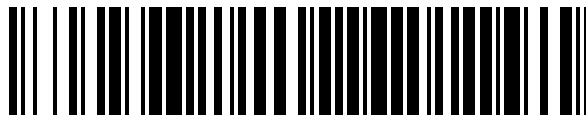


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **1 259 239**

21 Número de solicitud: 202032679

51 Int. Cl.:

G01N 33/487 (2006.01)

G01N 33/49 (2006.01)

12

SOLICITUD DE MODELO DE UTILIDAD

U

22 Fecha de presentación:

14.12.2020

43 Fecha de publicación de la solicitud:

20.01.2021

71 Solicitantes:

**FUNDACIÓN INSTITUTO DE ESTUDIOS DE
CIENCIAS DE LA SALUD DE CASTILLA Y LEÓN
(IECSCYL-IBSAL) (50.0%)
Hospital Universitario de Salamanca, Edificio
Virgen de la Vega, 10ª pl.,
Paseo San Vicente 58-182
37007 Salamanca ES y
UNIVERSIDAD DE SALAMANCA (50.0%)**

72 Inventor/es:

**MURO ÁLVAREZ , Antonio;
FERNÁNDEZ-SOTO, Pedro;
LÓPEZ-ABÁN, Julio;
VICENTE SANTIAGO, Belén;
BELHASSEN GARCÍA, Moncef;
GARCÍA-BERNALT , Diego Juan;
CORCHADO RODRÍGUEZ, Juan Manuel;
CASADO VARA, Roberto;
PRIETA PINTADO , Fernando y
RODRÍGUEZ GONZÁLEZ, Sara**

74 Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

54 Título: **DISPOSITIVO DE DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES TROPICALES DESATENDIDAS**

ES 1 259 239 U

DESCRIPCIÓN

DISPOSITIVO DE DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES TROPICALES
DESATENDIDAS

OBJETO DE LA INVENCION

5

El objeto de la invención es un dispositivo de diagnóstico de enfermedades tropicales desatendidas con capacidad de medir una reacción de amplificación isotérmica de ácidos nucleicos tipo LAMP, a tiempo real, haciendo uso de la detección colorimétrica en la lectura de resultados.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15

Las enfermedades tropicales desatendidas (NTD, *Neglected Tropical Diseases*) son un grupo diverso de enfermedades infecciosas crónicas, debilitantes y, a menudo, estigmatizantes, que afectan a más de mil millones de personas en ciento cuarenta y nueve países de zonas tropicales y subtropicales, con especial incidencia en poblaciones que viven en condiciones de extrema pobreza. Actualmente, incluso se han llegado a notificar casos autóctonos en el sur de Europa.

20

Uno de los problemas más importantes que se plantean en las NTD es su diagnóstico, debido a la falta de sensibilidad de los métodos parasitológicos clásicos, la falta de especificidad y reacciones cruzadas de los métodos serológicos, la falta de estandarización y coste elevado de los métodos moleculares, así como la inespecificidad de sus manifestaciones clínicas, principalmente en la fase aguda de la enfermedad.

25

30

Teniendo en cuenta estas limitaciones, es necesario el desarrollo y aplicación de nuevos métodos que reúnan las características ideales para el diagnóstico como alta sensibilidad y especificidad, facilidad de uso e interpretación, utilización de diferentes tipos de muestras, rapidez, bajo coste

y potencialmente aplicables en zonas endémicas de la enfermedad con escasos recursos económicos.

5 Para resolver estos problemas, se puede utilizar la técnica de amplificación isotérmica de ácidos nucleicos (LAMP, *Loop-mediated isothermal amplification*). Esta técnica puede llevarse a cabo en diversos dispositivos portátiles y se ha utilizado en el diagnóstico de distintas enfermedades infecciosas. Todos estos dispositivos se basan en la detección de la amplificación de ADN por una señal fluorescente.

10

Los fluoróforos necesarios en la mezcla de reacción para obtener la señal fluorescente y los requerimientos técnicos para su lectura suponen un importante encarecimiento, limitando su uso en zonas endémicas.

15 **DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION**

La presente invención logra resolver los problemas planteados anteriormente con un dispositivo pequeño, portátil, de gran autonomía, capaz de medir la amplificación isotérmica de ácidos nucleicos a tiempo real por un cambio colorimétrico, detectado *in situ* con unos lectores RGB.

20

Todo ello en un dispositivo controlado y cuyos resultados pueden visualizarse y analizarse a tiempo real a través de una aplicación de teléfono móvil.

25

Esta invención soluciona además las desventajas derivadas del número limitado de canales de los dispositivos de fluorescencia, que son dos únicamente en los dispositivos portátiles actuales, y permite el uso del dispositivo con un conjunto mucho más variado de indicadores, a elección del usuario.

30

Concretamente, el dispositivo de diagnóstico de enfermedades tropicales desatendidas tiene la capacidad de medir una reacción isotérmica de amplificación de ácidos nucleicos tipo LAMP, a tiempo real, por cambio colorimétrico, de al menos una muestra, produciéndose una amplificación de ADN (secuencia diana), lo que permite la detección altamente sensible de patógenos.

La reacción LAMP es isotérmica y utiliza una enzima polimerasa de ADN cuya propiedad es la del desplazamiento de la cadena de ADN junto con su propiedad habitual de polimerización.

Además, la técnica LAMP amplifica el ADN del patógeno permitiendo una visualización directa de la reacción, por la liberación durante esta, de pirofosfatos que causan turbidez que, al unirse a unos iones de magnesio o manganeso presentes en la reacción, generan un precipitado que provoca un aumento de la turbidez de la mezcla de la reacción.

Al llevarse a cabo la reacción, se genera una señal química de reconocimiento altamente sensible, por lo que se permite la discriminación visual de los resultados.

El dispositivo comprende, en primer lugar, un módulo de incubación de muestras destinado a recibir las muestras junto con una mezcla de reacción, a una temperatura controlada y durante un tiempo concreto, en un ambiente seco y seguro. El tiempo de procesamiento de las muestras es configurable minuto a minuto.

El módulo de incubación de las muestras comprende unos indicadores de evolución de la reacción, como pueden ser unos LEDs o indicadores acústicos que informan acerca de la temperatura y tiempo de la reacción.

Además, este módulo comprende unos elementos de seguridad con la capacidad de detectar y alertar cuando se alcanzan temperaturas muy elevadas en el dispositivo que podrían ocasionar quemaduras u otro tipo de lesiones.

5

En segundo lugar, el dispositivo comprende un módulo de lectura del cambio colorimétrico de la reacción, que comprende unos lectores RGB (*Red Green Blue*) de la reacción, destinados a posicionarse sobre las muestras cuando se cierra el dispositivo. La distinción de los valores RGB por parte de los

10

lectores consiste en la obtención de unos pulsos eléctricos diferentes que son proporcionales a la intensidad del color detectado.

Además, el módulo de lectura comprende una retroiluminación de la reacción, que queda posicionada sobre los lectores RGB y las muestras,

15

iluminando ambas desde arriba cuando se cierra el dispositivo, facilitando la lectura con independencia de las condiciones del ambiente, y permitiendo el uso del dispositivo en zonas endémicas sujetas a condiciones ambientales variables.

La lectura de estos colores se hace por tanto de manera automática con los

20

lectores RGB, pero el dispositivo comprende también unas ventanas de validación visual de la muestra y la reacción, que permiten la obtención de resultados a tiempo real.

En tercer lugar, el dispositivo comprende un módulo de gestión de

25

información, conectado al módulo de incubación, con capacidad de almacenar los valores RGB, extraer resultados, así como almacenar datos relacionados con la muestra y transmitirlos a otros dispositivos externos.

Los datos recopilados por el módulo de gestión de información pueden ser

30

tanto los relativos a los resultados obtenidos de la lectura del cambio colorimétrico de la reacción, como la posición GPS, información del paciente,

los datos del responsable de la toma de las muestras, información del dispositivo, u otra información relevante.

5 El módulo de gestión de la información tiene la capacidad de transmitir estos datos recopilados a través de GDM/LTE, una tarjeta SIM, Wifi, Bluetooth o utilizando una conexión VPN. Además, los datos pueden ser almacenados en una tarjeta SD interna o cualquier otro sistema de almacenamiento alternativo.

10 Finalmente, el dispositivo comprende una batería recargable y reemplazable. Se puede monitorizar el estado de carga de dicha batería, y permite la recarga desde vehículos, red eléctrica convencional u otros. La batería es intercambiable, no teniendo que esperar a su recarga para seguir utilizando el dispositivo.

15 Adicionalmente, el dispositivo puede comprender un módulo de visualización de datos, como una pantalla LCD alfanumérica, que permite al usuario visualizar y validar los resultados, realizar operaciones de envío de información, etc.

20

DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

25 Para complementar la descripción que se está realizando y con objeto de ayudar a una mejor comprensión de las características de la invención, de acuerdo con un ejemplo preferente de realización práctica de la misma, se acompaña como parte integrante de dicha descripción, un juego de dibujos en donde con carácter ilustrativo y no limitativo, se ha representado lo siguiente:

30 Figura 1.- Muestra una vista superior del dispositivo de diagnóstico de enfermedades tropicales desatendidas.

Figura 2.- Muestra una vista superior del dispositivo en la que se pueden observar las muestras posicionadas en el módulo de incubación.

Figura 3.- Muestra una vista frontal del dispositivo en el que se observa la retroiluminación del módulo de lectura.

Figura 4.- Muestra una vista inferior evidenciando la batería (5).

Figura 5.- Muestra una vista lateral evidenciando los indicadores luminosos (10) de la carga de la batería.

Figura 6.- Muestra una vista posterior evidenciando el ventilador (11), la toma de corriente (12) y el puerto USB (13).

15 **REALIZACIÓN PREFERENTE DE LA INVENCION**

A la vista de las figuras descritas anteriormente, se puede observar un ejemplo de realización no limitativo del dispositivo (1) de diagnóstico de enfermedades tropicales desatendidas con capacidad de medir una reacción de amplificación isotérmica de ácidos nucleicos tipo LAMP a tiempo real por un cambio colorimétrico, en al menos una muestra (9).

El dispositivo (1) comprende, en primer lugar, un módulo de incubación (2) de las muestras (9) a temperatura controlada mientras se produce la reacción y el consiguiente cambio colorimétrico, destinado a recoger las muestras (9) junto con una mezcla de reacción.

El módulo de incubación (2) tiene la capacidad de incubar las muestras (9) a una temperatura comprendida entre 35°C y 90°C durante un periodo de tiempo de 5-120 minutos, ajustando la temperatura a intervalos de 1°C, con precisión de $\pm 0.5^\circ\text{C}$ y manteniendo estos valores constantes en un ambiente

seco y seguro, durante un tiempo de procesado configurable minuto a minuto, dependiendo de la muestra (9) analizada.

5 El módulo de incubación (2) comprende unos indicadores (6) visuales o acústicos que informan acerca de la temperatura y tiempo de la reacción.

10 Para la generación de calor el módulo comprende unas células de Peltier y para la estabilización de la temperatura un algoritmo de control de temperatura PID (Proporcional Integral y Derivativo) que mantiene la precisión de $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$.

15 El módulo de incubación (2) comprende unos elementos de seguridad con la capacidad de detectar y alertar cuando se alcanzan temperaturas muy elevadas en el dispositivo (1) que podrían ocasionar quemaduras u otro tipo de lesiones. Además, los materiales que constituyen el dispositivo (1) son aislantes térmicamente e ignífugos en los puntos en los que se alcanzan temperaturas elevadas y que son susceptibles de provocar incendios en caso de fallo.

20 En segundo lugar, el dispositivo comprende un módulo de lectura (3) del cambio colorimétrico de la reacción, en el que unos lectores RGB tipo HDJD-S822 determinan los valores RGB de dicho cambio colorimétrico. Este módulo comprende también una retroiluminación (8) de la reacción que facilita el procesado de los valores RGB con independencia de las
25 condiciones ambiente, facilitando el uso del dispositivo (1) en zonas endémicas sujetas a condiciones ambientales variables.

30 La distinción de los valores RGB por parte de los lectores RGB consisten en la obtención de unos pulsos eléctricos diferentes que son proporcionales a la intensidad del color detectado.

La lectura de estos colores se hace por tanto de manera automática utilizando los lectores RGB, pero también se permite la validación visual, permitiendo la obtención de resultados a tiempo real mientras tiene lugar la reacción de cada muestra (9) en el módulo de incubación. Para ello, el
5 dispositivo (1) comprende ventanas de validación visual, desde los que se puede observar directamente la muestra (9) y la reacción.

En tercer lugar, el dispositivo comprende un módulo de gestión de información (4), conectado al módulo de lectura (3), con capacidad de
10 almacenar los valores RGB registrados por los lectores RGB, extraer resultados, así como almacenar datos relacionados con las muestras (9) y transmitirlos a otros dispositivos externos.

Los datos recopilados en el módulo de gestión de información (4) son tanto
15 los relativos a los resultados obtenidos de la lectura de las muestras (9), como la posición GPS, información del paciente, los datos del responsable de la toma de las muestras (9), información del dispositivo, u otra información relevante.

20 El propio módulo de gestión de información (4) tiene la capacidad de transmitir los datos recopilados a través de GDM/LTE, una tarjeta SIM, Wifi, Bluetooth o utilizando una conexión VPN. Además, tienen la capacidad de almacenar los datos en una tarjeta SD interna o cualquier otro sistema de almacenamiento alternativo.

25 Los datos almacenados están cifrados, salvaguardando así la identidad de los usuarios y permitiendo certificar tanto la procedencia como la corrección de los mismos, cumpliendo las leyes internacionales de protección de datos.

30 Finalmente, el dispositivo (1) comprende una batería (5) de polímero de iones de Litio (LiPo). El dispositivo (1) tiene la capacidad de monitorizar el estado de carga de dicha batería, que se puede recargar desde vehículos,

red eléctrica convencional u otros. La batería es intercambiable, no teniendo que esperar a su recarga para seguir utilizando el dispositivo (1).

5 Adicionalmente, el dispositivo (1) comprende un módulo de visualización de datos (7), que es una pantalla LCD alfanumérica de dieciséis caracteres y dos líneas, conectada al módulo de gestión de información (4), destinada a que el usuario pueda visualizar y validar los resultados, realizar operaciones de envío de información, etc.

10 Además, el dispositivo puede comprender indicadores luminosos (10) de la carga de la batería, un ventilador (11), toma de corriente (12) y puerto USB (13).

15 Los datos obtenidos proporcionan una información que se puede visualizar y analizar, y que permite asimismo predecir y analizar la evolución de las distintas enfermedades de forma descentralizada. Esta información se almacena en una nube, permitiendo el acceso en tiempo real y de forma distribuida.

REIVINDICACIONES

1.- Dispositivo (1) de diagnóstico de enfermedades tropicales desatendidas con capacidad de medir una reacción de amplificación isotérmica de
5 amplificación de ácidos nucleicos tipo LAMP en al menos una muestra (9), a tiempo real, por cambio colorimétrico, caracterizado porque comprende:

- un módulo de incubación (2) de las muestras (9) a una temperatura controlada, mientras se produce la reacción, destinado a recibir las muestras (9) junto con una mezcla de reacción,
- 10 - un módulo de lectura (3) de cambio colorimétrico, que comprende unos lectores RGB del cambio colorimétrico de la reacción, destinados a posicionarse sobre las muestras (9), y una retroiluminación (8) de la reacción posicionada sobre los lectores RGB y la muestra (9),
- 15 - un módulo de gestión de información (4) conectado al módulo de lectura (3), con capacidad de almacenar los valores RGB, extraer resultados, almacenar datos relacionados con la muestra (9) y transmitirlos a otros dispositivos externos,
- una batería (5) recargable y reemplazable.

20

2.- El dispositivo (1) de la reivindicación 1, en el que el módulo de incubación (2) tiene la capacidad de incubar las muestras (9) en un rango de temperaturas comprendido entre 35°C y 90°C.

25

3.- El dispositivo (1) de la reivindicación 1, en el que el módulo de incubación (2) tiene la capacidad de incubar las muestras (9) durante un periodo de tiempo comprendido entre 5 y 120 minutos.

30

4.- El dispositivo (1) de la reivindicación 1, en el que el módulo de incubación (2) comprende adicionalmente unos indicadores (6) luminosos o acústicos de la temperatura y tiempo de la incubación de las muestras (9).

5.- El dispositivo (1) de la reivindicación 1, en el que el módulo de incubación (2) comprende un control PID (Proporcional Integral y Derivativo) de la temperatura.

5 6.- El dispositivo (1) de la reivindicación 1, que comprende adicionalmente unas alarmas conectadas al módulo de incubación (2) que se activan en el caso de que la temperatura de la reacción aumente de manera descontrolado o excesiva.

10 7.- El dispositivo (1) de la reivindicación 1, en el que los lectores RGB del módulo de lectura (3) son de tipo HDJD-S822.

15 8.- El dispositivo (1) de la reivindicación 1, en el que los datos almacenados en el módulo de gestión de la información (4) son seleccionados entre la posición GPS, información del paciente, el responsable de toma de las muestras (9) y la información del dispositivo (1).

20 9.- El dispositivo (1) de la reivindicación 1, en el que el módulo de gestión de información (4) tiene la capacidad de transmitir los datos a un dispositivo externo haciendo uso de un sistema seleccionado entre tarjeta SIM, WiFi, Bluetooth y conexión VPN.

25 10.- El dispositivo (1) de la reivindicación 1, en el que la batería (5) es de polímero de iones de litio (LiPo).

30 11.- El dispositivo (1) de la reivindicación 1, que comprende adicionalmente un módulo de visualización (7) de datos conectado al módulo de gestión de la información (4), que permite la visualización y envío de los datos a dispositivos externos.

12.- El dispositivo (1) de la reivindicación 1, que comprende adicionalmente indicadores luminosos (10) de la carga de la batería, un ventilador (11), toma de corriente (12) y puerto USB (13).

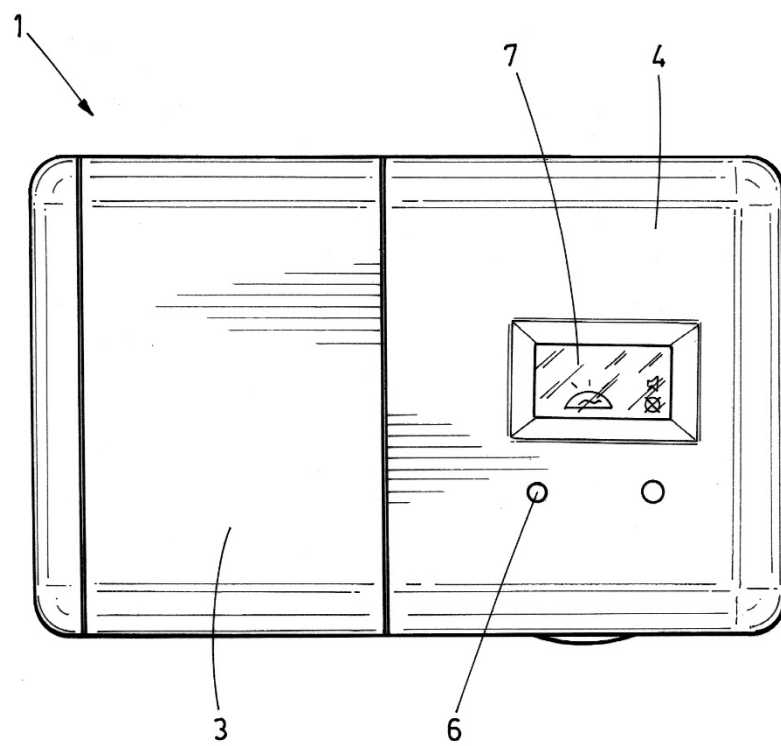


FIG.1

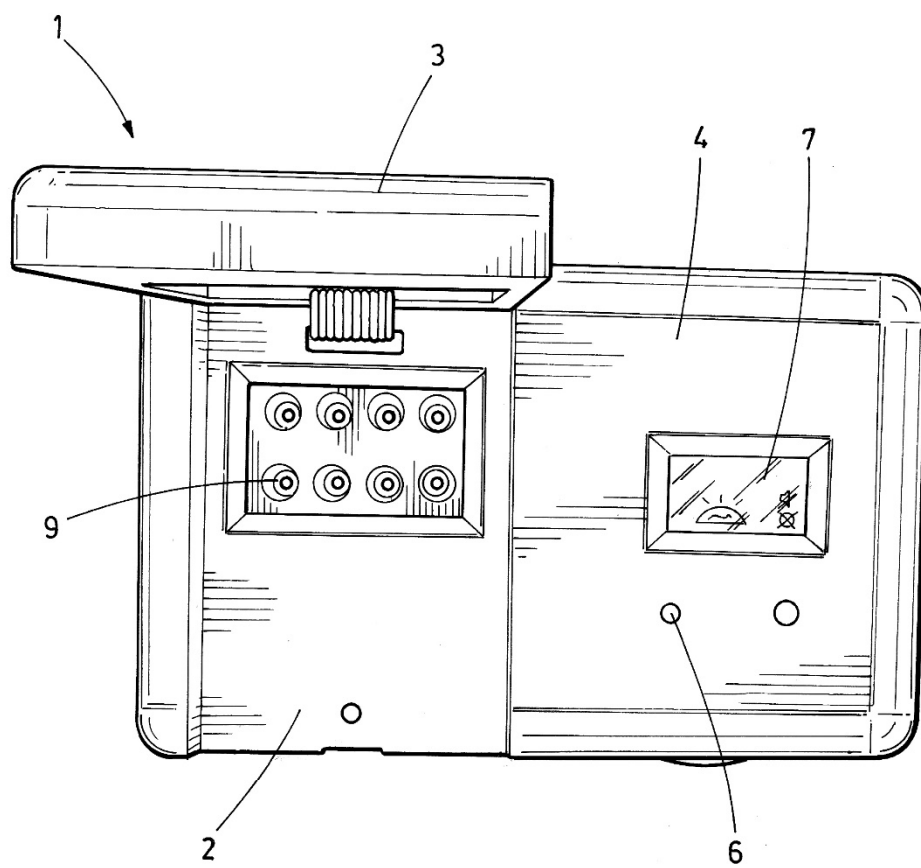


FIG.2

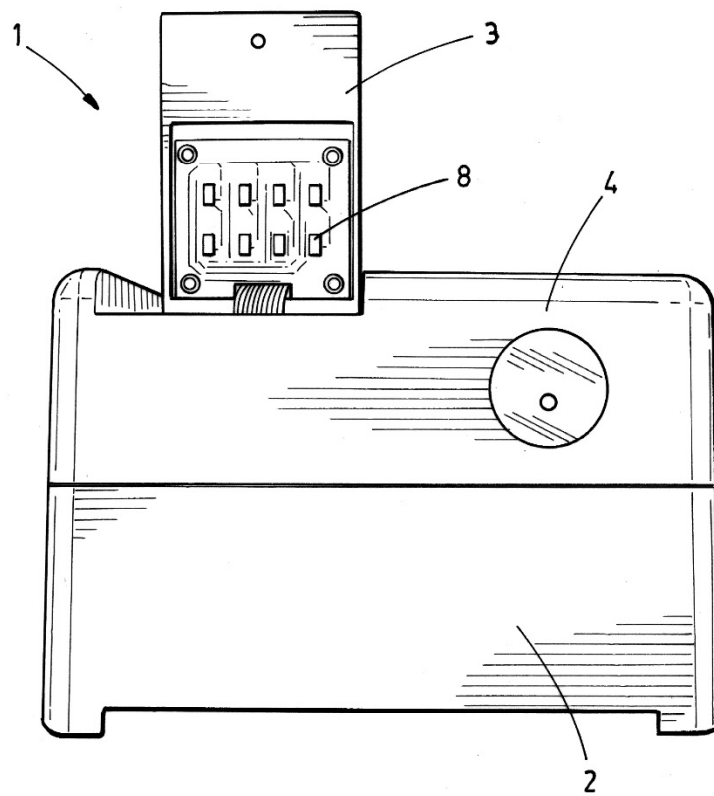


FIG.3

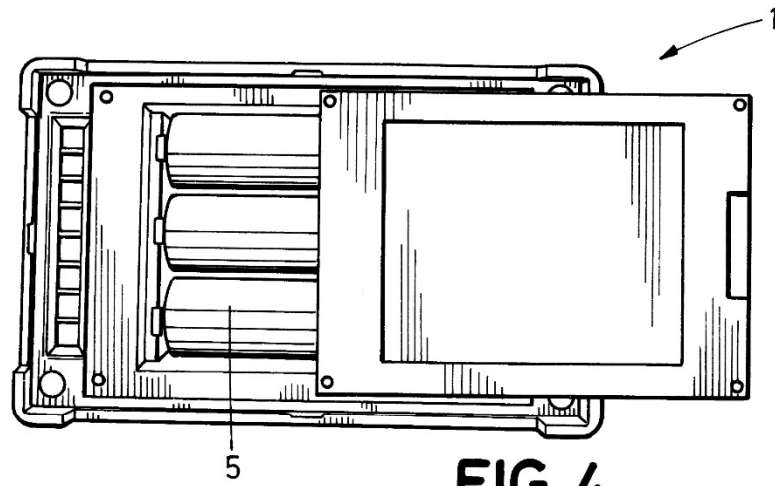


FIG. 4

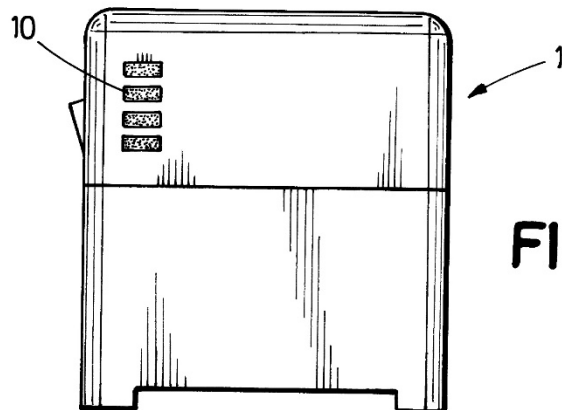


FIG. 5

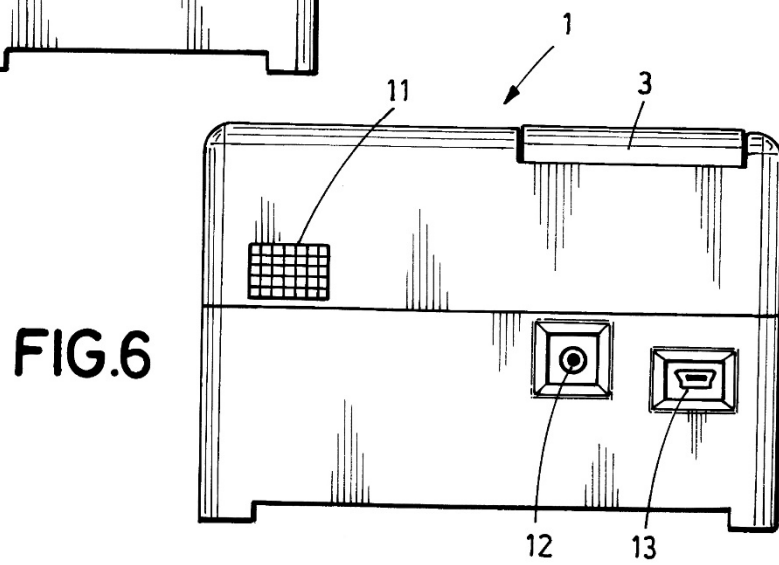


FIG. 6