



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0818877-7 B1



(22) Data do Depósito: 23/10/2008

(45) Data de Concessão: 18/06/2019

(54) Título: MÉTODO E SISTEMA PARA ANÁLISE SEMI-QUANTITATIVA OU QUANTITATIVA DE ENSAIOS

(51) Int.Cl.: G06F 19/00; G06K 19/00; G06K 7/14.

(52) CPC: G06F 19/00; G06K 19/00; G06K 7/14.

(30) Prioridade Unionista: 23/10/2007 NO 20075388.

(73) Titular(es): SKANNEX AS.

(72) Inventor(es): DAG BREMNES; EYSTEIN EBELTOFT.

(86) Pedido PCT: PCT NO2008000375 de 23/10/2008

(87) Publicação PCT: WO 2009/054729 de 30/04/2009

(85) Data do Início da Fase Nacional: 22/04/2010

(57) Resumo: MÉTODO E SISTEMA PARA ANÁLISE SEMI-QUANTITATIVA OU QUANTITATIVA DE ENSAIOS Um método e sistema para análise de imunoenaios e, mais especificamente, a uma análise melhorada de ensaios cromatográficos, frequentemente referidos como um ensaio de fluxo lateral, são apresentados. Estes ensaios comumente empregam uma tira de testes que utilizam partículas visíveis como os rótulos para os analitos a serem detectados, em que, como um aspecto adicional, a tira analítica é removível para se ler a quantidade de analitos capturados nela capturados e para fins de arquivamento. Uma imagem da tira de teste é analisada automaticamente.

“MÉTODO E SISTEMA PARA ANÁLISE SEMI-QUANTITATIVA OU QUANTITATIVA DE ENSAIOS”

Campo Da Invenção

[0001] A presente invenção diz respeito em geral a imunoensaios e, mais especificamente, a uma análise melhorada dos ensaios cromatográficos, frequentemente referidos como um ensaio de fluxo lateral. Em particular, a análise quantitativa ou semiquantitativa dos ensaios de fluxo lateral. Estes ensaios comumente empregam uma tira de teste utilizando partículas visíveis como os rótulos para os analitos a serem detectados, em que, como um aspecto adicional, a tira analítica é removível para leitura da quantidade de analitos nela capturados e para fins de arquivamento.

Fundamentos Da Invenção/Descrição Da Técnica Anterior

[0002] Um imunoensaio é um método de laboratório bem conhecido usado para se determinar a quantidade de um analito em uma amostra, tal como plasma ou urina. Baseia-se na interação dos anticorpos com antígenos e, por causa do grau de seletividade para o analito (ou antígeno ou anticorpo), um imunoensaio pode ser usado para se determinar quantitativamente concentrações muito baixas de medicamentos, hormônios, polipeptídeos ou outros compostos encontrados em uma amostra de teste. Por muitos anos, técnicos de laboratório treinados realizaram imunoensaios manualmente.

[0003] Várias técnicas de imunoensaios cromatográficos estiveram disponíveis por muitos anos. Um aspecto comum de dispositivos conhecidos, particularmente na tecnologia de fluxo lateral, é que o ensaio é visualmente lido, isto é, por meio de uma ou mais linhas opticamente legíveis sobre a tira de teste, tipicamente mantida em um portador, o qual pode ter várias configurações. Uma ponta da tira de teste é exposta à amostra, normalmente um fluido corporal de algum tipo, que esteja sendo testado quanto aos analitos alvo particulares de interesse. É sabido que analitos particulares são indicativos de condições biológicas específicas, ambientais e de risco biológico, entre outras. Por exemplo, a urina pode ser testada quanto à gravidez ou a ovulação e, se os analitos alvo estiverem presentes, o teste será positivo. Os fluidos corporais

podem ser testados quanto à presença de outros analitos indicativos de condições biológicas, ou eles podem ser indicativos da presença de substâncias tais como medicamentos. Outro exemplo deve ser para os testes de água quanto a contaminadores. Exemplos de métodos de ensaio de fluxo lateral e aparelhamento, em que a leitura é conduzida opticamente, são apresentados nas Patentes U.S. nºs 5.591.645, 5.798.273, 5.622.871, 5.602.040, 5.714.389, 5.879.951, 4.632.901, e 5.958.790.

[0004] Recentemente, muitas companhias começaram a produzir analisadores de imunoensaios automáticos. A automatização dos procedimentos de imunoensaios tem sido difícil por causa do grande número de etapas que necessitam ser realizadas. Por exemplo, uma amostra é misturada com um reagente e um suporte sólido tendo um antígeno ou anticorpo ligado, a amostra é incubada de tal modo que o antígeno ou anticorpo correspondente na amostra e um antígeno ou anticorpo rotulados providos no reagente possam ser ligados ao antígeno ou anticorpo no suporte sólido, depois o suporte sólido é completamente lavado e o rótulo (fluorescente, radioativo, quimioluminescente, ou coisa parecida) é detectado por um mecanismo apropriado, e finalmente o analito de interesse (antígeno ou anticorpo) é quantificado a partir do rótulo detectado.

[0005] Um dos problemas com a leitura dos cassetes de fluxo Lateral e também de outros cassetes semelhantes, é a falta de uma leitora geral genuína. Todas as leitoras no mercado hoje em dia são projetadas para um grupo de cassetes com propriedades similares. Uma consequência é que o usuário necessita usar diferentes instrumentos com diferentes conformações, interface do usuário e conexão aos sistemas de impressão e de jornais. A falta de um instrumento geral limita a possibilidade de usar cassetes de medição de baixo custo.

[0006] Um instrumento geral deve ser capaz de processar cassetes de diferentes conformações e cores. Um scanner ou sistema à base de câmara pode ser capaz de ler cassetes de diferentes formas, contanto que seja possível localizar o cassete em uma placa de scanner ou outro lugar adequado para uma captura de uma imagem de câmara. A diferença entre o cassete e o fundo pode ser elevada ou baixa,

dependendo da cor do cassete e da cor do fundo. A imagem pode também conter sombras na borda do cassete. A imagem pode estar fora de foco, ou estar distorcida. O fundo de uma placa de scanner é normalmente ou preto ou branco, mas, quando da exploração com a tampa do scanner elevada (o cassete não se acha completamente nivelado), a imagem pode também conter iluminação ambiente de fontes de luz fora do scanner. O fundo, quando da captura da imagem da câmara, pode ser qualquer coisa que o usuário considera adequada. A iluminação ambiente pode também ser difícil de controlar quando da captura de uma imagem de câmara de um dispositivo.

[0007] O uso de códigos de barra está se tornando mais difundido; incluindo o uso de códigos de barras para identificar muitos diferentes tipos de coisas, inclusive, sem limitar, mercadorias comerciais, tais como gêneros alimentícios, embalagens de produtos de vários tipos, material de leitura impresso. Um código de barra tipicamente atribui um único identificador para uma mercadoria específica.

[0008] Um código de barras é um identificador gráfico usado para codificar um conjunto de dígitos ou caracteres. Um código de barras compreende uma série de barras e espaços, os quais podem ter diferentes larguras de acordo com as várias regras de codificação, tais como a especificação do código de barras EAN13 de código de barras de artigos padrão.

[0009] No campo biomédico, um código de barras foi descrito de modo a conduzir informação específica acerca de um paciente, incluindo a história clínica e como um identificador único da amostra do paciente, além da categorização do ensaio que esteja sendo conduzido sobre a amostra do paciente, bem como no que diz respeito às finalidades de traçado e controle.

[0010] Do acima mencionado, observar-se-á que permanece uma necessidade na técnica quanto aos meios gerais, simples e eficazes para localizar, calibrar e identificar dispositivos de testes biológicos.

[0011] A Figura 1 ilustra um exemplo de modalidade de um sistema de acordo com a presente invenção.

[0012] A Figura 2 ilustra outro exemplo de modalidade de um sistema de acordo

com a presente invenção.

Descrição Detalhada Da Invenção

[0013] De acordo com um aspecto da presente invenção, a leitura de uma tira de teste de fluxo lateral como descrito acima, pode ser feita com um dispositivo varredor. Entretanto, a distorção da imagem explorada, o que frequentemente ocorre com a tecnologia do scanner, pode introduzir erros quando da medição da tira de teste. É bem conhecido na técnica anterior como identificar um objeto em uma imagem explorada. As linhas que resultam do teste são facilmente identificada com tais técnicas da prática anterior. Entretanto, a precisão do teste depende da localização geométrica das linhas. É a posição relativa na superfície das tiras de teste lateral destas linhas que fornece o resultado do teste. Portanto, qualquer distorção geométrica introduzida da imagem explorada pode prover resultados falsos ou imprecisos dos testes. Entretanto, se a imagem compreender um objeto que possa revelar a quantidade de distorção presente na imagem explorada, os métodos de análise de imagens geométricos como conhecidos por uma pessoa habilitada na técnica, podem ser aplicados para restaurar a imagem explorada a uma imagem corretamente dimensionada da superfície da tira de teste. Quando esta imagem corrigida é usada para identificar as linhas que resultam do teste, os resultados precisos do teste podem ser obtidos automaticamente.

[0014] De acordo com um exemplo da forma de realização da presente invenção, os códigos de barra podem ser usados para revelar distorções geométricas, e também prover meios para identificar a quantidade de distorções e então prover uma possibilidade de se corrigir a imagem. Por exemplo, um segmento de código de barras contendo informação acerca de tira de teste é impresso sobre a superfície da tira de teste, e o código de barras e sua informação podem ser armazenados em uma base de dados juntamente com informações importantes como o tamanho geométrico do segmento do texto codificado pelo código de barras, etc. De acordo com este exemplo de modalidade, um sistema de código de barras patentado provê um esquema especial dos códigos de barras para corrigir sistematicamente erros de medição das barras brancas e pretas (ou de outras cores com contraste

aceitável) sobre o código de barras. O código de barras conterá sempre áreas iguais das barras pretas e brancas. Tipicamente, a medição pode criar barras do código de barras na imagem que sejam mais finas ou mais largas do que as barras reais. Normalmente, a translação de preto para branco, ou de branco para preto, pode ser modelada como uma curva “s”. A translação de preto para branco não é necessariamente simétrica com a translação de branco para preto. Uma consequência é a dimensão errônea das barras brancas e pretas. Uma vez que as quantidades genuínas de preto e branco sejam iguais, o sistema então pode medir a quantidade de preto e branco e depois fazer uma correção. Esta informação pode também ser usada para fazer uma correção das linhas de controle e de medição no cassete.

[0015] O código de barras contém pelo menos uma linha de informação. Ele pode conter tantas linhas quantas necessárias. Cada linha de código de barras contém um número fixo de módulos de código de barras definindo as barras pretas e brancas. Cada barra contém um ou mais módulos de código de barras. Quando o sistema tenha detectado a posição de início e de interrupção do código de barras, a largura do módulo pode ser computada. A partir da largura do módulo, o comprimento das barras pretas e brancas e um alfabeto do código de barras são possíveis para computar os símbolos do código de barras para todas as linhas do código de barras. A primeira informação sobre o código de barras é identificação do cassete. Uma base de dados correspondente contém informações quanto a este cassete, incluindo o comprimento físico do código de barras. Uma vez que o sistema tenha encontrado o comprimento do código de barras (em pixels) e a base de dados contenha a distância física, é possível computar os DPI [pontos por polegada (2,54 cm)] da imagem. Isto é importante porque as condições de iluminação, formação de imagem e focalização de uma câmara não podem ser facilmente controladas.

[0016] A partir do canto esquerdo inferior do código de barras, a orientação do código de barras, dos DPI estimados e da informação na base de dados do cassete descrevendo a distância do canto esquerdo do código de barras até a área de medição, é possível definir uma área local de pesquisa contendo todos os objetos de

medição interessantes. Na área de pesquisa local, o sistema pode pesquisar quanto às linhas ou outros objetos de medição. A única parte necessária de um cassete é a área do código de barras e as áreas de medição. Uma consequência é que outras partes do cassete não têm de estar dentro da imagem. Quando da captura de uma imagem com uma câmara, apenas uma pequena parte do cassete deve ser capturada. Então, mesmo com uma câmara de baixa resolução, é possível obter bastante pixels que sejam capazes de ler tanto o código de barras quanto também a área de medição.

[0017] De acordo com outro aspecto da presente invenção, a calibragem de um sistema de imagem é necessária para se desempenhar como uma medição relativa, tendo em vista não existir nenhum controle das fontes de luz. Um sinal único isolado (por exemplo, a intensidade de uma linha) não é suficiente. Tendo em vista que os cassetes de fluxo lateral usualmente têm uma linha de controle conectada a cada linha de teste, é possível computar uma medição relativa = (intensidade da linha de teste)/(intensidade da linha de controle). Uma vez que as linhas de controle e de teste são ambas medidas com o uso da mesma fonte de luz e sensor, a medição relativa é também uma calibração, portanto não existindo nenhuma exigência quanto a objetos de calibração específicos.

[0018] Quando os cassetes do mesmos tipo e batelada de produção são processados com o uso do mesmo scanner, nós podemos eliminar algum ruído da linha de controle mediante o cômputo de uma linha média de controle com base nas muitas medições da linha de controle.

[0019] O código de barras pode também conter mais do que a informação geométrica/óptica. O código de barras típico conterá a identificação do cassete, o número do lote, a data de expiração e, para cada área de medição: curvas padrão ou limites qualitativos. Todas as informações necessárias se acham contidas no código de barras. O usuário apenas necessita desenvolver o processamento químico/biológico de acordo com o inserto de embalagem do cassete. Após a amostra ser aplicada sobre um cassete, o programa pode cuidar do tempo de incubação e realizar o retardo necessário antes da exploração. Normalmente o

sistema realizará uma exploração após o tempo de incubação mais curto possível definido na base de dados do cassete. Após a primeira exploração, o sistema conhecerá a identificação de todos os cassetes na imagem. O sistema pode então tomar uma decisão eventualmente do tempo seguinte de exploração.

[0020] A presente invenção pode ser corporificada com o uso de um contexto descentralizado ou centralizado com base em um tipo /cliente-servidor/ de arquitetura de rede na qual os dados possam ser trocados através de uma sintaxe de solicitação e resposta.

[0021] O scanner ou a câmara serão usados apenas como dispositivos de captura de imagens, também denominado de um /cliente/. O cliente não computará o resultado, porém apenas será usado como um dispositivo de captura.

[0022] Em uma configuração centralizada de cliente-servidor, o cliente pode também ser a única interface do usuário, e apresentar dados (resultado da análise) do servidor. Isto é, se uma apresentação sobre o cliente estiver disponível.

[0023] Na configuração descentralizada ou localizada, tanto o cliente quanto o servidor podem ser fisicamente ligados. Em tal configuração, o servidor pode ser a unidade que controla e impulsiona a exibição e manipula a interface do usuário.

[0024] Em uma primeira forma de realização, o cliente pode ser um scanner conectado a um computador, em que este último é o /servidor/ fazendo todo o processamento e manipulando a interface do usuário.

[0025] Em uma primeira forma de realização, o cliente pode ser um scanner conectado a um computador, no qual este último é o /servidor/ fazendo todo o processamento e manipulando a interface do usuário. A conexão entre o scanner e o servidor pode usar qualquer rede física e protocolo disponíveis, tais como USB, Wifi etc.

[0026] Em outro exemplo de forma de realização, o /cliente/ pode ser uma câmara, preferivelmente uma câmara de telefone celular, que possa comunicar-se com o servidor com o uso, por exemplo, de mensagens de MMS e SMS em um tipo de rede GSM. Alternativamente o servidor pode, quanto aos usuários registrados, enviar um resultado de volta com o uso de outros canais de informação como os e-

mails. Uma transação de pagamento pode também ser incluída na transação de mensagens MMS/SMS.

[0027] O cliente, dependendo de onde a interface do usuário se encontra, receberá:

- uma solicitação do servidor para capturar e carregar uma imagem ou, ao contrário, carregar uma imagem para o servidor.
- dados do servidor.

[0028] O servidor:

- fará uma solicitação ao cliente ou manipulará uma solicitação do cliente para receber uma imagem.
- analisará a imagem e tornará disponível o resultado em uma exibição local, alternativamente enviando uma resposta de volta ao cliente. Isto requer que o cliente tenha uma unidade de exibição adequada (por exemplo, um telefone móvel).

Sumário

[0029] O /cliente/ é definido como o aparelho que é usado para capturar e enviar a imagem. Este pode ser qualquer dispositivo e esta invenção permite atuar como um dispositivo 'burro' que não realiza qualquer processamento local com a finalidade de analisar a imagem. O aparelho cliente não é instruído pelo servidor a realizar quaisquer ajustes locais. Ao contrário de outros sistemas de controle remoto, esta invenção possibilitará a análise centralizada a ser realizada sobre qualquer imagem.

[0030] O /servidor/ é um conjunto completo de módulos de software que se acha instalado em um computador que é conectado a qualquer tipo de rede digital. Um tal servidor pode por esse meio manipular solicitações de qualquer tipo de /clientes/. O servidor pode, por exemplo, levar em conta o log controlado sobre um usuário, ou ele pode considerar o uso anônimo. Em qualquer caso, o servidor automaticamente derruba ou registra o endereço (número) do cliente (telefone), e iniciará então a análise da imagem recebida. A aplicação pode controlar transações ligadas ao regime consulta e de resposta, e a análise. Uma vantagem é que as atualizações do software serão muito fáceis de se realizar.

Exemplo

[0031] Calprotectin de medição do cassete de Fluxo Lateral da Calpro AS, com o uso de um scanner. A imagem é processada em um PC conectado.

1. Aplicar amostras sobre um conjunto de cassetes
2. O clique do botão de programas imediatamente após a amostra é aplicado sobre o último cassete
3. O programa procederá à varredura após 5 minutos
4. Encontrar um candidato de código de barras; se não mais encontrado, ir até 24.
5. Encontrar o quadro ao redor do código de barras
6. Encontrar o tamanho do módulo do código de barras
7. Encontrar o comprimento de cada barra preta/branca
8. Acumular o comprimento de todas as barras pretas, SomaB
9. Acumular o comprimento de todas as barras brancas, SomaW
10. Computar o comprimento médio das barras, MédiaB e MédiaW quanto às barras pretas e brancas
11. Definir a correção $\text{Corr} = (\text{MédiaB} - \text{MédiaW})/2$
12. Adicionar Corr ao comprimento de todas as barras brancas
13. Subtrair Corr do comprimento de todas as barras pretas
14. Encontrar o filamento do código de barras
15. Encontrar a ID do cassete
16. Obter o comprimento do código de barras da base de dados do cassete e computar DPI
17. Encontrar a área de pesquisa da linha de controle
18. Encontrar a linha de controle dentro da área de pesquisa
19. Encontrar a área de pesquisa da linha de teste em relação à linha de controle
20. Encontrar a linha de controle dentro da área de pesquisa
21. Computar a intensidade da linha de controle em relação ao fundo local
22. Computar a intensidade da linha de teste em relação ao fundo local.

23. Ir até 4.
24. Computar a linha média de controle (médiaControle) de todos os cassetes encontrados do mesmo lote
25. Ler a linha média antiga de controle (antigaControle) do arquivo
26. $\text{LinhaControle} = n * \text{Controle médio} + m * \text{Controle antigo} / (n+m)$
27. Quando n = número dos cassetes, m = peso pré-definido (por exemplo, 10)
28. Salvar LinhaControle para arquivo
29. Para cada cassete:
 - a. Computar $p = \text{linha de teste} / \text{Linha de Controle}$
 - b. Usar curva padrão do código de barras para interpolar o valor final de Calprotectin

Exemplo

[0032] Medição do Cassete LateralFlow Calprotectin da Calpro AS, com o uso de um telefone celular. A imagem é transferida através de MMS para um servidor central.

[0033] O mesmo no que diz respeito à câmara, porém quanto a cada cassete, a linha de controle usada é a linha de controle medida, não a média de muitas linhas de controle.

Exemplo

[0034] Medição do Cassete LateralFlow DON da R-Biopharm, com o uso de um scanner.

[0035] Normalmente, a linha de controle é independente da quantidade de analito. O cassete DON é diferente. A linha de controle é também dependente da quantidade de analito. O processamento dos cassetes DON em um scanner é igual ao processamento da Calprotectin do telefone celular. Nenhum meio de controle é usado.

[0036] A Figura 1 ilustra um exemplo de uma forma de realização da presente invenção. Um dispositivo de teste químico (tira de teste de fluxo lateral) para um dispositivo (cliente) de aquisição de imagem digital que, por exemplo, possa

comunicar-se através de uma rede pública, por exemplo a Internet ou uma rede de telefone móvel. Por exemplo, uma imagem MMS pode ser enviada ao servidor propiciando acesso a uma base de dados compreendendo informação acerca de segmentos de texto codificados por código de barras de acordo com a presente invenção. Uma resposta ao resultado da análise pode ser fornecida de volta a um usuário do sistema, por exemplo, como uma mensagem SMS. A Figura 2 ilustra outro exemplo de forma de realização da presente invenção, em que um telefone móvel é usado para se adquirir uma imagem de um teste de imunoensaio. A imagem é enviada como uma mensagem MMS antes de ser processada, por exemplo em um servidor de processamento central. A resposta é enviada como uma mensagem SMS de volta ao usuário.

REIVINDICAÇÕES

1. Método para análise semi-quantitativa ou quantitativa de ensaios, caracterizado pelo fato de que compreende:

designar pelo menos um único segmento de texto codificado pelo código de barras, sobre uma tira de teste do ensaio,

adquirir uma imagem compreendendo o pelo menos um segmento de texto codificado pelo código de barras, junto com linhas ou outros objetos de medição que são os resultados de testes do ensaio,

identificar o pelo menos um único segmento de texto codificado pelo código de barras na imagem adquirida, e usar esta imagem do segmento de texto codificado pelo código de barras como uma entidade de calibração óptica para identificar a quantidade de distorção geométrica a partir do código de barra adquirido para corrigir a imagem,

usar a imagem corrigida para detectar posições das linhas de resultado de teste ou outros objetos de medição que são os resultados de teste do ensaio.

2. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a entidade de calibração óptica compreende o uso de um esquema de codificação de código de barras para a codificação de texto provendo igual área de espaço branco e espaço preto em um segmento de texto codificado em barras.

3. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a entidade de calibração óptica compreende identificar o único texto compreendido no pelo menos um segmento de texto codificado por código de barras, e usando o único texto para identificar uma versão pré-armazenada do texto identificado junto com informação acerca do tamanho geométrico do segmento de texto codificado pelo código de barras que tenha sido identificado.

4. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o ensaio é um imunoensaio.

5. Método de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que o imunoensaio é uma tira de teste cromatográfico de fluxo lateral.

6. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que

tanto as zonas de controle quanto as de resposta se acham presentes.

7. Método de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de que a intensidade da linha de controle é considerada como uma média das intensidades das linhas de controle gerada de uma pluralidade de linhas de controle medidas.

8. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o sistema de formação de imagem compreende um scanner conectado a um computador ou rede.

9. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o sistema de formação de imagem compreende uma câmara conectada a um computador ou rede.

10. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o sistema de formação de imagem compreende uma câmara de telefone móvel conectada a um computador ou rede.

11. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 8 a 10, caracterizado pelo fato de que o dispositivo de formação de imagem pode comunicar-se com um servidor através de qualquer rede disponível.

12. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o pelo menos um segmento de texto codificado pelo código de barras compreende os parâmetros de reconhecimento do ensaio ou da amostra.

13. Sistema para análise semi-quantitativa ou quantitativa de ensaios, o sistema caracterizado pelo fato de que compreende:

pelo menos um dispositivo de computador sendo disposto para executar instruções de programa fornecendo ações e funções para realizar as etapas do método do tipo definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 12.

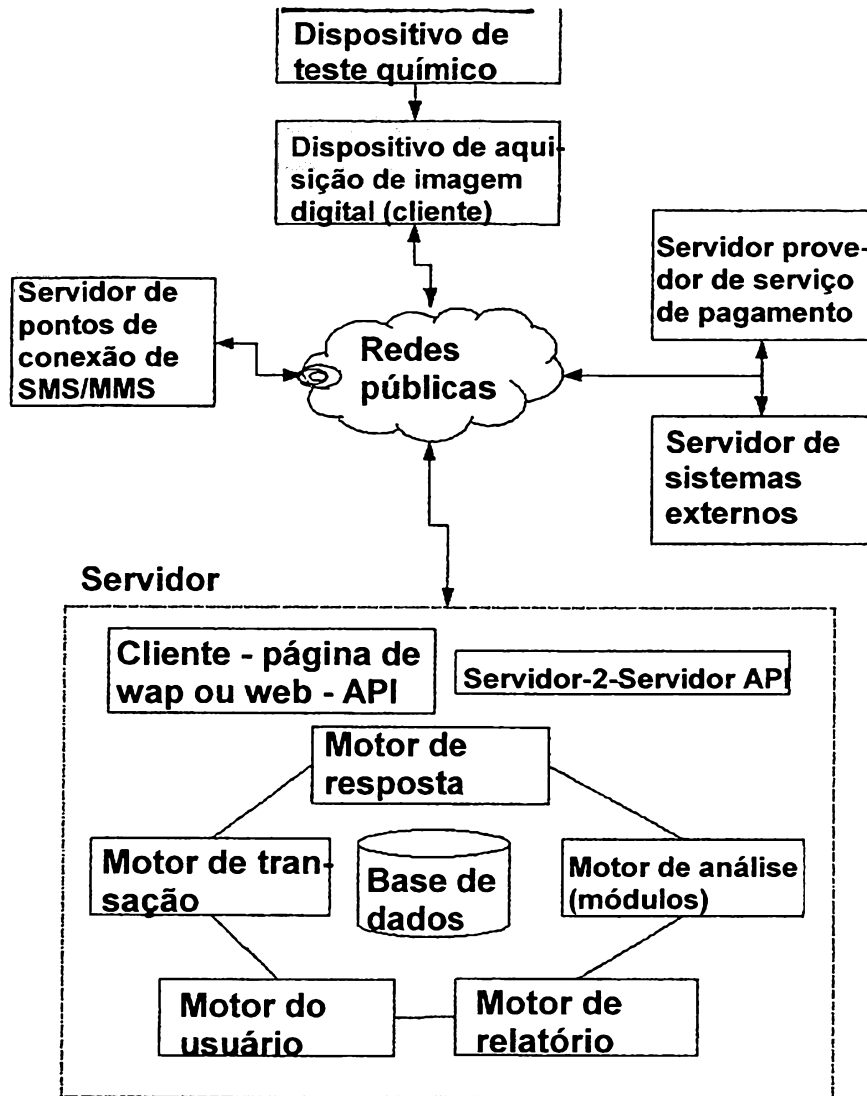


FIG. 1

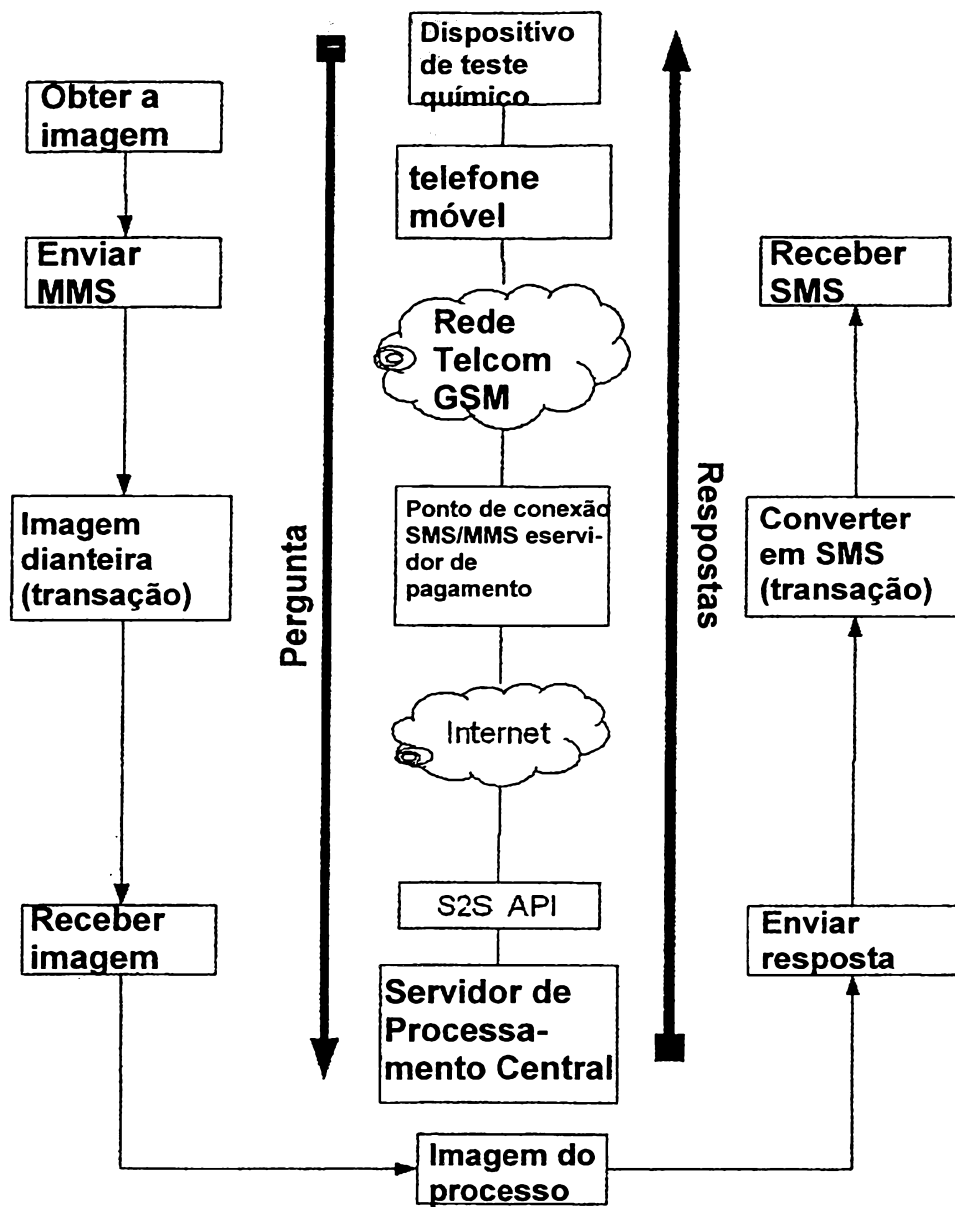


FIG. 2