig 2

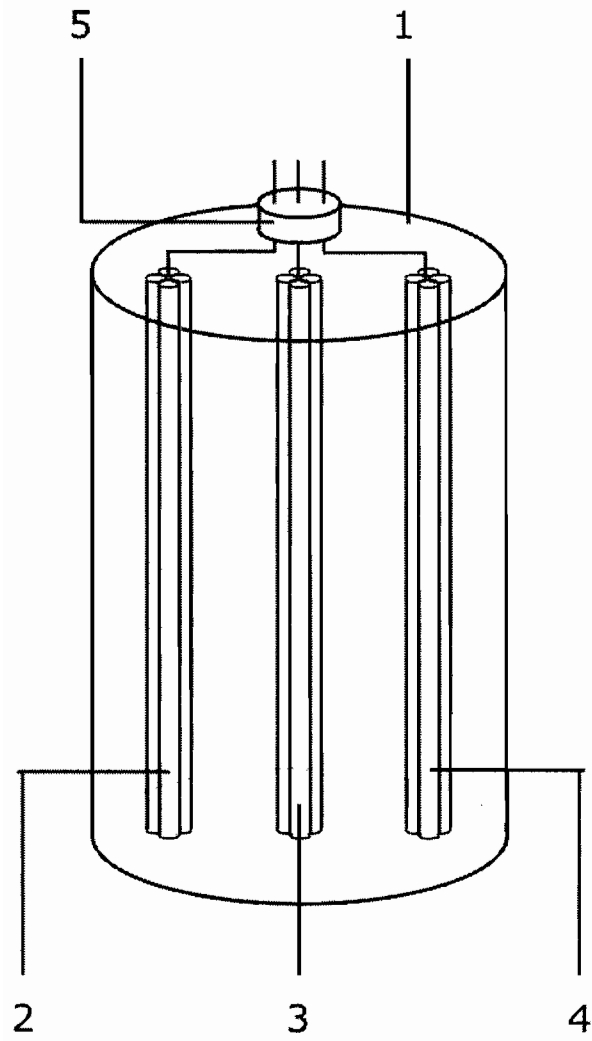


Fig 3

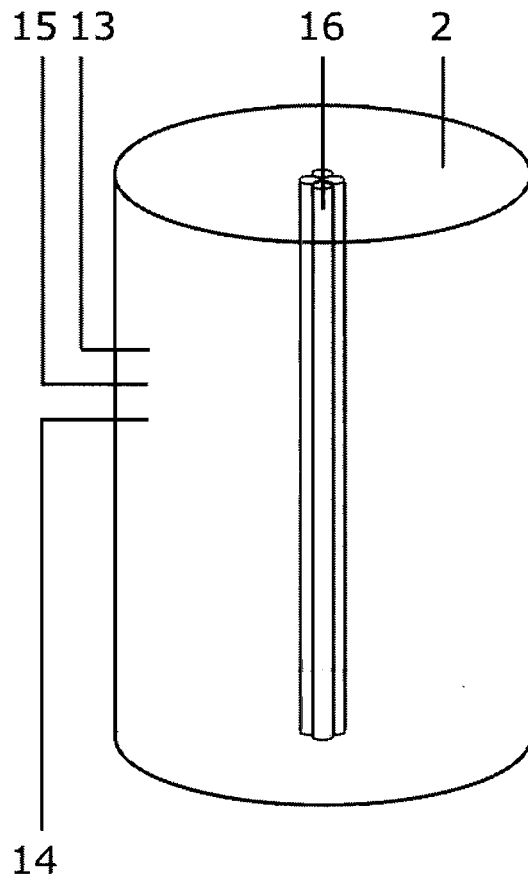


Fig 4

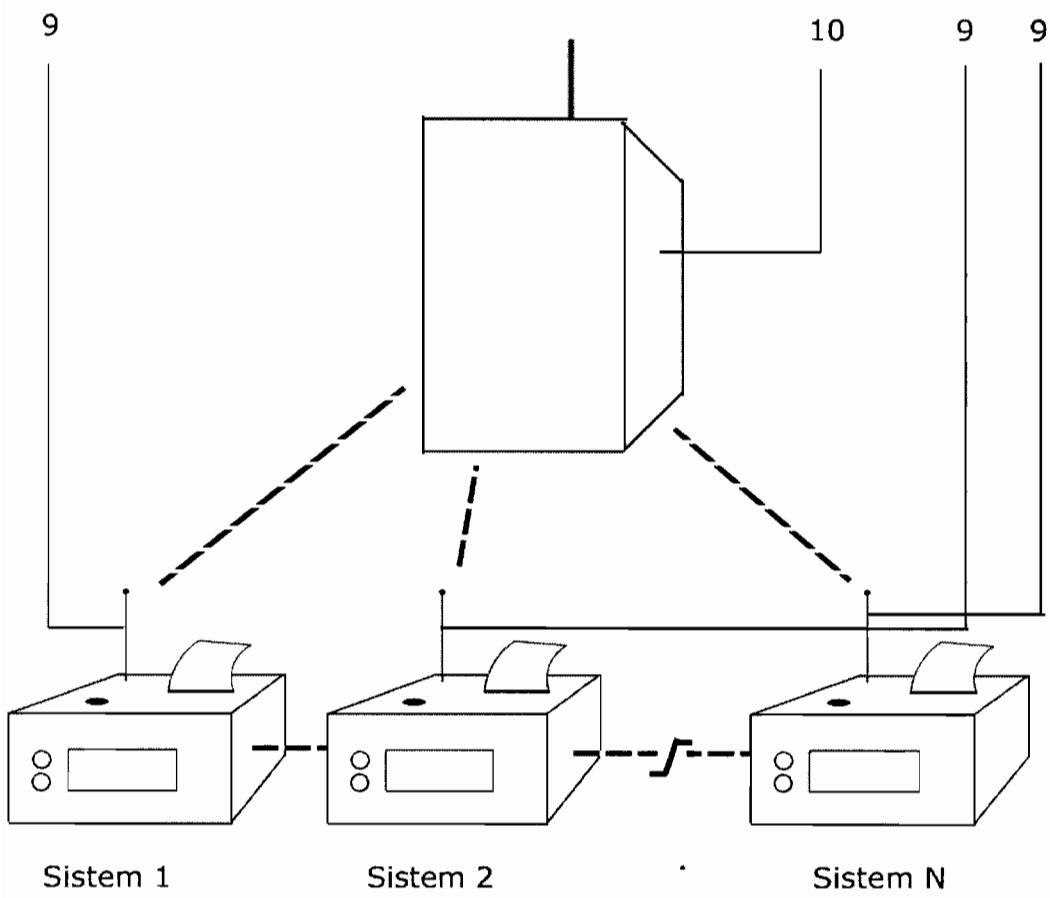


Fig 5