



**UNIVERSITATEA POLITEHNICA
DIN BUCUREȘTI**



**Școala Doctorală de Electronică, Telecomunicații
și Tehnologia Informației
Decizie nr. 807 din 21-01-2022**

REZUMAT TEZĂ DE DOCTORAT

Ing. Manole-Ștefan NICULESCU

**METODE DE ÎMBUNĂTĂȚIRE A ACURATEȚEI
ANALIZELOR BIOCHIMICE**

**METHODS FOR IMPROVING THE ACCURACY OF
THE BIOCHEMICAL ASSAYS**

COMISIA DE DOCTORAT

Prof. Dr. Ing. Mihai CIUC

Univ. Politehnica din București

Președinte

Prof. Dr. Ing. Rodica STRUNGARU

Univ. Politehnica din București

Conducător de doctorat

Prof. Dr. Ing. Adriana FLORESCU

Univ. Politehnica din București

Conducător de doctorat

Prof. Dr. Ing. Dan Alexandru STOICHESCU

Univ. Politehnica din București

Referent

Conf. Dr. Ing. Alin DĂNIȘOR

Univ. Maritimă Constanța

Referent

Conf. Dr. Ing. Ovidiu URSARU

Univ. Tehnică "Gheorghe Asachi" din Iași

Referent

BUCUREȘTI 2022

Cuprins

1. Introducere	1
1.1 Prezentarea domeniului tezei de doctorat	1
1.2 Scopul tezei de doctorat	2
1.3 Conținutul tezei de doctorat	2
2. Tehnologia de Măsurare Biochimică.....	5
3. Mixer Automat pe Trei Axe pentru Dispozitivele de Recoltare a Probelor de Gaze Sanguine.....	7
4. Metodă Optică pentru Îmbunătățirea Acurateței și Preciziei Analizoarelor de Biochimie pe Bază de Cuvete de Unică Folosință.....	9
5. Îmbunătățirea Preciziei Biochimiei prin Utilizarea Solidelor Totale Dizolvate și a Măsurătorilor Turbidimetrice	12
6. Sistem Automat de Curățare a Cuvetelor Reutilizabile cu Ultrasunete	14
7. Analizor Optic de Coagulare Bazat pe Algoritm de Achiziție a Imaginii	16
8. Analizor de Biochimie pe Bază de Reactivi Lichizi cu Algoritm de Achiziție de Imagini	17
9. Analizor Automat de Biochimie Uscată Bazat pe Achiziție de Imagini	19
10. Analizor de Hemoglobină fără Reactivi cu Algoritm de Achiziție de Imaginii	20
11. LabConcept – Platformă de Telemedicină și Sistem Informațional pentru Laborator	22
12. Concluzii.....	23
12.1 Rezultate obținute.....	24
12.2 Contribuții originale	26
12.3 Lista lucrărilor originale.....	28
12.4 Perspective de dezvoltare ulterioară.....	29
Selecție din Bibliografie	30

Capitolul 1

Introducere

Sănătatea este o stare de completă bunăstare fizică, mentală și socială și nu doar absența bolii de infirmitate [1]. Starea de sănătate este cel mai important indicator pentru fiecare persoană și de aceea trebuie efectuat un control de rutină pentru a se menține parametrii de sănătate la niveluri optime.

Diagnosticul medical reprezintă procedura prin care stabilește starea clinică a unui pacient. Această stare poate fi normală sau patologică, iar pentru investigarea acesteia trebuie luate în considerare rezultate măsurabile. Cea mai utilizată tehnică de diagnosticare medicală se bazează pe analiza de sângelui [2]. Rezultatele clinice privind analizele de sânge sunt de două tipuri: calitative și cantitative. În ambele cazuri se folosesc dispozitive și echipamente medicale dedicate și pe baza rezultatelor obținute corelate cu simptomele nemăsurabile și cu întregul istoric medical al pacientului, medicul poate încheia și stabili diagnosticul corespunzător.

Atât rezultatele calitative cât și cele cantitative trebuie să fie precise și exacte pentru a putea stabili un diagnostic corect. Testele medicale calitative pot avea doar două stări: negativ sau pozitiv. Pentru fiecare test calitativ există o anumită configurație de parametri. În cazul testării cantitative, se măsoară rezultatele unei probe de sânge, iar rezultatele raportate constau într-o valoare exprimată într-o unitate specifică prin care poate cuantifica diagnosticul în funcție de gravitatea acestuia.

Biochimia este o știință foarte importantă deoarece poate oferi informații complete și consistente despre activitatea celulară din corpul uman. Setul biochimic ajută la monitorizarea și diagnosticarea sistemelor cardiovascular, digestiv, respirator și excretor. Cu ajutorul acestuia, afecțiunile inimii, ficatului și a rinichilor pot fi prevenite prin diagnosticare și tratament prematur [4].

1.1 Prezentarea domeniului tezei de doctorat

Diagnosticul medical bazat pe analiza sângelui este metoda care măsoară și ajută la interpretarea parametrilor specifici ai probei de sânge. Există mai multe tipuri de investigații bazate pe analiza biochimică a sângelui [7]. Instrumentele pe care se măsoară parametrii biologici au o precizie și acuratețe specifică, ceea ce poate genera variații între rezultatele măsurate și starea clinică reală a pacientului testat.

Aria prezentei teze de doctorat se situează în domeniul de inginerie medicală deoarece este un domeniu interesant, iar comparativ cu IT, unde ritmul de cercetare și dezvoltare este în creștere exponențială, dezvoltarea echipamentelor medicale este puțin mai lentă. Un diagnostic corespunzător și corect conduce către un stil de viață mai bun și o viață sănătoasă mai îndelungată.

1.2 Scopul tezei de doctorat

Testele biochimice se efectuează pe instrumente dedicate care pot utiliza reactivi de testare uscați sau lichizi în procesul de măsurare, care pot fi, de asemenea, complet automatizate, semi-automatizate sau manuale.

Fiecare analizor are o acuratețe și o precizie specifică. Se pot observa diferențe între aceleași tipuri de instrumente pentru rezultatele aceleiași probe de sânge analizate. Există situații în care se înregistrează variații de rezultat între măsurători succesive pe același echipament.

Problema referitoare la precizia și acuratețea testelor biochimice este foarte frecvent întâlnită în zilele noastre deoarece instrumentele pot raporta rezultate fals pozitive sau fals negative din cauza unor probleme interne. Acest lucru poate induce în eroare actul medical și se poate administra un tratament necorespunzător și nociv deoarece un rezultat imprecis și neexact este irepetabil și ireproductibil. Fiecare test biochimic are un interval de normalitate și dacă rezultatele măsurate nu sunt repetabile sau reproductibile, un pacient sănătos poate fi situat în intervalul patologic dacă rezultatul raportat este mutat în mod fals în afara acestui interval de normalitate.

1.3 Conținutul tezei de doctorat

Teza constă în prezentarea unor metode originale transpuse în prototipuri hardware și software, concepute, proiectate și fabricate pentru îmbunătățirea acurateței și preciziei testelor biochimice, care sunt testate, comparate și analizate cu echipamente medicale comerciale reale.

Capitolul 2 constă într-o sinteză a domeniului abordat, pornind de la modelul teoretic al unui echipament de biochimie, explicându-se în detaliu componentele structurale și comportamentale ale acestuia. Metoda spectrofotometrică pornește de la legea Beer-Lambert [18], care este o reprezentare matematică a absorbanței luminii care trece printr-un mediu care conține o probă. În acest caz, proba este un amestec între sânge/ser și reactivul de analiză specific parametrului analizat. Structura unui analizor de biochimie automat este dezbătută în continuare, iar algoritmul de analiză, inclusiv procesele de calibrare și testare sunt prezentate de asemenea în detaliu în acest capitol. Acuratețea și precizia rezultatelor măsurate se stabilesc prin analiza unui material de control al calității cu concentrație cunoscută, calculându-se deviația standard (SD) și coeficientul de variație (CV), iar rezultatele obținute sunt comparate cu valorile atribuite de către producătorul controlului de calitate. După stabilirea punctului de start al tehnologiei biochimice actuale, următoarele capitole prezintă elementele hardware și software originale care contribuie la îmbunătățirea acurateței și preciziei pe baza aspectelor observate din experiența personală de zi cu zi în domeniul echipamentelor medicale.

Capitolul 3 prezintă un prototip automat de amestecare pe trei axe [9], care este un dispozitiv automat independent utilizat pentru a omogeniza conținutul unui dispozitiv de recoltare heparinat cu probă utilizat în măsurarea parametrilor de gazometrie sanguină. În protocolul unității spitalicești, înainte de analiză, siringa de probă trebuie amestecată

corespunzător pentru a elimina posibilitatea de sinterizare a ionilor într-o anumită regiune din seringă, fenomen ce poate genera un rezultat fals modificat. Cu ajutorul acestui dispozitiv, se elimină eroarea de rezultat la analizarea probelor de gaze din sânge și simplifică procedura de preprocesare a probei pentru operatorul analizorului.

Capitolul 4 prezintă o metodă optică de îmbunătățire a acurateței și preciziei parametrilor biochimici pentru analizoarele ce utilizează cuvete de unică folosință [10], care constă într-un subansamblu automat suplimentar ce este implicat în procesul de curățare a ferestrelor din cuarț ale cuvetelor de reacție. Există anumite analizoare de biochimie care au un sistem intern de fabricare a cuvetelor prin care se modelează cuvetele peste fereastra reutilizabilă. Măsurătoarea se realizează prin cuveta de unică folosință, iar particulele reziduale de pe fereastra cuvetei pot genera o modificare a absorbției în timpul măsurării spectrofotometrice, iar la finalul măsurătorii, rezultatul este fals alterat. Pentru a preveni această situație, ferestrele cuvetelor trebuie curățate manual periodic. Prototipul sistemului de curățare automată a ferestrelor cuvetelor este instalat înaintea sistemului de fabricare a cuvelor, menținându-se astfel ferestrele cuvetelor curate, fără particule reziduale prezente între ciclurile de măsurare, economisindu-se totodată și timpul necesar operatorului de a curăța ferestrele cuvetelor.

Capitolul 5 prezintă un sistem multifuncțional de măsurare a totalului de solide dizolvate (TDS) și a turbidității apei [11], care este un subansamblu suplimentar cu dublu rol ce detectează concentrația de solide dizolvate în sistemul de alimentare cu apă al analizorului, montat înaintea rezervorului de apă. De asemenea, acest dispozitiv măsoară și atenuarea unui fascicul de lumină transmis prin apă și captat de către un senzor turbidimetric. O apă impură generează o modificare a absorbției la nivelul măsurătorilor spectrofotometrice ce au loc în cuvetele analizorului, unde apa deionizată (DI) este folosită pentru atât pentru curățarea subansamblelor, cât și pentru diluția sau prepararea amestecului de probă și reactiv.

Capitolul 6 descrie un sistem automat de curățare cu ultrasunete [12], care este un subansamblu suplimentar pentru analizoarele de biochimie pe bază de cuvete reutilizabile, care constă într-un prototip implicat în procesul de spălare a cuvetelor. Într-un analizor de biochimie, cuveta acționează ca un mediu suport pentru probă și reactiv, unde sunt amestecate și incubate corespunzător înainte de măsurarea spectrofotometrică. Cuvetele din cuarț sunt reutilizabile, ceea ce înseamnă că după fiecare probă, acestea sunt spălate cu apă DI, eliminându-se elementele reziduale. A fost observat un fenomen de interferență inter-probe, care poate modifica ușor precizia și acuratețea rezultatelor. Pentru a contracara și a minimiza acest efect secundar nedorit, pe stația de spălare a fost montat un traductor cu ultrasunete însoțit de circuitul său de acționare declanșat de senzorul optic al brațului de spălare, atunci când stația este în poziția de curățare.

Cu excepția subansamblurilor prezentate, care echipează adițional analizoarele de biochimie în vederea îmbunătățirii acurateței și preciziei, a fost dezvoltată și o metodă digitală nouă și ieftină pentru măsurarea concentrației parametrilor biochimici specifici. Este vorba de un dispozitiv multifuncțional cu achiziție de imagini care poate fi utilizat în diverse domenii biochimice, cum ar fi hematologia, gazometria sanguină și coagularea.

Capitolul 7 prezintă un prototip independent de analizor portabil de coagulare optică [13] utilizat pentru măsurarea timpului de protrombină și a INR care utilizează o cameră USB pe post de detector. Procesul de măsurare începe imediat după pipetarea reactivului PT în proba preincubată poziționată în locașul specific, fapt ce declanșează o modificare a absorbantei substanței direct proporțională cu timpul de coagulare. Camera captează imagini în fiecare secundă de la începutul procesului de măsurare, iar după ce proba de sânge reacționează cu reactivul PT, procesul de coagulare începe, iar acesta se finalizează în momentul în care exista o diferență de absorbanta între imaginea inițială și cea finală. Numărul de imagini achiziționate corespunde numărului de secunde necesare finalizării procesului de coagulare, obținându-se astfel rezultatul PT.

Capitolul 8 ilustrează un analizor portabil de biochimie care folosește achiziția de imagini [15]. Este un analizor de biochimie cu reactivi lichizi care declanșează reacția fotometrică, iar metoda este similară cu cea a analizorului de coagulare, folosind aceeași platformă hardware. Camera ajută la măsurarea absorbției care este necesară la calculul concentrației unor parametri biochimici specifici, coroborat cu curba de calibrare determinată experimental, din reacția care are loc între probă și reactiv după terminarea timpului de incubare. Media absolută a pixelilor din imaginea finală este calculată, iar în funcție de curba de calibrare, se obține astfel concentrația parametrului analizat.

Capitolul 9 prezintă un prototip de analizor portabil automat de biochimie care utilizează teste uscate [16], folosind aceeași cameră digitală utilizată în experimentele anterioare pentru achiziția de imagini. În acest caz, proba este pipetată automat peste testul uscat în cadrul analizei parametrilor biochimici. Sistemul este calibrat experimental folosind un calibrator lichid, obținându-se o curbă de calibrare utilizată ulterior în procesul de măsură.

Capitolul 10 prezintă un prototip de analizor de hemoglobină fără reactivi [14] care măsoară cantitatea de hemoglobină dintr-o picătură de sânge capilar folosind aceeași platforma hardware ca în cazul PT/INR și a parametrilor de biochimie lichidă. Aceeași cameră digitală este utilizată pentru a măsura concentrația de hemoglobină, cu excepția părții software, care diferă, fiind adaptată la metoda de măsură propusă. Imaginea este achiziționată după ce cuveta care conține proba este poziționată în locașul fix, iar concentrația este calculată din histograma care indică numărul de pixeli dominanți pe canalul roșu al imaginii. Concentrația de hemoglobină este direct proporțională cu absorbția luminii care este transmisă prin probă.

Teza continuă cu Capitolul 11, care prezintă o platformă software experimentală de telemedicină care analizează rezultatele analizelor încărcate pe o perioadă predefinită. Software-ul poate încărca rezultate direct de la analizoarele conectate prin sistemul informatic de laborator (LIS). În cazul unui analizor cantitativ de HbA1c care utilizează benzi de test cu imunofluorescență cu flux lateral, prelungirea accidentală a timpului de incubare poate modifica precizia și acuratețea hemoglobinei glicozilate (HbA1c) [17]. Rezultatele de la echipamentele de monitorizare la domiciliu sunt încărcate în aplicație prin LIS și orice abateri ale rezultatelor de la valoarea reală a acestora este analizată și înregistrată. Dacă rezultatele au fost în limite normale până în momentul testării, cel mai probabil este o problemă de precizie și acuratețe a analizorului în momentul testării. Dacă nu, trebuie efectuată o consultație medicală profesională.

În Capitolul 12 sunt prezentate contribuțiile personale privind îmbunătățirea acurateței și preciziei, care reprezintă studiul de caz privind subiectul tezei, analizând fenomenele care generează rezultate improprii și inexacte, descrierea bazelor biochimice, a noului concept hardware/software, precum și detalii despre proiectarea prototipurilor prezentate. Ideile prototipice sunt comparate cu echipamentele existente, din punct de vedere teoretic și însoțite de rezultatele experimentale în paralel cu echipamentele de referință disponibile pe piață. Fiecare subsistem este explicat atât din punct de vedere hardware cât și software, teza încheindu-se cu concluziile finale, cu perspectivele viitoare de dezvoltare și cu referințele bibliografice.

Capitolul 2

Tehnologia de Măsurare Biochimică

Precizia și acuratețea în ingineria medicală, mai ales atunci când sunt implicați parametri de analiză a sângelui, sunt indicatori foarte importanți în stabilirea și certificarea performanței analizatoarelor de biochimie. Rezultatele măsurătorilor sunt influențate de temperatură (temperatura ambientală a încăperii în care este instalat echipamentul, temperatura probei și temperatura internă a instrumentului), impuritățile care sunt prezente în apa deionizată, pelicule optice pe canalele de măsurare, dezaliniere ale ansamblelor robotice, pipetarea necorespunzătoare cauzată de defecțiuni hidraulice (lipsa lichidului hidraulic, trasee neetansate necorespunzător) și a stării reactivilor, controalele de calitate (QC) și a calibratorilor (stabilitatea canalului deschis, data expirării, reconstituirea necorespunzătoare a serului liofilizat și a sângelui integral, condițiile de depozitare) [21].

Precizia reprezintă cât de aproape este o valoare măsurată față de valoarea reală, iar precizia este exactitatea măsurătorii [22]. În general, există patru cazuri diferite privind precizia și acuratețea, care se aplică și la echipamentele de măsurare a parametrilor sanguini, așa cum sunt prezentate în Figura 2.1:

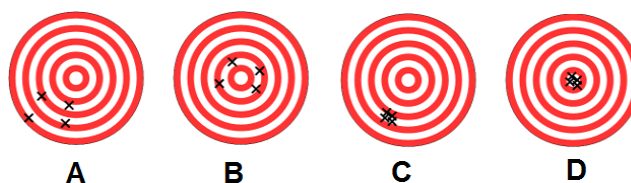


Figura 2.1 Exemplificarea cazurilor de acuratețe și precizie.

Referitor la cazul de înaltă precizie și acuratețe scăzută, trebuie precizat că fiecare test biochimic are propriul interval de normalitate. Intervalul de normalitate este o referință care delimitează rezultatul măsurat între normal și patologic [23]. Dacă rezultatul

măsurat este situat în intervalul normal, pacientul este sănătos și, în mod analog, fiecare rezultat aflat în afara intervalului de normalitate, va încadra starea de sănătate a pacientului testat într-o patologie specifică. În cazul preciziei ridicate și acurateței scăzute, rezultatele măsurate pentru aceeași probă sunt repetabile, dar conferă abateri de la valoarea clinică reală, clasificând un pacient sănătos într-o falsă patologie datorită preciziei scăzute, poziționând rezultatul măsurat în afara intervalului de normalitate, chiar dacă valorile clinice reale sunt normale. Acest scenariu se aplică pentru valorile care sunt aproape de extremitățile limitei normale a intervalului de normalitate. În Figura 2.2 sunt reprezentate intervalele unui instrument biochimic.



Figura 2.2 Domeniile de măsurare ale unui analizor biochimic.

Un analizor de biochimie are în structura sa un subansamblu optic care măsoară absorbanta unui amestec dintre proba testată (ser, sânge integral sau plasmă) și reactiv după ce timpul de incubare și reacția a atins un punct final. Acest ansamblu optic se numește spectrofotometru și folosește o sursă de lumină pentru a măsura concentrația unui parametru biochimic dintr-un fluid prin analiza cantității de lumină transmisă prin cuveta care conține fluidul respectiv.

Transmitanța este parametrul care indică modul în care lumina incidentă ar putea fi transmisă prin substanța testată. După cum se poate observa în Figura 2.4 unde este prezentat modelul Beer-Lambert, intensitatea luminii transmise este mai mică decât lumina incidentă deoarece o parte din aceasta a fost absorbită de către substanță.

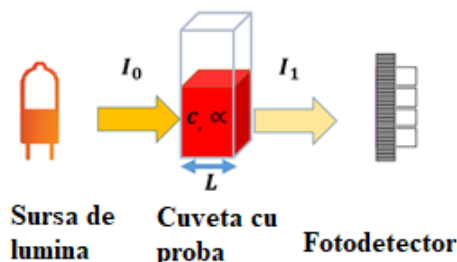


Figura 2.3 Modelul Beer-Lambert.

Transmitanța T variază invers proporțional și într-o manieră logaritmică în raport cu concentrația substanței testate, așa cum se arată în Figura 2.5, unde I_i este intensitatea luminii incidente și I_t este intensitatea luminii transmise [31]:

$$T = I_t / I_i \quad (2.5)$$

unde A reprezintă absorbanta, α este coeficientul de absorbantă, c este concentrația substanței testate și L este lungimea cuvetei care conține substanța testată.

Dependența logaritmică a absorbantei în raport cu concentrația este:

$$A = -\lg(T) \quad (2.9)$$

Dacă (2.9) se combină cu (2.5), absorbanta exprimată în conformitate cu legea Beer-Lambert va fi:

$$A = -\lg(I_t/I_i) \quad (2.10)$$

Legea Beer-Lambert este cea mai fundamentală abordare în ceea ce privește tehnologiile de măsurare prezente în instrumentele de analiză a sângelui și reprezintă procentul de lumină incidentă absorbită printr-un mediu care conține proba testată în raport cu concentrația componentelor acesteia și cu lungimea căii optice a cuvetei în care se află proba.

Ținta acestei teze este de a contribui la scăderea abaterii standard și a coeficientului de variație prin dezvoltarea unor noi metode de măsurare sau subansambluri adjuvante care minimizează erorile de măsurare și îmbunătățesc acuratețea și precizia analizelor biochimice.

Capitolul 3

Mixer Automat pe Trei Axe pentru Dispozitivele de Recoltare a Probelor de Gaze Sanguine

Capitolul descrie un prototip nou și original de mixer pe trei căi care este utilizat pentru dispozitive de recoltare de diferite tipuri, capilare sau seringi, unde coagularea se poate declanșa după recoltare.

Prin utilizarea dispozitivului de recoltare pe trei axe se asigură faptul că toți ioni și celelalte componente ale sângelui din interiorul seringii sau capilarului sunt dispuse omogen și prin mixare nu are loc sedimentarea particulelor la marginea recipientului, proces ilustrat în Figura 3.5. Când proba de sânge este aspirată de către analizor, aceasta parcurge traseul fluidic compus din senzori succesivi pentru fiecare analit. De asemenea, concentrația de hemoglobină va fi măsurată tot din aceeași proba de sânge uniformizată prin co-oximetru, fiind mai sensibilă din cauza componentelor sale.

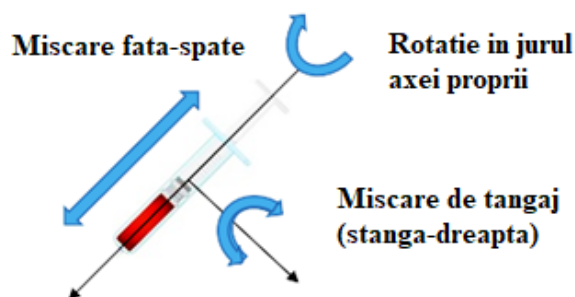


Figura 3.1 Mișcarea prototipului atunci când procesul de amestecare este declanșat.

O probă de sânge neomogenizată poate genera concentrarea eritrocitelor într-un anumit loc și poate să apară fenomenul de separare a plasmei, care se traduce într-o modificare a absorbției sau impedanței. Rezultatele experimentale pentru fiecare parametru relevant privind cele trei probe succesive analizate neamestecate și, de asemenea, amestecate automat timp de 20 de secunde cu ajutorul prototipului sunt prezentate în Figura 3.10.

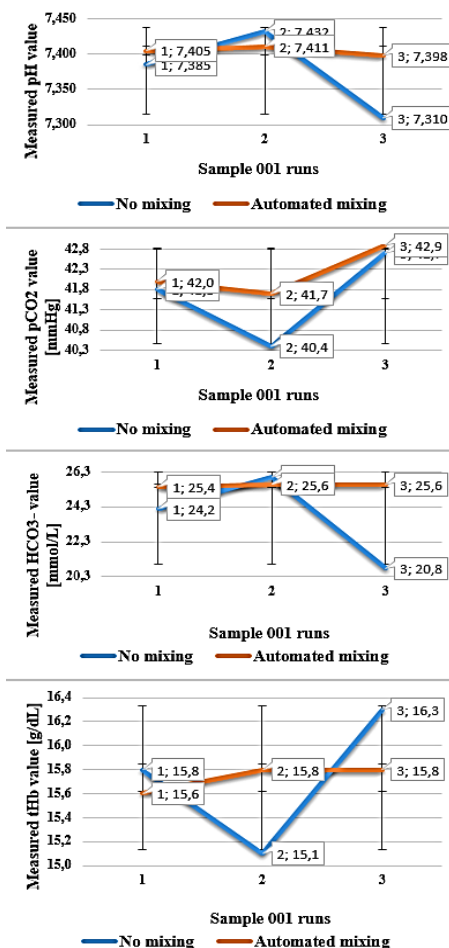


Figura 3.2 Graficele rezultatelor măsurate pentru probele de sânge omogenizate și respectiv neuniformizate automat.

După cum se poate observa, coeficientul de variație a fost cu aproximativ 1% mai mic în cazul mixerului automat decât în cazul unei probe neomogenizate. Diferența majoră în ceea ce privește coeficientul de variație (CV) a fost observată în cazul HCO_3^- , fiind o diferență medie între probele omogenizate și cele neomogenizate de 6%, iar dacă există o mică eroare în ceea ce privește rezultatele măsurate a pCO_2 și pH , poate fi generată o eroare și mai mare în rezultatul raportat pentru HCO_3^- , care este calculat cu ajutorul acestor parametri. Amestecând proba automat pe trei axe simultan și, de asemenea, în direcții opuse la capătul cursei, folosind rotația accelerată în jurul axei proprii, se asigură un proces de amestecare mai performant. Un alt avantaj principal este că mixerul pe trei axe este compatibil cu toate tipurile de seringi sau capilare, scăzând drastic costurile cu aceste dispozitive de recoltare.

Capitolul 4

Metodă Optică pentru Îmbunătățirea Acurateței și Preciziei Analizelor de Biochimie pe Bază de Cuvete de Unică Folosință

Cea mai frecventă condiție de analiză care influențează acuratețea unui rezultat obținut pe un analizor de biochimie care utilizează cuvete de unică folosință este obstrucția luminii care este generată de acoperirea totală sau parțială a mecanismelor optice. Capitolul 4 descrie un prototip automat de curățare care folosește trei subansambluri principale: o pompă de apă, care este conectată la rezervorul de apă al analizorului, un motor de curent continuu care are o perie atașată la rotor și un ansamblu rezistiv ce are rolul de uscare a lichidul rămas după procesul de pierere, așa cum se arată în schema din Figura 4.10.

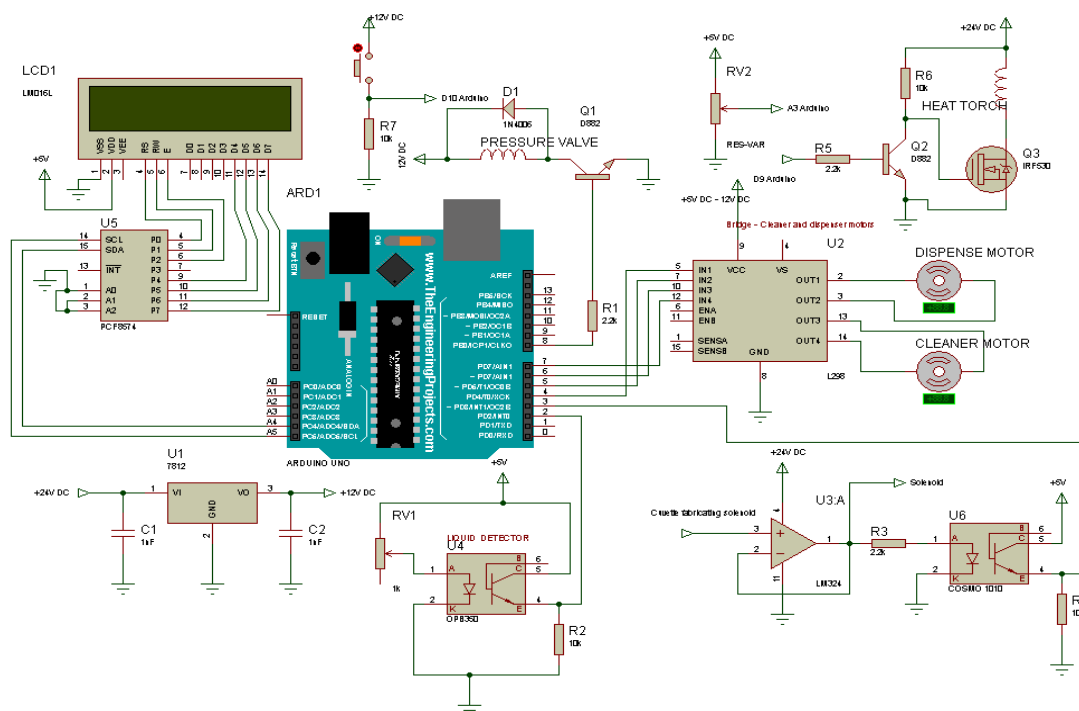


Figura 4.1 Schema prototipului de curățare automată a ferestrelor cuvetei.

Când a început experimentul (3 septembrie 2016), coeficientul de variație a fost aproape același pentru ambele niveluri QC în cazul bilirubinei totale (TBI), 4,07% (pentru prima curățare manuală) și 3,04% (pentru a doua curățare manuală) pentru QC nivelul 1, 5,71% (pentru prima curățare manuală) și 5,05% (pentru a doua curățare manuală) pentru QC nivelul 2 și bilirubină directă (DBI), 6,41% (pentru prima curățare manuală) și 5,97 % (pentru a doua curățare manuală) pentru QC nivel 1, 3,11% (pentru prima curățare manuală) și 13,03% (pentru a doua curățare manuală) pentru QC nivel 2. În cazul curățării automate folosind prototipul, același condițiile de testare tind să fie menținute și acest fapt este demonstrat de coeficientul de variație al rezultatelor măsurate, care este mai mic decât în cazul curățării manuale periodice, 0,96% pentru TBI pentru primul nivel QC și 1,03% pentru al doilea nivel QC și 3,83% pentru DBI pentru primul nivel de QC și 1,81 pentru al doilea nivel de QC.

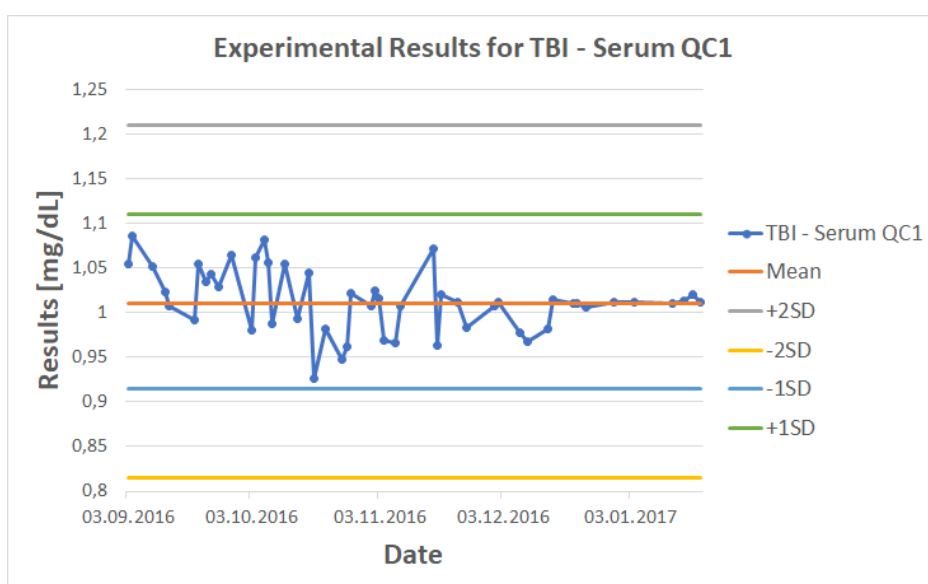


Figura 4.2 Rezultatele experimentale ale TBI pentru serul QC1.

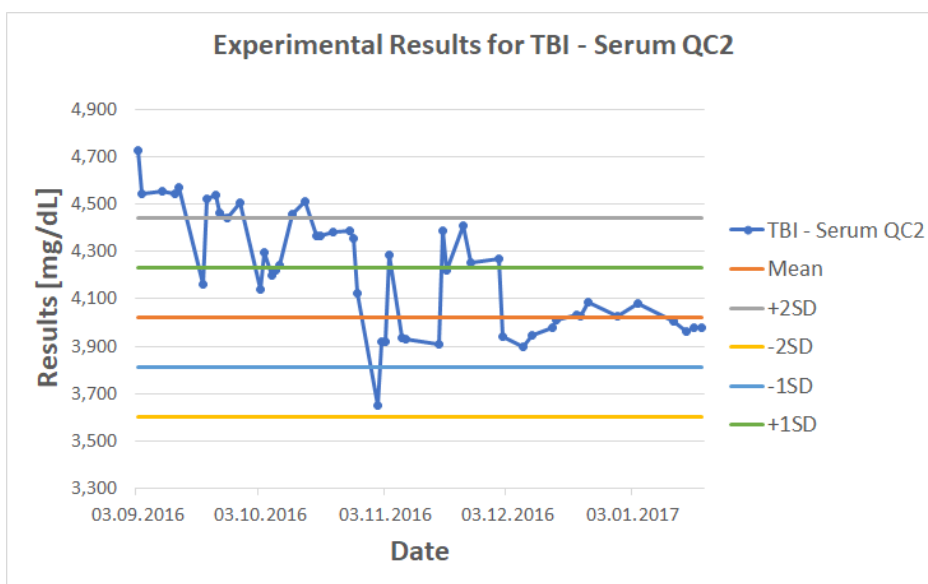


Figura 4.3 Rezultatele experimentale ale TBI pentru serul QC2.

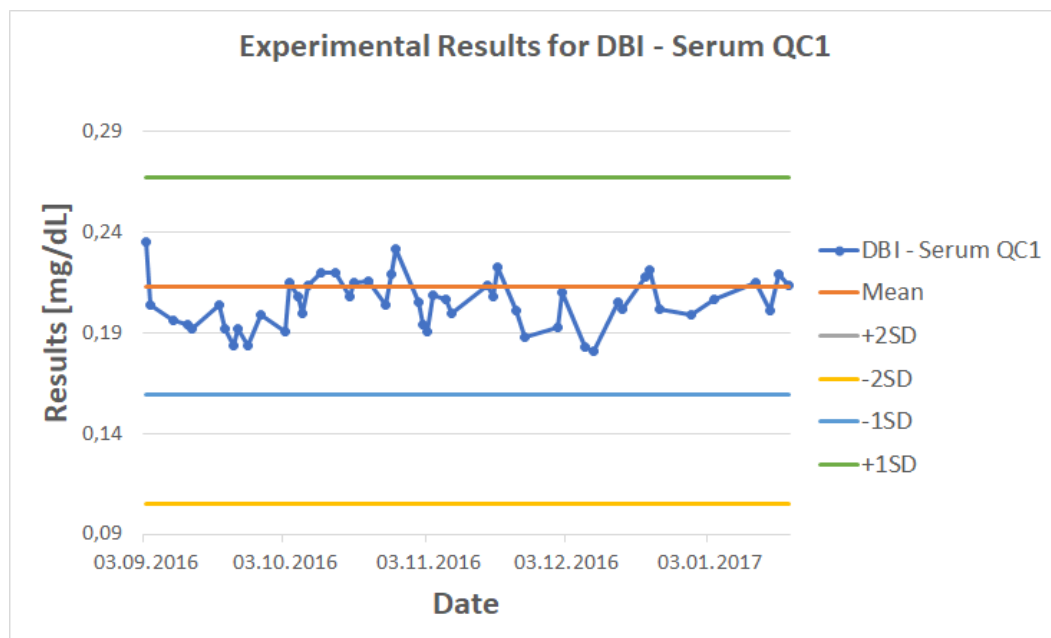


Figura 4.4 Rezultatele experimentale ale DBI pentru serul QC1.

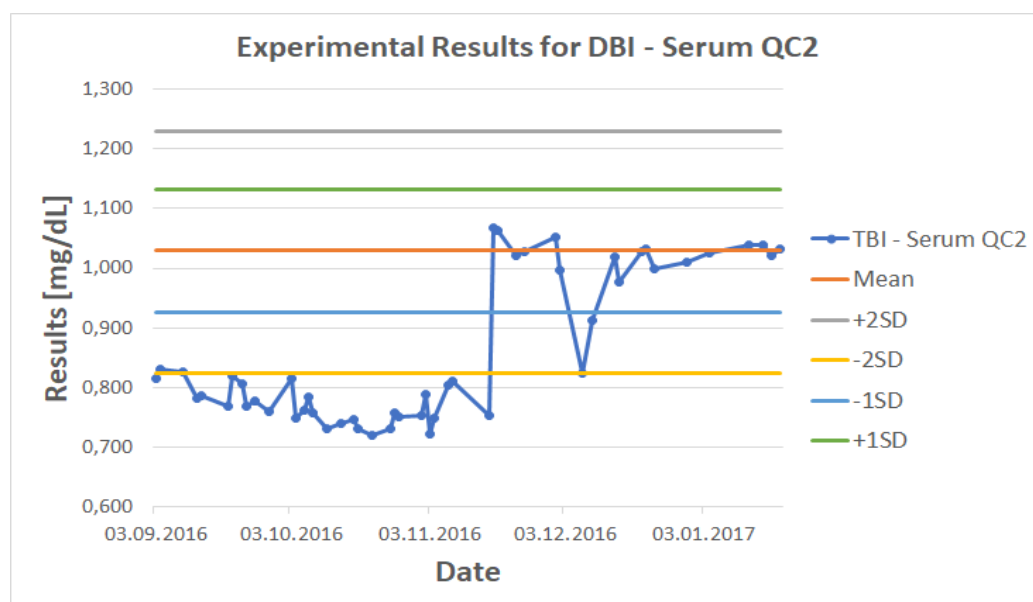


Figura 4.5 Rezultatele experimentale ale DBI pentru serul QC2.

Pentru a asigura rezultate mai precise și cu acuratețe mai mare, în cazul în care subsistemele analizorului sunt în condiții optime, este imperativ necesar un mecanism automat de curățare a ferestrelor cuvetelor deoarece va fi foarte util nu numai pentru menținerea aceleiași condiții de analiză de fiecare dată când se execută o probă, ci și pentru a ajuta personalului medical să economisească timp și muncă în vederea curățării periodice a ferestrelor cuvetelor din sistem, eliminând erorile introduse în timpul funcționării.

Capitolul 5

Îmbunătățirea Preciziei Analizelor Biochimice prin Măsurări Turbidimetrice și a Totalului Solidelor Dizolvate

Acest capitol descrie efectele utilizării accidentale a apei deionizate (DI) necorespunzătoare la linia de alimentare a analizorului de biochimie. Precizia și îmbunătățirea rezultatelor testate sunt îmbunătățite prin utilizarea unui nou prototip care măsoară totalul solidelor dizolvate (TDS) și turbiditatea apei DI, prezentate în Figura 5.3.

Noutatea constă în existența unui astfel de dispozitiv combinat de măsurare ca subansamblu suplimentar, conectat la tubul de admisie al apei DI al analizorului, care măsoară constant calitatea apei furnizate. Apa este folosită de analizorul biochimic pentru a curăța acele montate pe brațele robotizate, pentru a dilua probe și pentru a curăța cuvetele de deșeurile reziduale post analitice.

Un avantaj major atunci când se utilizează prototipul turbidimetrului cu TDS este reprezentat de caracteristica de monitorizare continuă conferită de ecranul LCD 2x16 și alarma de atenționare ajustată experimental atunci când nivelul de turbiditate și particulele TDS depășesc limita normală.

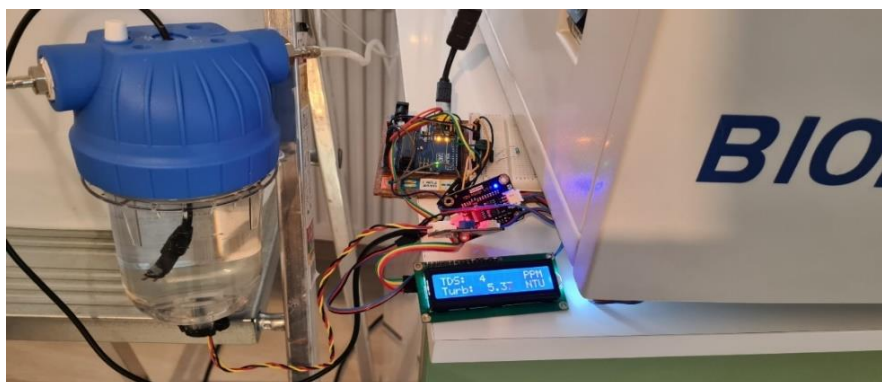


Figura 5.1 Prototipul turbidimetrului cu TDS.

Experimentul a fost efectuat pentru două tipuri de apă care au fost amorsate succesiv în analizorul de biochimie. Primul tip este apa DI medicală ultrapură cu TDS de 4 ppm și 5 unități de turbiditate nefelometrică (NTU), iar al doilea este apa de la robinet cu TDS de 334 ppm și 29 NTU. Au fost efectuate trei măsurători succesive pentru calciu,

glucoză, fosfor anorganic, colesterol și trigliceride pentru fiecare nivel de QC pe ambele tipuri de apă.

Coeficienții de variație pentru fiecare nivel de QC au fost reprezentați grafic, așa cum se prezintă în Figura 5.7, pentru a avea o mai bună abordare vizuală în ceea ce privește precizia și acuratețea rezultatelor. După cum s-a observat din rezultatele experimentale, prezența ionilor de calciu și fosfor anorganic în apa de la robinet generează o concentrație fals crescută a rezultatelor datorită TDS-ului mare cu aproximativ 5% la ambele niveluri QC. În cazul colesterolului, trigliceridelor și glucozei, ionii prezenți nu sunt în concentrație mare, iar rezultatele sunt ușor crescute din cauza stării turbide a apei. Coeficientul de variație când se utilizează apa ultra pură (UPW) este sub CV-ul atribuit din foaia de inserție a QC, cu o scădere semnificativă în cazul glucozei, colesterolului și fosforului anorganic. Coeficientul de variație la utilizarea apei de la robinet este aproape dublu decât în cazul utilizării apei ultra pure DI.

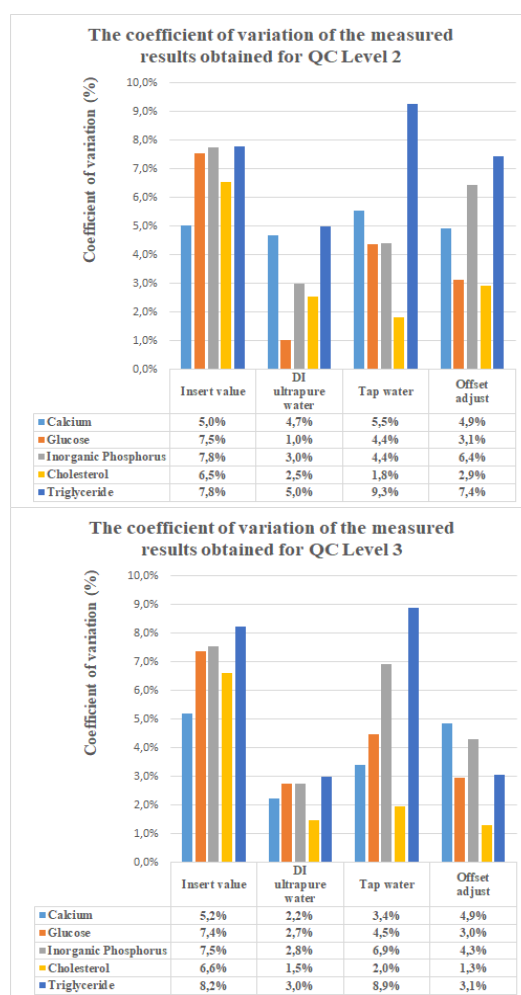


Figura 5.2 Coeficientul de variație pentru rezultatele măsurate pe serurile QC2 și QC3.

Prin utilizarea acestui prototip pe scară largă, precizia și acuratețea rezultatelor biochimice sunt sporite și oferă rezultate sigure în ceea ce privește rezultatele raportate deoarece calitatea apei este monitorizată permanent și dacă pragul de siguranță este depășit, prototipul semnalizează vizual și acustic.

Capitolul 6

Sistem Automat de Curățare a Cuvetelor Reutilizabile cu Ultrasunete

Acest capitol prezintă un prototip nou și original utilizat pentru curățarea suplimentară a cuvetelor, iar rezultatele experimentale sunt comparate cu valorile atribuite de producător atunci când se utilizează și nu se utilizează noul subansamblu ultrasonic. Prototipul constă într-un circuit oscilant care generează un semnal de 40 kHz aplicat unui traductor ultrasonic care se activează atunci când stația de spălare a cuvetelor de la analizorul de biochimie de laborator coboară în poziția de spălare. Traductorul cu ultrasunete este montat pe brațul de spălare și fixat cu rășină, așa cum se arată în Figura 6.1.

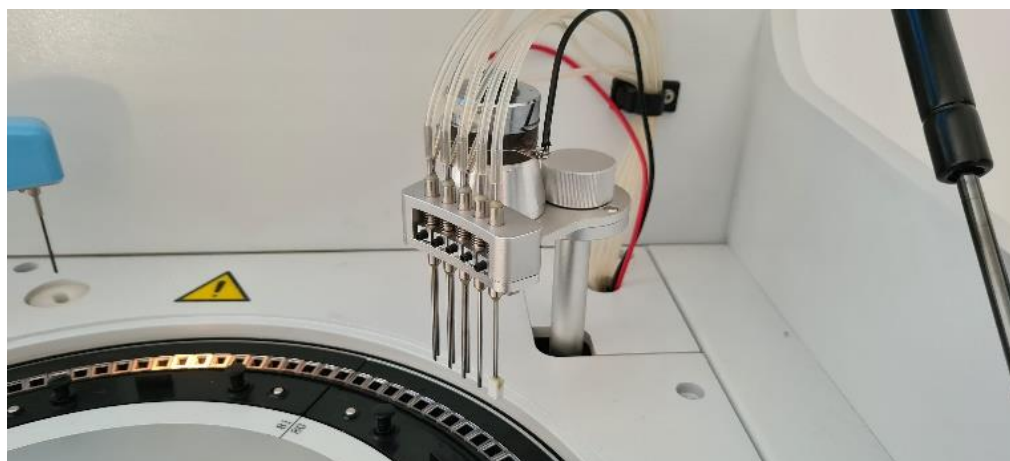


Figura 6.1 Sistemul automat de curățare a cuvetelor cu ultrasunete.

Oscilatorul este format din driver-ul semi-punte auto-oscilant IR2153 care are un grup RC pentru a controla frecvența formată de un condensator de 500nF împreună cu un potențiomtru de 10k Ω înseriat cu un 22k Ω . Traductorul cu ultrasunete are o capacitate statică de 4nF și trebuie să oscileze la 40 kHz, astfel un inductor de 3,9 mH este conectat în serie între traductor și primarul transformatorului de ferită EI-28. Semi-puntea controlează 2 tranzistoare de putere IRFZ44N conectate într-o configurație push-pull, cu diode de protecție suplimentare. Când circuitul a fost alimentat de la o sursă externă de laborator, s-au observat vârfuri de comutație de înaltă frecvență și tensiune, așa cum se arată în Figura 6.5. Amplitudinea medie a vârfurilor a fost de 160 V și a fost adăugat un circuit snubber. Circuitul oscilant este activat printr-un releu comandat de optocuplorul conectat la brațul stației de spălare.

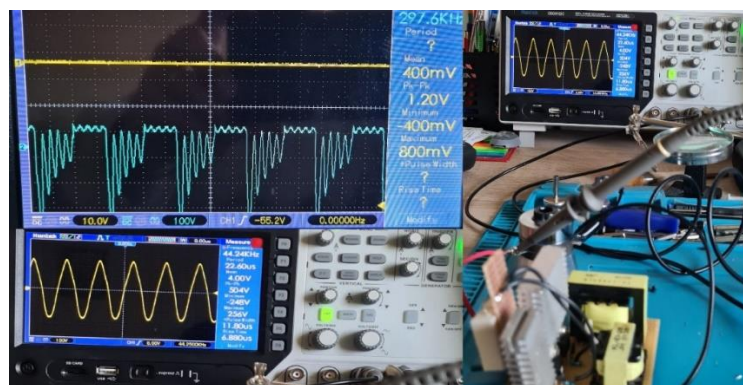


Figura 6.2 Prototipul experimental testat.

Experimentul, care constă în analiza probelor cu și fără aparatul de curățare cu ultrasunete, a fost realizat cu controlul de calitate (QC) bi-nivel de sânge artificial, Randox Human Assayed Multi-Sera – Nivelul 2 (lot 1199UN) și Nivelul 3 (lot 949UE), pentru testele de biochimie cu un singur punct final pe analizorul de biochimie. Rezultatele măsurate au fost, de asemenea, reprezentate în diagrame cu coloane 2D pentru a efectua o inspecție vizuală mai bună atunci când se compară performanța sistemului de curățare cu ultrasunete cu cel de bază. În Figura 6.9 sunt reprezentați coeficienții de variație pentru fiecare test efectuat în ambele cazuri, pentru fiecare nivel de control de calitate.



Figura 6.3 Coeficienții de variație pentru probele QC analizate cu și fără prototip.

După cum se poate observa, coeficientul de variație pentru măsurătorile folosind prototipul a fost cu cel puțin 0,5% mai mic decât în cazul curățării de bază pentru toți parametrii analizați. În cazul fosforului anorganic, acuratețea și precizia au fost îmbunătățite chiar și cu aproximativ 3% din punct de vedere al CV-ului acestuia. Valoarea medie a diferenței dintre CV-ul curățării de bază și curățarea cu ultrasunete pentru toate rezultatele măsurate pe nivelul QC 2 este de 1,5% și pe nivelul QC 3 este de 1,6%, ceea ce înseamnă că acuratețea și precizia testelor biochimice efectuate pe analizorul de laborator de biochimie pe bază de cuvette reutilizabile a fost îmbunătățită cu aproximativ 1,5% prin utilizarea sistemului automat de curățare a cuvetelor cu ultrasunete în comparație cu sistemul său standard de curățare.

Capitolul 7

Analizor Optic de Coagulare cu Algoritm de Achiziție de Imagini

Cele mai de bază analizoare point-of-care de pe piață folosesc următoarele tipuri de tehnologii de măsurare:

1) *Metoda electrochimică*: biosenzorul constă într-o bandă de testare cu două contacte electronice plane, conectate la un substrat electroactiv care conține reactivi uscați. Proba de sânge este aspirată prin capilaritate și când ajunge la substratul electroactiv care conține reactivul, produce un curent care este analizat de echipamentul de coagulare și procesat de algoritmul său intern [79];

2) *Metoda fotomecanică*: constă într-un test care conține activatorul de cheag, iar sângele este aspirat în canalul de reactiv printr-un rotor de amestecare. Cronometrul pornește atunci când proba este aspirată, iar când cheagul este preluat de rotor, blocând lumina incidentă, înseamnă că proba s-a coagulat și cronometrul se oprește [81].

În acest capitol este prezentat un analizor de coagulare portabil cu prelucrare de imagini care se bazează pe detectarea variației de absorbanță a probei când aceasta coagulează. Spre deosebire de tehnologia electrochimică și metoda fotomecanică, există o legătură directă între intensitatea detectată și intensitatea emisă a luminii. Acest prototip este format dintr-un LED planar cu temperatura de culoare de 4300K drept sursă de lumină, iar în capătul diametral opus al acestuia a fost instalată o minicamera USB CMOS, chiar deasupra microtainerului ce conține proba.

Tehnologia prototipului de coagulare cu procesare a imaginii este prezentată în Figura 7.9.

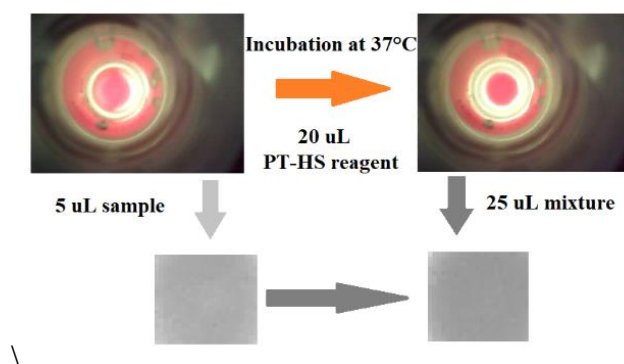


Figura 7.1 Procesul de analiză a coagulării prin achiziție de imagini.

Studiul a fost efectuat pe trei pacienți diferiți. Au fost colectate două seturi de probe de la același pacient pentru a analiza și calcula abaterea standard precum și coeficientul de variație între măsurătorile succesive pe un analizor fotomecanic de

coagulare și pe prototipul de coagulare optică care utilizează algoritmul de procesare a imaginii. Prin compararea cu analizorul de referință, se observă că CV-ul mediu pentru PT este de aproximativ 4,95% în cazul măsurătorilor efectuate pe prototipul cu achiziție de imagini și de 3,98% în cazul analizorului de coagulare fotomecanic.

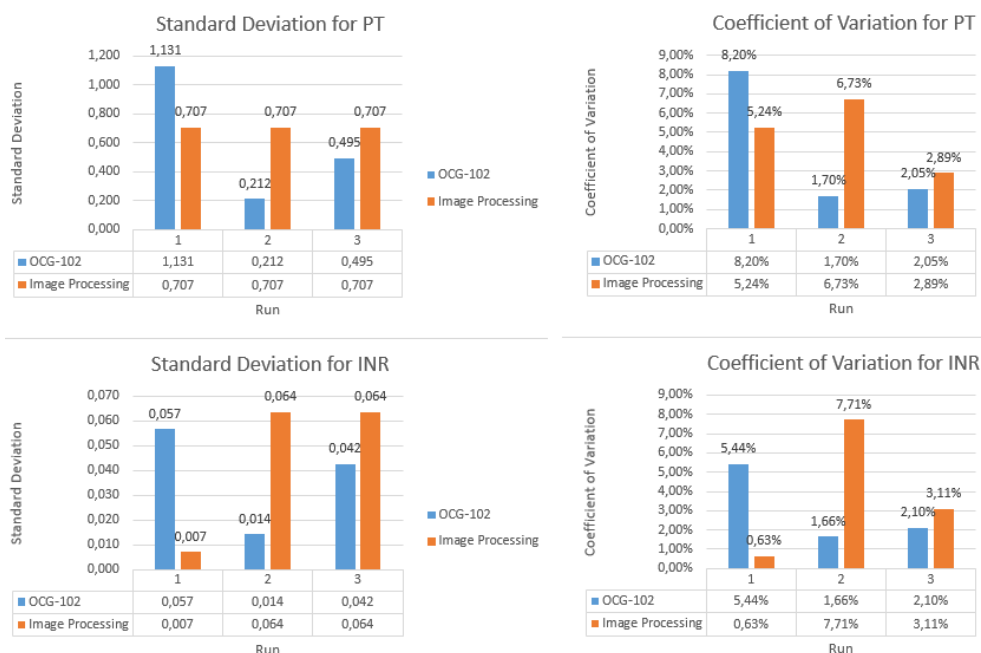


Figura 7.2 Graficele de variație pentru PT și INR ale prototipului portabil de achiziție de imagini în comparație cu analizorul de referință.

Capitolul 8

Analizor de Biochimie pe Bază de Reactivi Lichizi cu Algoritm de Achiziție de Imagini

Pornind de la metoda de achiziție a imaginilor dezbătută anterior, acest capitol prezintă un nou analizor portabil de achiziție de imagini dezvoltat pentru a măsura concentrația parametrilor biochimici pe aceeași platformă prototipică prin utilizarea diferitelor tipuri de reactivi lichizi și software adaptat la aceștia. Software-ul prototipului de analizor biochimic este prezentat în Figura 8.6. Câmpul „Timp scurs” se referă la perioada care a trecut de la începutul incubăției. Imaginea finală este achiziționată după ce timpul scurs este egal cu timpul de incubăție predefinit. Când acesta atinge 10 minute, imaginea finală

este achiziționată, iar concentrația este calculată conform legii Beer-Lambert adaptată la metoda curentă. Calculele au fost făcute cu 2 zecimale pentru a crește acuratețea și precizia rezultatelor afișate.

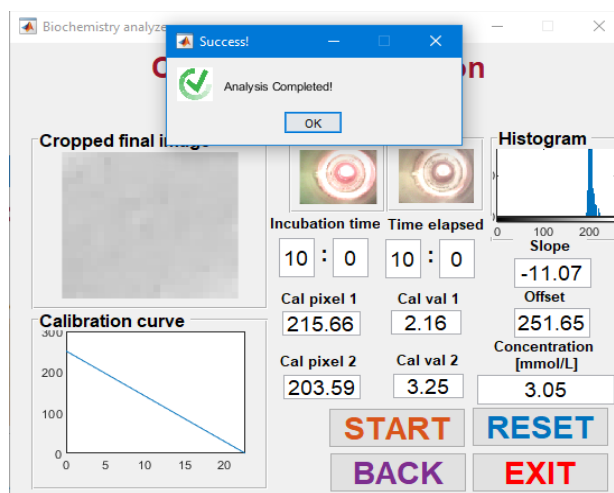


Figura 8.1 Interfața de măsurare a analizorului biochimic pentru Ca.

În experiment s-au folosit două niveluri de ser artificial deoarece orice probe colectate de la pacienți ar implica un acord din partea acestora și, de asemenea, o metodă de preprocesare pentru obținerea serului din sânge integral ar fi necesară și suplimentară.

Fiecare probă a fost analizată succesiv de trei ori pentru a calcula corect SD și CV-ul rezultatelor obținute pe ambele instrumente.

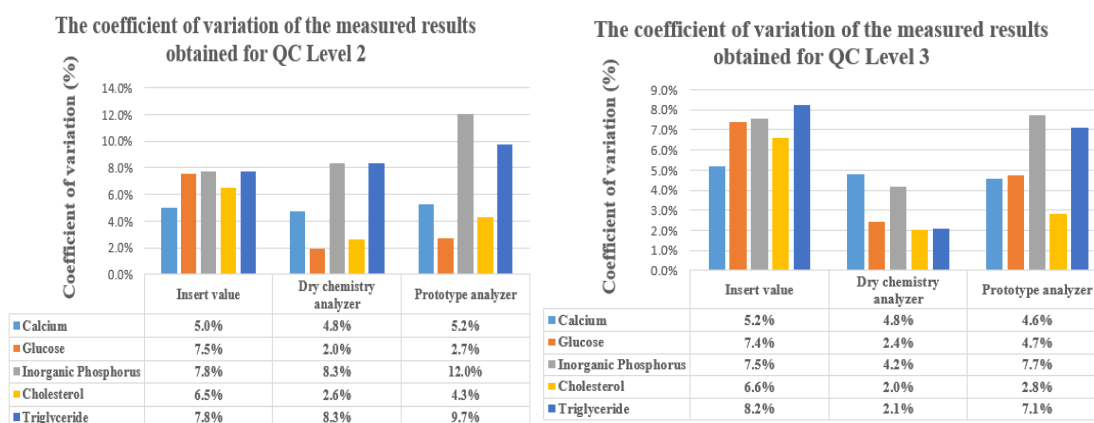


Figura 8.2 Coeficienții de variație pentru rezultatele măsurate pe ambele instrumente și pentru ambele niveluri QC.

Rezultatele obținute în cazul fosforului anorganic și al trigliceridelor sunt ușor mai crescute decât rezultatele pentru aceiași parametri obținuți pe analizorul de biochimie de referință cu benzi de testare cu reactivi uscați. Comparând CV-ul rezultatelor măsurate pe analizorul prototip cu CV-ul valorilor țintă din prospectul QC-ului, se poate afirma că numai pentru QC normal nivelul 2 rezultatele sunt mai mari cu doar 1,9% în cazul

trigliceridelor și cu doar 4,2% în cazul fosforului anorganic. Când se compară rezultatele patologice pentru nivelul QC3, CV-ul rezultatelor măsurate este comparabil cu CV-ul rezultatelor țintă. Aceasta înseamnă că în cazul unui pacient cu stare patologică de sănătate, rezultatele măsurate sunt în concordanță cu starea sa clinică și nu sunt fals pozitive atunci când sunt măsurate pe prototip.

Performanța prototipului este comparabilă cu cea a analizorului de referință cu benzi de testare cu reactivi uscați. Sistemul este expansibil deoarece se folosește aceeași platformă precum analizorul de coagulare, prezentat în capitolul anterior, dar cu algoritmi software diferiți [13].

Capitolul 9

Analizor Automat de Biochimie Uscată Bazat pe Achiziția de Imagini

Acest capitol prezintă un analizor de biochimie uscată bazat pe metoda de achiziție a imaginii utilizată în capitolele precedente. Metoda constă în utilizarea unei mini-camere VGA USB care captează o imagine a testului, fiind poziționată automat în fața acestuia după ce incubarea s-a finalizat. Prototipul folosește un software experimental MATLAB Graphical User Interface (GUI) care procesează imaginea achiziționată pentru a obține un rezultat raportabil al concentrației parametrilor. În Figura 9.11 este prezentată o imagine captată a unui tampon de testare a ureei.

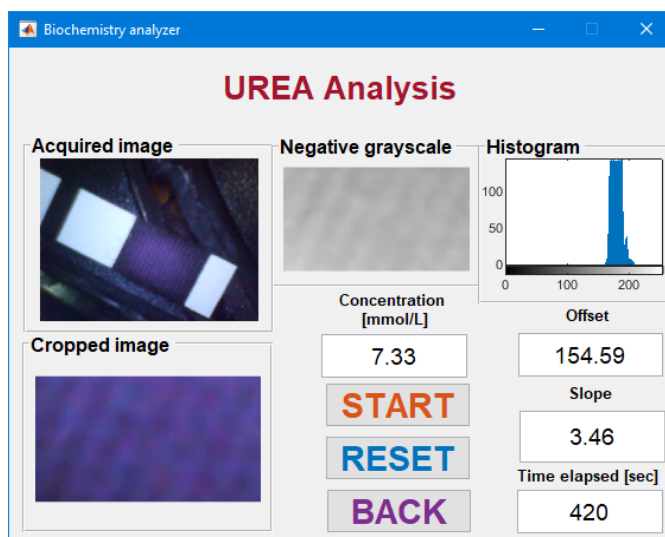


Figura 9.1 Interfața software de analiză pentru uree.

În experiment au fost utilizate probe de control artificial al calității (QC) Randox Human Assayed Multi-Sera. Fiecare probă a fost analizată de trei ori succesiv pentru a stabili SD și CV. Rezultatele obținute au fost, de asemenea, comparate cu rezultatele obținute pe un analizor de biochimie cu reactivi lichizi.

CV-ul mediu al rezultatelor obținute pe prototipul automat pentru parametrii testați este de 4,56% pentru QC nivel 1 și 3,02% pentru QC patologic nivelul 2, iar în cazul analizorului de biochimie de referință cu reactivi lichizi, s-au măsurat CV medii de 3,26% pentru nivel normal QC 1 și 2,2% pentru QC nivelul 2.

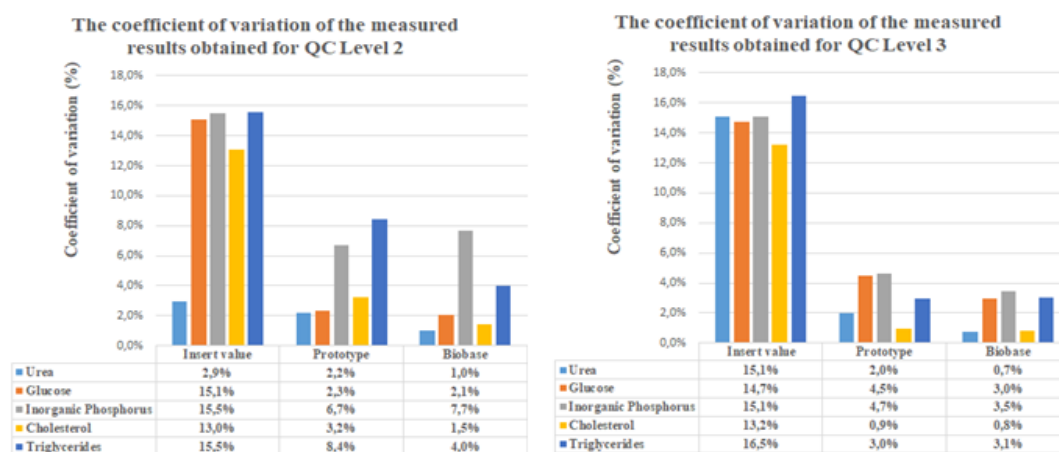


Figura 9.2 Coeficientul de variație al rezultatelor obținute pe nivelurile de QC2 și QC3.

Principalul avantaj constă în utilizarea a doar 6μl de probă integrală per parametru pe testele de biochimie uscată, însemnând un volum foarte scăzut de fluide periculoase implicate în măsurătoare, fără a exista deșeuri lichide post-analiza. Gratie flexibilității de programare, software-ul poate fi adaptat pentru orice alte teste de biochimie uscată.

Capitolul 10

Analizor de Hemoglobină fără Reactivi cu Algoritm de Achiziție de Imagini

Acest capitol prezintă un nou prototip de analizor de hemoglobină și hematocrit care utilizează aceeași platformă hardware și aceeași metodă de achiziție a imaginii discutată în capitolele precedente.

Prototipul folosește o mini-cameră USB care este situată în partea superioară a unui microtainer pentru a capta lumina transmisă de-a lungul probei atunci când lumina incidentă este generată de un LED planar cu temperatura de culoare de 5500K [104] situat sub microtainer. Se utilizează această metodă experimentală propusă de achiziție a imaginii deoarece este mai sensibilă la variațiile cromatice când se efectuează un test de hemoglobină. În comparație cu metoda spectrofotometrică, achiziția de imagini oferă o mai mare flexibilitate de programare a software-ului, iar programul poate fi adaptat cu ușurință când este necesar. Prototipul este accesibil și toată tehnologia de măsurare constă într-un program software.

În Figura 10.6 sunt prezentate extrase de imagini software din măsurătorile efectuate cu sângele de control artificial MYT2106. După cum se poate observa din ambele figuri, metoda de analiză propusă reduce erorile operaționale care pot apărea la selectarea ROI deoarece chiar dacă este selectată orice regiune în orice mod din proba, valorile R obținute nu variază mult.

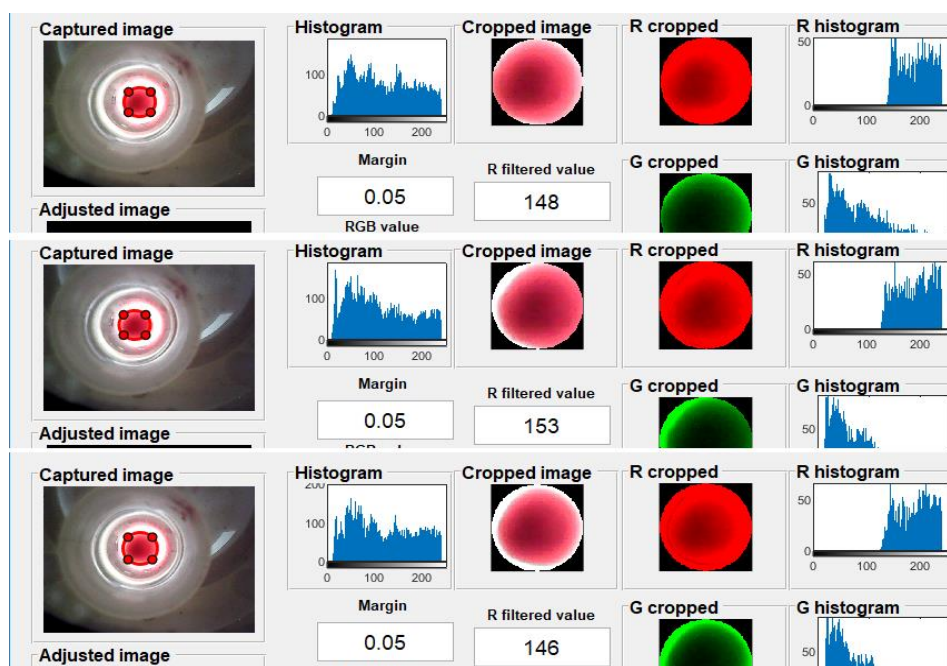


Figura 10.1 Rezultatele obținute în urma măsurărilor succesive pe MYT2106 nivel patologic ridicat.

În ceea ce privește partea experimentală a studiului, probele sunt pipetate din două tipuri de sânge artificial de control al calității pe trei niveluri, MYT2106 Tri-level și Boule Con Tri Diff. Fiecare set de control al calității are propriile sale niveluri, patologic-scăzut, normal și patologic-ridicat, cu valori țintă și SD-uri alocate de către producătorul acestora.

Rezultatele măsurărilor de hemoglobina obținute pe prototip au CV-ul mai mic decât cele obținute pe analizorul hematologic de referință deoarece prototipul a fost calibrat cu Myt Tri-level QC folosind metoda de achiziție a imaginii și, așa cum era de așteptat, tehnologia de măsurare nu implică reactivi lichizi, deci nu se produce niciun fenomen de propagare necontrolată a luminii, conferind rezultate precise și în cazul analizei cu control de calitate B-Con Diff.

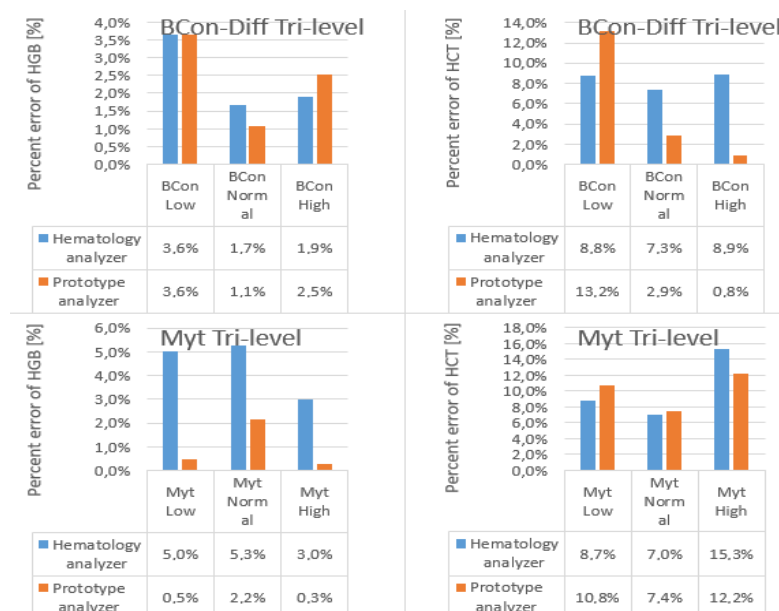


Figura 10.2 Eroarea procentuală a rezultatelor măsurate pe controlul de calitate pentru fiecare nivel din cele două seturi pe analizorul de referință și pe prototip.

Capitolul 11

LabConcept – Platformă de Telemedicină și Sistemul Informatic de Laborator

Acest capitol prezintă o nouă platformă experimentală de telemedicină numită LabConcept, care constă într-un software proiectat în GUI MATLAB care poate scana codurile QR tipărite pe buletinul de rezultate ale analizelor de sânge și le poate încărca într-o bază de date stocată local pe un dispozitiv mobil, pentru interpretare ulterioară. Codurile QR sunt procesate în MATLAB prin intermediul instrumentelor disponibile specifice acestei tehnologii [107]. Ideea implementării codurilor QR tipărite sau stocate electronic pe dispozitivele mobile câștigă din ce în ce mai multă popularitate în utilizarea de zi cu zi. Când s-a implementat ideea tipăririi QR-urilor rezultatelor testului pe buletinul de rezultate, nu apăruse și nici nu se implementase certificatul digital COVID-19, care în prezent întărește chiar și mai mult utilitatea codurilor QR în domeniul medical. Organigrama platformei software este prezentată în Figura 11.2.

Un rezultat imprecis generează un plan de tratament necorespunzător care poate cauza probleme grave de sănătate pentru pacientul tratat, mai ales atunci când este vorba de boli cronice precum diabetul. Rezultatele măsurate pe echipamentele de monitorizare

la domiciliu sunt încărcate în aplicație prin LIS și orice abateri privind rezultatele este analizată și înregistrată automat. Dacă rezultatele au fost situate în limita normală până în momentul testării, cel mai probabil este o problemă de precizie și acuratețe a analizorului. Dacă nu, trebuie efectuată o consultație medicală de specialitate.

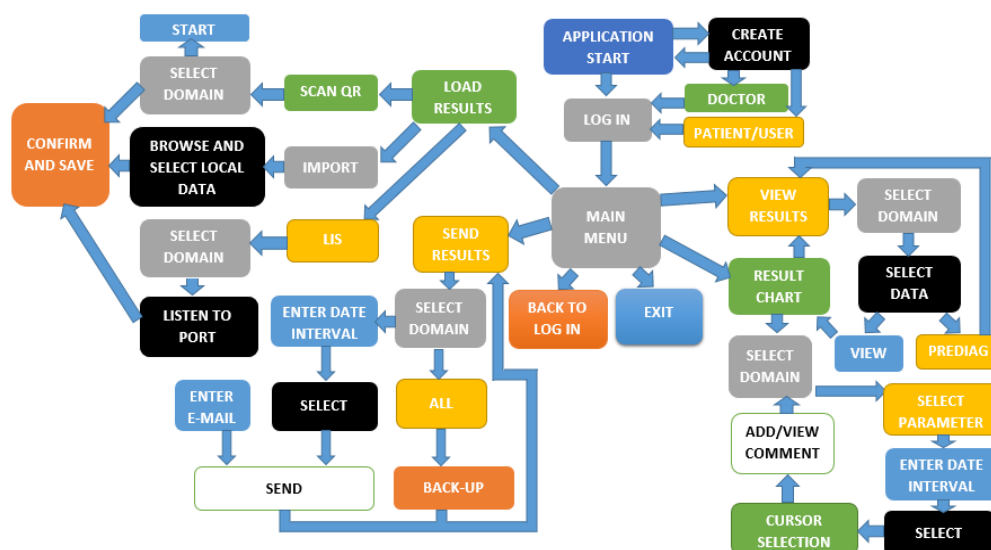


Figura 11.1 Organigrama platformei software LabConcept.

Capitolul 12

Concluzii

Mixerul automat cu trei căi prezentat minimizează probabilitatea de a apărea erori de operare care pot fi induse în timpul unei analize de gaze din sânge. Prin utilizarea acestui prototip se economisește timp și se asigură precizia și acuratețea rezultatelor, sporind calitatea actului medical. Este un dispozitiv cu costuri reduse, care este foarte competitiv din punct de vedere al procedurii de amestecare deoarece mixerul deja existent pe piață, safePico, nu amestecă tuburile capilare, iar procesul de amestecare a dispozitivului de recoltare este static.

Sistemul automat de curățare a ferestrelor cuvetelor îmbunătățește acuratețea și precizia testelor efectuate pe analizoare de biochimie cu cuvete de unică folosință deoarece menține aceleași condiții de analiză de fiecare dată când se efectuează un test din punct de vedere al absorbanței prin curățarea fiecărei ferestre după fiecare probă.

O altă problemă frecvent întâlnită în ceea ce privește performanța analizoarelor de biochimie constă în posibilitatea contaminării apei cu ioni sau existența unei ape turbide. O modalitate rapidă și ieftină de a rezolva această problemă este echiparea analizorului înaintea traseului de alimentare cu apă cu un dispozitiv de măsurare turbidimetric și a TDS care măsoară constant cantitatea de ioni și transparența apei. Un avantaj important

atunci când se utilizează prototipul turbidimetric TDS îl constituie caracteristica de monitorizare continuă oferită de ecranul LCD 2x16 și alarma ajustată experimental atunci când nivelul de turbiditate și particulele TDS depășesc limita normală setată.

Analizările ce folosesc cuvete reutilizabile au o stație de spălare dedicată care curăță cuvetele după fiecare probă. După cum s-a menționat anterior, apa poate influența absorbanta și, de asemenea, se poate induce contaminare succesivă dacă procesul de curățare este necorespunzător. Pentru a contracara această problemă, ideea utilizării unui sistem cu ultrasunete montat pe partea superioară a stației de spălare a analizorului îmbunătățește acuratețea și precizia parametrilor testați și, de asemenea, extinde și durata de viață a cuvetelor.

Exceptând subansamblele adjuvante adiționale, sunt prezentate metode originale de măsurare a concentrației parametrilor biochimici. Parametrii de coagulare PT/INR, hemoglobină, hematocrit și biochimie pot fi măsurați cu ajutorul unui hardware universal ce folosește tehnologia de achiziție a imaginii. Pe aceeași platformă hardware, dar cu tipuri diferite de software, diverși parametri sunt măsurați cantitativ. Performanța metodei de achiziție a imaginii este experimental comparabilă cu instrumentele de referință. Așa cum s-a prezentat, metoda de achiziție a imaginii se poate extinde și aplica în cazul testelor de biochimie uscată, acuratețea și precizia fiind îmbunătățite în primul rând prin asigurarea aceluiași volum de probă prin folosirea unei pompe peristaltice pentru pipetare în detrimentul unei seringi automate care se poate depresuriza din cauza uzurii vârfurilor.

Precizia și acuratețea unui echipament pot fi monitorizate de un software care comunică cu analizorul, primind rezultatele măsurate prin intermediul sistemului LIS. Dacă apare o problemă externă (procedurală) sau internă, există variații ale rezultatelor înregistrate pe o anumită perioadă. Necesitatea unui software care să înregistreze, să analizeze sau să transmită rezultatele pentru a fi interpretate în continuare de un medic profesionist crește interesul, mai ales în zilele noastre când distanțarea socială este obligatorie și posibilitatea de îmbolnăvire este foarte mare.

12.1 Rezultate obținute

Scopul tezei este de a contribui la îmbunătățirea preciziei și acurateței prin analizarea problemelor comune întâlnite zilnic în domeniul echipamentelor medicale din experiența tehnică personală, descriind fenomenele care au loc la nivel biochimic în timpul măsurării probei pe un aparat de analiză a sângelui. Contribuțiile personale se extind la dezvoltarea și fabricarea elementelor hardware și software, adiționale sau independente, utilizate pentru măsurarea concentrației parametrilor biochimici.

Rezultatele experimentale obținute în urma măsurării probelor de sânge sau a serurilor de control de calitate sunt comparate cu cele obținute pe un analizor de referință existent pe piață. Fiecare metodă prezentată este însoțită de abaterea standard și compararea coeficientului de variație pentru probele măsurate succesiv cu sau fără dispozitivele adiționale pe același analizor, precum și analizate comparativ cu un analizor de referință din punct de vedere metodic în cazul prototipurilor dezvoltate.

În ceea ce privește dispozitivul de mixare automat pe 3 axe pentru dispozitivele de recoltare cu probe de sânge, performanța hardware-ului a fost măsurată în comparație cu

probele de sânge neamestecate, proaspăt colectate. CV-ul obținut atunci când probele au fost amestecate automat a fost cu aproximativ 1% mai mic decât în cazul probelor proaspăt neamestecate.

Referitor la sistemul automat de curățare a ferestrelor cuvetelor, parametrii analizați au fost TBI și DBI, ai căror rezultate subunitare și unitare sunt foarte sensibile. Când a început experimentul, coeficientul de variație a fost aproape același pentru ambele niveluri QC în cazul TBI, 4,07% (pentru prima curățare manuală) și 3,04% (pentru a doua curățare manuală) pentru QC nivelul 1, 5,71% (pentru prima curățare manuală) și 5,05% (pentru a doua curățare manuală) pentru QC nivel 2 și DBI, 6,41% (pentru prima curățare manuală) și 5,97% (pentru a doua curățare manuală) pentru QC nivel 1, 3,11% (pentru prima curățare manuală) și 13,03% (pentru a doua curățare manuală) pentru nivelul QC2. În cazul curățării automate folosind prototipul, aceleași condiții de testare tind să fie menținute și acest fapt este demonstrat de coeficientul de variație dintre rezultatele măsurate, care sunt mai mici decât în cazul curățării periodice manuale, 0,96% pentru TBI pe primul nivel QC și 1,03% pe al doilea nivel QC și 3,83% pentru DBI pe primul nivel QC și 1,81% pe al doilea nivel QC.

Experimentele au avansat în continuare cu analiza turbidimetrică și a TDS pentru apa DI furnizată analizorului. O apă impură generează reacții false între ionii conținuți în apă și reactivii utilizați pentru teste. Pentru a preîntâmpina această situație, este necesar un sistem de monitorizare permanentă. Sistemul monitorizează atât TDS, cât și turbiditatea apei, semnalând operatorul dacă pragul limitelor normale este depășit. Pentru experiment, analizorul a fost alimentat succesiv cu apa DI ultrapură și apă de la robinet, efectuându-se măsurători a concentrației de calciu, albumină, fosfor anorganic, colesterol și trigliceride. În cazul apei ultrapure DI, coeficientul de variație a fost aproape jumătate față de cel obținut în cazul utilizării apei de la robinet.

Având în vedere că nivelul de puritate al apei ce alimentează analizorul este important și de acesta depinde performanța analizorului, procedura de spălare trebuie efectuată în mod corespunzător, fără să existe alte elemente reziduale în cuvetă după terminarea procesului de curățare. Soluția prezentată constă în montarea unui traductor ultrasonic de 40kHz acționat când brațul coboară în poziția de spălare. Coeficientul de variație este mai mic în cazul măsurătorilor efectuate cu ajutorul prototipului și diferența medie dintre CV-ul valorilor măsurate între curățarea de bază și cea ultrasonică a parametrilor testați este de aproximativ 1,5%. Se poate afirma că acuratețea și precizia rezultatelor testelor biochimice a fost îmbunătățită cu aproximativ 1,5%, ceea ce impune necesitatea echipării analizorului cu un astfel de sistem de curățare cu ultrasunete pentru a asigura rezultate mai precise.

În ceea ce privește metodele prezentate ce folosesc achiziția imaginilor, măsurătorile PT/INR sunt comparabile cu rezultatele obținute pe analizorul fotomecanic, dar în cazul analizorului de biochimie portabil pe bază de reactivi lichizi care utilizează metoda de achiziție a imaginii, majoritatea rezultatelor parametrilor au CV-ul sub limita impusă de către producătorul de QC, observându-se că în cazul fosforului anorganic și al trigliceridelor sunt ușor mai mari decât rezultatele pentru aceiași parametri obținuți pe analizorul de biochimie cu benzi de teste cu reactivi uscați. Comparând CV-ul rezultatelor măsurate pe prototip cu CV-ul valorilor țintă din prospectul QC-ului, se poate afirma că

pe nivelul al doilea de QC rezultatele au fost mai mari cu doar 1,9% în cazul trigliceridelor și cu doar 4,2% în cazul fosforului anorganic. Când se compară rezultatele patologice pentru nivelul 3 de QC, CV-ul rezultatelor măsurate este comparabil cu CV-ul rezultatelor țintă din prospect. Acest lucru înseamnă că, în cazul unui pacient cu probleme de sănătate, rezultatele măsurate pe analizorul prototip sunt în concordanță cu starea sa clinică și nu sunt fals pozitive.

În cazul analizorului automat de biochimie uscată, rezultatele sunt comparabile cu cele obținute pe analizorul automat de biochimie de laborator, ambele instrumente înregistrând CV-uri sub valorile QC atribuite în prospect.

Analizorul portabil de hemoglobină a fost calibrat cu un QC artificial pe trei niveluri. Precizia acestuia a fost testată după calibrare folosind aceleași trei niveluri de control artificial și s-a observat că se obțin aproximativ aceleași rezultate ca valorile atribuite și orice variație a pixelilor datorată selecției subiective a ROI sau a ușoarei deplasări a microtainerului este scăzută și nu afectează precizia și acuratețea rezultatelor. La analiza primului set de QC, rezultatele au fost comparabile cu cele obținute pe analizorul hematologic de referință. La analiza QC-urilor care au fost utilizate și pentru calibrarea prototipului, rezultatele măsurate au fost mai precise în comparație cu cele obținute pe analizorul hematologic de referință deoarece QC-ul analizat nu este unul dedicat pentru analizorul de referință. După cum se poate observa, au fost înregistrate și mici variații în ceea ce privește HCT deoarece analizorul de referință a măsurat HCT direct prin potențimetrie prin aperturile WBC, în timp ce prototipul îl calculează din HGB măsurată.

12.2 Contribuții originale

Contribuțiile originale sunt reflectate prin studiul de caz care a generat subiectul tezei curente, sinteza problemelor comune și metodele de optimizare ale acestora, însoțite de subansambluri hardware/software și analizoare individuale, care au fost proiectate și fabricate de la zero cu scop de cercetare și testare.

Mixerul automat pe trei axe folosit în analiza gazelor din sânge [9] prezentat în Capitolul 3 constă într-un dispozitiv automat offline, care este utilizat pentru omogenizarea conținutului unei seringi heparinate cu sânge utilizată în analiza gazelor din sânge, mult mai ieftin și fiabil din punct de vedere al metodei decât sistemul safePico de la Radiometer.

Metoda optică de îmbunătățire a acurateței și preciziei analizelor biochimice efectuate pe analizoarele cu cuvete de unică folosință [10] din Capitolul 4 reprezintă un subansamblu automat care este implicat în procesul de curățare automată a ferestrelor din cuarț ale cuvetelor. Analizoarele de biochimie care fabrică cuvete dintr-un cartuș de film au nevoie de o curățare periodică a ferestrelor cuvetelor, o procedură consumatoare de timp pentru operator, menționându-se faptul că peliculele reziduale depuse peste ferestre alterează precizia și acuratețea instrumentului.

Turbidimetrul cu TDS [11] este un subansamblu bi-funcțional prezentat în Capitolul 5, care măsoară concentrația solidelor dizolvate și turbiditatea apei dintr-un rezervor separat montat înaintea celui de alimentare cu apă al analizorului. O apă impură

generează o modificare a absorbanței în ceea ce privește măsurătorile spectrofotometrice care au loc în cuvelele analizorului, în care apa DI este folosită pentru curățarea sau prepararea amestecului specific probă-reactiv.

Sistemul automat de curățare cu ultrasunete [12] din Capitolul 6 este un subansamblu destinat analizoarelor de biochimie ce dispun de cuvele reutilizabile și constă într-un sistem automat de curățare cu ultrasunete care este implicat în procesul de spălare a cuvetelor. Pentru a minimiza acest transfer nedorit, pe stația de spălare a fost montat un traductor cu ultrasunete cu circuitistica sa corespunzătoare care este activat de senzorul optic al brațului de spălare, atunci când stația este în poziția de curățare.

Analizorul portabil optic de coagulare [13] prezentat în Capitolul 7 este un prototip de măsurare a timpului de protrombină și a INR care utilizează o cameră USB pe post de detector de formare a cheagurilor și un software dezvoltat în MATLAB care calculează PT-ul din imaginile achiziționate prelucrate.

Analizorul de hemoglobină fără reactivi [14] este un analizor portabil prezentat în Capitolul 10 care măsoară concentrația hemoglobinei dintr-o picătură de sânge capilar pe același prototip hardware utilizat la determinarea PT și INR. Aceeași cameră digitală este utilizată pentru a măsura concentrația de hemoglobină, cu excepția utilizării unui software diferit dezvoltat în MATLAB.

Analizorul de biochimie portabil bazat pe achiziția de imagini [15], prezentat în Capitolul 8, este un analizor de biochimie care utilizează reactivi lichizi pentru a declanșa reacția fotometrică. Metoda este similară cu cea a analizorului de hemoglobină și de coagulare, folosind aceeași platformă prototip, dar cu o abordare software adaptată la metoda de măsură corespunzătoare.

Analizorul portabil cu teste cu reactivi uscați [16] din Capitolul 9 este un analizor automat de biochimie ce utilizează aceeași cameră digitală pentru achiziția imaginii probei, cea din urma pipetându-se automat pe banda de testare corespunzătoare fiecărui parametru biochimic. Sistemul este calibrat experimental folosind un calibrator de lichid de biochimie, obținându-se o linie de calibrare utilizată în procesul de măsurare al probei.

O altă contribuție personală constă într-un subiect discutat și analizat în Capitolul 11 despre o propunere de software de telemedicină care analizează rezultatele încărcate pe o perioadă predefinită. Software-ul poate încărca rezultate direct de la analizoarele conectate prin sistemul LIS. În cazul unui analizor cantitativ de hemoglobinei glicozilate (HbA1c) care utilizează benzi de testare cu imunofluorescență cu flux lateral, prelungirea timpului de incubare poate modifica precizia și acuratețea HbA1c [17].

Un rezultat imprecis generează un plan de tratament necorespunzător care poate cauza probleme grave de sănătate pentru pacient, mai ales atunci când este vorba de boli cronice precum diabetul. Rezultatele de la echipamentele de monitorizare la domiciliu sunt încărcate în aplicație prin LIS și orice abatere a rezultatelor față de intervalul de normalitate este analizată și înregistrată. Dacă rezultatele sunt situate în limita normală până în momentul testării, cel mai probabil este o problemă ce ține de precizia și acuratețea echipamentului. Dacă nu, trebuie efectuată o consultație medicală profesională.

12.3 Lista lucrărilor originale

Lista prezentată include toate cele 8 lucrări publicate de autor în conferințe științifice și 2 lucrări în reviste, una dintre ele care a fost premiată de UEFISCDI – PRECISI2021 (PN-III-P1-1.1-PRECISI-2021-59746). Cu excepția lucrărilor publicate ISI, autorul a participat și la 2 evenimente științifice cu lucrări nepublicate, dar dezbătute public însoțite de prezentări ale rezultatelor cercetării științifice. Autorul a participat la un Proiect European între 2019 și 2020. Toate lucrările științifice se regăsesc în bibliografie, iar lucrările menționate anterior au legătură cu subiectul tezei de doctorat.

I. Articole Științifice de Conferință

1. **M. S. Niculescu**, “*Optical Method for Improving the Accuracy of Biochemical Assays*” Conferința: 6th IEEE International Conference on E-Health and Bioengineering (**EHB 2017**) Locul: Sinaia, ROMANIA Data: IUN 22-24, 2017, **WOS: 000445457500096**
2. **M. S. Niculescu**, “*Three Way Automated Blood-Sampling Device Mixer for Blood Gas Analysis*”, Conferința: 6th International Conference on Advancements of Medicine and Health Care through Technology (**MediTech 2018**) Locul: Cluj Napoca, ROMANIA Data: OCT 17-20, 2018, **WOS: 000493501100009**
3. S. Pasca, **M. S. Niculescu**, “*Portable Optical Coagulation Analyzer Based on Real-Time Image Processing Algorithm*”, Conferința: 11th International Symposium on Advanced Topics in Electrical Engineering (**ATEE 2019**) Locul: Bucharest, ROMANIA Data: MAR 28-30, 2019, **WOS: 000475904500056**
4. **M. S. Niculescu**, A. Florescu, S. Pasca, “*Reagent-Free Hemoglobin Portable Analyzer using Images Processing*”, Conferința: 7th E-Health and Bioengineering Conference (**EHB 2019**) Locul: Grigore T Popa Univ Med & Pharmacy, Iasi, ROMANIA Data: NOI 21-23, 2019, **WOS: 000558648300202**
5. **M. S. Niculescu**, A. Florescu, S. Pasca, “*Accuracy and Precision Improvement for the Biochemistry Assays by Using an Automatic Ultrasonic Cleaning System*”, Conferința: 8th International Conference on E-Health and Bioengineering (**EHB 2020**) Locul: ELECTR NETWORK, Data: OCT 29-30, 2020, **WOS: 000646194100085**
6. **M. S. Niculescu**, A. Florescu, S. Pasca, “*Accuracy Improvement for the Biochemistry Assays by Using Total Dissolved Solids and Turbidimetry Measurements*”, Conferința: 8th International Conference on E-Health and Bioengineering (**EHB 2020**) Locul: ELECTR NETWORK, Data: OCT 29-30, 2020, **WOS: 000646194100138**
7. **M. S. Niculescu**, A. Florescu, S. Pasca, “*Portable Biochemistry Analyzer Based on Image Acquisition Algorithm*”, Conferința: 12th International Conference on Electronics, Computers and Artificial Intelligence (**ECAI 2020**) Locul: București, ROMANIA, Data: IUN 25-27, 2020, **WOS: 000627393500061**
8. **M. S. Niculescu**, A. Florescu, S. Pasca, “*The Incubation Time Effects on the Precision and Accuracy of the Glycated Hemoglobin*”, Conferința: International Conference on Advancements of Medicine and Health Care through Technology

(**MEDITECH 2020**), Locul: Cluj-Napoca, ROMANIA Data: OCT 13-15, 2020, (https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-93564-1_8)

II. Articole Științifice de Revistă

1. **M. S. Niculescu**, A. Florescu, S. Pasca, “*Automated Portable Biochemistry Analyzer Based on Image Acquisition*”, REVUE ROUMAINE DES SCIENCES TECHNIQUES-SERIE ELECTROTECHNIQUE ET ENERGETIQUE (**ISI Q4**, IF JCR2020=0,443), Volumul: 65 Edițiile: 3-4 Paginile: 271-276 Publicat: IUL-DEC 2020, ISSN: 0035-4066, **WOS: 000608261900019**

2. **M. S. Niculescu**, A. Florescu, S. Pasca, “*LabConcept – A New Mobile Healthcare Platform for Standardizing Patient Results in Telemedicine*”, APPLIED SCIENCES-BASEL (**ISI Q2**, IF JCR2020=2,679), Volumul: 11 Ediția: 4 Paginile: 1935 Publicat: IUL 2020-FEB 2021, ISSN: 2076-3417, **WOS: 000632095800001**, DOI: 10.3390/app11041935

Articol premiat de către UEFISCDI în cadrul PRECISI2021 ISI Q2 (PN-III-P1-1.1-PRECISI-2021-59746)

III. Rapoarte de Cercetare

1. Raportul 1 – Evaluarea cunoștințelor despre senzori, dispozitive si metode de analiză utilizate de către analizoarele de biochimie

2. Raportul 2 – Actualitatea tezei

IV. Simpozioane Științifice

1. **M. S. Niculescu**, “Noninvasive Hearing Aid System Based on Skin Transmitted Sound Waves by an Ultrasound Transducer” – Simpozionul Annual al Doctoranzilor (SAD) 2018

2. **M. S. Niculescu**, “LabConcept - A New Mobile Healthcare Platform for Standardizing Patient Results in Telemedicine” – SAD 2019

V. Proiecte

1. Dezvoltarea competențelor de antreprenoriat ale doctoranzilor și postdoctoranzilor – cheie a succesului în carieră (A-Success), contractul cu numărul 51675/09.07.2019 POCU/380/6/13 – cod SMIS 125125)

12.4 Perspective de dezvoltare ulterioară

Din punct de vedere al dezvoltării viitoare, metodele prezentate pot fi integrate într-un analizor universal bazat pe achiziția de imagini. Ideea potențială este de a crea un braț de probă care transferă proba dintr-un microtainer într-o cuveta de cuarț reutilizabilă instalată într-o cameră obscură, pentru ca măsurătorile să nu fie afectate de lumina externă.

Camera obscură ar trebui să aibă pe o parte o cameră și pe cealaltă parte un LED de 5500K cu intensitate luminoasă controlată. Brațul de probă trebuie să aibă un ac în formă de traductor ultrasonic utilizat pentru amestecarea probei după transferul acesteia în cuveta.

Cuva trebuie să aibă un orificiu de scurgere, conectată la o pompă peristaltică care drenează lichidul rezidual din aceasta după ce testarea și ciclul de spălare s-au încheiat.

Camera obscură ar trebui să aibă în interior un strat rezistiv pentru a încuba proba împreună cu reactivul. Deasupra cuvetei trebuie să existe un ac de distribuire static care este conectat la o supapă rotativă care selectează diferite tipuri de reactivi lichizi, aer și apă. Principalul avantaj al ideii de dezvoltare viitoare prezentate este că un analizor multiparametric poate fi fabricat folosind metodele prezentate în teză.

Selecție din Bibliografie

[1] World Health Organization, *Constitution of the World Health Organization – Basic Documents*, Forty-fifth Ed., p. 1, New York, U.S.A., 2006.

[2] Iannone, *E.Labs on Chips: Principle, Design and Technology*, CRC Press, p. 1093, Boca Raton, Florida, U.S.A., 2016.

[7] J. Rosenthal, M. E. Rafelson, *Clinical Physiology and Biochemistry*, Karger, Vol. 1, p. 284, Chicago, 1983.

[9] **M. S. Niculescu**, *Three Way Automated Blood-Sampling Device Mixer for Blood Gas Analysis*, Conference: 6th International Conference on Advancements of Medicine and Health Care through Technology (MediTech), Cluj Napoca, Romania, 2018.

[10] **M. S. Niculescu**, *Optical Method for Improving the Accuracy of Biochemical Assays*, Conference: 6th IEEE International Conference on E-Health and Bioengineering (EHB), pp. 381-385, Sinaia, Romania, 2017.

[11] **M. S. Niculescu**, A. Florescu, S. Pasca, *Accuracy Improvement for the Biochemistry Assays by Using Total Dissolved Solids and Turbidimetry Measurements*, 8th IEEE International Conference on E-Health and Bioengineering (EHB), Iasi, Romania, 2020.

[12] **M. S. Niculescu**, A. Florescu, S. Pasca, *Accuracy and Precision Improvement for the Biochemistry Assays by Using an Automatic Ultrasonic Cleaning System*, 8th IEEE International Conference on E-Health and Bioengineering (EHB), Iasi, Romania, 2020.

[13] S. Pasca, **M. S. Niculescu**, *Portable Optical Coagulation Analyzer Based on Real-Time Image Processing Algorithm*, 11th International Symposium on Advanced Topics in Electrical Engineering (ATEE), Bucharest, Romania, 2019.

[14] **M. S. Niculescu**, A. Florescu, S. Pasca, *Reagent-Free Hemoglobin Portable Analyzer using Images Processing*, 7th E-Health and Bioengineering Conference (EHB), Iasi, Romania, 2019.

[15] **M. S. Niculescu**, A. Florescu, S. Pasca, *Portable Biochemistry Analyzer Based on Image Acquisition Algorithm*, 12th International Conference on Electronics, Computers and Artificial Intelligence, Bucharest, Romania, 2020.

- [16] **M. S. Niculescu**, A. Florescu, S. Pasca, *Automated Portable Biochemistry Analyzer Based on Image Acquisition*, Revue Roumaine Des Sciences Techniques-Serie Electrotechnique Et Energetique, Volume: 65, Issue: 3-4, pp. 271-276 , Bucharest, Romania, 2020.
- [17] **M. S. Niculescu**, A. Florescu, S. Pasca, *The Incubation Time Effects on the Precision and Accuracy of the Glycated Hemoglobin*, Conference: 7th International Conference on Advancements of Medicine and Health Care through Technology (MediTech), Cluj Napoca, Romania, 2020.
- [18] J. W. Robinson, *Atomic Spectroscopy*, Second Ed., Marcel Dekker Inc., p. 27, New York, U.S.A., 1996.
- [21] A. Dasgupta, J. L. Sepulveda, *Accurate Results in the Clinical Laboratory – A Guide to Error Detection and Correction*, Elsevier, pp. 21-40, Chennai, India, 2013.
- [22] O. Mali, P. Neittaanmäki, S. Repin, *Accuracy Verification Methods – Theory and Algorithms*, Computational Methods in Applied Sciences, Springer Science + Business Media Dordrecht, pp. 9, 154, Germany, 2014.
- [23] J. Baynes, M. H. Dominiczak, *Medical Biochemistry*, Elsevier Saunders, 4th Edition, p. 603, United Kingdom, 2014.
- [31] T. Jue, K. Masuda, *Application of Near Infrared Spectroscopy in Biomedicine*, Springer Science+Business Media, pp. 1-3, New York, U.S.A., 2013.
- [73] A. Neuberger and L. L. M. Van Deenen, *Blood Coagulation*, Elsevier, vol. 13, Amsterdam, pp. 46-48, Amsterdam, The Netherlands, 1986.
- [79] R. J. Narayan, *Medical Biosensors for Point of Care (POC) Applications*, Woodhead Publishing, Elsevier Ltd., p. 215, United Kingdom, 2017.
- [81] Guangzhou Wondfo Biotech Co. Ltd., *Introduction to Coagulation Meter*, p. 6, Guangzhou, China, 2018.
- [107] T. Huckel, T. Neckel, *Matlab Example Programs. Bits and Bugs – A Scientific and Historical Review of Software Failures in Computational Science*, Society for Industrial and Applied Mathematics: Philadelphia, p. 239, U.S.A., 2019.