



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0044364

(51)^{2020.01} G01N 27/26

(13) B

(21) 1-2021-02380

(22) 19/10/2018

(86) PCT/CN2018/111076 19/10/2018

(87) WO 2020/077630 23/04/2020

(45) 25/03/2025 444

(43) 25/11/2021 404A

(71) AVALON HEPAPOC LIMITED (CN)

Unit 608-613, IC Development Centre, No. 6 Science Park West Avenue, Hong Kong Science Park, Sha Tin, New Territories, Hong Kong 100053, China

(72) HU, Oliver Yoa-Pu (TW); CHEN, Sz-Hau (TW); YANG, Ping (TW); LIN, Hsin-Ju (TW); TSENG, Po-Yuan (TW); SHEN, Thomas Yan-Shih (TW); LAU, Johnson Yiu-Nam (CN); CHU, Ching-Yuan (TW).

(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) HỆ THỐNG VÀ PHƯƠNG PHÁP PHÁT HIỆN ĐỊNH LƯỢNG NHANH
GALACTOZA

(21) 1-2021-02380

(57) Hệ thống phát hiện nhanh galactose có hợp phần galactose gồm galactose, dung dịch đệm và 0~99% chất chống oxy hóa, mà vào cơ thể con người sau khi chuyển hóa và tạo ra mẫu sinh học; que thử hoặc giấy lọc, bao gồm enzym, enzym phản ứng với mẫu sinh học mà tạo ra thông tin điện hóa; dụng cụ đo gồm bộ cấp nguồn để cấp tín hiệu; đầu dây nối để nhận tín hiệu được cung cấp bởi bộ cấp nguồn, truyền tín hiệu đến que thử hoặc giấy lọc, trong đó tín hiệu phản ứng với thông tin điện hóa tạo ra tín hiệu phản ứng tương ứng, và đầu dây nối truyền tín hiệu phản ứng tương ứng đến dụng cụ đo; bộ tính để tính tín hiệu phản ứng tương ứng; bộ chuyển đổi A/D để nhận tín hiệu phản ứng tương ứng từ bộ tính, truyền tín hiệu phản ứng tương ứng thành tín hiệu phản ứng số được tính bởi bộ tính; và bộ xử lý để xử lý tín hiệu phản ứng số bộ xử lý để xử lý tín hiệu phản ứng số; và thiết bị cuối kỹ thuật số để nhận tín hiệu phản ứng số.

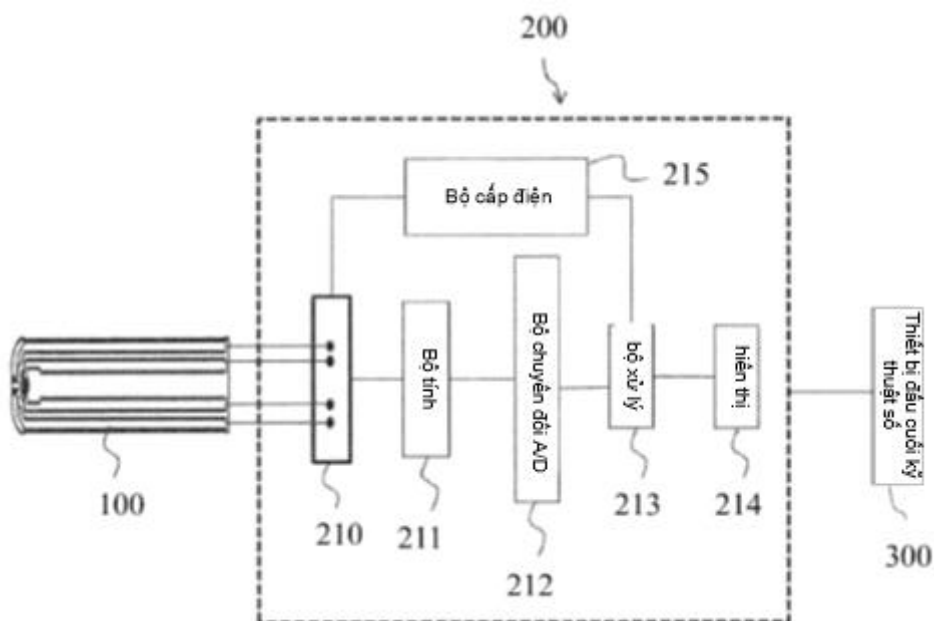


FIG.2

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hệ thống phát hiện galactosa, cụ thể để đo lường nhanh nồng độ galactosa trong mẫu sinh học và đánh giá mức độ suy giảm của các chức năng gan.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Gan liên quan mật thiết đến sự thanh thải của các loại thuốc mà có thể được thanh thải thông qua các con đường chuyển hóa khác nhau hoặc việc bài tiết khả thi. Sự thay đổi trong tỷ lệ bài tiết hoặc chuyển hóa của thuốc được gây ra bởi các chức năng gan không bình thường mà có thể làm thuốc tích lũy hoặc ức chế sự hình thành của chất chuyển hóa hoạt động. Galactosa trong máu được tương quan với các chức năng gan bất thường và, từ tài liệu nghiên cứu, dẫn chứng thể hiện giá trị galactosa trong máu liên quan đáng kể đến mức độ suy yếu của các chức năng gan. Do đó, các chức năng dư thừa của gan bất thường có thể được đánh giá theo giá trị galactosa trong máu.

Phương pháp phát hiện thông thường được sử dụng để tiêm qua tĩnh mạch 0,5 g/kg galactosa sau khi nhịn ăn khoảng 8 giờ, và nồng độ galactosa được đo lường trong huyết tương sau 60 phút (Tang H.S. et al. (1992) *Digestion*, 52:222-231; Ranek L. et al. (1983) *Clin. Physiol.* 3:173-178). Phương pháp đo lường bao gồm: vẽ đường cong đo lường theo mối quan hệ giữa các nồng độ khác nhau của các dung dịch galactosa chuẩn và giá trị hấp phụ ánh sáng của chúng; bổ sung HClO_4 trong máu được tách chiết và lắc để trộn, sau đó lấy lớp huyền phù bằng cách ly tâm; bổ sung KOH vào lớp huyền phù và lắc để trộn, sau đó lấy lớp huyền phù bằng cách ly tâm lần nữa; và sau đó bổ sung galactosa dehydrogenaza vào lớp huyền phù và đặt trong phòng tối khoảng 60 phút phản ứng màu không chính xác để điều chế mẫu và đo lường giá trị hấp thụ ánh sáng của nó; và cuối cùng tìm giá trị nồng độ theo đường cong đo lường. Tuy nhiên, quá trình phát hiện rất phức tạp và tốn thời gian, và yêu cầu sử dụng nhiều loại thuốc. Do đó, nó cần quy trình dài để học kết quả phát hiện.

Bằng sáng chế Đài Loan Số I292478 tiết lộ phương pháp làm mẫu thử để xác định chức năng gan và lấy mẫu que thử. Phương pháp cũng cần được tiêm với galactosa vào cơ thể của đối tượng, và chờ khoảng 60 phút để đo lường nồng độ của galactosa trong máu. Phương pháp đo lường bao gồm: vẽ đường cong đo lường theo mối quan hệ giữa các nồng độ khác nhau của các dung dịch galactosa chuẩn và giá trị hấp phụ ánh sáng của chúng; bổ sung axit trichloroacetic vào giấy thử và lắc khoảng 30 phút, sau đó lấy dung

môi ra và bổ sung dung môi chứa galactosa dehydrogenaza trong đó và lắc khoảng 30 phút, và sau đó bổ sung chất tạo màu vào dung môi tạo thành, và cuối cùng đo lường giá trị hấp thụ ánh sáng của nó. Tuy nhiên, phương pháp được dựa trên việc tiêm galactosa vào cơ thể người và cần phải làm mẫu thử nghiệm. Quá trình phát hiện rất phức tạp và tốn thời gian. Do đó, phương pháp phát hiện galactosa nhanh và đơn giản được yêu cầu đối với các bệnh nhân cần để phát hiện galactosa.

Bảng sáng chế Đài Loan M488635 bộc lộ que thử sinh học; bảng sáng chế Mỹ US971995 bộc lộ hệ thống phát hiện thử nghiệm hematocrit, hệ thống bao gồm que thử điện hóa và dụng cụ đo. Do tình trạng kỹ thuật trên, đây là công nghệ thông thường để theo dõi tình trạng cơ thể bằng phương pháp điện hóa. Đó là do sự không ổn định của enzym protein, enzym không thể được bảo quản trong môi trường kiềm hoặc điều kiện khô. Do đó enzym thường được giữ trong dung dịch axit, như được bảo quản trong dung dịch axit amin sulphat với thời gian bảo quản ngắn. Do đó, cung cấp que thử mà có thể được giữ ở trạng thái rắn khoảng thời gian dài là vấn đề khác để giải quyết trong lĩnh vực này.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Đối tượng của sáng chế là cung cấp hệ thống phát hiện định lượng nhanh galactosa, bao gồm hợp phần galactosa, que thử hoặc giấy lọc và dụng cụ đo.

Chế phẩm galactosa gồm galactosa, đệm, và 0~99% chất chống oxy hóa, mà vào cơ thể con người sau khi chuyển hóa và tạo ra mẫu sinh học;

Que thử hoặc giấy lọc, bao gồm enzym, enzym phản ứng với mẫu sinh học mà tạo ra thông tin điện hóa; và

Dụng cụ đo gồm bộ cấp nguồn để cấp tín hiệu. Đầu dây nối được sử dụng để nhận tín hiệu được cung cấp bởi bộ cấp nguồn và chuyển tín hiệu đến que thử hoặc giấy lọc, trong đó tín hiệu phản ứng với thông tin điện hóa tạo ra tín hiệu phản ứng tương ứng, và đầu dây nối truyền tín hiệu phản ứng tương ứng đến dụng cụ đo. Bộ tính được sử dụng để tính tín hiệu phản ứng tương ứng. Bộ chuyển đổi A/D được sử dụng để nhận tín hiệu phản ứng tương ứng từ bộ tính, truyền tín hiệu phản ứng tương ứng được tính bởi bộ tính thành tín hiệu phản ứng số. Bộ xử lý được sử dụng để xử lý tín hiệu phản ứng số. Màn hình để hiển thị tín hiệu phản ứng số và thiết bị cuối kỹ thuật số để nhận tín hiệu phản ứng số

Để đạt được mục đích trên, đệm được chọn từ nhóm gồm đệm axetic, đệm xitrat,

đệm phosphat, đệm axetat, đệm cacbonat, đệm axit ascorbic, và đệm trietanolamin.

Để đạt được mục đích trên, chất chống oxy hóa được chọn từ nhóm gồm vitamin C hoặc/và natri bisulfit, vitamin A, vitamin E, flavonoit, polyphenols, axit etylenediamintetraaxetic(EDTA), axit dietylenetriaminpentaaxetic (DTPA), và *NTA*-axit Nitrilotriaxetat (NTA).

Để đạt được mục đích trên, galactosa gồm D-(+)-galactosa, L-(-)-galactosa, galactosa đồng vị ổn định, galactosa vòng hoặc dẫn xuất của galactosa.

Để đạt được mục đích trên, hợp phần galactosa được dùng thông qua dùng qua đường miệng, tiêm, xịt, hít, ngậm, đặt trực tràng, thuốc đạn hoặc cách được chấp nhận trong y học khác.

Để đạt được mục đích trên, cách dùng qua đường miệng là để người dùng lấy hợp phần galactosa trước, sau đó hàm lượng của galactosa trong cơ thể người được đo lường bằng cách đo lường hàm lượng của galactosa trong mẫu sinh học.

Để đạt được mục đích trên, cách tiêm là để người dùng tiêm hợp phần galactosa vào cơ thể trước, sau đó hàm lượng của galactosa trong mẫu sinh học của cơ thể được đo lường bằng cách đo lường hàm lượng của galactosa trong mẫu sinh học.

Mục đích khác của sáng chế là cung cấp que thử, que thử bao gồm lớp nền cách nhiệt, bộ điện cực được cấu hình trên lớp nền cách nhiệt, và miếng đệm cách nhiệt thứ nhất phủ lên một phần của bộ điện cực và gồm kênh vùng phản ứng được đặt ở cạnh thứ nhất của miếng đệm cách nhiệt, trong đó phần khác của bộ điện cực được tiếp xúc với kênh vùng phản ứng; và

miếng đệm cách nhiệt thứ hai gồm cạnh thứ hai, miếng đệm cách nhiệt thứ hai mà phủ kênh vùng phản ứng của miếng đệm cách nhiệt thứ nhất và cạnh thứ nhất của miếng đệm cách nhiệt thứ nhất, cạnh thứ hai của miếng đệm cách nhiệt thứ hai, cạnh bên giống với lớp nền cách nhiệt tất cả ở dạng vòng cung lõm, và cạnh của lớp nền cách nhiệt chuyển vào trong so với nửa phần phía trước kênh vùng phản ứng; trong đó kênh vùng phản ứng bao gồm ít nhất lớp phản ứng, lớp phản ứng được phủ bởi bộ điện cực trong kênh vùng phản ứng gồm ít nhất galactosa và phương tiện dẫn điện để phản ứng với mẫu sinh học thông qua phản ứng điện hóa; trong đó que thử sử dụng đầu lõm của cạnh thứ hai của miếng đệm cách nhiệt thứ hai và cấu trúc lõm của lớp nền cách nhiệt so với nửa phía trước của kênh vùng phản ứng để giảm lực kết dính của mẫu sinh học, và cho phép mẫu sinh học đi nhanh về phía trước dưới tác động của hiện tượng mao dẫn; trong đó ác enzym có

thể oxy hóa, khử, phân hủy hoặc chuyển hóa galactosa.

Để đạt được mục đích trên, vùng thử nghiệm của galactosa trong que thử là 50-2000 μ g/ml.

Để đạt được mục đích trên, lớp nền cách nhiệt được chọn từ nhóm chỉ bao gồm polyvinyl clorua (PVC), sợi thủy tinh (FR-4), polyeste suphon, tấm bakelit, polyetylen terephthalat (PET), polycacbonat (PC), polypropylen (PP), polyetylen (PE), polystyren (PS), tấm thủy tinh, gốm hoặc bất kỳ sự kết hợp của chúng.

Để đạt được mục đích trên, trong đó bộ điện cực được chọn từ nhóm chỉ bao gồm paladi, bạch kim, vàng keo, titan, carbon, bạc, đồng, vàng và bạc.

Để đạt được mục đích trên, lớp phản ứng được chọn từ nhóm chỉ bao gồm enzym, coenzym, dung dịch đệm, chất ổn định và chất hoạt động bề mặt.

Để đạt được mục đích trên, môi trường dẫn điện được chọn từ nhóm chỉ bao gồm ferrocen, ferrocenium, xanh metylen, tris(axetonitril)ruthenium triclơrua, dihydroxybenzoquinon, phenazinemetosulfat, tetrathiafulvalene, tetra-cyano-quino-dimetan, methyl viologen, xanh toluidin, 5,6-diamino-1,10-phenanthrolin, 2,2'- bipyridin.

Để đạt được mục đích trên, môi trường dẫn điện còn bao gồm hợp chất ion kim loại, hợp chất ion kim loại được chọn từ nhóm chỉ bao gồm $MgCl_2$ ' $BeCl_2$ ' $CaCl_2$ ' $SrCl_2$, $BaCl_2$ và bất kỳ sự kết hợp của chúng.

Để đạt được mục đích trên, dung dịch đệm được chọn từ nhóm chỉ bao gồm Tris, Tris-HCl, PBS, MES, CHES, Borat, hỗn hợp đệm chung (CPB), MOPS, TES, HEPES, TAPSO, Tricin, Bicin và TAPS.

Để đạt được mục đích trên, chất ổn định được chọn từ nhóm chỉ bao gồm Xylitol, mannitol, polyxyloza, araboxylan, mannan, trehaloza, PEG, PVA, PEO, Metocel, agarose, sol-gel, collagen, chitosan, BSA, casein, neo protein, amino axit và bất kỳ sự kết hợp của chúng.

Để đạt được mục đích trên, chất hoạt động bề mặt được chọn từ nhóm chỉ bao gồm các ion dương của chất hoạt động bề mặt, các ion âm của chất hoạt động bề mặt, chất hoạt động bề mặt ion trung tính, và chất hoạt động bề mặt không phải là ion.

Để đạt được mục đích trên, enzym có thể được làm khô, được đông đặc và được lưu trữ trong môi trường trung tính, axit hoặc kiềm

Mục đích khác của sáng chế là cung cấp phương pháp thực hiện hệ thống phát

hiện định lượng nhanh galactosa trong người dùng, bao gồm:

- (1) Người dùng đưa vào hợp phần galactosa trước;
- (2) Mẫu sinh học được thu bằng cách sử dụng bút lấy mẫu sinh học;
- (3) mẫu sinh học được hấp thụ bằng que thử từ bút lấy mẫu sinh học;
- (4) que thử được chèn vào dụng cụ đo; và
- (5) người dùng hoặc nhân viên y tế chuyên nghiệp đọc giá trị của nồng độ

galactosa để xác định bệnh hoặc chức năng tồn dư trong gan của người dùng.

Để đạt được mục đích trên, phương pháp có thể được thực hiện bởi đối tượng hoặc nhân viên chuyên nghiệp.

Để đạt được mục đích trên, bệnh là galactosemia ở trẻ sơ sinh.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 là thông tin bên ngoài mặt trước của hệ thống phát hiện nhanh galactosa.

Fig.2 là hình chiếu dạng giản đồ khóa của hệ thống dụng cụ đo trong hệ thống phát hiện nhanh galactosa.

Fig.3 là kết quả thử nghiệm chính xác đối với hệ thống phát hiện nhanh galactosa.

Fig.4 là kết quả thử nghiệm chính xác đối với hệ thống phát hiện nhanh galactosa.

Fig.5 là hình chiếu dạng giản đồ của cấu trúc que thử.

Fig.6 là sự phân tích thể tích máu của giấy lọc chung.

Fig.7 là kết quả thử nghiệm chính xác của galactosa dưới các thể tích khác nhau của que thử.

Fig.8 là kết quả thử nghiệm đối với các ngày lưu que thử.

Fig.9 là kết quả thử nghiệm cho các thử nghiệm đánh giá hematocrit.

Fig.10 là kết quả thử nghiệm đối với các thử nghiệm đánh giá độ lặp lại.

Fig.11 là một dạng mối tương quan giữa kết quả của việc tiêm galactosa GSP vào tĩnh mạch và kết quả của việc dùng galactosa OGSP qua đường miệng.

Fig.12 là dạng khác của mối tương quan giữa kết quả của việc tiêm galactosa GSP vào tĩnh mạch và kết quả của việc dùng galactosa OGSP qua đường miệng.

Fig.13 là kết quả phát hiện que thử được thực hiện bởi cánh tay robot bán tự động.

Mô tả chi tiết các phương án

Sáng chế được lấy làm ví dụ trong các phương án sau, nhưng do đó không bị giới hạn. Nói cách khác, các vật liệu được sử dụng trong sáng chế có sẵn trên thị trường.

Hệ thống phát hiện nhanh galactosa được thể hiện trong Fig. 1a theo sáng chế áp dụng công nghệ cảm biến điện hóa enzym. Hệ thống chủ yếu áp dụng công nghệ thiết bị điện cực khô enzym dùng một lần, sử dụng galactosa hoặc các chất chuyển hóa của chúng mà được chuyển hóa bởi gan trong cơ thể người phản ứng với enzym để tạo ra dòng điện vi mô thông qua phản ứng điện hóa, sau đó giá trị đọc của galactosa được phát hiện bằng cách đo lường dòng điện vi mô. Chức năng gan dư thừa được đánh giá theo giá trị đọc. Hệ thống phát hiện định lượng nhanh galactosa theo sáng chế không bị giới hạn đến đánh giá chức năng gan, nhưng cũng có thể chẩn đoán các bệnh liên quan đến galactosa, như galactosa huyết ở trẻ sơ sinh. Hơn nữa, galactosa theo sáng chế còn bao gồm galactosa và các dẫn xuất của nó. Mẫu sinh học có thể là máu, nước bọt, nước tiểu, dịch rửa hoặc bất kỳ chất dịch cơ thể nào khác.

Phương án 1: Phương pháp sử dụng hệ thống phát hiện định lượng nhanh galactosa

1-1 Việc sử dụng que thử để phát hiện galactosa

Que thử galactosa được thể hiện trong Fig.1b được nang hóa trong túi giấy nhôm, và được giữ ở các nhiệt độ 4°C-10°C (39,2°F-51,2°F). Trước khi sử dụng, que thử cần được làm ấm khoảng 20 phút. Sau khi được mở, que thử galactosa cần được sử dụng trong 30 phút. Khi qua thời gian sử dụng, que thử được loại bỏ và không cho phép được sử dụng lại.

1-2 Thu thập và chuẩn bị mẫu

Người sử dụng cần uống hợp phần galactosa bằng đường miệng trước, trong đó hàm lượng của galactosa là 1%-80%, tốt hơn là 4%-40%, theo khối lượng của tổng hợp phần galactosa, trong đó dung dịch đệm có thể không được bổ sung hoặc có thể được bổ sung đến tổng khối lượng 0,001%-5%, và chất chống oxy hóa có thể không được bổ sung hoặc có thể được bổ sung đến tổng khối lượng 0,001%-5%. Công thức phù hợp có thể được điều chế bằng cách chọn đệm và chất chống oxy hóa, và bổ sung hàm lượng của các thành phần sau: chất chống oxy hóa 0,01M-1M được chọn từ nhóm gồm vitamin C, natri bisulfit, vitamin A, vitamin E, flavonoid, polyphenols, axit etylenediaminetetraaxetic (EDTA), axit dietylenetriaminpentaaxetic (DTPA), và NTA-axit Nitrilotriaxetat (NTA);

và/hoặc dung dịch đệm 0,01M-1M được chọn từ nhóm gồm đệm axetic, đệm xitrat, đệm phosphat, đệm axetat, đệm cacbonat, đệm axit ascorbic, và đệm trietanolamin với sự điều chỉnh các giá trị pH trong khoảng 4,0-9,0. Công thức ổn định có thể được thu bằng cách bổ sung 0,01% đệm xitrat và 0,5% natri bisulfite với giá trị pH 4,5. Sau khi uống hợp phần galactosa trên khoảng 60 phút, các ngón tay được làm sạch với xà phòng và nước ấm và được lau khô, sau đó các ngón tay được lau khô với bông cotton trước khi lấy mẫu sinh học. Sau khi các đầu ngón tay làm khô một cách hoàn toàn, các mẫu sinh học được thu bằng cách sử dụng thiết bị lấy mẫu sinh học để chích nhẹ vào các đầu ngón tay, và nên tránh việc ép mạnh trong suốt phần lấy mẫu sinh học.

1-3 Quy trình sử dụng

(1) Hiệu chỉnh thẻ mật khẩu

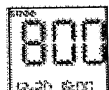
Để đo lường giá trị galactosa chính xác, dụng cụ đo galactosa nên được hiệu chỉnh lại khi hộp mới của que thử galactosa được sử dụng mọi lúc. Khi hiệu chuẩn, chỉ thẻ mật khẩu được gắn trên hộp được cho phép để sử dụng, và xác nhận rằng mật khẩu của thẻ mật khẩu là giống với mật khẩu trên hộp đựng que thử được sử dụng để phát hiện galactosa; sau đó lắp cực tiếp xúc của thẻ mật khẩu vào khe cắm thẻ mật khẩu của dụng cụ đo galactosa. Sau khi lắp que thử galactosa vào khe cắm que thử của dụng cụ đo, dụng



cụ đo sẽ một cách tự động được hoạt hóa và thể hiện “800” ví dụ trên màn hình. Người sử dụng cần xác nhận rằng mật khẩu là giống với thẻ mật khẩu, và sau đó thẻ mật khẩu được lấy ra. Nên việc hiệu chỉnh được hoàn thành và thử nghiệm galactosa có thể được thực hiện.

(2) Sự phát hiện galactosa

Người sử dụng đầu tiên rửa và lau khô hoàn toàn các ngón tay, và sau đó đặt kim lấy mẫu sinh học vào thiết bị lấy mẫu sinh học ở nơi cố định. Sau khi lắp que thử galactosa vào khe cắm que thử của dụng cụ đo, dụng cụ đo được hoạt hóa một cách tự



động, và thể hiện “800”, ví dụ trên màn hình. Người sử dụng xác nhận rằng mật khẩu trên màn hình là giống mật khẩu trên hộp que thử, và có thể lấy mẫu sinh học khi biểu tượng giọt máu “” nhấp nháy trên màn hình.

Trước khi lấy mẫu sinh học, lau các đầu ngón tay bằng bông tẩy cotton. Sau khi các đầu ngón tay làm khô một cách hoàn toàn, các mẫu sinh học được thu bằng cách sử

dụng thiết bị lấy mẫu sinh học để chích nhẹ vào các đầu ngón tay. Bằng cách cho mẫu sinh học chạm nhẹ vào lỗ hấp thụ mẫu sinh học của que thử, que thử sẽ hấp thụ một cách tự động mẫu sinh học đến vùng phản ứng. Khi tìm thấy rằng cửa sổ phản ứng trong vùng phản ứng của que thử xuất hiện hoàn toàn màu đỏ và nghe thấy tiếng "bíp", mẫu sinh học ở đầu ngón tay có thể được di chuyển. Ở đầu của que thử (sau khoảng 1 phút), giá trị galactosa sẽ được hiển thị trên màn hình. Thêm vào đó, tiềm năng của sự hiển thị này có thể chuyển vào các hiển thị khác gồm những người đang hành nghề y thông qua Bluetooth hoặc kết nối tương tự thông qua điện thoại di động hoặc máy tính.

Sau khi việc thử nghiệm được hoàn thành, que thử được lấy ra và được loại bỏ một cách phù hợp. Nếu không có thử nghiệm nào được thực hiện một cách liên tiếp, sau đó dụng cụ đo sẽ tự động bị vô hiệu hóa sau ba phút.

Phương án 2: Nguyên tắc hệ thống phát hiện và thử nghiệm

Sáng chế còn cung cấp hệ thống để đo lường hàm lượng galactosa trong mẫu sinh học. Người dùng dùng hợp phần galactosa nói trên trước. Sau khi hợp phần galactosa được chuyển hóa bởi gan trong cơ thể người, galactosa hoặc các chất chuyển hóa của chúng sẽ xuất hiện trong máu. Người dùng lấy mẫu máu từ đầu ngón tay, và nhỏ mẫu trên que thử mà được bảo hộ bởi sáng chế. Do enzym trong que thử, enzym có thể phản ứng với galactosa hoặc các chất chuyển hóa của chúng, sau đó tạo ra dòng điện thông qua phản ứng điện hóa. Chèn que thử vào dụng cụ đo theo sáng chế, dụng cụ đo phát hiện lượng của galactosa trong cơ thể người bằng cách phát hiện tín hiệu dòng điện trong que thử. Do đó người dùng có thể theo dõi tình trạng sức khỏe của các người dùng. Bởi vì quá trình phát hiện rất đơn giản, nó có thể giảm thời gian phát hiện galactosa so với tình trạng kỹ thuật trước với độ chính xác và tính rõ ràng cao.

Fig.2 là hình chiếu dạng giản đồ khóa của hệ thống phát hiện galactosa theo một phương án của sáng chế. Hệ thống bao gồm que thử 100 và dụng cụ đo 200. Dụng cụ đo 200 gồm đầu dây nối 210 được nối với bên ngoài, bộ tính 211 để tính nồng độ, bộ chuyển đổi A/D 212, bộ xử lý 213, và bộ hiển thị 214. Khi bộ cấp nguồn 215 sử dụng tín hiệu (tốt hơn là tín hiệu sóng vuông ở tần số 1kHz-22kHz; điện áp là 50mV-5V, tốt hơn là 300mV-800mV) tới que thử thông qua đầu dây nối 210, galactosa hoặc chất chuyển hóa của nó trong mẫu sinh học và enzym trong que thử phản ứng thông qua phản ứng điện hóa, mà tạo ra thông tin điện hóa. Tín hiệu phản ứng với thông tin điện hóa tạo ra tín hiệu phản ứng tương ứng, và tín hiệu phản ứng tương ứng được truyền tới bộ tính 211 của dụng cụ đo 200 thông qua đầu dây nối 210. Sau đó, các bộ tính 211 sẽ tính tín hiệu phản

ứng tương ứng, đầu ra tín hiệu phản ứng tương ứng với bộ chuyển đổi A/D 212 để biến đổi tín hiệu phản ứng tương ứng với tín hiệu phản ứng số mà còn được xử lý thêm bởi bộ xử lý 213 và kết quả đo lường sẽ được hiển thị thông qua bộ hiển thị 214. Hơn nữa, tín hiệu phản ứng số có thể được truyền đến thiết bị cuối kỹ thuật số 300, như gửi tín hiệu của nồng độ galactosa tới điện thoại hoặc máy tính thông qua Bluetooth hoặc thiết bị không dây.

2-1 Thử nghiệm độ chính xác

Đầu tiên, chuẩn bị năm nồng độ khác nhau của các mẫu galactosa (tương ứng là 200 μ g/ml, 500 μ g/ml, 900 μ g/ml, 1200 μ g/ml và 1500 μ g/ml), mỗi nồng độ lấy 24 nhóm, và bổ sung máu tĩnh mạch vào chúng, sau đó sử dụng dụng cụ đo theo sáng chế để thử nghiệm các giá trị nồng độ, tính giá trị trung bình (μ g/ml), độ lệch chuẩn (S.D.) và hệ số biến thiên (%C.V.), và lập các biểu đồ phân tích hồi quy, trong đó môi trường phát hiện là nhiệt độ phòng ($25\pm 5^{\circ}\text{C}$) và độ ẩm tương đối là 20-60%, như là được thể hiện trong Fig. 3. Giá trị đọc của dụng cụ đo theo sáng chế có hệ số tương quan cao lên đến 0,98 nồng độ galactosa thực tế, mà biểu hiện độ chính xác cao đối với dụng cụ đo theo sáng chế.

2-2 Thử nghiệm tính rõ ràng

Đầu tiên, chuẩn bị năm nồng độ khác nhau của các mẫu galactosa (tương ứng là 200 μ g/ml, 500 μ g/ml, 900 μ g/ml, 1200 μ g/ml và 1500 μ g/ml) ở nhiệt độ phòng ($25\pm 5^{\circ}\text{C}$) và 20-60% độ ẩm tương đối, mỗi nồng độ lấy thành 3 nhóm, và bổ sung máu tĩnh mạch vào chúng, sau đó sử dụng dụng cụ đo theo sáng chế để thử nghiệm các giá trị nồng độ và lặp lại các thử nghiệm trong tám ngày, tính giá trị trung bình của hệ số biến thiên (%C.V.) (như là được thể hiện trong Fig.4). Từ dữ liệu trong Fig.4 thể hiện rằng hệ số biến thiên trung bình (%C.V.) của năm mẫu trong tám ngày dao động từ 6,5-7,5 thể hiện độ chính xác cao của dụng cụ thử nghiệm.

Theo kết quả đã nói ở trên, quy trình của hệ thống phát hiện galactosa theo sáng chế rất đơn giản và nhanh chóng. Đó là do công thức của hợp phần galactosa theo sáng chế có thể được chuyển hóa nhanh chóng qua gan trong cơ thể người, cho phép máu hoặc dịch thể chứa galactosa hoặc các chất chuyển hóa của chúng. Sau đó, lấy mẫu bởi các đầu ngón tay. Sau khi mẫu phản ứng với enzyme trong que thử thông qua phản ứng điện hóa, lấy dụng cụ đo để phát hiện galactosa cho khoảng 1 phút mà không chuẩn bị thêm mẫu thử nghiệm. Quy trình giảm đi số lượng các bước để phát hiện galactosa mà còn giảm

thời gian phát hiện. Do đó, sáng chế cung cấp phương pháp phát hiện galactosa có độ chính xác cao, đơn giản và nhanh chóng đối với các bệnh nhân cần để phát hiện galactosa.

Phương án 3: Sự phát hiện que thử nghiệm

Fig.5 là hình chiếu dạng giản đồ của que thử theo một phương án của sáng chế. Que thử 100 gồm lớp nền cách nhiệt 110, bộ điện cực 120, miếng đệm cách nhiệt thứ nhất 130 và miếng đệm cách nhiệt thứ hai 140. Que thử chứa enzym phản ứng với galactosa hoặc các chất chuyển hóa của chúng để có phản ứng điện hóa.

Theo phương án này, lớp nền cách nhiệt 110 có bề mặt phẳng mà có khả năng cách điện và chịu nhiệt giữa 40-120°C. Vật liệu của lớp nền cách nhiệt 110 được chọn từ polyvinyl clorua (PVC), sợi thủy tinh (FR-4), polyester suphon, tấm bakelit, polyetylen terephthalat (PET), polycarbonat (PC), polypropylen (PP), polyetylen (PE), polystyren (PS), tấm thủy tinh, gốm hoặc bất kỳ sự kết hợp nào của các vật liệu được mô tả ở trên.

Như là được thể hiện trong Fig.5, bộ điện cực 120 được cấu hình trên lớp nền cách nhiệt 110. Bộ điện cực 120 bao gồm đầu thứ nhất 122 và đầu thứ hai 124 mà đối diện nhau. Theo phương án hiện tại, bộ điện cực 120 có thể được bao gồm nhiều điện cực cách điện với nhau. Vật liệu của bộ điện cực 120 có thể là bất kỳ chất dẫn điện nào, như keo paladi, keo platin, keo vàng, keo titan, keo cacbon, keo bạc, keo đồng, keo hỗn hợp vàng-bạc, keo hỗn hợp cacbon-bạc, hoặc bất kỳ sự kết hợp nào của các vật liệu dẫn điện nào được mô tả nêu trên. Theo một phương án, bộ điện cực 120 chỉ bao gồm lớp bột cacbon dẫn điện hoặc lớp kim loại. Theo phương án khác, bộ điện cực 120 chỉ bao gồm lớp bạc kết dính dẫn điện và lớp bột cacbon dẫn điện trên đó, trong đó trở kháng của lớp bột cacbon dẫn điện là thường lớn hơn trở kháng của lớp keo bạc dẫn điện hoặc các lớp kim loại khác.

Các vật liệu của miếng đệm cách nhiệt thứ nhất 130 có thể gồm nhưng không bị giới hạn ở băng dính cách điện polyvinyl clorua (PVC), băng dính cách điện este của axit etylen terephthalic, vecni cách nhiệt đã được sấy khô bằng nhiệt, hoặc vecni cách điện được xử lý bằng tia cực tím. Miếng đệm cách nhiệt thứ nhất 130 phủ một phần của bộ điện cực 120 (cụ thể là một phần của phần đầu 122), và gồm kênh vùng phản ứng 134 được đặt trên cạnh thứ nhất 132 của miếng đệm cách nhiệt thứ nhất 130. Đầu thứ nhất 122 được tiếp xúc với kênh vùng phản ứng 134. Mẫu (ví dụ, máu) phù hợp để làm đầy kênh vùng phản ứng 134 để thực hiện phản ứng điện hóa tiếp theo. Hai cạnh dài của kênh

vùng phản ứng 134 có dạng bậc thang, và chiều rộng của kênh vùng phản ứng 134 liền kề với cạnh thứ nhất 132 là lớn hơn chiều rộng tính từ cạnh thứ nhất 132.

Kênh vùng phản ứng 134 có ít nhất một lớp phản ứng 150 mà phủ ít nhất một bộ điện cực 120 trong kênh vùng phản ứng 134 và chứa ít nhất một galactosa và phương tiện dẫn điện, với các mẫu (như máu) để tạo phản ứng hóa học. Lớp phản ứng 150 có thể còn gồm vùng đo lường enzym galactosa và vùng đo môi trường dẫn điện.

Hợp phần của lớp phản ứng 150 có thể là nhưng không bị giới hạn ở enzym, coenzym, môi trường dẫn điện, dung dịch đệm, chất ổn định và chất hoạt động bề mặt. Trong đó môi trường dẫn điện được sử dụng để nhận các electron được tạo ra sau khi chất hoạt hóa được phản ứng với mẫu, chuyển các electron đến dụng cụ đo 200 thông qua bộ điện cực 120, và gồm nhưng không bị giới hạn ở: ferrocen, ferrocenium, xanh metylen, tris(axetonitril)ruthenium trichlorua, 2,5-dihydroxybenzoquinon, phenazin emeto sulfat, tetrathiafulvalen, tetra-cyano-quino-dimetan, methyl viologen, xanh toluidin, 5,6-diamino-1,10-phenanthrolin, $[M(bpy)_3]^{2+}$ ($M = Ru$ hoặc Os ; BPY = 2,2'-bipyridin). Thêm vào đó, môi trường dẫn điện có thể là hợp chất ion kim loại, trong đó hợp chất ion kim loại gồm nhưng không bị giới hạn ở $MgCl_2$, $BeCl_2$, $CaCl_2$, $SrCl_2$, $BaCl_2$ hoặc sự kết hợp của chúng mà có thể được hòa tan trong dung dịch nước ở dạng ion kim loại dưới tác dụng hấp thụ giữa các electron và các điện tích; dung dịch đệm gồm nhưng không bị giới hạn ở các dung dịch đệm trung tính và kiềm Tris, Tris-HCl, PBS, MES, CHES, Borat, hỗn hợp đệm chung (CPB), MOPS, TES, HEPES, TAPSO, Tricin, Bicin và TAPS; chất ổn định bao gồm nhưng không bị giới hạn ở Xylitol, mannitol, polyxyloza, araboxylan, mannan, trehaloza, PEG, PVA, PEO, Metocel, agarose, sol-gel, collagen, chitosan, BSA, casein, neo protein, amino axit hoặc bất kỳ sự kết hợp nào của nó; chất hoạt động bề mặt gồm nhưng không bị giới hạn ở các ion dương của chất hoạt động bề mặt, các ion âm của chất hoạt động bề mặt, chất hoạt động bề mặt ion trung tính, và chất hoạt động bề mặt không phải là ion.

Theo phương án hiện tại, miếng đệm cách nhiệt thứ hai 140 bao phủ miếng đệm cách nhiệt thứ nhất 130, một phần của bộ điện cực 120 và một phần của lớp nền cách nhiệt 110. Khi miếng đệm cách nhiệt thứ hai 140 bao phủ hoàn toàn kênh vùng phản ứng 134 của miếng đệm cách nhiệt thứ nhất 130, các bề mặt trên, dưới, trái, phải của kênh vùng phản ứng 134 được gắn bởi ba bề mặt tường của miếng đệm cách nhiệt thứ hai 140, lớp nền cách nhiệt 110 và miếng đệm cách nhiệt thứ nhất 130 bên cạnh kênh vùng phản ứng 134 để hình thành đường ống bao quanh hình tứ diện. Khi mẫu đi vào kênh vùng

phản ứng 134 thông qua lỗ lấy mẫu sinh học, lực kết dính của mẫu sinh học trong kênh vùng phản ứng 134 là lớn hơn lực kết dính của mẫu sinh học, sao cho mẫu sinh học có thể di chuyển một cách liên tục.

Theo phương án hiện tại, cạnh thứ nhất 132 của miếng đệm cách nhiệt thứ nhất 130, cạnh thứ hai 142 của miếng đệm cách nhiệt thứ hai 140, cạnh bên giống với lớp nền cách nhiệt 110, nói chung, tất cả ở dạng vòng cung lõm. Thêm vào đó, như là được thể hiện trong Fig.5, cạnh của lớp nền cách nhiệt 110 chuyển vào trong so với nửa phần phía trước kênh vùng phản ứng 134. Que thử 100 theo phương án sử dụng đầu lõm của cạnh thứ hai 142 của miếng đệm cách nhiệt thứ hai 140 và cấu trúc lõm của lớp nền cách nhiệt so với nửa phía trước của kênh vùng phản ứng 134 để giảm lực kết dính của mẫu sinh học, và cho phép mẫu sinh học đi nhanh về phía trước dưới tác động của hiện tượng mao dẫn. Thêm vào đó, trong phương án, miếng đệm cách nhiệt thứ hai 140 còn bao gồm lỗ thông hơi 144 được đặt ở vị trí cách xa cạnh thứ hai 142, cụ thể ở cuối của kênh vùng phản ứng 134 của miếng đệm cách nhiệt thứ nhất 130. Lỗ thông hơi 144 được sử dụng để xả không khí trong kênh vùng phản ứng 134, trong trường hợp mẫu sinh học bị khóa bởi bong bóng không khí và không thể di chuyển một cách trôi chảy trong kênh vùng phản ứng 134.

Do sự bất ổn định của protein enzym, enzym không thể được bảo quản trong môi trường kiềm hoặc điều kiện khô. Do đó, enzym thường được lưu giữ trong dung dịch axit, như được bảo quản trong dung dịch axit amin sulphat với thời gian bảo quản ngắn. Enzym sẽ mất hoạt tính khi trở nên khô, nên enzym không thể được lưu trữ ở trạng thái rắn. Tuy nhiên, que thử trong sáng chế với công thức và cấu trúc trên cho phép enzym không chỉ được bảo quản trong môi trường axit, mà còn được đông lại và được bảo quản trong môi trường trung tính và kiềm. Hơn nữa, enzym với công thức trên có thể giữ hoạt tính ở trạng thái khô và có thể được bảo quản trong thời gian dài. Do đó, sáng chế đã vượt qua những hạn chế trước đó để đảm bảo rằng enzym có thể bị đông đặc hoặc làm khô có hiệu quả để làm khô enzym trên que thử và vẫn hoạt động.

3-1 Sự phát hiện của thể tích có thể phát hiện của que thử

Fig.6 là sự phân tích thể tích sinh học của giấy lọc chung. Kết quả thể hiện rằng ít nhất 30 μ l thể tích mẫu sinh học trên đầu ngón tay của giấy lọc có thể được dùng để đảm bảo rằng lỗi ít hơn 15%. Tuy nhiên, que thử theo sáng chế có thể nhận được sự phát hiện mẫu sinh học thể tích nhỏ hơn. Phương pháp thí nghiệm là để điều chế ba nồng độ khác nhau của các mẫu galactosa (mà là 200 μ g/ml, 900 μ g/ml và 1500 μ g/ml, tương ứng), mỗi

trong các mẫu galactosa sẽ là 1, 2, 5, 7 và 10 μ l thể tích để phát hiện các giá trị dữ liệu (xem Fig.7) và, lặp lại mỗi lần phát hiện ba lần, và sau đó tính giá trị trung bình (μ g/ml), độ lệch chuẩn (S.D.) và hệ số biến thiên (%C.V.), trong đó giá trị trung bình có thể chấp nhận C.V của các mẫu galactosa dưới nồng độ 250 μ g/ml hoặc nhỏ hơn cần nhỏ hơn 20%, trong khi giá trị trung bình có thể chấp nhận được C.V của các mẫu galactosa trong khoảng 251-1500 μ g/ml cần nhỏ hơn 15%. Fig.7 thể hiện rằng giá trị trung bình C.V của các mẫu galactosa với nồng độ 200 μ g/ml trong mỗi thể tích là trong khoảng 3,03-8,15% mà nhỏ hơn 15%, trong khi giá trị C.V trung bình của các mẫu galactosa với nồng độ của 900 μ g/ml và 1500 μ g/ml trong mỗi thể tích là cả trong khoảng 3,14-6,54% mà nhỏ hơn 20%. Do đó, que thử theo sáng chế có thể phát hiện galactosa với thể tích lớn hơn hoặc bằng với 1 μ l.

3-2 Thử nghiệm sự ổn định thời gian dài của que thử

Để đánh giá tình trạng sử dụng của que thử dưới một vài môi trường, các ngày bảo quản được đánh giá trong môi trường 4°C. Năm nồng độ khác nhau của các mẫu galactosa (mà là 200 μ g/ml, 500 μ g/ml, 1200 μ g/ml, 900 μ g/ml và 1500 μ g/ml, tương ứng) được điều chế, và chúng được chia thành ba nhóm 30°C, 40°C và 45°C, tương ứng, và sau đó giá trị đọc của galactosa được đo từng cái một, trong đó giá trị trung bình có thể chấp nhận C.V của galactosa dưới nồng độ 250 μ g/ml là nhỏ hơn 20%, trong khi giá trị trung bình có thể chấp nhận được C.V. của galactosa trong khoảng 251-1500 μ g/ml cần nhỏ hơn 15%, và hệ số tương quan (R) nên lớn hơn 0,9. Theo các kết quả của Fig.8, que thử theo sáng chế có thể được giữ ở 4°C khoảng 545.32 ngày (longest), 30°C khoảng 30 ngày, 40°C khoảng 11 ngày, và 45°C khoảng 7 ngày. Môi trường lưu giữ ưa thích hơn cho que thử theo sáng chế là 4°C-10°C. Có thể thấy rằng que thử hiện nay ổn định khoảng 180 ngày ở 4°C, và khoảng 60 ngày ở nhiệt độ phòng. Được đánh giá rằng que thử theo sáng chế có thể duy trì không đổi lớn hơn 545 ngày được lưu giữ ở 4°C bởi thử nghiệm thúc đẩy.

3-3 Thử nghiệm đánh giá tỷ lệ hồng cầu

Để đánh giá liệu rằng que thử có thể phát hiện các tỷ lệ hồng cầu khác nhau (HCT) của các mẫu trong phạm vi bình thường, năm nồng độ khác nhau của các mẫu sinh học galactosa (200 μ g/ml, 450 μ g/ml, 800 μ g/ml, 1150 μ g/ml và 1500 μ g/ml, tương ứng) được điều chế, và mỗi mẫu HCT 20%, 30%, 40%, 50% và 60% được điều chế. Các giá trị đọc của galactosa được đo lường từng cái một. Trong số chúng, giá trị trung bình có thể chấp nhận C.V của galactosa dưới nồng độ 250 μ g/ml cần nhỏ hơn 20%, trong khi giá trị trung

bình có thể chấp nhận C.V của galactosa trong khoảng 251-1500 μ g/ml cần nhỏ hơn 15%, và hệ số tương quan (R) nên lớn hơn 0,9. Như là được thể hiện trong Fig.9, giá trị trung bình C.V của galactosa trong khoảng 450-1500 μ g/ml là nhỏ hơn 15%, và giá trị trung bình C.V của galactosa với nồng độ 200 μ g/ml là nhỏ hơn 20%. Do đó, que thử theo sáng chế can ít nhất phát hiện mẫu sinh học trong khoảng HCT 20%-60%.

3-4 Thử nghiệm lặp lại

Để đánh giá liệu rằng kết quả thử nghiệm của hệ thống phát hiện định lượng nhanh galactosa có thể lặp lại, thử nghiệm lặp lại được thực hiện như theo sau: năm nồng độ khác nhau của các mẫu galactosa (200 μ g/ml, 450 μ g/ml, 900 μ g/ml, 1200 μ g/ml và 1500 μ g/ml, tương ứng) được điều chế để bổ sung vào các mẫu sinh học, trong đó mỗi nồng độ sẽ được thử nghiệm bởi ba dụng cụ đo, và mỗi dụng cụ đo sẽ lặp lại thử nghiệm sáu lần. Giá trị trung bình có thể chấp nhận C.V của galactosa dưới nồng độ 250 μ g/ml cần nhỏ hơn 20%, và giá trị trung bình có thể chấp nhận C.V của galactosa trong khoảng 251-1500 μ g/ml cần nhỏ hơn 15%. Từ kết quả của Fig.10, giá trị trung bình C.V của các mẫu galactosa trong khoảng 500-1500 μ g/ml là trong khoảng 7,12-9,83% mà nhỏ hơn 15%; và giá trị trung bình C.V của các mẫu galactosa với nồng độ 200 μ g/ml là 14,58% mà nhỏ hơn 20%. Do đó, kết quả thử nghiệm của hệ thống phát hiện định lượng nhanh galactosa theo sáng chế có thể lặp lại.

Theo kết quả đã nói ở trên, que thử theo sáng chế có thể phát hiện tối thiểu 1 μ L thể tích của mẫu sinh học. Do enzym và công thức đã được nói ở trên, que thử có thể được giữ khoảng 60 ngày ở nhiệt độ phòng, khoảng 180 ngày ở 4°C. Nó vượt qua trở ngại của vấn đề bảo quản. Thêm vào đó, bởi vì thể tích tối thiểu của mẫu sinh học là 1 μ L giúp tránh khó chịu được gây ra bởi vết thương lớn ở mỗi thử nghiệm, trong khi duy trì độ chính xác cao của các kết quả thử nghiệm. Sáng chế cung cấp cho người dùng công cụ ưu việt để phát hiện galactosa.

Phương án 4: Sử dụng hệ thống phát hiện để xác định chức năng gan

4-1 So sánh giữa kết quả việc dùng galactosa qua đường miệng và giữa kết quả của việc tiêm galactosa GSP vào tĩnh mạch

Như là được thể hiện trong các Fig. 11 và 12, tổng 127 đối tượng (56 đối tượng chức năng gan thông thường và 71 đối tượng có chức năng gan bị suy giảm) được thử nghiệm để xác định mối tương quan giữa kết quả của việc tiêm galactosa GSP vào tĩnh mạch và kết quả của việc dùng galactosa OGSP qua đường uống. Như được đề nghị

trong Digestion 1992, 52:222-231, đối tượng tham gia việc tiêm galactosa GSP vào tĩnh mạch được chia thành ba nhóm: đối tượng với GSP nhỏ hơn $280\mu\text{g/ml}$ được xác định trong nhóm chức năng gan bình thường; đối tượng với GSP trong khoảng $280\text{--}480\mu\text{g/ml}$ được xác định trong nhóm chức năng gan bị suy giảm vừa phải; và đối tượng với GSP lớn hơn $480\mu\text{g/ml}$ được xác định trong nhóm chức năng gan bị suy giảm nghiêm trọng. Từ các kết quả của các Fig. 10 và 11, giá trị galactosa OGSP của việc dùng qua đường miệng cao hơn giá trị galactosa GSP tiêm qua tĩnh mạch và giá trị galactosa OGSP của việc dùng qua đường miệng tăng với mức độ suy giảm của chức năng gan, trong đó OGSP và GSP có mối tương quan rõ ràng. Các giá trị của việc dùng galactosa OGSP qua đường miệng của đối tượng trong nhóm chức năng gan thông thường là trong khoảng $318\pm 27\mu\text{g/ml}$ (giá trị trung bình $\pm$ sai số chuẩn) với giá trị tối thiểu $18\mu\text{g/ml}$ và giá trị tối đa $887\mu\text{g/ml}$. Các giá trị của việc dùng galactosa OGSP qua đường miệng của đối tượng trong nhóm chức năng gan bị suy yếu nhẹ hoặc vừa phải là trong khoảng $590\pm 40\mu\text{g/ml}$ với giá trị tối thiểu $294\mu\text{g/ml}$ và giá trị tối đa $1282\mu\text{g/ml}$. Các giá trị của việc dùng galactosa OGSP qua đường miệng của đối tượng trong nhóm chức năng gan bị suy yếu nghiêm trọng là trong khoảng $777\pm 48\mu\text{g/ml}$ với giá trị tối thiểu $293\mu\text{g/ml}$ và giá trị tối đa $1499\mu\text{g/ml}$. Bảng 5 thể hiện các kết quả của việc tiêm galactosa GSP vào tĩnh mạch và các kết quả của việc dùng galactosa OGSP của ba nhóm đối tượng mà giá trị galactosa OGSP của việc dùng qua đường miệng tăng với mức độ suy giảm của chức năng gan. Cụ thể, giá trị galactosa OGSP của việc dùng qua đường miệng cao hơn giá trị galactosa GSP tiêm qua tĩnh mạch. Từ các Fig. 11, 12 và Bảng 5, có thể được xác định các giá trị galactosa OGSP của việc dùng qua đường miệng của đối tượng trong nhóm chức năng gan thông thường là chủ yếu trong khoảng $264\text{--}372\mu\text{g/ml}$ (giá trị trung bình ± 2 *sai số chuẩn) và giá trị galactosa OGSP của việc dùng qua đường miệng của đối tượng trong nhóm chức năng gan bị suy yếu nhẹ hoặc vừa phải là chủ yếu trong khoảng $510\text{--}670\mu\text{g/ml}$. Các giá trị của việc dùng galactosa OGSP qua đường miệng của đối tượng trong nhóm chức năng gan bị suy yếu nghiêm trọng là chủ yếu trong khoảng $681\text{--}873\mu\text{g/ml}$ (giá trị trung bình ± 2 *sai số chuẩn). Ngay cả khi các kết quả của đối tượng được thay đổi do sự khác biệt cá nhân, giá trị galactosa OGSP của việc dùng qua đường miệng của đối tượng trong nhóm chức năng gan thông thường thường không vượt quá $670\mu\text{g/ml}$, và các giá trị OGSP của đối tượng trong các nhóm chức năng gan bị suy yếu thường lớn hơn $370\mu\text{g/ml}$. Do đó, các thử nghiệm chức năng gan khác nên được đưa vào các đối tượng mà giá trị OGSP là lớn hơn $370\mu\text{g/ml}$. Thêm vào đó đối với việc tiêm qua tĩnh mạch, các kết quả tương tự được thu bởi các việc tiêm hoặc việc dùng khác.

Bảng 1 Kết quả của việc tiêm galactosa GSP vào tĩnh mạch và kết quả của việc dùng galactosa OGSP qua đường miệng của đối tượng (giá trị trung bình $\pm$ sai số chuẩn)

	Chức năng gan thông thường (N=56)	Việc suy giảm nhẹ hoặc trung bình của chức năng gan (N=31)	Việc suy giảm nghiêm trọng của chức năng gan (N=40)
IV GSP(μ g/ml)	247 $\pm$ 16,5***	423 $\pm$ 26,0***	630 $\pm$ 41,0***
Digestion			
IV GSP (μ g/ml)	174 $\pm$ 8***	359 $\pm$ 10***	667 $\pm$ 29***
OGSP(μ g/ml)	318 $\pm$ 27***	590 $\pm$ 40***	777 $\pm$ 48***

***P<0,005(phân tích ANOVA & LSD)

Phương án 5: Việc sàng lọc galactosa huyết ở trẻ sơ sinh

Galactosa huyết là bệnh di truyền mà được cho là do không đủ enzym vụn galactosa trong bệnh nhân, nên galactosa tích lũy trong cơ thể. Các kết quả trong các triệu chứng của buồn ngủ, nôn mửa, tiêu chảy, không có khả năng phát triển bình thường, vàng da, và những thứ tương tự. Thông qua việc sàng lọc trẻ sơ sinh, có thể đảm bảo rằng sẽ không có các tác dụng phụ trong trẻ sơ sinh dùng sữa mẹ. Dụng cụ đo galactosa theo sáng chế có thể được sử dụng để sàng lọc galactosa huyết của trẻ sơ sinh. Việc sàng lọc galactosa huyết ở trẻ sơ sinh thử nghiệm không dựa vào việc tiêu hóa protein hoặc lactosa, nhưng áp dụng các mẫu sinh học thứ nhất của trẻ sơ sinh, nên hợp phần galactosa không được yêu cầu để thực hiện trước việc sàng và mẫu sinh học được lấy mẫu từ đầu ngón chân. Nếu giá trị galactosa của mẫu sinh học được phát hiện lớn hơn 100 μ g/ml, mà biểu hiện mắc galactoxa huyết ở trẻ sơ sinh, và việc kiểm tra thêm được cần thiết.

Phương án 6: Phân tích hoạt động của cánh tay bán tự động

Fig.13 thể hiện sự so sánh giữa phân tích enzym bằng giấy lọc thông thường và phân tích enzym của hệ thống phát hiện định lượng nhanh galactosa được thực hiện bằng việc sử dụng cánh tay bán tự động với phương pháp điểm đơn galactosa. Việc phân tích được chia thành việc tiêm galactosa GSP qua tĩnh mạch và việc dùng qua đường miệng galactosa OGSP, trong đó hệ số tương quan của phân tích enzym bằng giấy lọc thông thường và phân tích enzym của hệ thống phát hiện định lượng nhanh galactosa của việc

tiêm galactosa GSP qua tĩnh mạch là 0,963, và hệ số tương quan của việc dùng qua đường miệng galactosa OGSP là 0,927. Tóm lại, cả việc tiêm galactosa GSP qua tĩnh mạch và việc dùng qua đường miệng galactosa OGSP có hệ số tương quan cao trên 0,9. Do đó, hệ thống phát hiện nhanh galactosa theo sáng chế có thể được sản xuất thông qua việc sản xuất quy mô lớn.

Tóm lại, hệ thống phát hiện định lượng nhanh galactosa được cung cấp bởi sáng chế được thử nghiệm bởi tính chính xác và rõ ràng, có thể được sử dụng để phát hiện các chức năng gan và kiểm tra các bệnh liên quan đến galactosa, như việc sàng lọc sơ sinh galactosa huyết, và có thể xác định trạng thái vật lý của các nhân viên y tế hoặc các bệnh nhân để điều chỉnh liệu rằng việc kiểm tra tiếp có được yêu cầu không.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hệ thống phát hiện định lượng nhanh galactosa, trong đó hệ thống này bao gồm:

que thử, gồm enzym và chất ổn định để làm ổn định enzym, trong đó enzym này là galactosa dehydrogenaza, trong đó enzym này phản ứng với mẫu sinh học tạo ra thông tin điện hóa, chất ổn định, tiếp xúc que thử này, gồm trehaloza, trong đó mẫu sinh học thu được từ đối tượng phản ứng với phản ứng trao đổi chất bởi gan của đối tượng đối với chế phẩm galactosa dùng qua đường miệng, trong đó chế phẩm galactosa dùng qua đường miệng này chứa galactosa, đậm và từ 0,001 đến 99% chất chống oxy hóa; và

dụng cụ đo bao gồm:

bộ cấp nguồn để cung cấp tín hiệu;

đầu dây nối để nhận tín hiệu được cung cấp bởi bộ cấp nguồn và truyền tín hiệu đến que thử, trong đó tín hiệu phản ứng với thông tin điện hóa tạo ra tín hiệu phản ứng tương ứng, và đầu dây nối truyền tín hiệu phản ứng tương ứng đến dụng cụ đo;

bộ tính để tính tín hiệu phản ứng tương ứng;

bộ chuyển đổi A/D để nhận tín hiệu phản ứng tương ứng từ bộ tính, truyền tín hiệu phản ứng tương ứng được tính bởi bộ tính thành tín hiệu phản ứng số;

bộ xử lý để xử lý tín hiệu phản ứng số;

màn hình để hiển thị tín hiệu phản ứng số; và

thiết bị cuối kỹ thuật để nhận tín hiệu phản ứng số.

2. Hệ thống theo điểm 1, trong đó đậm được chọn từ nhóm bao gồm đậm axit ascorbic, đậm xitrat, đậm phosphat, đậm axetat, đậm cacbonat, và đậm trietanolamin.

3. Hệ thống theo điểm 1, trong đó chất chống oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm vitamin C hoặc/và natri bisulfit, vitamin A, vitamin E, flavonoit, polyphenol, axit etylendiamintetraaxetic (EDTA), axit dietyltriampentaxetic (DTPA), NTA-axit nitrilotriaxetat (NTA).

4. Hệ thống theo điểm 1, trong đó galactosa gồm D-(+)- galactosa, L-(-)-galactosa, galactosa đồng vị ổn định, galactosa vòng hoặc dẫn xuất của galactosa.

5. Hệ thống theo điểm 1, trong đó chế phẩm galactosa được dùng thông qua đường miệng, tiêm, xịt, hít, ngậm, đặt trực tràng, thuốc đạn hoặc cách được chấp nhận trong y học khác.

6. Hệ thống theo điểm 1, trong đó chế phẩm galactosa được dùng thông qua đường miệng, trong đó cách dùng qua đường miệng là để người dùng lấy chế phẩm galactosa trước, sau đó hàm lượng của galactosa trong cơ thể được đo lường bằng đo lường hàm lượng của galactosa trong mẫu sinh học.

7. Hệ thống theo điểm 1, trong đó chế phẩm galactosa được dùng thông qua tiêm, trong đó cách tiêm là để người dùng tiêm chế phẩm galactosa vào cơ thể trước, sau đó hàm lượng của galactosa trong cơ thể được đo lường bằng đo lường hàm lượng của galactosa trong mẫu sinh học.

8. Que thử bao gồm:

enzym, trong đó enzym này gồm galactosa dehydrogenaza;

chất ổn định, tiếp xúc với que thử, để duy trì độ ổn định enzym, trong đó chất ổn định này gồm trehaloza;

lớp nền cách nhiệt;

bộ điện cực được cấu hình trên lớp nền cách nhiệt;

miếng đệm cách nhiệt thứ nhất phủ lên một phần của bộ điện cực và gồm kênh vùng phản ứng được đặt ở cạnh thứ nhất của miếng đệm cách nhiệt, trong đó phần khác của bộ điện cực được tiếp xúc với kênh vùng phản ứng; và

miếng đệm cách nhiệt thứ hai gồm cạnh thứ hai, miếng đệm cách nhiệt thứ hai mà phủ kênh vùng phản ứng của miếng đệm cách nhiệt thứ nhất, và cạnh thứ nhất của miếng đệm cách nhiệt thứ nhất, cạnh thứ hai của miếng đệm cách nhiệt thứ hai, cạnh bên giống với lớp nền cách nhiệt là tất cả ở dạng vòng cung lõm, và cạnh bên này của lớp nền cách nhiệt lõm vào trong so với nửa phần phía trước của kênh vùng phản ứng; trong đó kênh vùng phản ứng này bao gồm ít nhất lớp phản ứng, lớp phản ứng này được phủ bởi bộ điện cực trong kênh vùng phản ứng gồm ít nhất galactosa dehydrogenaza và phương tiện dẫn điện để phản ứng với mẫu sinh học thông qua phản ứng điện hóa;

trong đó que thử sử dụng đầu lõi của cạnh thứ hai của miếng đệm cách nhiệt thứ hai và cấu trúc lõm của lớp nền cách nhiệt so với nửa phía trước của kênh vùng phản ứng để giảm lực kết dính của mẫu sinh học, và cho phép mẫu sinh học đi nhanh về phía trước dưới tác động của hiện tượng mao dẫn;

trong đó enzym này oxy hóa, khử, phân hủy hoặc chuyển hóa galactosa, và

trong đó enzym này phản ứng với mẫu sinh học tạo ra thông tin điện hóa.

9. Que thử theo điểm 8, trong đó lớp nền cách nhiệt được chọn từ nhóm bao gồm polyvinyl clorua (PVC), sợi thủy tinh (FR-4), polyeste suphon, tấm bakelit, polyetylen terephthalat (PET), polycacbonat (PC), polypropylen (PP), polyetylen (PE), polystyren (PS), tấm thủy tinh, gốm hoặc bất kỳ sự kết hợp của chúng.

10. Que thử theo điểm 8, trong đó bộ điện cực được chọn từ nhóm bao gồm paladi, bạch kim, vàng keo, titan, cacbon, bạc, đồng, vàng và bạc.

11. Que thử theo điểm 8, trong đó lớp phản ứng được chọn từ nhóm bao gồm enzym, coenzym, dung dịch đệm, chất ổn định và chất hoạt động bề mặt.

12. Que thử theo điểm 8, trong đó môi trường dẫn điện được chọn từ nhóm bao gồm feroxen, feroxeni, xanh metylen, tris(axetonitril)ruteni triclorea, dihydroxybenzoquinon, phenazinemetosulfat, tetrathiafulvalen tetra-xyano-quinodimetan, metyl viologen, xanh toluidin, 5,6-diamino-1,10-phenanthrolin, và 2,2'-bipyridin.

13. Que thử theo điểm 8, trong đó môi trường dẫn điện còn bao gồm hợp chất ion kim loại, hợp chất ion kim loại này được chọn từ nhóm bao gồm $MgCl_2$, $BeCl_2$, $CaCl_2$, $SrCl_2$, $BaCl_2$ và bất kỳ sự kết hợp của chúng.

14. Que thử theo điểm 12, trong đó dung dịch đệm được chọn từ nhóm bao gồm Tris, Tris-HCl, PBS, MES, CHES, Borat, hỗn hợp đệm chung (CPB), MOPS, TES, HEPES, TAPSO, Tricin, Bicin và TAPS.

15. Que thử theo điểm 12, trong đó chất hoạt động bề mặt được chọn từ nhóm bao gồm chất hoạt động bề mặt ion dương, chất hoạt động bề mặt ion âm, chất hoạt động bề mặt ion trung tính, và chất hoạt động bề mặt không phải là ion.

16. Que thử theo điểm 8, trong đó vùng thử nghiệm của galactosa trong que thử là 50-2000 μ g/ml.

17. Que thử theo điểm 8, trong đó enzym có thể được làm khô, được đông đặc và được lưu trữ trong môi trường trung tính, axit hoặc kiềm.

18. Phương pháp thực hiện hệ thống theo điểm 1 trong người dùng, bao gồm:

(1) người dùng sử dụng dạng điều chế với galactosa trong chế phẩm của nó trước;

(2) mẫu sinh học được thu bằng cách sử dụng thiết bị lấy mẫu sinh học;

(3) mẫu sinh học được hấp thụ bằng que thử từ thiết bị lấy mẫu sinh học;

(4) que thử được chèn vào dụng cụ đo; và

(5) người dùng hoặc nhân viên y tế chuyên nghiệp đọc giá trị của nồng độ galactosa, bệnh hoặc chức năng tồn dư trong gan của người dùng.

19. Phương pháp theo điểm 18, trong đó phương pháp này có thể được thực hiện bởi đối tượng hoặc nhân viên y tế chuyên nghiệp.

20. Phương pháp theo điểm 18, trong đó bệnh là bệnh rối loạn chuyển hóa galactosa (galactosemia) ở trẻ sơ sinh.

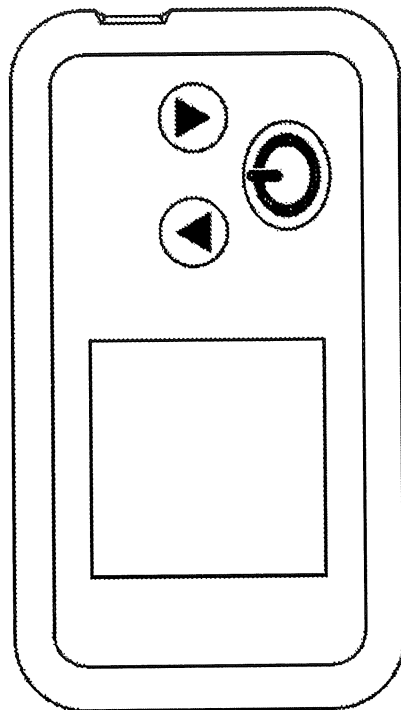
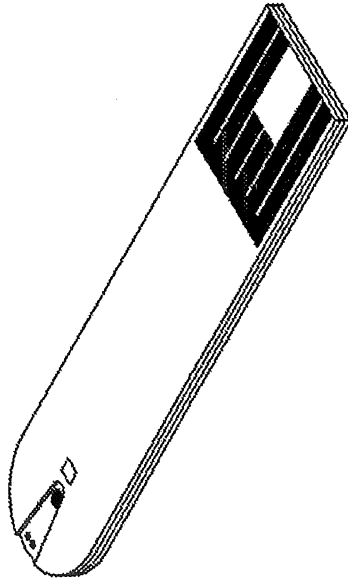


Fig.1

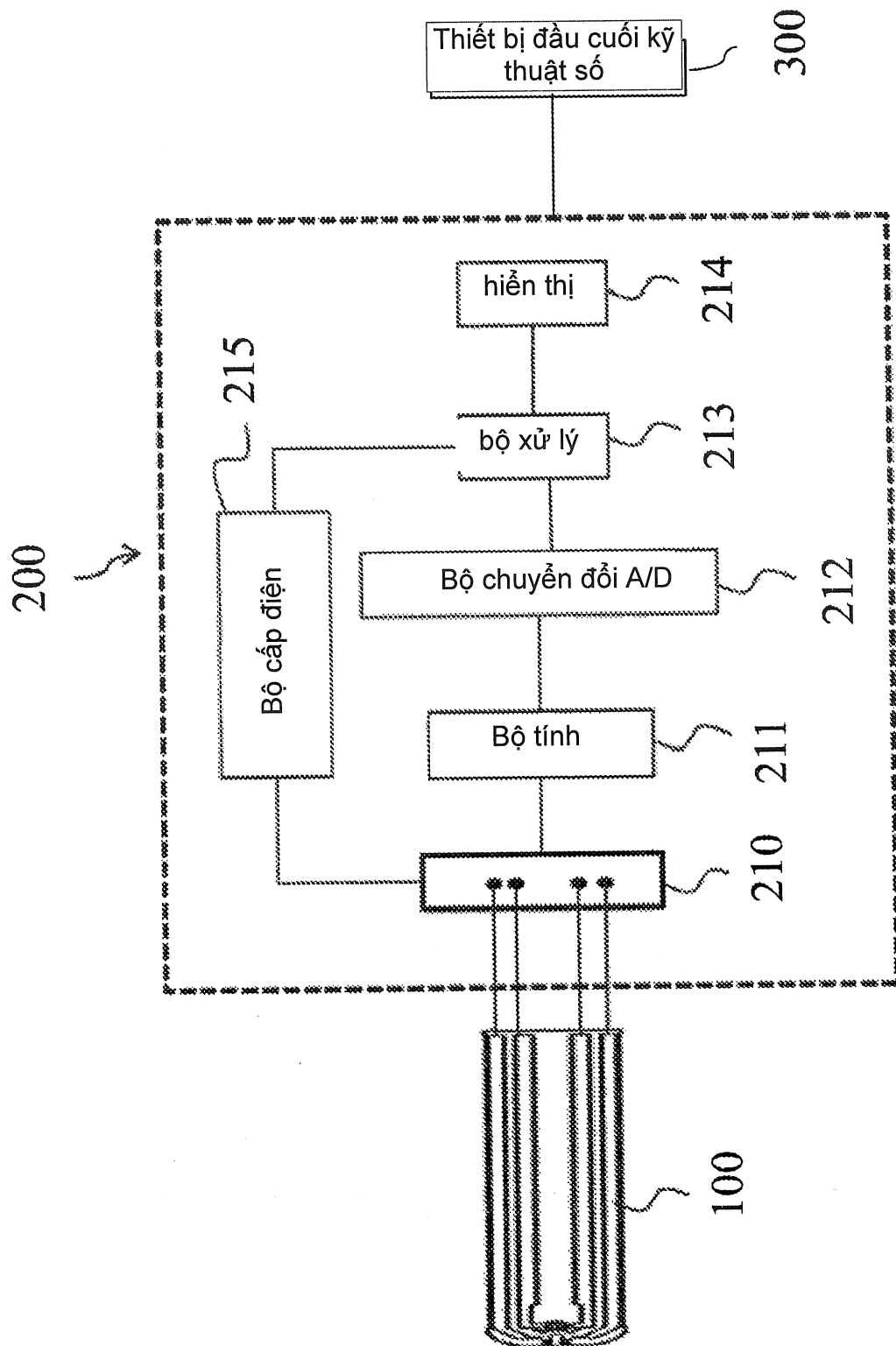


Fig.2

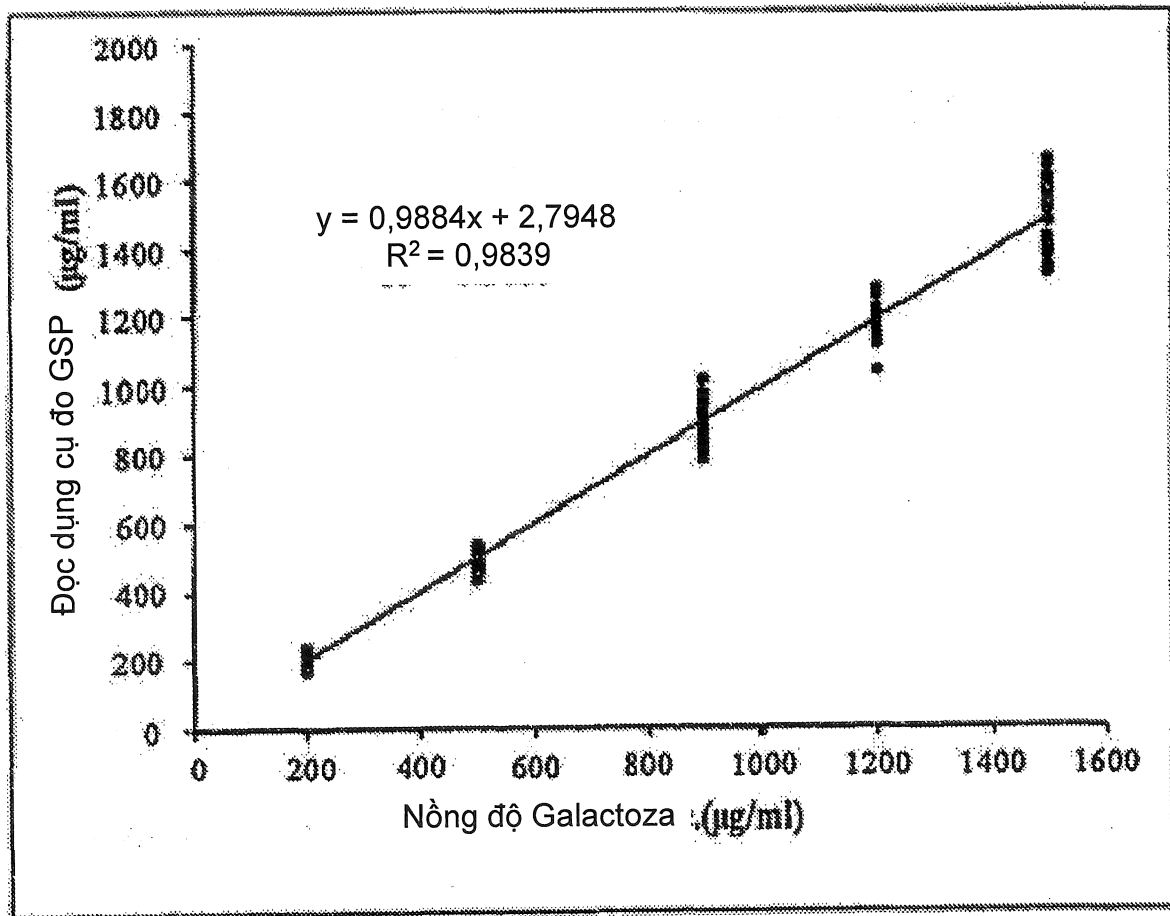


Fig.3

N=8		Mức độ 1 (200µg/ml)	Mức độ 2 (500µg/ml)	Mức độ 3 (900µg/ml)	Mức độ 4 (1200µg/ml)	Mức độ 5 (1500µg/ml)
Ngày thứ nhất	Giá trị trung bình	215,37	466,66	887,59	1269,36	1461,03
	SD	28,87	31	84,31	72,98	12,68
	CV%	13,41	6,64	9,50	5,75	0,87
Ngày thứ hai	Giá trị trung bình	224,6	476,66	878,49	1214,23	1506,02
	SD	3,73	14,77	67,63	162,83	175,96
	CV%	1,66	3,1	7,7	13,41	11,68
Ngày thứ ba	Giá trị trung bình	262,47	478,2	821,75	1158,45	1579,12
	SD	5,99	10,6	69,52	105,63	113,53
	CV%	2,28	2,22	8,46	9,12	7,19
Ngày thứ tư	Giá trị trung bình	235,65	464,66	851,38	1260,56	1487,75
	SD	10,68	6,58	34,05	72,12	69,41
	CV%	4,53	1,42	4	5,72	4,67
Ngày thứ năm	Giá trị trung bình	173,98	499,59	945,76	1222,6	1458,07
	SD	12,42	40,1	41,99	74,58	102
	CV%	7,14	8,03	4,44	6,1	7
Ngày thứ sáu	Giá trị trung bình	210,68	495,24	868,33	1232,95	1492,81
	SD	30,68	27,42	89,29	36,39	157,33
	CV%	14,56	5,54	10,28	2,95	10,54
Ngày thứ bảy	Giá trị trung bình	200	497,81	895,77	1215,73	1490,68
	SD	16,59	41,1	49,73	90,19	83,83
	CV%	8,29	8,26	5,55	7,42	5,62
Ngày thứ tám	Giá trị trung bình	262,47	478,2	821,75	1158,45	1579,12
	SD	5,99	10,6	69,52	105,63	113,53
	CV%	2,28	2,22	8,46	9,12	7,19
mCV%		6,77	4,68	7,3	7,45	6,85

Fig.4

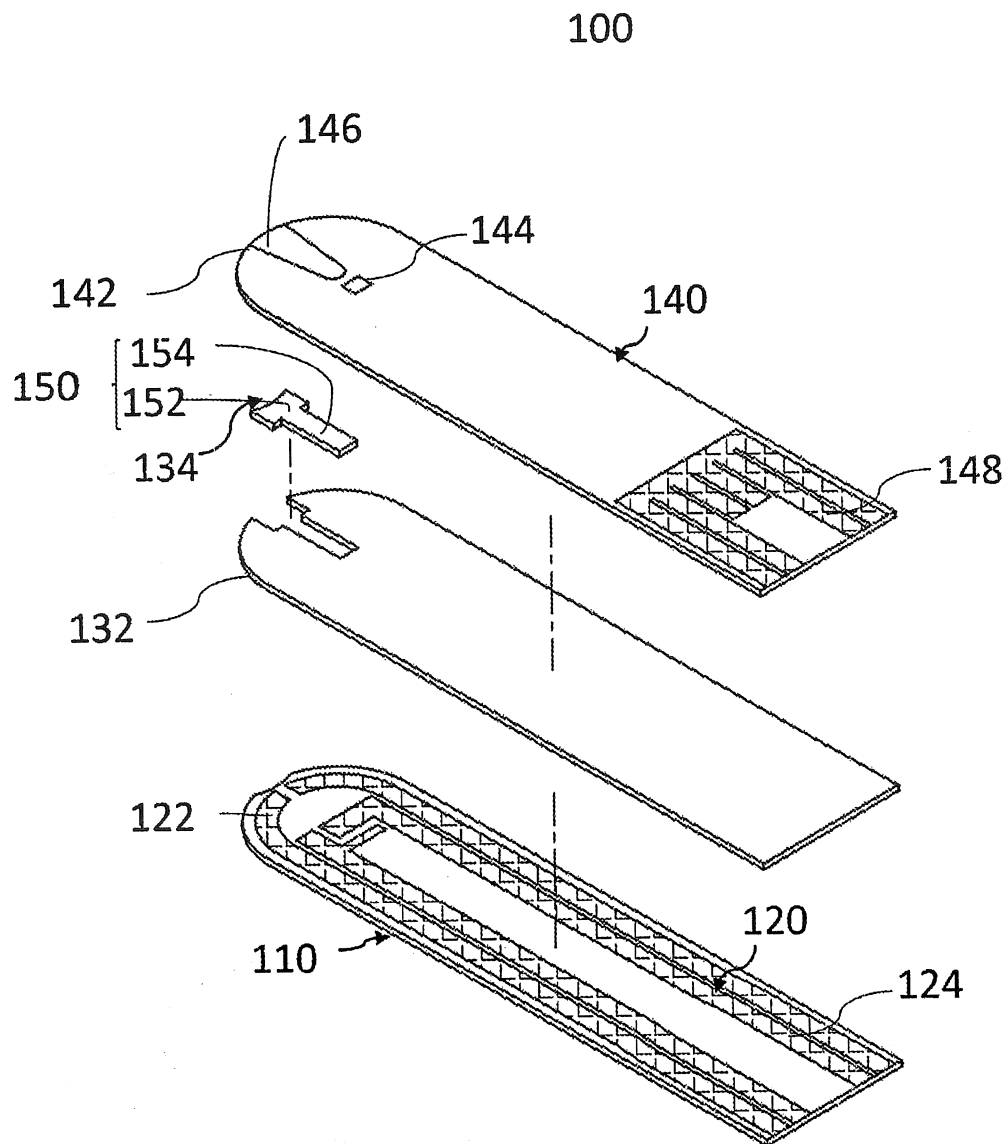


Fig.5

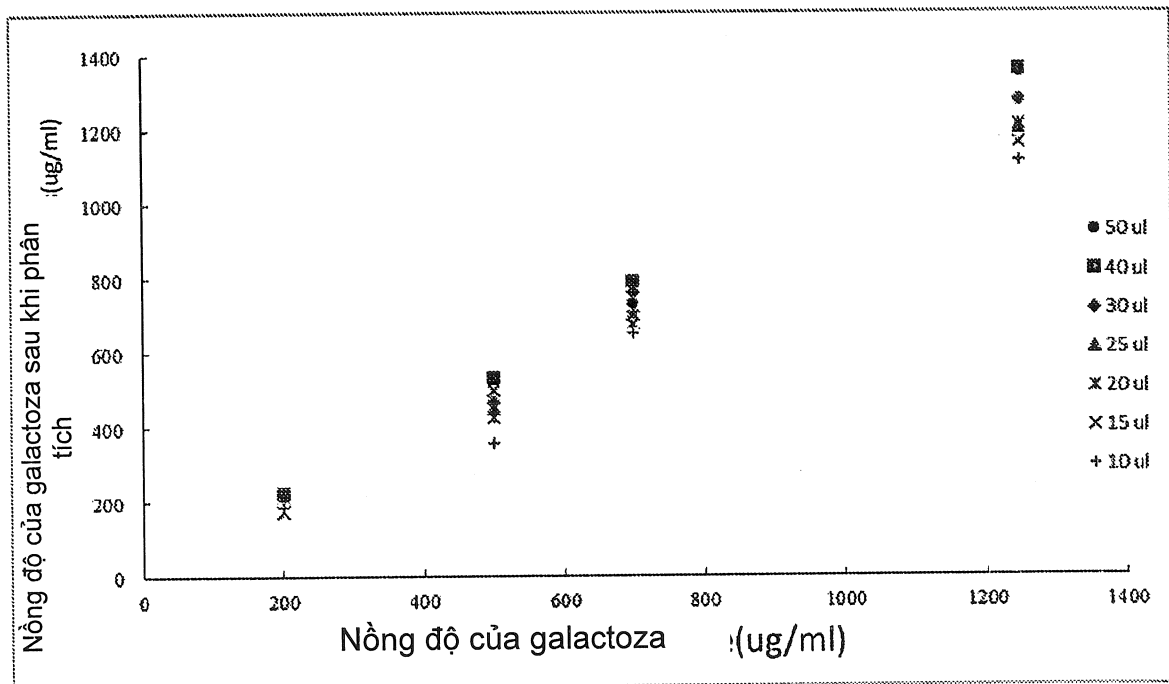


Fig.6

N=3	Nồng độ Galactoza: 200 µg/ml				
Thể tích mẫu	1 µL	2 µL	5 µL	7 µL	10 µL
Giá trị trung bình	254,15	252,56	254,89	279,13	214,75
SD	20,72	9,19	10,79	8,45	15,5
%CV	8,15	3,64	4,23	3,03	7,22

N=3	Nồng độ Galactoza: 900 µg/ml				
Thể tích mẫu	1 µL	2 µL	5 µL	7 µL	10 µL
Giá trị trung bình	853,34	882,29	881,55	885,96	907,77
SD	35,81	27,7	34,47	31,76	30,59
%CV	4,2	3,14	3,91	3,58	3,37

N=3	Nồng độ Galactoza: 1500 µg/ml				
Thể tích mẫu	1 µL	2 µL	5 µL	7 µL	10 µL
Giá trị trung bình	1477,16	1534,44	1534,44	1472,02	1497,3
SD	92,64	72,02	72,02	86,64	97,87
%CV	6,27	4,69	4,69	5,89	6,54

Fig.7

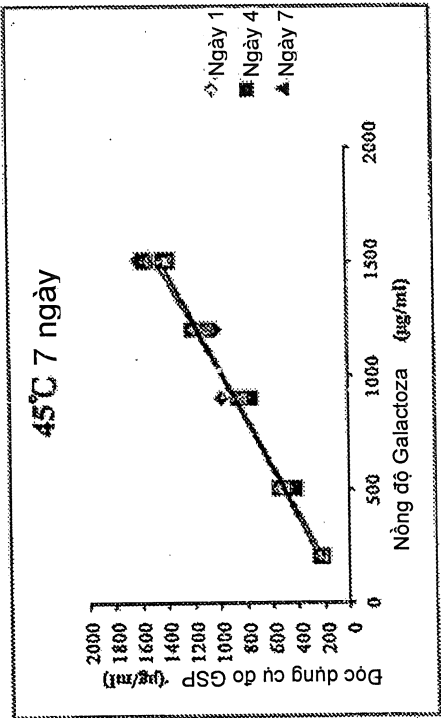
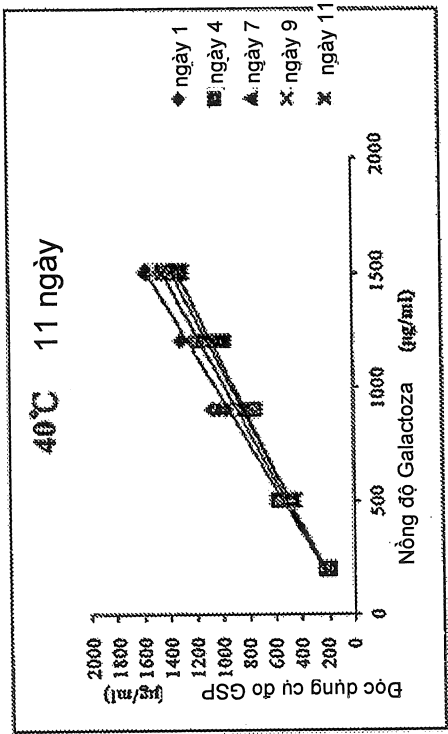
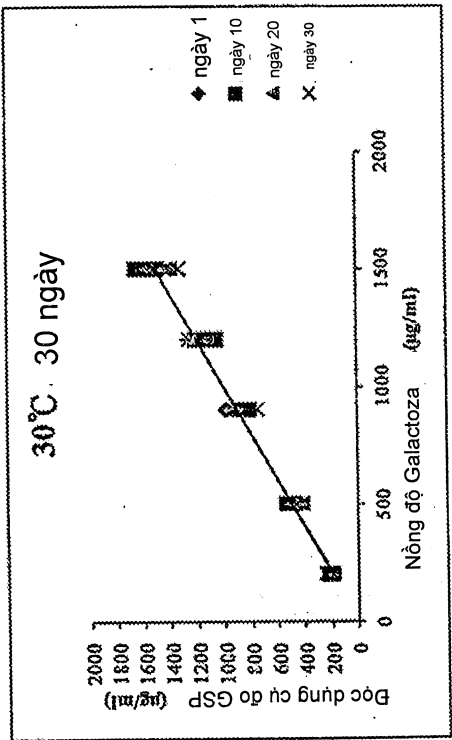


Fig.8

Bảng 3. Kết quả thử nghiệm đánh giá hematocrit

Số seri của các dụng cụ đo GSP: MC0001-0003									
Nhóm số các dải GSP: RD1161103									
Nhiệt độ: 24°C		Độ ẩm tương đối: 51%							
Nồng độ: 200 µg/ml		%Hematocrit:							
Dụng cụ đo	20%	30%	40%	50%	60%				
No.1	244	266	243	271	262				
No.2	228	250	210	261	310				
No.3	223	246	250	213	285				
Giá trị trung bình	232	253	234	248	279				
SD	11.34	10.46	20.85	33.14	27.09				
%CV	4.89	4.32	9.93	12.53	9.79				
Nồng độ: 450 µg/ml									
Dụng cụ đo	20%	30%	40%	50%	60%				
No.1	427	448	502	472	418				
No.2	405	469	405	431	376				
No.3	481	413	424	392	354				
Giá trị trung bình	458	444	444	432	383				
SD	27.58	28.11	51.33	40.40	32.47				
%CV	6.03	6.34	11.57	9.36	8.49				
Nồng độ: 800 µg/ml									
Dụng cụ đo	20%	30%	40%	50%	60%				
No.1	745	836	738	719	717				
No.2	714	880	879	770	788				
No.3	737	854	760	794	710				
Giá trị trung bình	738	854	794	761	739				
SD	22.10	50.87	41.57	38.47	42.82				
%CV	2.98	13.35	5.73	5.05	5.80				

Fig.9

Bảng 1. Kết quả thử nghiệm đánh giá hematocrit (được tiếp tục)

Số seri của các dụng cụ đo GSP: MC0001-0003									
Nhóm số các dải GSP: RD1161103									
Nhiệt độ: 24°C		Độ ẩm tương đối: 51%							
Nồng độ: 1150 µg/ml		%Hematocrit							
Dụng cụ đo	20%	30%	40%	50%	60%				
No.1	1209	1150	1229	1022	1260				
No.2	1127	1046	1073	1140	1135				
No.3	1061	1182	1199	1151	1148				
Giá trị trung bình	1132	1119	1187	1104	1181				
SD	74.46	68.81	82.69	71.81	68.93				
%CV	6.58	6.15	7.09	6.50	5.84				
Nồng độ: 1500 µg/ml									
Dụng cụ đo	20%	30%	40%	50%	60%				
No.1	1627	1690	1542	1480	1497				
No.2	1593	1507	1560	1507	1548				
No.3	1399	1478	1479	1757	1511				
Giá trị trung bình	1540	1558	1524	1555	1519				
SD	123.36	115.05	47.41	183.25	26.19				
%CV	8.01	7.38	3.11	11.79	1.72				

Nồng độ Galactosa	C1	C2	C3	C4	C5
	200 µg/mL	500 µg/mL	900 µg/mL	1200 µg/mL	1500 µg/mL
Giá trị trung bình	207	499	902	1214	1496
SD	30,13	49,03	70,01	92,95	106,51
%CV	14,58	9,83	7,76	7,66	7,12

Fig.10

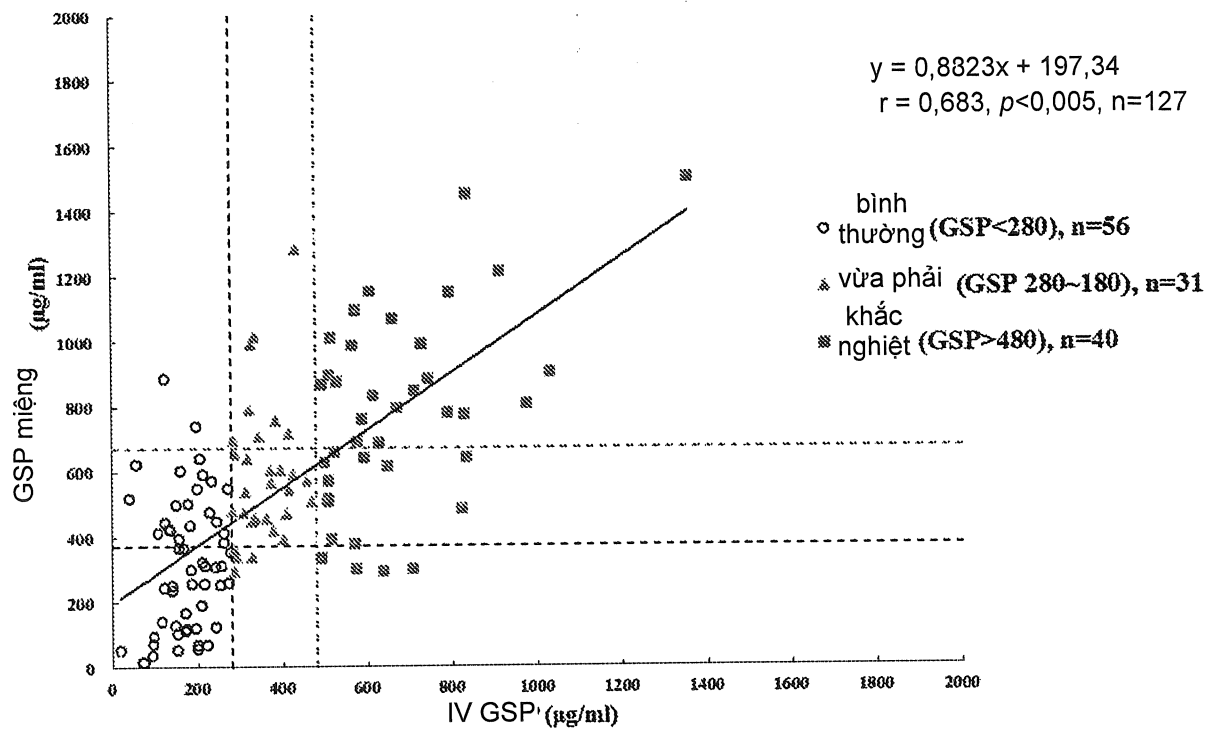


Fig.11

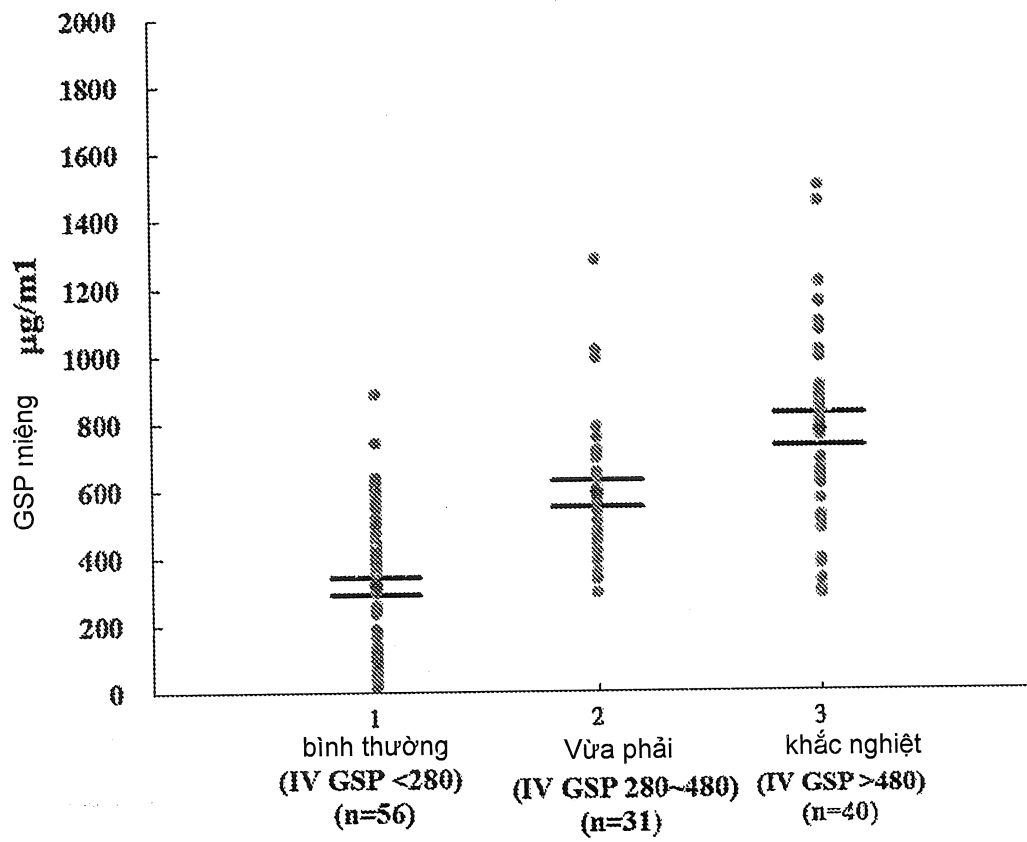


Fig.12

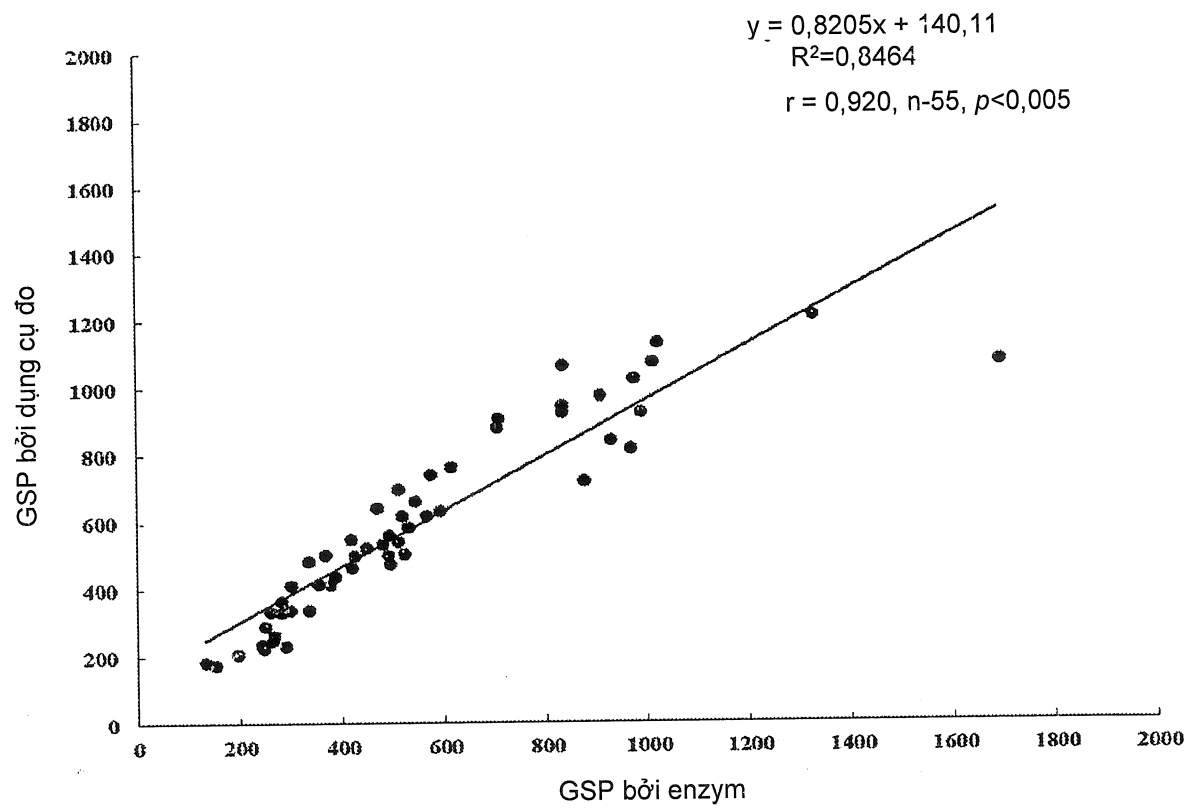


Fig.13