

(12)

## CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2018 00273

(22) Data de depozit: 19/04/2018

(41) Data publicării cererii:  
28/02/2020 BOPI nr. 2/2020

(71) Solicitant:

- UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRONOME ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ DIN BUCUREȘTI, BD.MĂRĂȘTI NR.59, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;
- INSTITUTUL NAȚIONAL DE CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU OPTOELECTRONICĂ - INOE 2000, STR.ATOMIȘTILOR NR.409, MĂGURELE, IF, RO;
- APEL LASER S.R.L., STR.VINTILĂ MIHĂILESCU NR.15, BL.60, AP.12, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:

- BÎRȚOIU ION ALIN, DECEDAT, RO;
- VIȚĂLARU BOGDAN ALEXANDRU, STR.DRISTORULUI 114, BL.13C, SC.1, ET.5, AP.15, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;

- MILITARU MANUELA, ȘOS.MIHAI BRAVU, NR.90-96, BL.D17, SC. B, ET.8, AP.71, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;
- MUNTEANU RALUCA MĂDĂLINA, STR.ARMENIȘ NR.6, BL.J3, SC.F, ET.2, AP.62, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;
- ȚOGOE DORIN IULIAN, DRUMUL FERMEI NR.71A, POPEȘTI LEORDENI, IF, RO;
- GRIGORESCU CRISTIANA EUGENIA ANA, STR.BRÂNDUȘILOR, NR.6, BL. V70, SC.4, ET.3, AP.60, BUCUREȘTI, B, RO;
- RUSU MĂDĂLIN ION, STR. PRELUNGIREA GHENCEA NR. 53, BL. F2, SC. C, ET. 3, AP. 126, BRAGADIRU, IF, RO;
- SCOICARU LAURENȚIU OCTAVIAN, STR.LIBERTĂȚII BL.1601, SC.B, ET.3, AP.31, ALEXANDRIA, TR, RO;
- CHIRICUTA BOGDAN, STR.OTEELARILOR NR.29, BL.K, SC.1, ET.4, AP.19, GALAȚI, GL, RO

## (54) METODĂ DE EVALUARE A MARGINILOR TUMORILOR MAMARE EX VIVO DIRECT IN TIMP REAL

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o metodă de evaluare a marginilor tumorale mamare *ex vivo* în timp real, cu ajutorul spectroscopiei Raman amplificată de suprafață SERS. Metoda, conform invenției, cuprinde decuparea marginii cu un singur bisturiu, excizarea tumorii, analizarea urmelor de pe bisturiu în 3...6 puncte alese aleatoriu, cu ajutorul unui spectrometru Raman portabil cu lungime de undă de excitare în domeniul vizibil, într-un interval de timp de 40...120 s, analizarea spectrelor cu diferite metode de analiză precum PCA, urmată de secționarea masei tumorale cu un alt bisturiu, acumularea spectrelor Raman SERS și analizarea lor ca mai sus, și diagnosticarea tipului benign sau malign al tumorii.

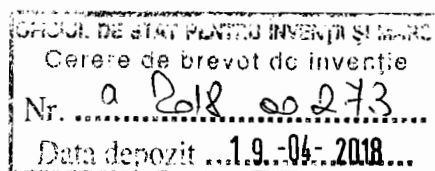
Revendicări: 1  
Figuri: 4



Fig. 2

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, 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).





### **Metodă de evaluare a marginilor tumorilor mamare ex vivo direct in timp real.**

Invenția se referă la o metodă de evaluare a marginilor tumorilor mamare ex vivo direct in timp real cu ajutorul spectroscopiei Raman amplificată de suprafață pentru evitarea recidivei și reintervenției chirurgicale.

Sunt cunoscute mai multe metode de evaluare a marginilor tumorilor, cum ar fi analiza secțiunilor înghețate, metoda ce prezintă o sensibilitate de 73,08% și o specificitate de 98,32% în cancerul mamar în comparație cu analiza secțiunilor în parafină. Dezavantajul metodei se referă la imposibilitatea realizării analizei pe întreaga suprafață a tesutului [1]. În același scop este cunoscută o altă metodă, citologia prin amprentă care poate evalua rapid întreaga suprafață, păstrând integritatea tesutului și având o sensibilitate de 75% și o specificitate de 82,8% [2]. Poate fi utilizată atunci când celulele canceroase sunt la suprafață și sunt detașate. Dezavantajul este reprezentat de faptul că celulele care nu sunt la suprafață, nu pot fi detectate, limitându-se astfel posibilitatea distingerii marginii negative. Se cunoaște de asemenea radiografia intraoperatorie o altă metodă ce permite vizualizarea marginii în adâncime prin proiecții de raze X bidimensionale. Dezavantajul provine din incapacitatea acesteia de a identifica procese microscopice difuze ce determină o sensibilitate de 49% și o specificitate de 73% [3], în special în cazul tumorilor fără limite evidente[4].

În același scop, în prezent, este cunoscută metoda standard folosită pentru evaluarea marginilor chirurgicale, analiza histopatologică a tesutului excizat în urma intervenției chirurgicale.

Analiza histopatologică constă în transformarea produsului biologic prelevat din formațiunea mamară, într-un preparat care permite examinarea microscopică în vederea stabilirii diagnosticului de boală și diferențierii tipului tumora. Dezavantajele analizei histopatologice constau în durata lungă de prelucrare a probelor recoltate și incertitudinea intraoperatorie a exciziei în totalitate a formațiunii mamare cu obținerea de margini curate, fapt ce conduce la posibilă recidivă tumorală și a reintervenției chirurgicale.

Problema pe care o rezolvă invenția este de a realiza o metodă medicală de evaluare a marginilor tumorilor mamare ex vivo direct in timp real destinată chirurgiei oncologice umane și veterinare, care

inlatura dezavantajele metodelor mentionate prin aceea ca este o metoda medicala economica, rapida, neinvaziva si nedestructiva caracterizata prin aceea ca diagnosticheaza tesutul benign sau malign intraoperator evitandu-se recidiva si respectiv reincizarea.

Metoda de evaluare a marginilor tumorilor mamare ex vivo, in timp real, cu ajutorul spectroscopiei Raman amplificata de suprafata, conform inventiei, consta in decuparea marginilor tumorii cu un singur bisturiu, excizarea tumorii, analizarea urmelor de pe bisturiu in 3...6 puncte alese aleator cu un spectrometru Raman portabil cu lungime de unda de excitare in domeniul vizibil, intr-un interval de timp de 40...120 secunde, analizarea spectrelor, cu diferite metode de analiza precum PCA [5], urmata de sectionarea masei tumorale cu un alt bisturiu, acumularea spectrelor Raman SERS si analizarea lor ca mai sus, in 5...10 minute si diagnosticarea tipului benign sau malign al tumorii, iar dupa ce se taie cu un singur bisturiu, se trece la etapa de preprocesare a datelor deja existente si a celei ce urmeaza a fi diagnosticate, etapa ce consta in aducerea datelor la aceleasi numar de puncte, cu acelasi pas intre puncte si valori de inceput si sfarsit, se introduc in matricea de date, se centreaza datele dupa fiecare coloana, se foloseste matricea de corelatie, dupa care se face statistica ce va spune carui spectru din cele examinate anterior este similar spectrul de analizat deci va pune diagnosticul da/nu pentru personalul echipei de chirurgie, avand grija sa selectam cateva componente ce caracterizeaza datele dupa diferite metode ca varianta exprimata.

Tumorile maligne [6] sunt supuse mai departe analizei histopatologice.

Inventia prezinta urmatoarele avantaje :

- durata scurta de asteptare a diagnosticului marginilor tumorilor mamare;
- nu necesita prepararea probei;
- reveleaza informatia de pe intreg conturul marginii, astfel ca, in cazul existentei unei margini pozitive (contaminate cu celule maligne) se poate exciza mai mult din tesut pentru obtinerea unei margini curate si se previne recidiva locala;
- Implica preturi foarte scazute de manopera si materiale ;
- implica interventii mai putin traumatizante pentru pacienti ;

- are sensibilitate si specificitate ridicate.

Se da in continuare un exemplu de realizare a inventiei in legatura si cu figurile 1..4 care prezinta:

- Figura 1: lama de bisturiu, atasata manerului de bisturiu, a fost folosita pentru incizarea pielii;
- Figura 2: proba recoltata in urma mamectomei;
- Figura 3: analiza la microscop;
- Figura 4: exemplu cu analiza histopatologica.

Lama de bisturiu, atasata manerului de bisturiu, a fost folosita pentru incizarea pielii (fig.1), la o distanta de zona tumorizata, pentru siguranta marginilor tumorale. Proba recoltata in urma mamectomei, a fost sectionata in 2 parti (fig.2), o parte pentru a fi analizata cu ajutorul spectroscopiei Raman si o alta a fost trimisa pentru o analiza (fig.3) histopatologica pentru confirmarea diagnosticului (fig. 4).

Metoda de evaluare a marginilor tumorilor mamare ex vivo, in timp real, cu ajutorul spectroscopiei Raman amplificata de suprafata, conform inventiei, s-a realizat dupa interventia chirurgicala. Proba a fost sectionata, iar lama de bisturiu a fost aplicata pe o lama de microscop si analizata cu spectrometrul Raman in acelasi mod.

**Revendicari:**

1. Metodă de evaluare a marginilor tumorilor mamare ex vivo direct in timp real, folosind Imprastierea Raman cu amplificare pe Suprafata (SERS), caracterizată prin aceea ca se decupeaza marginile tumorii cu un singur bisturiu, se excizeaza tumora, se analizeaza urmele de pe bisturiu in 3...6 puncte alese aleator cu un spectrometru Raman portabil cu lungime de unda de excitare in domeniul vizibil, intr-un interval de timp de 40...120 secunde, se analizeaza spectrele cu diferite metode de analiza precum PCA, urmata de sectionarea masei tumorale cu un alt bisturiu, acumularea spectrelor Raman SERS si analizarea lor ca mai sus, in 5...10 minute si diagnosticarea tipului benign sau malign al tumorii, obtinandu-se in ambele cazuri un raspuns « Da/Nu » pentru personalul echipei de chirurgie.



Fig.1 incizarea pielii cu bisturiul



Fig.2 tumora excizata, alături de lama de bisturiu care a fost folosita pentru incizarea pielii

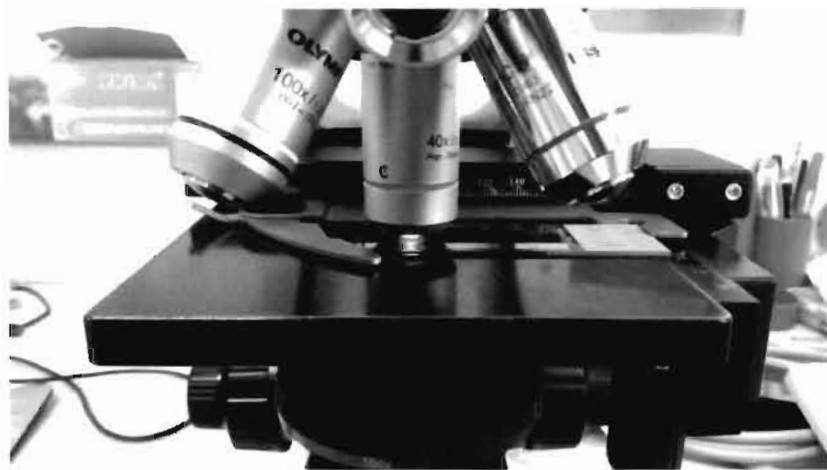


Fig.3 Analiza microscop



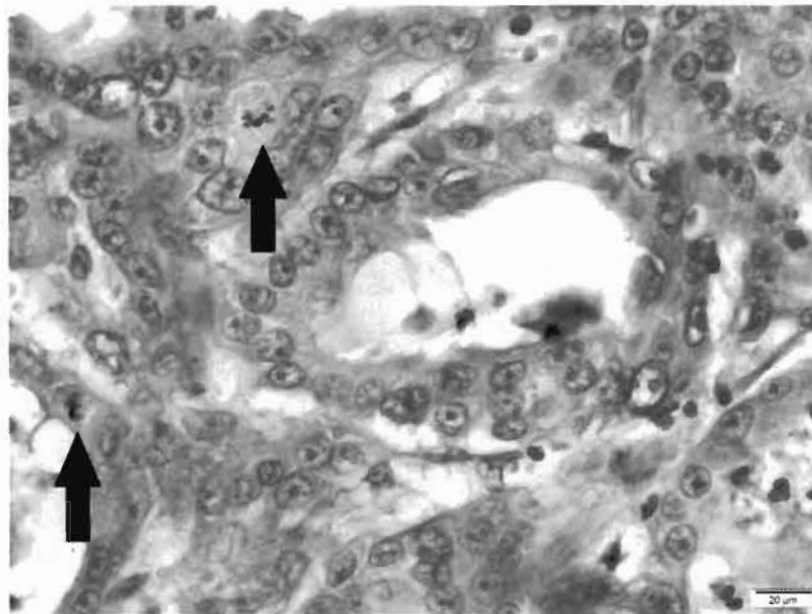


Fig.4 Carcinom simplu, tipul tubular. Celule epiteliale fără margini clar delimitate, cu pleomorfism evident, cu anizocarioză și anizocitoză marcante. Frecvent sunt prezente figuri mitotice (marcate cu săgeți negre). Obiectiv 60×