



(12) **CERERE DE BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. cerere: **a 2018 00422**

(22) Data de depozit: **13/06/2018**

(41) Data publicării cererii:  
**30/12/2019** BOPI nr. **12/2019**

(71) Solicitant:  
• **CENTRUL INTERNAȚIONAL  
DE BIODINAMICĂ,  
INTRAREA PORTOCALELOR, NR.1B,  
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:  
• **GHEORGHIU EUGEN, BD.UNIRII NR.12,  
BL.7 C, SC.A, AP.18, SECTOR 4,  
BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **DAVID MIHAI SORIN,  
STR. STANISLAV CIHOSCHI NR. 7, AP. 4,  
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **GHEORGHIU MIHAELA, BD. UNIRII  
NR. 12, BL.7C, SC.A, AP.18, SECTOR 4,  
BUCUREȘTI, B, RO**

(54) **METODĂ DE EVALUARE A VIABILITĂȚII CELULELOR  
BIOLOGICE ȘI DE TESTARE A SUSCEPTIBILITĂȚII  
ACESTORA LA EXPUNEREA CU UN COMPUS  
(EX. ANTIBIOTIC)**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o metodă de evaluare a viabilității celulelor biologice și de testare a susceptibilității acestora la expunerea la un compus. Metoda, conform invenției, constă în oscilarea unor conglomerate formate din particule indicatoare și celule (**1a, b**) de tip bacterii între doi electrozi (**2**) ale căror valori ale modulului impedanței la cel puțin două frecvențe ale câmpului electric alternativ sunt monitorizate în timpul oscilațiilor prin calcularea numărului de celule viabile și neviabile sau raportul de celule viabile rezistente la acțiunea unui compus de tip medicament chimioterapic față de celulele viabile care nu au rezistență la acel medicament, din amplitudinile variației modulului impedanței la frecvențele câmpului electric alternativ măsurate între cei doi electrozi, măsurate înainte și după expunere.

Revendicări: 5  
Figuri: 2

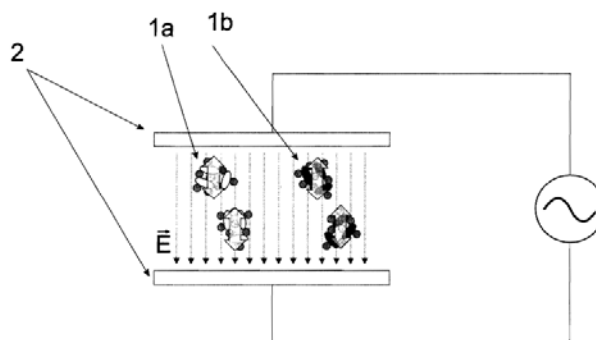


Fig. 1



## Metodă de evaluare a viabilității celulelor biologice și de testare a susceptibilității acestora la expunerea cu un compus (ex. antibiotic)

### Descriere

Invenția se referă la o metodă de evaluare a viabilității celulelor biologice și de testare a susceptibilității acestora la expunerea cu un compus care poate fi un antimicrobian (antibiotic) sau medicament (din gama chimioterapicelor).

În brevetul RO127854 B1 se prezintă o metodă de detecție și de determinare a concentrației unor analiți de interes într-un fluid pe baza analizei amplitudinii, sau/si a defazajului variației unui parametru electric ex. partea reală, sau imaginară (sau o funcție de acestea) a impedanței la o anumită frecvență și/sau un parametru optic (ex. unghiul pentru care apare minimul reflectivității, pentru analize SPR) la aplicarea unei acționări periodice, respectiv la aplicarea unor câmpuri.

Dezavantajul metodei prezentate este acela că nu permite evaluarea viabilității celulelor analizate lucru foarte important în determinarea contaminării unor produse alimentare sau în evaluarea eficienței unor compuși (ex. medicamente) asupra unor celule țintă.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în calcularea numărului de celule viabile și a numărului de celule neviabile/moarte prin oscilarea unor conglomerate formate din particule indicatoare și celule, între doi electrozi ale căror valori ale modulului impedanței la cel puțin două frecvențe ale câmpului electric alternativ sunt monitorizate în timpul oscilațiilor.

Avantajul principal al metodei îl reprezintă posibilitatea de măsurare a numărului de celule viabile dintr-o probă cu rapiditate.

Metoda are la bază evaluarea viabilității celulelor biologice prin oscilarea unor conglomerate formate din particule indicatoare și celule, între doi electrozi ale căror valori ale modulului impedanței la cel puțin două frecvențe ale câmpului electric alternativ sunt monitorizate în timpul oscilațiilor. Din amplitudinile variației modulului impedanței la frecvențele câmpului electric alternativ măsurate între cei doi electrozi se calculează numărul de celule viabile și numărul de celule neviabile/moarte. Amplitudinile modulului impedanței măsurate la frecvențele câmpului electric alternativ sunt mai mari pentru conglomerate formate din particule indicatoare și celule vii față de cel corespunzător conglomeratelor formate din același număr de particule indicatoare cu celule neviabile/moarte. De asemenea, metoda permite evaluarea acțiunii anumitor compuși asupra celulelor prin măsurarea viabilității celulelor după expunerea la aceștia. Se calculează raportul de celule rezistente la acțiunea unui compus față de cele care nu au rezistență la compusul respectiv din amplitudinile modulului impedanței măsurate între cei doi electrozi la frecvențele câmpului electric alternativ măsurat înainte și după expunere, și care sunt proporționale cu concentrația de celule care nu au rezistență la compusul respectiv

Se prezintă în continuare trei posibile exemple de aplicare a acestei metode (care nu limitează domeniul ei de aplicare) și în legătură cu fig.1-3 care reprezintă:

Figura 1. Schema principiului metodei

Figura 2. Schema metodei de evaluare a susceptibilității unor celule bacteriene la un compus anti-microbian

Figura 3. Schema metodei de evaluare a susceptibilității și rezistenței unor celule tumorale la compuși chimioterapici

### 1. Evaluarea viabilității

Se incubează proba de analizat cu particule indicatoare specifice. Se amestecă prin agitare sau rotire o perioadă suficientă pentru formarea conglomeratelor celule țintă particule indicatoare. Conglomeratele se injectează în compartimentul de analiză. Se induc oscilații asupra conglomeratelor și se măsoară variația impedanței celor doi electrozi. Se adaugă compusul a cărui acțiune se investighează în compartimentul de analiză. Se amestecă prin agitare sau rotire o perioadă suficientă pentru a evalua acțiunea compusului. Se efectuează o nouă măsurătoare a impedanței între cei doi electrozi.

Se calculează raportul de celule vii/viabile față de cele moarte/neviabile din amplitudinile modulului impedanței măsurate între cei doi electrozi la frecvențele câmpului electric alternativ măsurate înainte și după expunere, și care sunt proporționale cu concentrația de celule care nu au rezistență la compusul respectiv

### 2. Evaluarea susceptibilității la antibiotic

Se incubează proba de analizat cu particule indicatoare specifice. Se amestecă prin agitare sau rotire o perioadă suficientă pentru formarea conglomeratelor celule țintă particule indicatoare. Conglomeratele se injectează în compartimentul de analiză. Se induc oscilații asupra conglomeratelor și se măsoară variația impedanței celor doi electrozi. Se adaugă compusul a cărui acțiune se investighează în compartimentul de analiză. Se amestecă prin agitare sau rotire o perioadă suficientă pentru a evalua acțiunea compusului. Se efectuează o nouă măsurătoare a impedanței între cei doi electrozi.

Se calculează raportul de celule rezistente la acțiunea unui compus față de cele care nu au rezistență la compusul respectiv din amplitudinile modulului impedanței măsurate între cei doi electrozi la frecvențele câmpului electric alternativ măsurate înainte și după expunere, și care sunt proporționale cu concentrația de celule care nu au rezistență la compusul respectiv

### 3. Evaluarea rezistenței la un compus chimioterapic

Se incubează proba de analizat care conține celulele tumorale țintă cu particule indicatoare specifice cu afinitate pentru celulele tumorale țintă. Se amestecă prin agitare sau rotire o perioadă suficientă pentru formarea conglomeratelor celule țintă particule indicatoare. Conglomeratele se injectează în compartimentul de analiză. Se induc oscilații asupra conglomeratelor și se măsoară variația impedanței celor doi electrozi. Se adaugă compusul chimioterapic a cărui acțiune se investighează în compartimentul de analiză. Se efectuează o nouă măsurătoare a impedanței între cei doi electrozi.

Se evaluează susceptibilitatea și rezistența celulelor tumorale la compuși chimioterapici din analiza viabilității celulelor tumorale după captura în conglomerate și expunerea la compusul respectiv prin analiza amplitudinilor modulului impedanței măsurate între cei doi electrozi la frecvențele câmpului

electric alternativ determinate înainte și după expunere, scăderile înregistrată după expunere față de valorile anterioare acesteia fiind proporționale cu concentrația de celule tumorale din conglomerat care nu au rezistență la compusul respectiv.

## Revendicări

1. Metodă de evaluare a viabilității celulelor biologice prin oscilarea unor conglomerate formate din particule indicatoare și celule (1 a, b), între doi electrozi (2) ale căror valori ale modulului impedanței la cel puțin două frecvențe ale câmpului electric alternativ sunt monitorizate în timpul oscilațiilor, **caracterizată prin aceea că se calculează numărul de celule viabile și numărul de celule neviabile/moarte din amplitudinile variației modulului impedanței la frecvențele câmpului electric alternativ măsurate între cei doi electrozi.**
2. Metodă conform revendicării 1 **caracterizată prin aceea că se calculează numărul de celule viabile și numărul de celule neviabile/moarte din amplitudinile variației modulului impedanței măsurate între cei doi electrozi la frecvențele câmpului electric alternativ, care au valori mai mari pentru conglomerate formate din particule indicatoare și celule vii (1a) față de cele corespunzătoare conglomeratelor formate din același număr de particule indicatoare cu celule neviabile/moarte (1b).**
3. Metodă conform revendicării 1 și 2 **caracterizată prin aceea că se calculează raportul de celule viabile rezistente la acțiunea unui compus față de cele viabile care nu au rezistență la compusul respectiv din amplitudinile variației modulului impedanței măsurate între cei doi electrozi la frecvențele câmpului electric alternativ măsurat înainte și după expunere, și care sunt proporționale cu concentrația de celule care nu au rezistență la compusul respectiv.**
4. Metodă conform revendicării 3 **caracterizată prin aceea că celulele sunt bacterii iar compusul este unul antimicrobian, de exemplu antibiotic.**
5. Metodă conform revendicării 3 **caracterizată prin aceea că celulele sunt tumorale iar compusul este un medicament chimioterapic.**

Desene

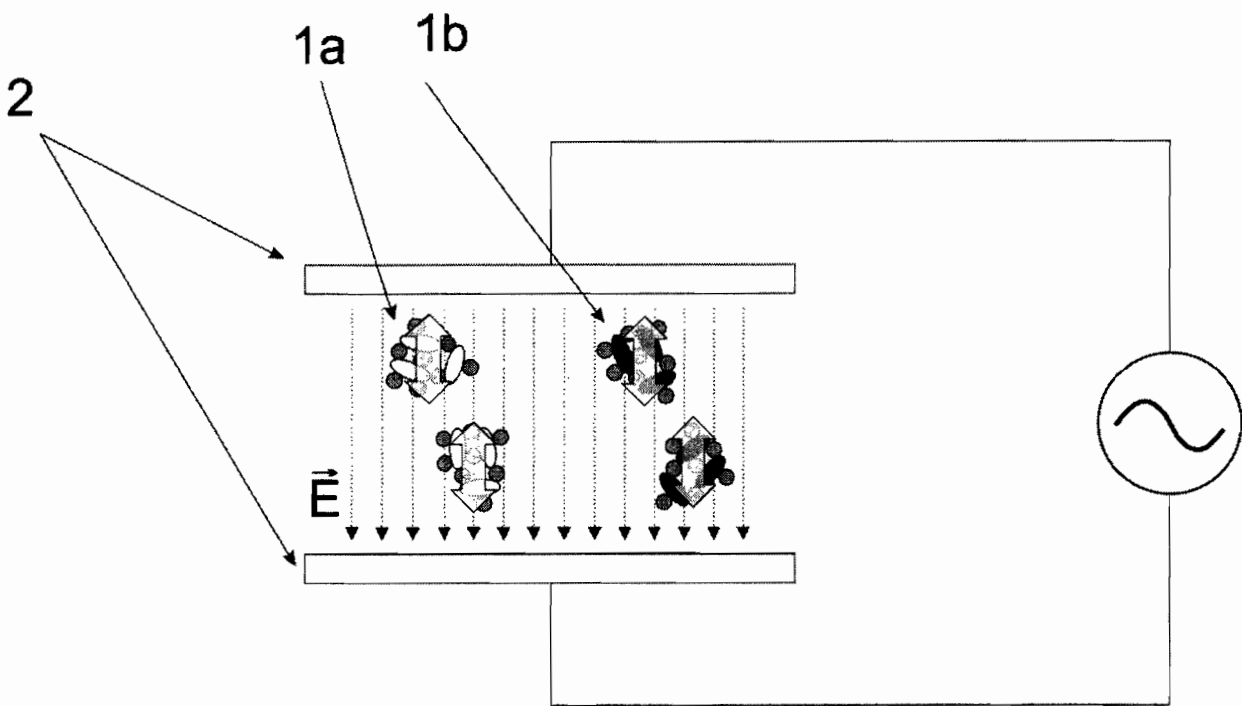


Figura 1 Schema principiului metodei

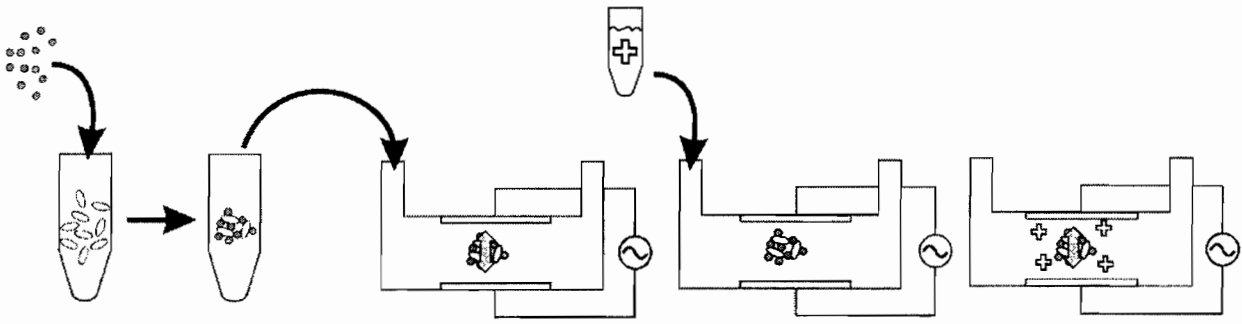


Figura 2 Schema metodei de evaluare a susceptibilității și/sau a rezistenței unor celule la un compus