

UŽITNÝ VZOR

(11) Číslo dokumentu:

27 863

(13) Druh dokumentu: **U1**

(51) Int. Cl.:

G01N 13/04 (2006.01)

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2014-30507**
(22) Přihlášeno: **23.12.2014**
(47) Zapsáno: **23.02.2015**

- (73) Majitel:
TRYSTOM, spol. s r.o., Olomouc, CZ
Univerzita Palackého, Olomouc, CZ
- (72) Původce:
doc. Ing. Jan Vacek, Ph.D., Olomouc, CZ
doc. RNDr. Jan Hrbáč, Ph.D., Horka nad Moravou,
CZ
Ing. Marek Švarc, Výkleky, CZ
Petr Knopf, Šternberk, CZ
Ing. Ivo Číhalík, Velká Bystřice, CZ
- (74) Zástupce:
Ing. Petr Soukup, Vídeňská 8, 772 00 Olomouc

- (54) Název užitného vzoru:
**Zařízení pro online analýzu sledování
biologicky aktivních látek pomocí
mikrodialýzy**

CZ 27863 U1

Zařízení pro online analýzu sledování biologicky aktivních látek pomocí mikrodialýzy

Oblast techniky

5 Technické řešení se týká konstrukce plně automatizovaného zařízení pro online analýzu sledování biologicky aktivních látek pomocí mikrodialýzy, které je tvořeno přístrojovou sestavou obsahující vzájemně propojené infuzní dávkovač, analyzátor a řídicí a vyhodnocovací jednotku.

Dosavadní stav techniky

10 Mikrodialýza je progresivně se rozvíjející miniinvasivní technika sledování lokálního metabolismu, farmakokinetiky, farmakodynamiky a fyziologie tkání, např. bariérové funkce, krevního průtoku apod. Technika je založena na prosté difúzi látek přes semipermeabilní membránu mikrodialyzační sondy, která je implantována do vyšetřované tkáně. Mezi hlavní oblasti jejího využití patří *in vivo* monitoring metabolismu či farmakokinetické experimentální studie, v případě klinické praxe nachází mikrodialýza uplatnění především v (neuro)intenzivní péči. Vzhledem k požadavkům kontinuálního monitoringu stavu tkání s minimalizací doby mezi odběrem vzorku a získáním výsledku analýzy (tzv. lag-time) se výzkum a vývoj mikrodialyzačních biosenzorů soustředil na online systémy, tj. vyšetřování téměř v reálném čase. V řadě těchto systémů se díky specifitě stanovení prosadila implementace optických detektorů (*Baldini F Microdialysis-based sensing in clinical applications. Anal. Bioanal. Chem. 397(3) (2010) 909-916.*). Nezanedbatelný význam má v posledních letech i vysoce citlivá elektrochemická detekce (*Mecker LC, Martin RS. Integration of microdialysis sampling and microchip electrophoreses with electrochemical detection. Anal. Chem. 80(23) (2008) 9257-9264.*; *Zhu W et al. A new microdialysis-electrochemical device for in vivo simultaneous determination of acetylcholine and choline in rat brain treated with N-methyl-(R)-salsolinol. Biosens Bioelectron. 24(12) (2009) 3594-3599*; *Liu K, et al. Dynamic regional changes of extracellular ascorbic acid during global cerebral ischemia: studied with in vivo microdialysis coupled with on-line electrochemical detection. Brain Res. 1253 (2009) 161-168*; *Lin Y et al. Physiologically relevant online electrochemical method for continuous and simultaneous monitoring of striatum glucose and lactate following global cerebral ischemia/reperfusion. Anal. Chem. 81(6) (2009) 2067-2074.*; *Lin Y et al. A non-oxidative electrochemical approach to online measurement of dopamine release through laccase-catalyzed oxidation and intramolecular cyclization of dopamine. Biosens Bioelectron. 25(6) (2010) 1350-1355.*).

30 Cílovými analyty online *in vivo* mikrodialýzy jsou nízkomolekulární snadno oxidovatelné (signální) molekuly, např. i oxid dusnatý (NO). Oxid dusnatý je látka, která působí jako klíčový mediátor celé řady fyziologických procesů, přičemž se účastní i některých vysoce rizikových stavů s vysokou mortalitou, např. sepsy nebo stavů po resuscitaci. Vzhledem ke krátkému biologickému poločasu přeměny oxidu dusnatého je jeho monitorování v průběhu *in vivo* experimentů obvykle prováděno pomocí nepřímých metod (*Hetrick EM, Schoenfisch MH. Analytical chemistry of nitric oxide. Annu. Rev. Anal. Chem. 2 (2009) 409-33.*). V posledním desetiletí byly vyvinuty účinné elektrochemické senzory pro analýzu NO a byla navržena řada jejich biomedicínských aplikací (*Xian Y et al. Measurement of nitric oxide released in the rat heart with an amperometric microsensor. Analyst 125(8) (2000) 1435-1439.*; *Pekarova M, Kralova J, Kubala L, Ciz M, Lobjek A, Gregor C, Hrbac J. Continuous electrochemical monitoring of nitric oxide production in murine macrophage cell line RAW 264.7. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 394(5) (2009) 1497-1504.*), z nichž některé jsou využitelné i v klinické medicíně (*Bledsoe JM et al. Development of the Wireless Instantaneous Concentration System for intraoperative neurochemical monitoring using fast-scan cyclic voltammetry. J Neurosurg. 111(4) (2009) 712-723.*; *van Gompel JJ et al. Development of intraoperative electrochemical detection: wireless instantaneous neurochemical concentration sensor for deep brain stimulation feedback. Neurosurg Focus. 29(2) (2010) E6*). Nespornou výhodou elektrochemických senzorů je, kromě vysoké citlivosti, možnost monitorování *in situ* a zejména v reálném čase při zpoždění (lag-time) v řádu jednotek až zlomků

vteřin. Mezi základní omezení v použití těchto senzorů patří jejich relativně nízká specifická (pro interference jiných látek) a omezená aplikovatelnost pro stanovení širšího spektra látek v jedné analýze.

5 Mikrodialýza (rovněž *in situ* technika) nabízí obecně jednoduchou matici vzorku, zbavenou enzymů a jiných makromolekulárních interferentů, čímž usnadňuje následné stanovení koncentrací celé řady malých molekul, ovšem za cenu zředění vzorku. Hlavní nevýhodou mikrodialýzy oproti elektrochemickým senzorům je, až na výjimky (*Deeba S et al. Use of rapid sampling microdialysis for intraoperative monitoring of bowel ischemia. Dis. Colon. Rectum. 51(9) (2008) 1408-1413.*), relativně nízké časové rozlišení, kdy je nutné čekat několik minut až desítek minut na sběr malého objemu dialyzátu, který následně vyžaduje speciální a finančně nákladné analyzátory, resp. sofistikovanou analytickou techniku.

10 Úkolem předkládaného technického řešení je představit nové zařízení, které by spojovalo veškeré výhody používání mikrodialýzy a elektrochemického mikrosenzoru, zároveň minimalizovalo uváděné nevýhody obou technik a bylo použitelné zejména v experimentálním biomedicíně, popřípadě i klinickém, výzkumu.

Podstata technického řešení

Stanoveného cíle je dosaženo technickým řešením, kterým je zařízení pro online sledování biologicky aktivních látek pomocí mikrodialýzy sestávající z analyzátoru, infuzního dávkovače a řídicí a vyhodnocovací jednotky, které jsou uzpůsobeny pro umožnění vzájemného propojení jejich funkčních členů a pro ustavení do kompaktní sestavy, kde podstata řešení spočívá v tom, že analyzátor je vybaven detekčním tělesem, které je uloženo ve vnitřním prostoru jeho kovového pouzdra, je vyrobeno z elektricky nevodivého chemicky odolného materiálu, prostřednictvím kontaktního stykače propojeno s elektronickým ovládacím blokem a je v něm vytvořena měřicí cela, do níž jsou pomocí propojovacích šroubení zavedeny přívod a odvod nosného média, je v ní uložena elektrochemický senzor, shora je uzavřena odvodušňovacím ventilem a zespodu pomocnou elektrodou, přičemž přívod nosného média je zaústěn do mikrodialyzační sondy, kam je rovněž propojena jehla injekční stříkačky vyjímatelně uložená v nástavcích krytu infuzního dávkovače, hnací píst jehož mechanické jednotky je jednak opatřen dorazem pro zajištění přenosu hnací síly na tlačný píst vložené injekční stříkačky, jednak koncovými elektronickými pojistkami pro vymezení krajních poloh svého pohybu a jednak kontrolní elektronickou pojistkou pro zajištění detekce kontaktu při dosažení přednastaveného přitlaku hnacího pístu a tlačného pístu vložené injekční stříkačky.

35 Ve výhodném provedení je vnitřní prostor pouzdra opatřen alespoň jednou dělicí přepážkou pro vytvoření komor pro oddělené vyjímatelné uložení elektronického ovládacího bloku a detekčního tělesa, přičemž vnitřní pouzdro je opatřeno odklopným víkem, v němž je vytvořen odvětrávací otvor.

40 V optimálním provedení je měřicí cela vytvořena ve středové části detekčního tělesa a jsou do ní horizontálně zavedeny směrem vně se stupňovitě rozšiřující přívodní kanálek, odtokový kanálek a úložný kanálek, jejichž koncové stupně jsou upraveny, s výhodou opatřeny závitem, pro vložení a zatěsnění propojovacích šroubení, kde do přívodního kanálku je zavedena elastická přívodní hadička nosného média, do odtokového kanálku odtoková hadička nosného média a do úložného kanálku je vložen elektrochemický senzor, přičemž měřicí cela je rovněž vertikálně propojena s horním i spodním čelem detekčního tělesa, když ve spodním kanále je upevněna a zatěsněna pomocná elektroda a horní kanál je uzavřen odvodušňovacím ventilem.

45 Předkládaným řešením se dosahuje nového a vyššího účinku v tom, že spojením přístroje pro provádění mikrodialýzy se speciálně upraveným elektrochemickým mikrosenzorem do jednoho zařízení je vytvořen plně automatizovaný integrovaný on-line systém vhodný pro *in vivo* analýzu a monitoring NO a dalších biologicky aktivních látek. Zařízení je použitelné v širokém rozsahu

rychlostí průtoku nosné kapaliny od 0,1 µl/min až po 1000 µl/min při zachování konstantního a přesného průtoku.

Objasnění obrázků na výkresech

5 Konkrétní provedení technického řešení jsou schematicky znázorněna na připojených výkresech, kde

obr. 1 je celkový čelní axonometrický pohled na zařízení,

obr. 2 je celkový boční axonometrický pohled na zařízení,

obr. 3 je celkové schéma zařízení při čelním pohledu a se znázorněním propojení flexibilních hadiček se sondou umístěnou ve zkoumaném vzorku,

10 obr. 4 je schematické znázornění odkrytovaného infuzního dávkovače při čelním pohledu,

obr. 5 je schematické znázornění infuzního dávkovače s odkrytovanou dávkovací jednotkou při pohledu shora,

obr. 6 je schematické znázornění analyzátoru s otevřeným víkem při pohledu shora,

obr. 7 je vertikální řez analyzátozem z obr. 6 v rovině uložení elektrochemického senzoru,

15 obr. 8 je detailní vertikální řez analyzátozem z obr. 7 při vyjmutém elektronickém ovládacím bloku a

obr. 9 je detailní vertikální řez analyzátozem z obr. 6 v rovině kolmé na uložení elektrochemického senzoru.

20 Výkresy, které znázorňují technické řešení, a následně popsany příklad konkrétního provedení v žádném případě neomezují rozsah ochrany uvedený v definici, ale jen objasňují podstatu technického řešení.

Příklady uskutečnění technického řešení

25 Zařízení podle technického řešení sestává ze tří základních částí, a to z analyzátoru 1, infuzního dávkovače 2 a řídicí a vyhodnocovací jednotky 3, která je vybavena blíže nepopisovanými standardními speciálními elektronickými přístroji a prvky. Všechny části 1, 2, 3 jsou uzpůsobeny, například vybaveny průchodkami či konektory, pro umožnění vzájemného propojení jejich funkčních členů, které budou popsány níže. Zároveň jsou tyto části 1, 2, 3 koncipovány tak, aby bylo umožněno jejich ustavení do kompaktní sestavy, například vertikální pyramidy, jak je patrné z obr. 1 a obr. 2.

30 Analyzátor 1 je tvořen pouzdrem 11 vyrobeným z kovu, s výhodou z hliníkové nebo hořčíkové slitiny, které slouží jako Faradayova klec stínící elektromagnetické ruchy okolí. Vnitřní prostor pouzdra 11 je opatřen alespoň jednou dělicí přepážkou 111 vytvářející komory pro oddělené vyjímatelné uložení elektronického ovládacího bloku 12, působícího jako potenciostat, a detekčního tělesa 13 vyrobeného z plastového materiálu odolného chemikáliím, například z polyeterterketonové pryskyřice. V dělicí přepážce 111 je za účelem zajištění vodivého propojení detekčního tělesa 13 a funkčních prvků elektronického ovládacího bloku 12 zabudován kontaktní stykač 1111. Za účelem umožnění přístupu do vnitřního pouzdra 11 je toto opatřeno odklopným víkem 112 s vytvořeným odvětrávacím otvorem 113. Ve středové části detekčního tělesa 13 je vytvořena měřicí cela 131, s výhodou válcová, do níž jsou horizontálně zavedeny směrem vně se
40 stupňovitě rozšiřující přívodní kanálek 132, odtokový kanálek 133 a úložný kanálek 134. Koncové stupně kanálků 132, 133 a 134 jsou upraveny, například opatřeny závitem, pro vložení a zatěsnění propojovacích šroubení 14, kde do přívodního kanálku 132 je zavedena elastická přívodní hadička 15 nosného média, do odtokového kanálku 133 odtoková hadička 16 nosného média a do úložného kanálku 134 je vložen elektrochemický senzor 17 vyrobený z uhlíkového vlákna.
45 Měřicí cela 131 je rovněž vertikálně propojena s horním i spodním čelem detekčního tělesa 13,

když ve spodním kanále 135 je upevněna a zatěsněna pomocná elektroda 18, která je vyrobena z nerezového plechu, a horní kanál 136 je uzavřen odvodušňovacím ventilem 19 vystupujícím přes odvětrávací otvor 113 nad úroveň odklopného víka 112.

Infuzní dávkovač 2 je tvořen vícedílným krytem 21, v jehož vnitřním prostoru jsou uloženy a standardním způsobem uspořádány řídicí blok 22 dávkování, komunikační modul 23 pro zajištění bezdrátové komunikace s neznázorněným obslužným PC a mechanická jednotka 24, obsahující vzájemně spřažené hnací elektromotor 241, převodový člen 242 a hnací píst 243 umístěný na pohybovém šroubu 246. Hnací píst 243 je opatřen dorazem 244, který zajišťuje přenos hnací síly na tlačný píst 44 vložené injekční stříkačky 4. Obě krajní polohy pohybu hnacího pístu 243 jsou vymezeny koncovými elektronickými pojistkami 245. Detekce kontaktu, resp. dosažení přednastaveného přítlaku hnacího pístu 243 a tlačného pístu 44 vložené injekční stříkačky 4 je zajištěna kontrolní elektronickou pojistkou 247. V místě vkládání injekčních stříkaček 4 je příslušný díl krytu 21 opatřen dvěma nastavci 211 vytvářející úchyty ve tvaru písmene U pro umožnění vyjímatelného vkládání různých loží 41 velikostně a tvarově upravených pro různé druhy injekčních stříkaček 4. Na jehly 42 těchto injekčních stříkaček 4 je navlékána elastická dávkovací hadička 43, jejíž konec je zaveden do mikrodialyzační sondy 5, do níž je rovněž vyvedena přívodní hadička 15 analyzátoru 1 a která je vkládána do nádoby 6, jak je znázorněno na obr. 3, nebo přímo do živého organismu produkujícího nebo obsahujícího vyhodnocovanou látku, např. NO nebo další biologicky aktivní látku.

Při činnosti zařízení je infuzním dávkovačem 2 vháněno z injekční stříkačky 4 dávkovací hadičkou 43 do mikrodialyzační sondy 5 nosné médium, které je v této mikrodialyzační sondě 5 obohaceno o stanovovanou látku obsaženou v analyzované soustavě. Takto obohacené nosné médium je přívodní hadičkou 15 zaváděno do měřicí cely 131 detekčního tělesa 13 analyzátoru 1, v níž je pomocí elektrochemického senzoru 17 vyhodnocován obsah stanovované látky, např. NO nebo jiné biologicky aktivní látky. Elektrochemický senzor 17 poskytuje analytický signál, který je přes elektronický ovládací blok 12 odeslán do řídicí a vyhodnocovací jednotky 3, kde je následně zpracován a vyhodnocen. Činnost mechanické jednotky 24 infuzního dávkovače 2 je přitom zajišťována neznázorněným obslužným PC, který je bezdrátově spojen přes komunikační modul 23 s řídicím blokem 22 dávkování.

Průmyslová využitelnost

Zařízení pro online sledování biologicky aktivních látek pomocí mikrodialýzy vytvořené podle technického řešení je využitelné především pro monitoring biologicky aktivních látek v humánní a veterinární medicíně. Jeho plně automatizovaná činnost umožňuje rychlé a efektivní stanovení a dlouhodobé sledování biologicky aktivních látek, a to jak v živých organismech (*in vivo*), ale i například ve farmaceutických a analytických laboratořích. Pomocí popsaného zařízení mohou být kontinuálně a dlouhodobě stanovovány a monitorovány i průmyslově významné látky, především v chemickém a potravinářském průmyslu.

N Á R O K Y N A O C H R A N U

1. Zařízení pro online sledování biologicky aktivních látek pomocí mikrodialýzy sestávající z analyzátoru (1), infuzního dávkovače (2) a řídicí a vyhodnocovací jednotky (3), které jsou uzpůsobeny pro umožnění vzájemného propojení jejich funkčních členů a pro ustavení do kompaktní sestavy, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že analyzátor (1) je vybaven detekčním tělesem (13), které je uloženo ve vnitřním prostoru jeho kovového pouzdra (11), je vyrobeno z elektricky nevodivého chemicky odolného materiálu, prostřednictvím kontaktního stykače (1111) propojeno s elektronickým ovládacím blokem (12) a je v něm vytvořena měřicí cela (131), do níž jsou pomocí propojovacích šroubení (14) zavedeny přívod a odvod nosného média, je v ní uložen elektro-

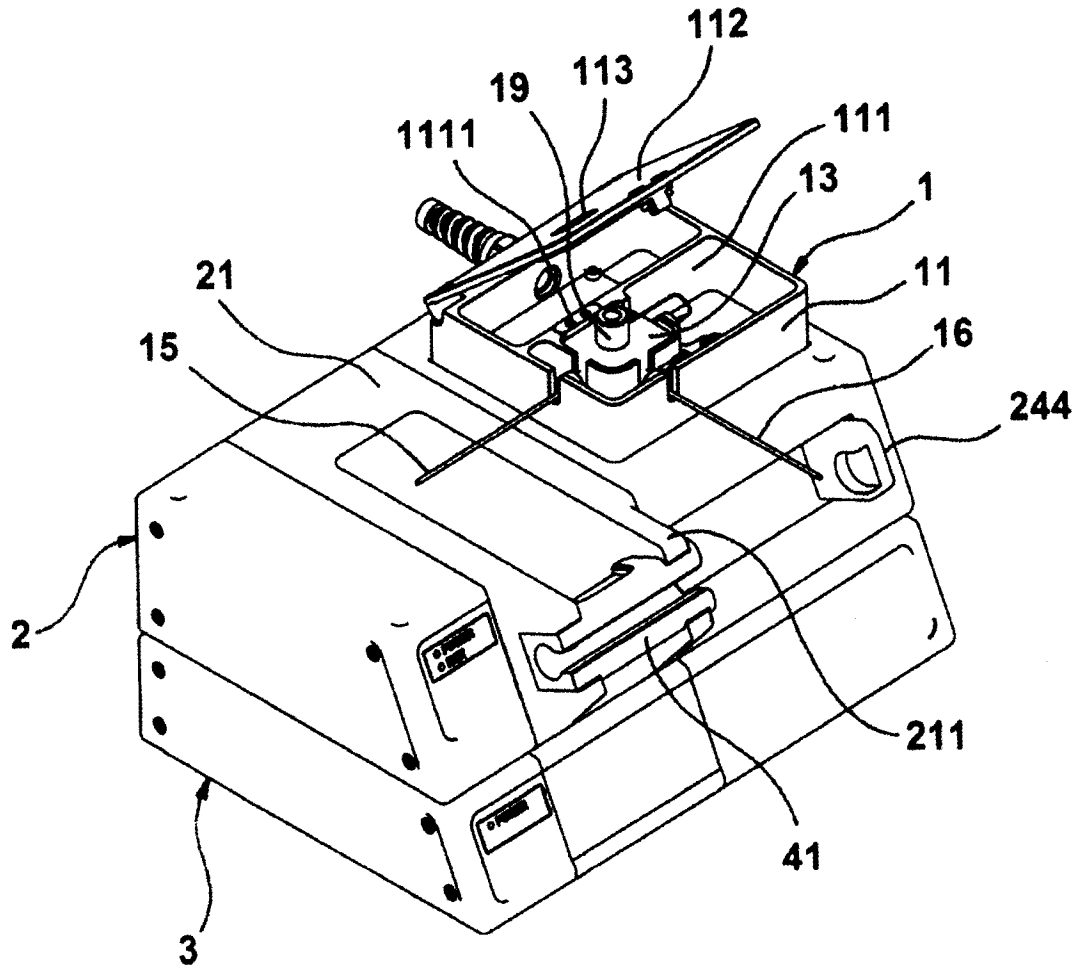
chemický senzor (17), shora je uzavřena odvodušňovacím ventilem (19) a zesponu pomocnou elektrodou (18), přičemž přívod nosného média je zaústěn do mikrodialyzační sondy (5), kam je rovněž propojena jehla (42) injekční stříkačky (4) vyjímatelně uložené v nástavcích (211) krytu (21) infuzního dávkovače (2), hnací píst (243) jehož mechanické jednotky (24) je jednak opatřen dorazem (244) pro zajištění přenosu hnací síly na tlačný píst (44) vložené injekční stříkačky (4),
 5 jednak koncovými elektronickými pojistkami (245) pro vymezení krajních poloh svého pohybu a jednak kontrolní elektronickou pojistkou (247) pro zajištění detekce kontaktu při dosažení přednastaveného přítlaku hnacího pístu (243) a tlačného pístu (44) vložené injekční stříkačky (4).

2. Zařízení pro online sledování biologicky aktivních látek podle nároku 1, **v y z n a ě u j í -**
 10 **c í s e t í m**, že vnitřní prostor pouzdra (11) je opatřen alespoň jednou dělicí přepážkou (111) pro vytvoření komor pro oddělené vyjímatelné uložení elektronického ovládacího bloku (12) a detekčního tělesa (13), přičemž vnitřní pouzdro (11) je opatřeno odklopným víkem (112), v němž je vytvořen odvětrávací otvor (113).

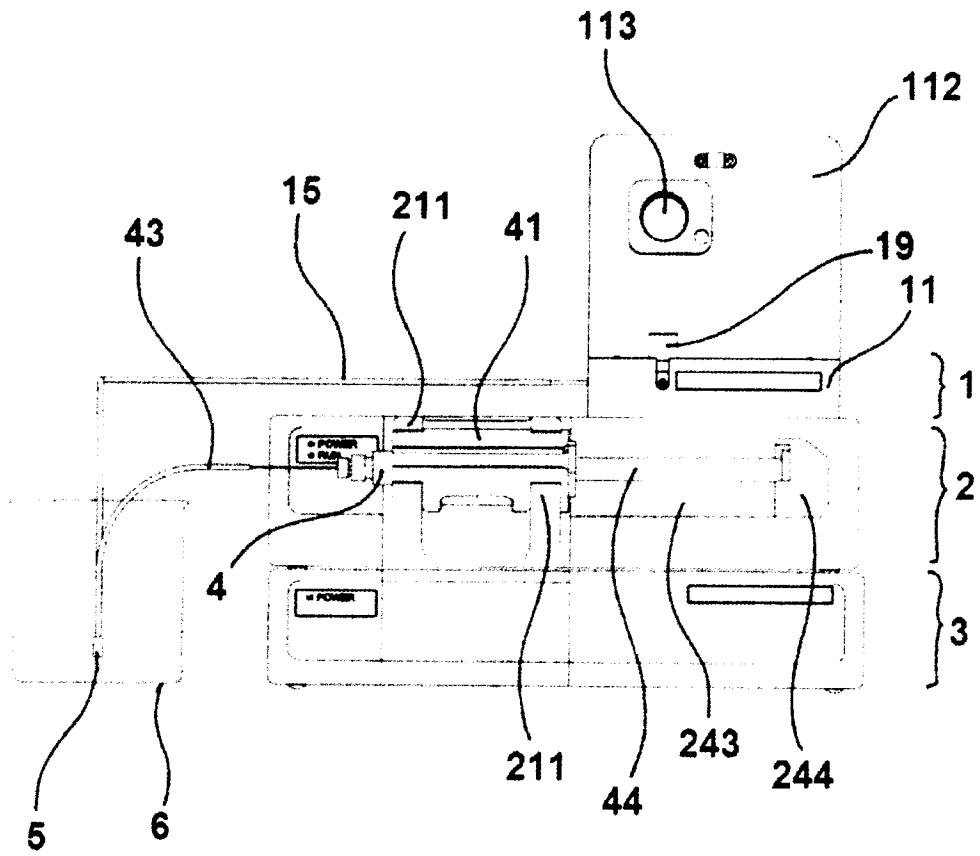
3. Zařízení pro online sledování biologicky aktivních látek podle nároků 1 a 2, **v y z n a -**
 15 **č u j í c í s e t í m**, že měřicí cela (131) je vytvořena ve středové části detekčního tělesa (13) a jsou do ní horizontálně zavedeny směrem vně se stupňovitě rozšiřující přívodní kanálek (132), odtokový kanálek (133) a úložný kanálek (134), jejichž koncové stupně jsou upraveny, s výhodou opatřeny závitem, pro vložení a zatěsnění propojovacích šroubení (14), kde do přívodního kanálku (132) je zavedena elastická přívodní hadička (15) nosného média, do odtokového kanálku (133) odtoková hadička (16) nosného média a do úložného kanálku (134) je vložen elektrochemický senzor (17), přičemž měřicí cela (131) je rovněž vertikálně propojena s horním i spodním čelem detekčního tělesa (13), když ve spodním kanále (135) je upevněna a zatěsněna pomocná elektroda (18) a horní kanál (136) je uzavřen odvodušňovacím ventilem (19).
 20

6 výkresů

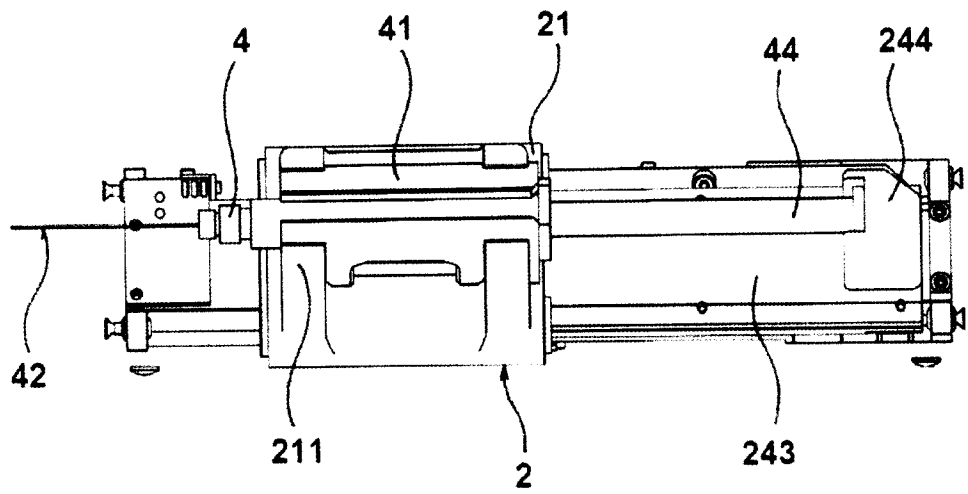
25



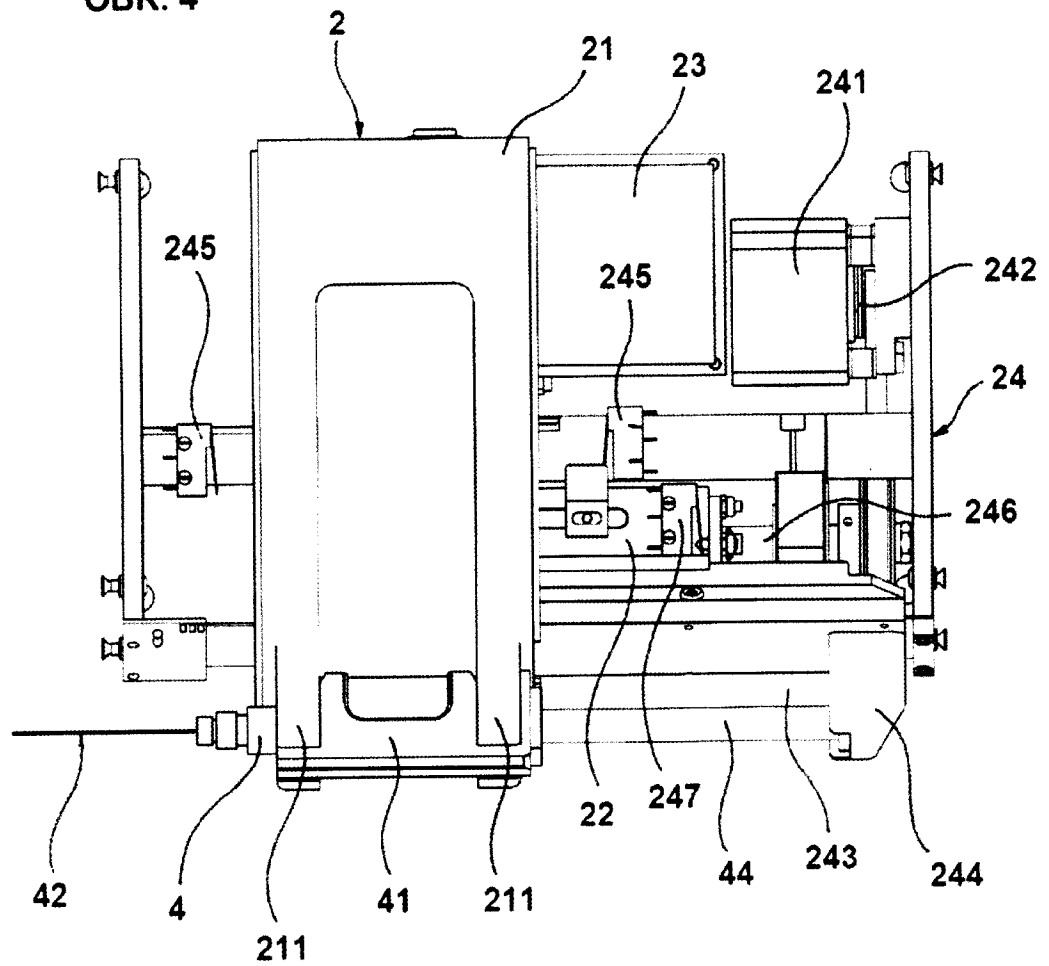
OBR. 2



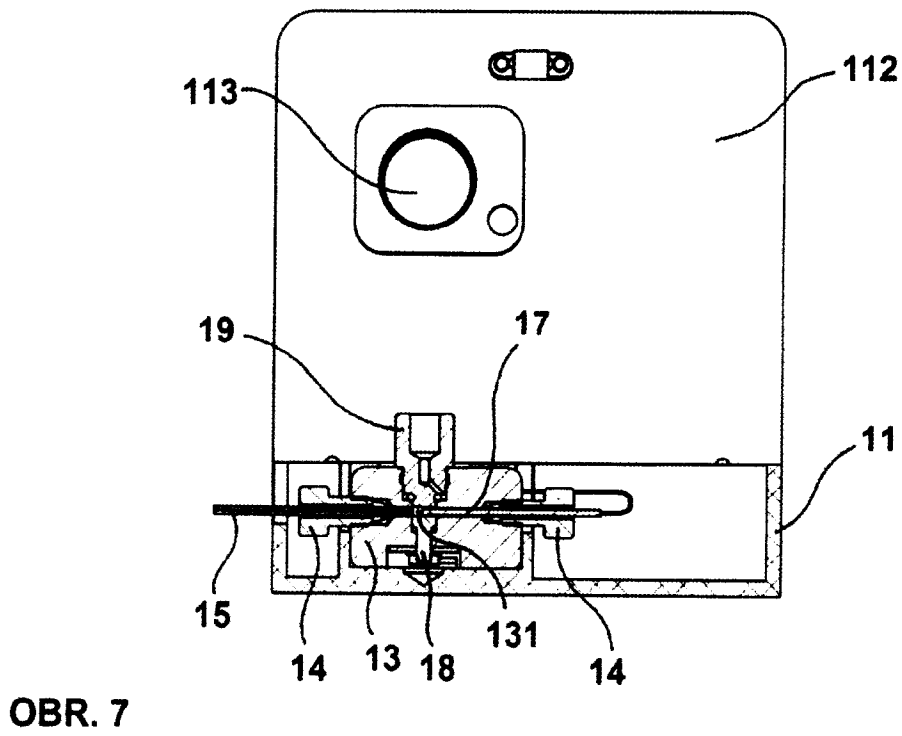
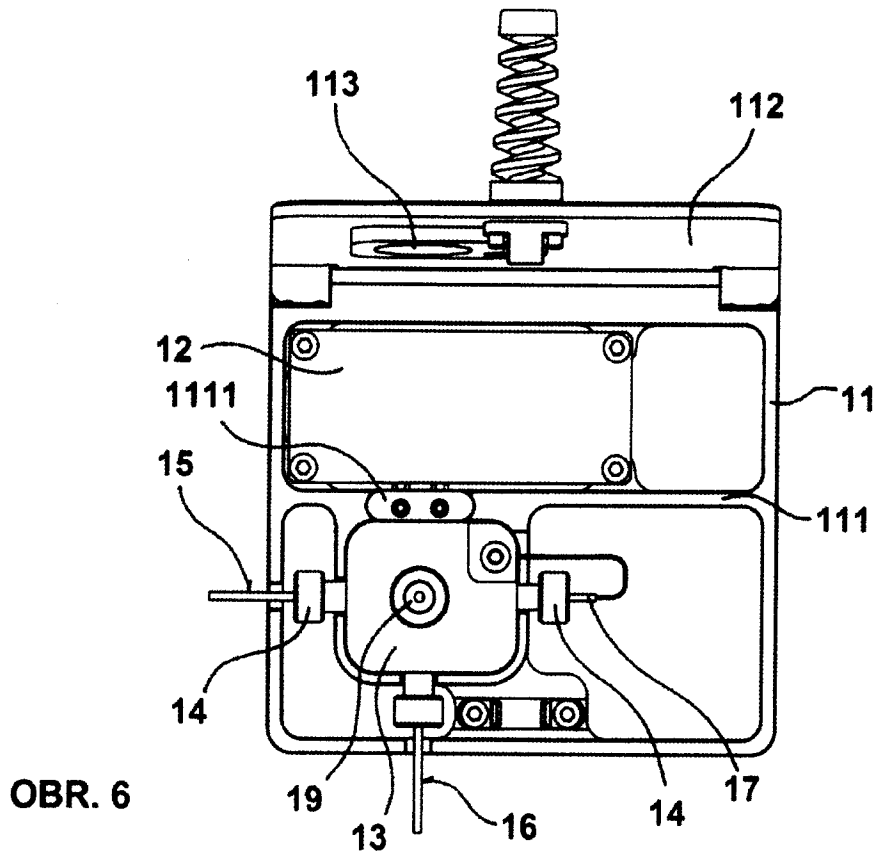
OBR. 3

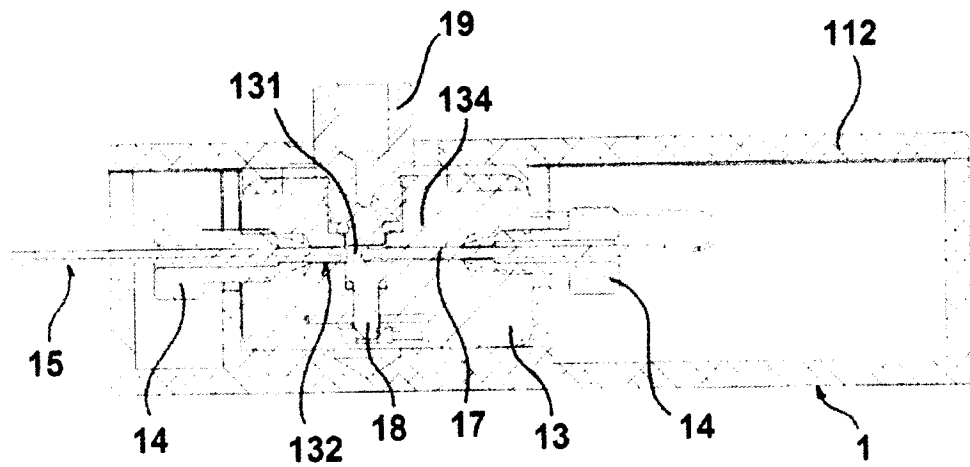


OBR. 4

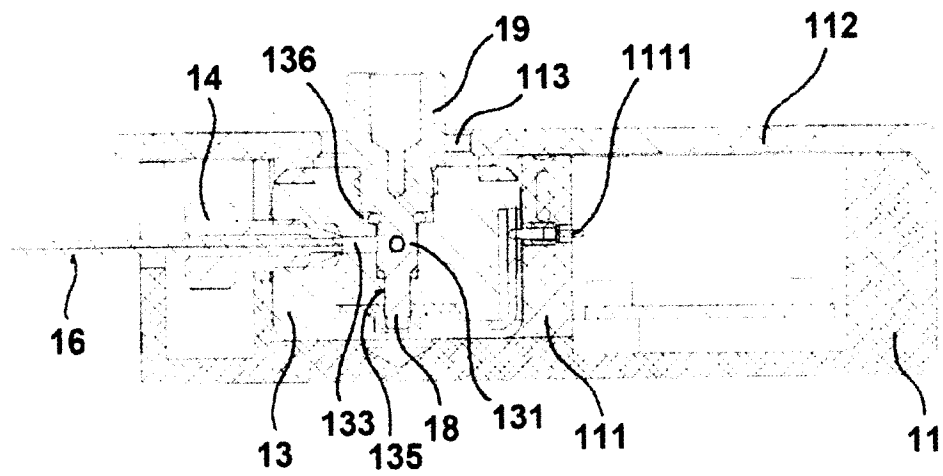


OBR. 5





OBR. 8



OBR. 9

Konec dokumentu
