



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΗΣ

Φορητό σύστημα μέτρησης χρόνου προθρομβίνης με βάση smartphone

**Μπεκολάρη Κλέντιστ
Αριθμός Μητρώου: 13065**

**Επιβλέπων Καθηγητής
Μαρία Καλλέργη, Καθηγήτρια.**

Αθήνα 17/10/2022

Φορητό σύστημα μέτρησης προθρομβίνης με βάση smartphone.

Η Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Ο Επιβλέπων Καθηγητής

Μαρία Καλλέργη

Καθηγήτρια

Εμμανουήλ Αθανασιάδης

Επίκουρος Καθηγητής

Νεφέλη Χατζηστεφανή

Ακαδημαϊκός Συνεργάτης

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Ο υπογράφων Μπεκολάρη Κλέντιστ του Σάμι, με αριθμό μητρώου 13065 φοιτητής του Τμήματος Μηχανικών Βιοϊατρικής της Σχολής Μηχανικών του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω υπεύθυνα ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της διπλωματικής εργασίας και κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του διπλώματός μου».

Ημερομηνία

17/10/2022

Ο Δηλών



Κλέντιστ Μπεκολάρη

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός

Η μέτρηση του δείκτη International Normalized Ratio (INR) προσδιορίζει την εύρυθμη λειτουργία της διαδικασίας της πήξης του αίματος, την ανίχνευση έλλειψης πηκτικών παραγόντων, καθώς και τη παρακολούθηση ασθενών υπό αντιπηκτική θεραπεία. Τα αποτελέσματα από μια τέτοια εξέταση αποτελούν θεμέλιο για τον σχηματισμό της ιατρικής διάγνωσης, ελέγχου και εν τέλει θεραπείας νοσημάτων που σχετίζονται με μη φυσιολογικούς χρόνους πήξης του αίματος. Ο σκοπός αυτής της εργασίας ήταν να υλοποιηθεί ένας καινοτόμος τρόπος μέτρησης του INR με βάση ένα έξυπνο κινητό τηλέφωνο ενσωματωμένο σε μια ειδική φορητή διάταξη όπου ο χρόνος πήξης προσδιορίζεται έμμεσα με φασματοφωτομετρικό τρόπο.

Υλικά και Μεθοδολογία

Η δημιουργία του συστήματος απαίτησε μια ειδικά διαμορφωμένη διάταξη-βάση με τρισδιάστατο εκτυπωτή. Μέσα στη διάταξη τοποθετείται το κινητό, το δείγμα του αίματος, και τα αντιδραστήρια. Η κάμερα του smartphone βγάζει φωτογραφίες το αίμα που πήζει κάτω από καθορισμένες συνθήκες τις οποίες διαμορφώνει η διάταξη. Στη συνέχεια οι φωτογραφίες αναλύονται με λογισμικό επεξεργασίας εικόνας για την εξαγωγή της μεταβολής της φωτεινότητας των pixel καθώς το αίμα πήζει. Τέλος γίνεται ανάλυση αυτής της μεταβολής με σκοπό να συσχετισθεί με το INR. Για την επιβεβαίωση της λειτουργίας του συστήματός μας, πραγματοποιήθηκαν με αυτό 3 πειραματικές δοκιμές σε διαγνωστικό αιματολογικό εργαστήριο. Η μία έγινε σε πλάσμα με παθολογικές τιμές και οι άλλες σε ολικό αίμα και πλάσμα με φυσιολογικές τιμές INR.

Αποτελέσματα

Η ανάλυση των εικόνων έδειξε μεταβολή στην ένταση της φωτεινότητας των pixel καθώς το αίμα πήζει. Ωστόσο η συσχέτιση αυτής της μεταβολής, για τον ακριβή προσδιορισμό του INR δε μπορεί να πραγματοποιηθεί με τα συγκεκριμένα δείγματα λόγω υψηλού θορύβου και μικρού αριθμού δειγμάτων. Οι εικόνες που καταγράφηκαν με αυτή τη διάταξη, παρουσιάζουν υψηλό θόρυβο λόγω της ανάκλασης του φωτός του φλάς του smartphone στον δοκιμαστικό σωλήνα, με αποτέλεσμα να μη μπορούν να αποτυπώσουν με ακρίβεια τις μεταβολές της φωτεινότητας των pixel.

Συμπεράσματα

Η πιλοτική διάταξη έδειξε ότι ένα τέτοιο σύστημα είναι ρεαλιστικό αλλά ο επανασχεδιασμός της κατασκευής και του λογισμικού επεξεργασίας εικόνας κρίνεται απαραίτητος. Για να αποφευχθεί ο υψηλός θόρυβος που οφείλεται στη διάταξη προτείνεται να μη διαμεσολαβεί δοκιμαστικός σωλήνας μεταξύ κάμερας και δείγματος, δηλαδή η μέτρηση να γίνεται κατευθείαν στο δείγμα το οποίο θα είναι τοποθετημένο σε ένα δοκιμαστικό δοχείο ανοιχτού τύπου. Προς το παρόν η μεταβολή στην ένταση της φωτεινότητας των pixel δε μπορεί να συσχετισθεί με το INR λόγω θορύβου και μικρού αριθμού δειγμάτων. Ως μελλοντική προοπτική, προτείνεται η δημιουργία βάσης δεδομένων με πολλές φωτογραφίες από δείγματα με γνωστό INR, όπου με τη βοήθεια συστημάτων μηχανικής μάθησης και αναγνώρισης προτύπων θα γίνεται η συσχέτιση των χαρακτηριστικών εικόνας από τις φωτογραφίες για το προσδιορισμό του INR.

Λέξεις Κλειδιά: Αιμόσταση, Θρόμβωση, International Normalized Ratio (INR), Χρόνος Προθρομβίνης (Χρόνος PT), POCT, 3D Εκτύπωση, Πήξη Αίματος, Έξυπνο Κινητό, Φασματοφωτομετρία

SUMMARY

Purpose

The measurement of the International Normalized Ratio (INR) defines the proper functioning of the blood clotting process, the lack of clotting factors, as well it is used to monitor patients on anticoagulation therapy. The results of this test, is vital for the formation of medical diagnosis, disease control and curing pathologies related to abnormal coagulation time. The aim of this thesis was to implement an innovative way of measuring the INR based on a smartphone integrated in a special portable device where the coagulation time is indirectly determined spectrophotometrically.

Materials and Methods

For the implementation of this novel system, it was designed a special appliance with a 3D printer. Inside the device are placed the cell phone, the blood sample, and the clotting reagents. The smartphone's camera takes pictures of the blood coagulating under certain conditions that the device forms. The photos are then analyzed with image processing software to extract the change in pixel intensity as the blood clots. Finally, these changes are analyzed in order to correlate them with the INR time. In order to confirm the functionality of our system, 2 experimental tests were performed with it, in a diagnostic hematology laboratory. One was done on blood with abnormal values and the other on blood with normal INR values.

Results

During the analysis of the images taken with our system was observed a change in pixel intensity as the blood clots. However, the correlation of this change to the exact INR time, cannot be performed with the specific samples, due to the high noise and small number of samples. The pictures taken with this setup have high noise due to the reflection of the smartphone's flash light on the test tube, so they cannot accurately capture pixel intensity changes.

Conclusion

This prototype device showed that such a system is feasible but the redesign of the construction and of the image processing software is deemed necessary. In order to avoid the high noise caused by the device, it is suggested not to interpose a test tube between the camera and the sample, so as the measurement to be performed directly on the sample which will be placed in an open-type test container. For now, the change in pixel brightness intensity cannot be correlated with INR due to small number of samples. However, as a future perspective, it is proposed to create a database of many photos with known INR values where with the help of machine learning and pattern recognition systems, the correlation of the many image features with the photos will be done to determine the INR.

Keywords: *Hemostasis, Thrombosis, International Normalize Ratio (INR), Prothrombin Time (PT Time), Point Of Care Testing (POCT), Blood Coagulation, Smartphone, 3D Printer*

Ευχαριστίες:

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την κα. Καλλέργη Μαρία για τη καθοδήγηση και την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, το φίλο και συνάδελφό μου Ουζούνη Σωτήρη για την συνεργασία μας και την αμέριστη βοήθεια που μου παρείχε, το φίλο μου Δημήτρη Πρίφτη για τη στήριξη στο κατασκευαστικό κομμάτι, τα Ιατρικά Διαγνωστικά Εργαστήρια και ιδιαιτέρως την αιματολόγο του τμήματος της Ελευσίνας κα. Εύα, για τη βοήθεια και διαμεσολάβησή της για τις πειραματικές μετρήσεις. Τέλος, ευχαριστώ την Ειρήνη, τους φίλους μου και την οικογένειά μου για την ανιδιοτελή τους συναισθηματική υποστήριξη.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ	9
1. Θεωρητικό Υπόβαθρο.....	Error! Bookmark not defined.
1.1 Αιμόσταση και παθολογίες	11
1.2. Αντιπηκτική Αγωγή	15
1.3. Μεθοδολογία Μέτρησης Χρόνου Πήξης & I.N.R.....	16
1.4. Μέτρηση I.N.R. Στο Χώρο Φροντίδας Του Ασθενούς, Point of Care Testing.	17
1.5. POCT Βιοϊατρικές Τεχνολογίες Με Βάση Τα Smartphone.....	19
1.5.1 In-Vivo POCT Βιοϊατρικές Εφαρμογές Με Βάση Τα Smartphone.....	20
1.5.2 In-Vitro POCT Βιοϊατρικές Εφαρμογές Με Βάση Τα Smartphone.	26
2. Μεθοδολογία.....	34
2.1 Υλικά και Εξοπλισμός	34
2.1.1 Υλικά και Εξοπλισμός Διάταξης	34
2.1.2 Υλικά και Εξοπλισμός Πειραματικών Μετρήσεων	36
3. Αποτελέσματα.....	38
-1 ^η Έκδοση	38
-2 ^η Έκδοση	39
-3 ^η Έκδοση	41
-Πειραματικές μετρήσεις	43
Συζήτηση & Συμπεράσματα	54
Αναφορές – Πηγές	Error! Bookmark not defined.

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΑΚΡΩΝΥΜΙΩΝ ΚΑΙ ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΙΣΗ ΟΡΩΝ	
INR	International Normalized Ratio (Διεθνής δείκτης ομαλοποίησης)
PT	Prothrombin Time (Χρόνος προθρομβίνης)
POCT	Point of Care Testing (Δοκιμασία στο σημείο φροντίδας)
ΔΕΠ	Διάχυτη ενδαγγειακή πήξη
NOAC	Novel Oral Anticoagulants
WHO	World Health Organisation
BAN	Body Area Network
ΗΚΓ	Ηλεκτροκαρδιογράφημα
ΗΕΓ	Ηλεκτροεγκεφαλογράφημα
ISI	International sensitivity index (Διεθνής δείκτης ευαισθησίας)
vWF	Von Willebrand Factor (Παράγοντας Von Willebrand)
ΗΜΓ	Ηλεκτρομυογράφημα
FOV	Field Of View
ΜΕΘ	Μονάδα εντατικής θεραπείας
LFIA	Lateral Flow ImmunoAssay
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbit Assay
RIA	Radio Immuno Assay
EDTA	Ethylene diamine tetraacetic acid (Αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ)
ROI	Region of interest

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο δείκτης INR αποτελεί εργαλείο για τον έλεγχο σοβαρών παθήσεων του μηχανισμού της αιμόστασης και για την επιτήρηση ασθενών υπό θεραπεία με αντιπηκτικά φάρμακα, τα οποία διαταράσσουν τον τρόπο που το αίμα πήζει. Όσοι ακολουθούν μια τέτοια θεραπεία χρειάζεται να επιτηρούν συχνά το συγκεκριμένο δείκτη, καθώς τα φάρμακα και η διατροφή, επηρεάζουν τη ρευστότητα του αίματος στο κυκλοφορικό σύστημα, η οποία αν δεν είναι σε μέσα σε φυσιολογικά όρια, προκαλεί επιπλοκές που μπορεί να οδηγήσουν ακόμη και σε θάνατο.

Η μέτρηση INR πραγματοποιείται κυρίως σε κλινικές από αυτόματους αναλυτές, αλλά εφόσον δεν υπάρχει λόγος νοσηλείας ή είναι αδύνατη η προσέλευση του εξεταζόμενου, μπορεί να πραγματοποιηθεί και από φορητά συστήματα από τον ίδιο τον ασθενή στο χώρο του. Η τακτική μέτρηση του INR κοντά στο σημείο παροχής φροντίδας στον ασθενή (POCT) αδιαμφισβήτητα αυξάνει την άνεση του ασθενούς μειώνοντας ταυτόχρονα τα έξοδα και το φόρτο των υπηρεσιών υγείας, έχοντας σαν μόνο κόστος εκείνο της συσκευής παρακολούθησης του INR.

Οι τιμές των εμπορικά διαθέσιμων συσκευών ξεκινούν από τα 500 ευρώ και μπορεί να ξεπεράσουν τα 900 ευρώ ανάλογα με τα χαρακτηριστικά του μοντέλου. Επιπροσθέτως ο χρήστης επιβαρύνεται με το κόστος των ανταλλακτικών μετρητικών ταινιών (strips) που θεωρούνται αναλώσιμα.

Στόχος της συγκεκριμένης εργασίας είναι να κατασκευαστεί μια διάταξη, στην οποία η μέτρηση του INR θα πραγματοποιείται μέσω της κάμερας ενός έξυπνου κινητού και τα δεδομένα θα μπορούν να αποσταλούν σε μια διαδικτυακή εφαρμογή όπου θα γίνεται η ανάλυση και η αξιοποίηση των αποτελεσμάτων σε πραγματικό χρόνο. Σκοπός αυτής της μεθόδου είναι να απαλλαγεί ο ασθενής από την αγορά συστημάτων υψηλού κόστους και ταυτόχρονα να διευκολυνθεί η διεξαγωγή της εξέτασης και η λήψη αποφάσεων.. Επίσης μέσω αυτού του συστήματος θα είναι δυνατή η δημιουργία ψηφιακών προφίλ στατιστικών πληροφοριών, τα οποία θα αναλύονται από τους επαγγελματίες υγείας με σκοπό τη παροχή βελτιωμένης εξατομικευμένης ιατρικής αγωγής για το κάθε ασθενή ξεχωριστά.

Φορητό σύστημα μέτρησης προθρομβίνης με βάση smartphone.

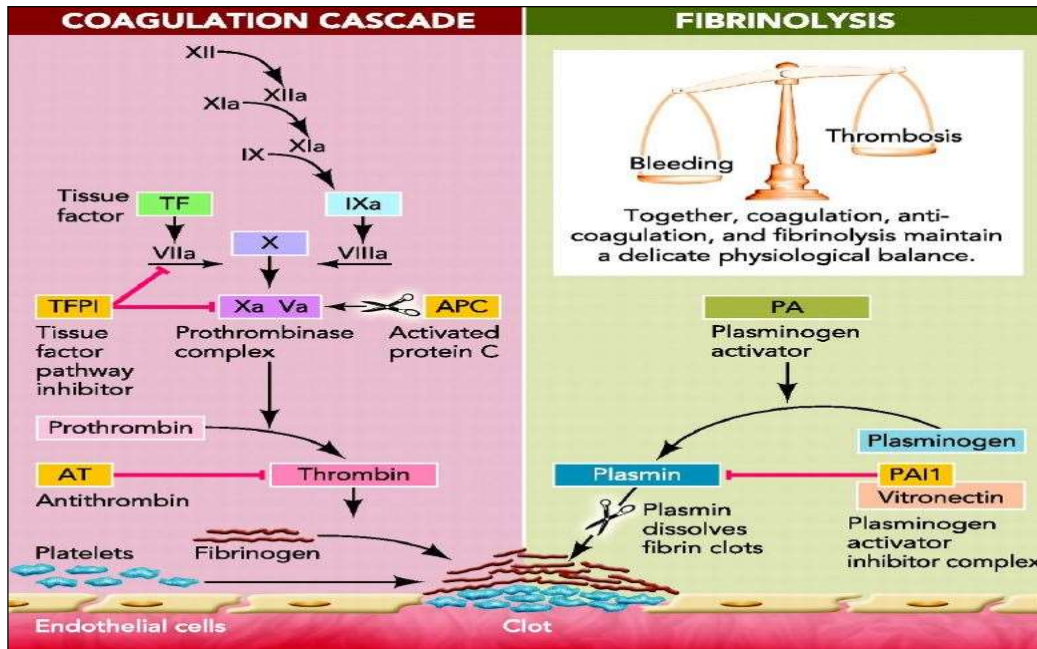
Στο επόμενο κεφάλαιο θα γίνει μια παράθεση βασικών ορισμών σχετικά με τη πήξη του αίματος, παθολογίες της, το τρόπο μέτρησης και τα συστήματα point of care testing (POCT). Στο 2^ο κεφάλαιο θα παρουσιαστεί η μεθοδολογία και τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν για τη δημιουργία της διάταξης. Στο 3^ο θα γίνει ανάλυση των αποτελεσμάτων και στο 4^ο θα σχολιαστούν τα συμπεράσματα.

1. Θεωρητικό Υπόβαθρο

1.1 Αιμόσταση και παθολογίες

Η αιμόσταση είναι ένας μηχανισμός ο οποίος περιλαμβάνει ένα σύνολο πολύπλοκων βιοχημικών διαδικασιών και μηχανισμών αλληλεπίδρασης, μεταξύ κυττάρων του αίματος και ενδοθηλίου του αγγείου, με σκοπό την προστασία του οργανισμού από την αιμορραγία, όταν υπάρχει τραυματισμός και ταυτόχρονα τη διατήρηση του αίματος στα αγγεία, σε μια ρευστή κατάσταση ώστε να εμποδίζεται η θρόμβωση [1]. Αποτελείται από 3 στάδια, τη πρωτογενή αιμόσταση, τη δευτερογενή και την ινωδόλυση όπως φαίνεται γραφικά στην Εικόνα 1-1. Το πρώτο στάδιο σηματοδοτεί την έναρξη της αιμοστατικής διαδικασίας όπου συστέλλονται τα αγγεία και δημιουργείται ένας ασταθής θρόμβος από αιμοπετάλια για να σταματήσει προσωρινά την αιμορραγία. Στο δεύτερο στάδιο ενεργοποιούνται οι παράγοντες της πήξης για να επέλθει η σταθεροποίηση του πρώτου θρόμβου, μέσω ενός ινώδους πλέγματος από πρωτεΐνες του πλάσματος και κυτταρικά στοιχεία. Ο σχηματισμός του θρόμβου, μπορεί να γίνει είτε μέσω της ενδογενούς οδού λόγω αλλοίωσης στα τοιχώματα των αγγείων, είτε μέσω της εξωγενούς οδού λόγω αγγειακής βλάβης μέσω της ενεργοποίησης των αντίστοιχων παραγόντων. Στο τρίτο και τελευταίο στάδιο, ενεργοποιείται το ινωδολυτικό σύστημα για να επανέλθει η κυκλοφορία του αίματος σε φυσιολογικό επίπεδο. Κατά την ινωδόλυση, το αγγείο συστέλλεται και διασπά σταδιακά το ινώδες του θρόμβου που δημιουργήθηκε πρωτιστώ, προστατεύοντας με αυτό το τρόπο από τη θρόμβωση [2].

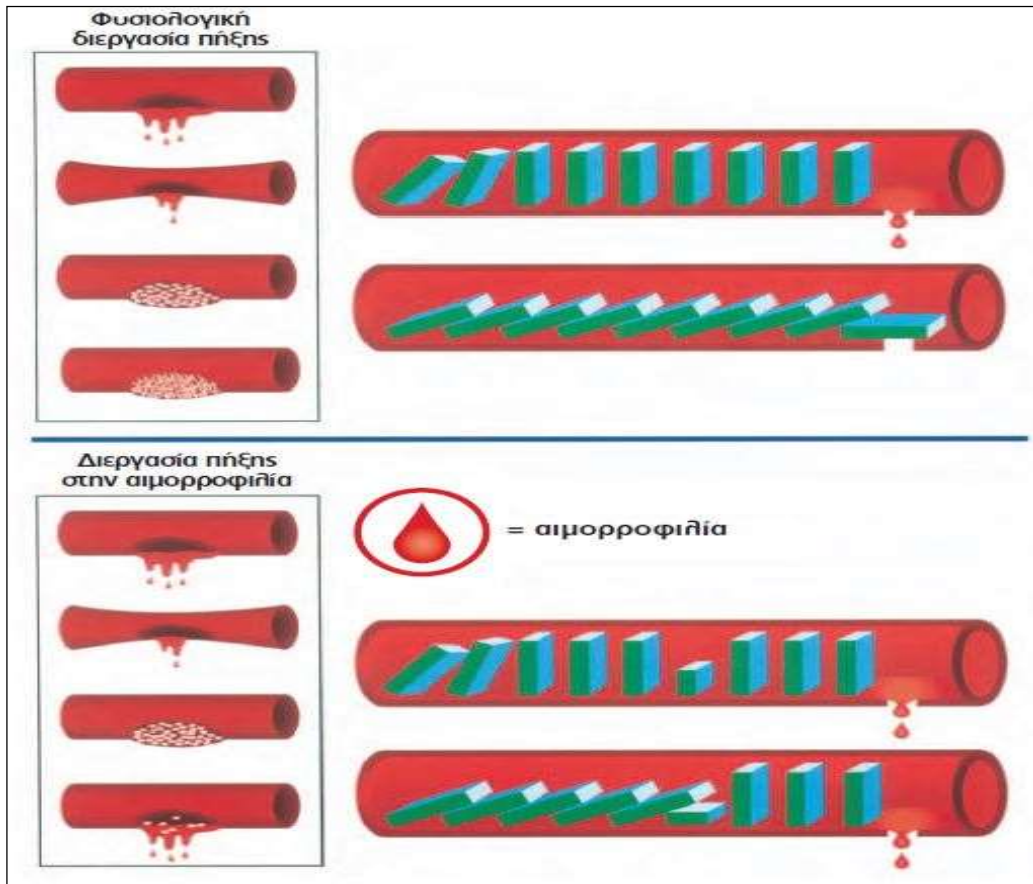
Αιμορραγικό σύνδρομο προκαλείται από διαταραχές που οφείλονται: α) σε ανεπάρκεια των παραγόντων της πήξης, β) στα αγγεία, γ) στον αριθμό ή λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων, σε οποιοδήποτε από τα στάδια της αιμόστασης. Οι πάσχοντες εκδηλώνουν αιμορραγική διάθεση είτε μετά από κάποιο τραυματισμό ή χειρουργική επέμβαση, είτε αυτόματη αιμορραγία στις αρθρώσεις, τους μύες και σε διάφορα άλλα μέρη του σώματος, οι οποίες μπορεί να προκαλέσουν μόνιμες κινητικές βλάβες και σε ορισμένες περιπτώσεις απειλή για τη ζωή τους.



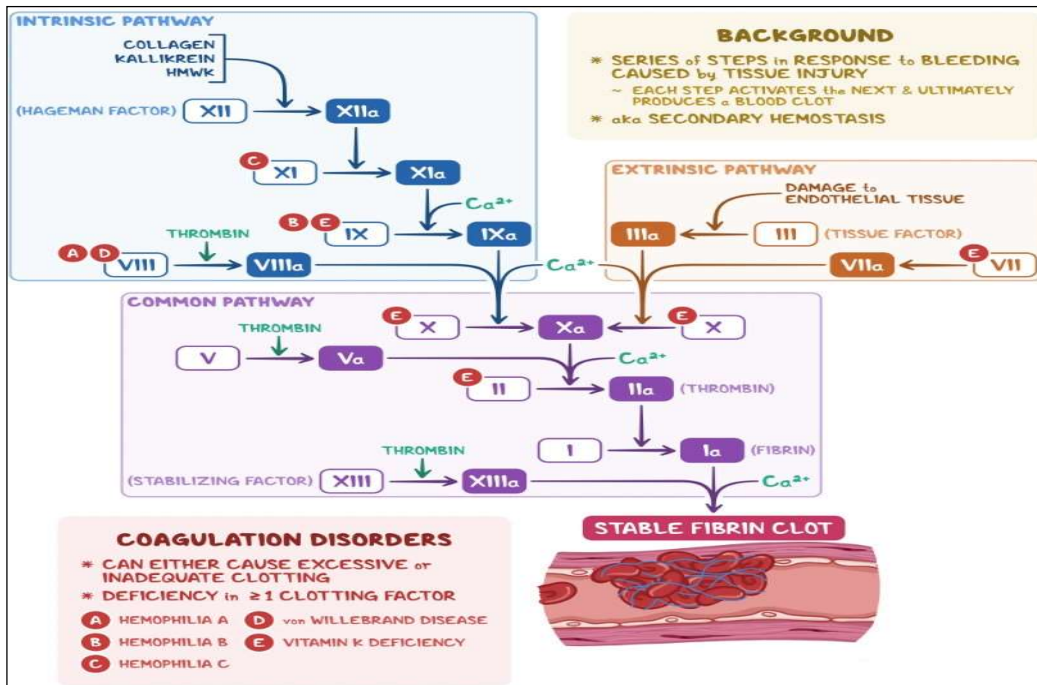
Εικόνα 1-1: Οι παράγοντες της πήξης και τα 3 στάδια της αιμόστασης [3]

Οι αιμορραγικές διαταραχές διακρίνονται σε συγγενείς ή κληρονομικές και επίκτητες. Οι πιο συνηθισμένες είναι οι κληρονομικές, οι οποίες προκαλούνται από ανεπάρκεια ή βλάβη των πήκτικων παραγόντων. Οι αιμορροφιλίες είναι από τις πιο δημοφιλείς κληρονομικές διαταραχές που οφείλονται σε έλλειψη παραγόντων πήξης.[4] Διακρίνονται σε αιμορροφιλία τύπου A (έλλειψη του παράγοντα VIII) και αιμορροφιλία τύπου B (έλλειψη του παράγοντα IX.). Ο παγκόσμιος οργανισμός αιμορροφιλίας εκτιμά ότι περίπου 400.000 άνθρωποι παγκοσμίως ζουν με αιμορροφιλίες. Στη χώρα μας ο αριθμός των πασχόντων αγγίζει τους 3000, όπως φαίνεται και στην Εικόνα 1-4 [5-7].

Η πιο συχνή κληρονομική πάθηση του μηχανισμού της αιμόστασης που προκαλεί αιμορραγική διάθεση είναι η νόσος Von Willebrand. Αφορά την έλλειψη ή τη λειτουργικότητα του παράγοντα vWF, μια πρωτεΐνη που βοηθά τα αιμοπετάλια να συνδεθούν με το κολλαγόνο στο σημείο της ιστικής βλάβης. Επίσης, προστατεύει και εξασφαλίζει να διανέμεται παντού ο παράγοντας VIII. Η νόσος αυτή ταξινομείται σε 3 τύπους αναλόγως με τη ποσοτική (τύπος 1, τύπος 3) και τη ποιοτική (τύπος 2) έλλειψη του παράγοντα vWF. [2, 4, 6-8]. Στην Εικόνα 1-2 απεικονίζεται γραφικά η διεργασία της πήξης σε ένα αγγείο κατά την αιμορροφιλία ενώ στην Εικόνα 1-3 οι παράγοντες που επηρεάζονται και σε ποιο στάδιο της αιμόστασης βρίσκονται.



Εικόνα 1-2 Πήξη στην αιμορροφιλία[7]



Εικόνα 1-3 Αιμόσταση, παράγοντες της πήξης και διαταραχές [4]

Country	Population	People with hemophilia	People with von Willebrand disease	People with other bleeding disorders
Ecuador	17,643,060	1,708	99	7
Egypt	102,334,403	6,233	614	1,408
El Salvador	6,486,201	196	2	0
Eritrea	3,546,421	67	Not Known	Not Known
Estonia	1,331,057	121	128	126
Ethiopia	114,963,583	355	0	0
Finland	5,530,719	256	563	Not Known
France	67,391,582	8,661	2,992	1,127
Georgia	3,714,000	339	55	48
Germany	83,240,525	4,658	3,498	Not Known
Ghana	31,072,945	397	11	Not Known
Greece	10,715,549	1,016	1,210	560

Εικόνα 1-4 Στατιστικά πληθυσμού Ελλάδος με διαταραχές του μηχανισμού της αιμόστασης [5]

Οι επίκτητες διαταραχές του μηχανισμού της αιμόστασης είναι συχνότεροι από τις κληρονομικές και οφείλονται συνήθως σε ανεπάρκεια των φυσικών αναστολέων ή την αυξημένη δραστηριότητα των παραγόντων της πήξης, οι οποίοι οδηγούν, αρχικά σε θρόμβωση και στη συνέχεια σε αιμορραγίες [8, 9]. Στην Εικόνα 1-5 που ακολουθεί, απεικονίζεται συγκεντρωτικά οι αιτίες που μπορεί να προκαλέσουν διαταραχή στην αιμόσταση.

Τέλος, αποτέλεσμα της διαταραχής του μηχανισμού της αιμόστασης είναι οι αρτηριακές ή φλεβικές θρομβώσεις οι οποίες εμφανίζονται σε παθολογικές καταστάσεις όπως:

- 1)Θρομβοφιλίες, λόγω έλλειψης πρωτεΐνης C, ή πρωτεΐνης S, ή αντιθρομβίνης,
- 2)Κολπική μαρμαρυγή και μυοκαρδιοπάθειες που μπορεί να οδηγήσουν σε έμφραγμα
- 3)Αθηρωματική πλάκα σε αρτηρίες οι οποίες μπορεί να δημιουργήσουν επικύνδυνα οξέα στεφανιαία σύνδρομα,
- 4)Θρομβοφλεβίτιδα και πνευμονική εμβολή
- 5)Νοσήματα του ήπατος,
- 6)Καρδιοχειρουργικές επεμβάσεις και πολύωρα χειρουργεία, λόγω μειωμένης κινητικότητας του αίματος
- 7)Θρομβοπενία και νεύρυσμα αρτηρίας
- 8)Σύνδρομος διάχυτη ενδαγγειακή πήξης (ΔΕΠ) κ.α. [1, 10].

Inherited bleeding diathesis	Connective tissue disorders	Chromosomal syndromes	Fibrinogen disorders	Vascular abnormalities	Other congenital disorders	Acquired bleeding diathesis
hemophilia	Ehlers-Danlos syndrome	factor XI deficiency	afibrinogenemia	hereditary hemorrhagic telangiectasia	psychogenic purpura	low platelet count
Von Willebrand disease	osteogenesis imperfecta	Turner syndrome	hypofibrinogenemia		bone marrow failure syndromes	liver disease
		Down syndrome (specific forms)	dysfibrinogenemia		storage pool disorders	kidney failure
		Noonan syndrome			Glanzmann thrombasthenia	thyroid disease
		DiGeorge syndrome			Bernard-Soulier syndrome	Cushing syndrome
		Cornelia de Lange syndrome				amyloidosis
		Jacobsen syndrome				vitamin K deficiency
						disseminated intravascular coagulation
						anticoagulant therapy or poisoning
						acquired clotting factor deficiency
						scurvy

Εικόνα 1-5 Αιτίες αιμορραγικής διάθεσης [6]

1.2. Αντιπηκτική Αγωγή

Για την αντιμετώπιση και τον έλεγχο των παθολογικών θρομβώσεων, χορηγείται αντιπηκτική αγωγή, με στόχο την ισορροπία του μηχανισμού της αιμόστασης. Με τα αντιπηκτικά φάρμακα αναστέλλουμε παράγοντες του μηχανισμού της πήξης σε επίπεδο ώστε να μην δημιουργηθούν θρόμβοι αλλά ούτε να προκαλέσουμε αιμορραγία. Τα φάρμακα που χρησιμοποιούνται σε μία τέτοια αγωγή είναι τα: α) τα αντιαιμοπεταλικά που δρούν εναντίων στη συσσώρευση του αιμοπεταλικού θρόμβου, όπως το ακετυλοσαλικυλικό οξύ, η διπυριδαμόλη κλπ. και β) τα αντιπηκτικά που δρούν στους παράγοντες της πήξης ώστε να μη σχηματιστεί το πλέγμα ινώδους και προκαλέσει θρόμβους.

Συνηθισμένα στη χώρα μας είναι η ηπαρίνη, η οποία μπορεί να χορηγηθεί ενδοφλέβια για άμεσα δράση, ή η ηπαρίνη χαμηλού μοριακού βάρους (LMWH), η οποία

χορηγείται υποδόρια και αναστέλλει τη θρομβίνη και το παράγοντα Χα. Τα αντιπηκτικά που χορηγούνται σε ακόμη περισσότερες παθήσεις είναι τα λαμβανόμενα από το στόμα, η ομάδα των κουμαρινικών, ασενοκουμαρόλη και βαρφαρίνη, γνωστές με την εμπορική επωνυμία Sintrom και Panwarfarin τα οποία αναστέλλουν τη δράση της βιταμίνης Κ με αποτέλεσμα τη μείωση τόσο των παραγόντων πήξης ΙΙ (προθρομβίνη), VII, IX και X όσο και της πρωτεΐνης C ή S και εν τέλει μείωση των θρόμβων[10,11].

Επιπλέον την εμφάνιση τους έχουν κάνει και νέας γενειάς αντιπηκτικά φάρμακα που δεν αναστέλλουν τη βιταμίνη Κ, τα λεγόμενα NOAC's (Non Vitamin K- Oral Antagonist). Τα NOAC's βρίσκονται ακόμη υπο μελέτες αλλά, κερδίζουν ολοένα και περισσότερο έδαφος κυρίως στη πρόληψη θρομβοεμβολικού επεισοδίου σε ασθενείς με κολπική μαρμαρυγή αναστέλλοντας το παράγοντα Χα και προληπτικά σε μεγάλα χειρουργία όπως αρθροπλαστική ισχίου και γόνατος [13].

1.3. Μεθοδολογία Μέτρησης Χρόνου Πήξης & I.N.R

Για την επιτήρηση της δραστηριότητας των αντιπηκτικών φαρμάκων και εν τέλει προστασίας του ασθενούς από αιμορραγία, απαιτείται τακτικός εργαστηριακός έλεγχος στο αίμα, του χρόνου προθρομβίνης (PT Time).

Σε μια τυπική εργαστηριακή μέτρηση πήξης, στον εξεταζόμενο πραγματοποιείται αιμοληψία, ύστερα το αίμα φυγοκεντρείται ώστε να ξεχωριστεί από αυτό, το πλάσμα. Στη συνέχεια το πλάσμα εμπλουτίζεται με ασβέστιο και με συγκεκριμένη ποσότητα αντιδραστηρίου θρομβοπλαστίνης. Τέλος, μέσω αυτόματων αναλυτών, με διάφορες in vitro εργαστηριακές τεχνικές, μετριέται ο χρόνος που απαιτείται ώστε να πήξει το μείγμα.

Μια φυσιολογική τιμή χρόνου προθρομβίνης είναι μεταξύ 10 έως 15 δευτερόλεπτα αλλά τα όρια είναι πολύ εξαρτώμενα από το είδος της θρομβοπλαστίνης που θα χρησιμοποιηθεί. Το τεστ αναπτύχθηκε από το Armand J. Quick το 1935 αλλά τα αποτελέσματα από τα διάφορα διαγνωστικά εργαστήρια είχαν μεγάλη απόκλιση μεταξύ τους, λόγω των διαφόρων ενεργοποιητών πήξης που χρησιμοποιούντουσαν.

Το πρόβλημα αυτό, επίλυσε το 1983 ο Tom Kirkwood μέσω του συστήματος INR που ανέπτυξε [16]. Λόγω των μεγάλων διαφορών στη δραστηριότητα που παρουσιάζουν οι

θρομβοπλαστίνες που κυκλοφορούν στο εμπόριο, κάθε θρομβοπλαστίνη πρέπει να χαρακτηρίζεται από το διεθνή δείκτη ευαισθησίας (ISI – International sensitivity index), ο οποίος εκφράζει την ευαισθησία της, σε σχέση με τη πρότυπη θρομβοπλαστίνη αναφοράς του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (WHO) που έχει δείκτη ISI= 1.0. Τα αποτελέσματα του χρόνου PT εκφράζονται με το διεθνή δείκτη ομαλοποίησης (I.N.R International normalized ratio) ο οποίος αντικατοπτρίζει τη σχέση χρόνου προθρομβίνης που υπολογίζεται με τέτοιο τρόπο σαν να είχε χρησιμοποιηθεί η πρότυπη θρομβοπλαστίνη αναφοράς του WHO [14]. Στη συνέχεια το INR, υπολογίζεται με βάση τη σχέση:

$$INR = (PT \text{ εξεταζόμενου} / PT \text{ φυσιολογικής προθρομβίνης-μάρτυρα})^{ISI}$$

Το ISI παίρνει τυπικές τιμές μεταξύ 0.9-1.7, ενώ η τιμή της προθρομβίνης μάρτυρα εξαρτάται από την αναλυτική μέθοδο που χρησιμοποιείται και το κατασκευαστή. Τα όρια των τιμών INR κατηγοριοποιούνται ως εξής:

- INR < 1.1 : εντός φυσιολογικού ορίου
- 1.1 < INR < 2.0 : αυξημένο επίπεδο, πιθανή ένδειξη ηπατικής δυσλειτουργίας
- 2.0 ≤ INR ≤ 3.0 : όρια ασθενών που βρίσκονται υπό αντιπηκτική αγωγή
- INR > 3.0 : υψηλός κίνδυνος αιμορραγίας.

Τα φυσιολογικά όρια του INR διαφέρουν σε περιπτώσεις που οι ασθενείς έχουν καρδιαγγειακά εμφυτεύματα και λοιπούς παράγοντες κινδύνου θρομβοεμβολικών επεισοδίων [15].

1.4. Μέτρηση I.N.R. Στο Χώρο Φροντίδας Του Ασθενούς, Point of Care Testing.

Για τη συνεχή επιτήρηση των επιπέδων του INR, συνήθως απαιτούνταν η προσέλευση του ασθενούς στο νοσοκομείο, σε ανάλογη της πάθησης συχνότητα, γεγονός που ταλαιπωρούσε τον πάσχοντα. Πλέον, εφόσον δεν υπάρχει λόγος νοσηλείας ή είναι αδύνατη η προσέλευση του εξεταζόμενου, η εξέταση μπορεί να πραγματοποιηθεί με φορητά συστήματα από τον ίδιο τον ασθενή στο χώρο του και τα αποτελέσματα να σταλούν ηλεκτρονικά στον επιβλέποντα γιατρό. Οι ασθενείς στη συνέχεια λαμβάνουν οδηγίες ή τροποποίηση της αντιπηκτικής αγωγής εφόσον αυτό κρίνεται αναγκαίο.

Η επιτήρηση του INR μέσω (POCT), αυξάνει την άνεση του ασθενούς και τον προφυλάσσει από την έκθεση σε χώρους υψηλού κινδυνού λόγω covid-19 και λοιπών μεταδοτικών ασθενειών, όπως κλινικές και διαγνωστικά εργαστήρια. Ταυτόχρονα μειώνει τα έξοδα και το φόρτο των υπηρεσιών υγείας. Τα οφέλη αυτής της διαδικασίας είναι πολλά, μεταξύ των άλλων: η μικρή ποσότητα αίματος που απαιτείται σε σχέση με τη κλασική μέθοδο, η απλότητα της μέτρησης και του χειρισμού της συσκευής, η άμεση έκδοση των αποτελεσμάτων και η δυνατότητα δημιουργίας εξατομικευμένου προσωπικού ημερολογίου για καλύτερο έλεγχο της δοσολογίας των φαρμάκων.

Η αποτελεσματικότητα των POCT σε αιμορραγίες και θρομβώσεις, είναι ανάλογη ή ανώτερη της κλασικής μέτρησης από αυτόματους αναλυτές [16]. Η φιλοσοφία της μέτρησης των διαφόρων κατασκευαστών συσκευών POCT INR, είναι παρόμοια και προϋποθέτει την αγορά μετρητικών ταινιών (strips). Ο εξεταζόμενος καλείται να τρυπηθεί στο δάχτυλο και να τοποθετήσει το αίμα-δείγμα πάνω στις μετρητικές ταινίες και στη συνέχεια να διαβάσει τα αποτελέσματα όπως φαίνεται χαρακτηριστικά στην Εικόνα 1-6. Αναλυτικές οδηγίες χρήσης από το κάθε κατασκευαστή, παρέχονται στον ίδιο τον εξεταζόμενο ή σε άλλο άτομο που επρόκειτο να του παρέχει φρόντιδα.



Εικόνα 1-6 Σύστημα POCT μέτρησης INR CoaguCheck® INrange της Roche Diagnostics [17]

1.5. POCT Βιοϊατρικές Τεχνολογίες Με Βάση Τα Smartphone

Οι στόχοι των POCT συσκευών είναι η μείωση του κόστους της εξέτασης, η παροχή υπηρεσιών υγείας σε περιοχές με μειωμένη προσβασιμότητα ή πόρους και η διάγνωση ή η παρακολούθηση κάποιας παθολογίας.

Ένα POCT σύστημα για βιοϊατρική εφαρμογή χαρακτηρίζεται από 3 φάσεις: την προ-αναλυτική, την αναλυτική και τη μετα-αναλυτική. Η προ-αναλυτική φάση αφορά την επιλογή της μεθόδου λήψης του βιολογικού δείγματος. Η αναλυτική αφορά την ανάλυση και επεξεργασία του ληφθέντος βιολογικού δείγματος και τη μετατροπή αυτού σε μετρήσιμο βιοσήμα. Η μετα-αναλυτική φάση περιλαμβάνει την ανάλυση δεδομένων, επίδειξη αποτελεσμάτων, αποθήκευση, μεταφορά και λήψη απόφασης [18].

Η συνεχώς αυξανόμενη υπολογιστική δυνατότητα, η ισχυρή και μεγάλη μνήμη, η συνδεσιμότητα, το μικρό μέγεθος και ο γιγαντιαίος αριθμός χρηστών παγκοσμίως, καθιστά τα smartphones ιδανική επιλογή ως βάση για poct συσκευές. Πλέον τα έξυπνα κινητά τηλέφωνα διαθέτουν πολυάριθμους ενσωματωμένους αισθητήρες οι οποίοι μπορούν να αξιοποιηθούν για τη μέτρηση φυσικών μεγεθών. Επιπλέον, οι δυνατότητές τους αυξάνονται με τη σύνδεση πρόσθετων εξωτερικών αισθητήρων στις εισόδους και εξόδους τους. Επομένως, με το κατάλληλο λειτουργικό και με το κατάλληλο βιοαισθητήρα, μια smartphone συσκευή μπορεί να επιτελέσει τη βάση για ένα αυτόνομο In-Vivo ή In-Vitro διαγνωστικό σύστημα. Στη παρακάτω Εικόνα 1-7 παρουσιάζονται μερικά παραδείγματα για την αξιοποίηση των smartphone ως POCT συσκευή, βάσει της αναλυτικής μεθόδου και τους αισθητήρες που χρησιμοποιεί.

Category	Explanation	Examples	
In vivo test	Tests that do not require sample consumption; biological signals are converted to electrical signals by various sensors.	Test with built-in sensor	Use the built-in sensors, such as the camera, to collect human body or environmental signals.
		Test with extra sensor	Use extra sensors, such as an ultrasound probe, to collect human body or environmental signals.
In vitro test	Tests that require sample consumption; biological components or organisms are detected from samples, such as blood, sweat, etc.	Tube, strip, and specimen inspection	Take a specimen of bodily fluid and directly inspect the result using the built-in camera or a microscope connected to a smartphone.
		Microfluidic testing	Take a specimen of bodily fluid and use microfluidic technique to perform complicated biochemical tests, and visualize the result using a smartphone.

Εικόνα 1-7 POCT με βάση το Smartphone [18]

1.5.1 In-Vivo POCT Βιοϊατρικές Εφαρμογές Με Βάση Τα Smartphone

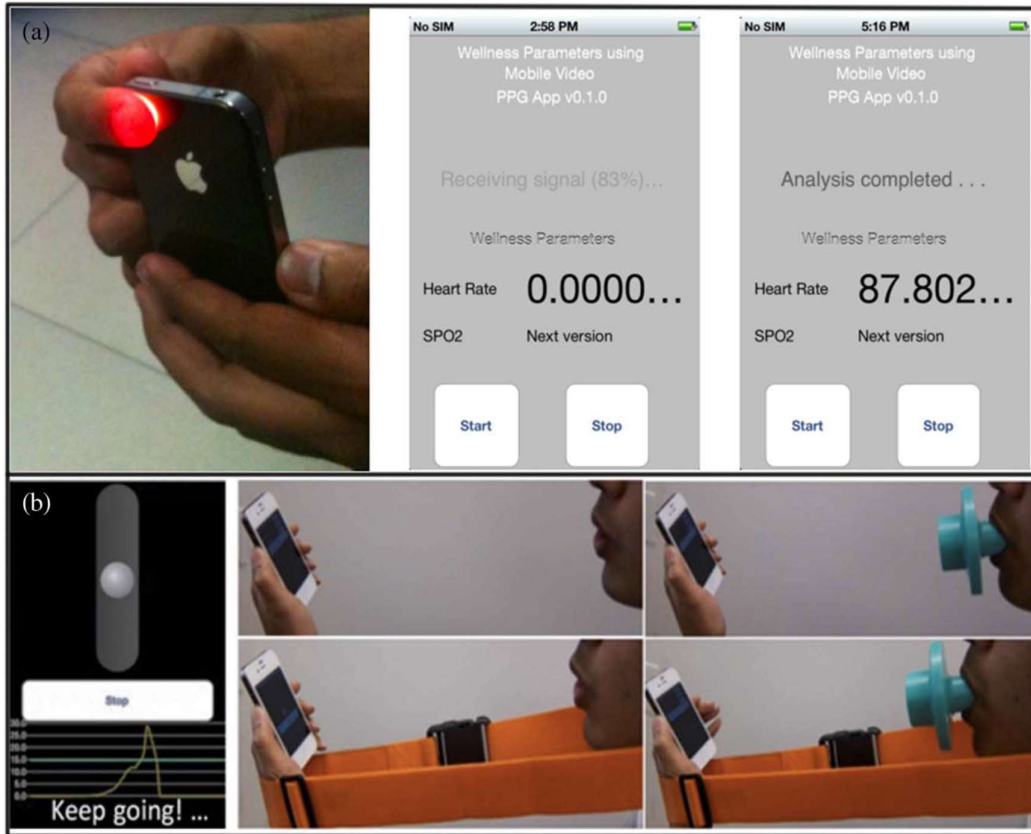
Η κατηγορία αυτή αφορά τη συλλογή βιοσημάτων κατευθείαν στο βιολογικό οργανισμό για την απεικόνιση, παρατήρηση λειτουργικότητας και για την υποβοήθηση λήψης απόφασης, χωρίς την απόσπαση δειγμάτων απ' αυτό.

Για τη περίπτωση των POCT εφαρμογών που αξιοποιούν μόνο ενσωματωμένους αισθητήρες, οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενοι είναι η κάμερα, το φλάς και το μικρόφωνο. Οι λοιποί αισθητήρες όπως επιταχυνσιόμετρο, μαγνητόμετρο, γυροσκόπιο χρησιμοποιούνται λιγότερο.

Με τις κατάλληλες τεχνικές λήψης και αλγόριθμους επεξεργασίας εικόνας έχουν κατασκευαστεί POCT συστήματα τα οποία συλλέγουν φωτογραφίες σε διάφορα σημεία του σώματος όπως δάχτυλο, οφθαλμό και δέρμα. Στη συνέχεια τα δεδομένα επεξεργάζονται είτε απευθείας στο smartphone είτε σε κάποια διαδουκτιακή θέση (cloud), με τη βοήθεια ενός ηλεκτρονικού υπολογιστή όπου και εν τέλει απεικονίζονται τα αποτελέσματα.

Ενδεικτικό παράδειγμα συστήματος POCT με βάση το smartphone αποτελεί η μέτρηση πληθυσμογραφίας μέσω της ανάκλασης της κυκλοφορίας του αίματος απο τον αντίχειρα, απο το led του flash της κάμερας στην όπως φαίνεται στην Εικόνα 1-8. Στην ίδια εικόνα παρακάτω, φαίνεται και ένα σύστημα σπιρομέτρησης μέσω ηχητικής

καταγραφής του ρυθμού αναπνοής. Το λαμβανόμενο φάσμα αναλύεται και στη συνέχεια απεικονίζονται τα αποτελέσματα. Επίσης, στην Εικόνα 1-9 παρουσιάζεται μια εφαρμογή smartphone για τη χαρτογράφηση μελανωμάτων και σπήλων. Τα μελανώματα φωτογραφίζονται μέσω κάμερας και στη συνέχεια ταξινομούνται ως επικίνδυνα ή μη, μέσω διαδικτυακού λογισμικού. [18-19]



Εικόνα 1-8 Εφαρμογή πληθυσμογραφίας (a) και σπιρομετρίας(b) μέσω Smartphone [18]

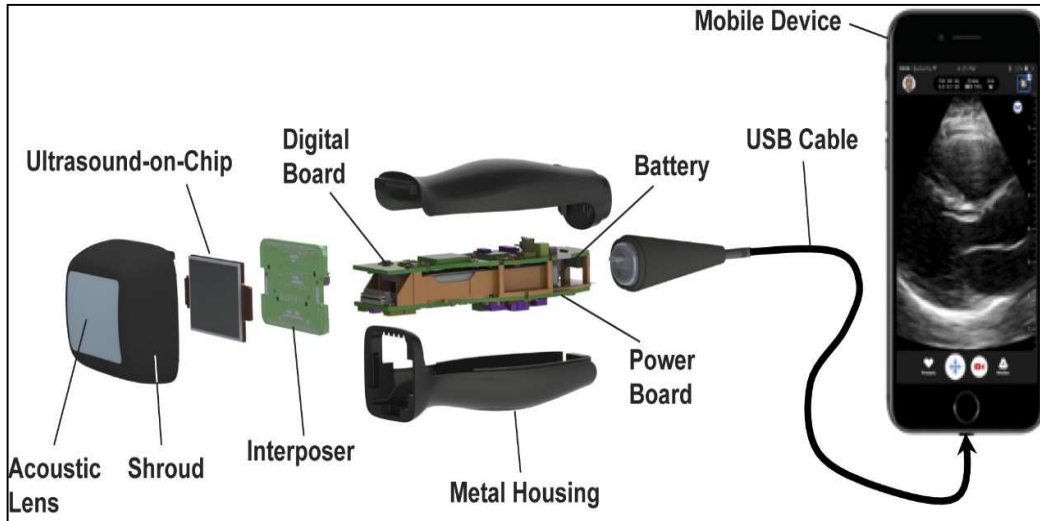


Εικόνα 1-9 Εφαρμογή χαρτογράφησης σπύλων Mark1 μέσω smartphone του Medisp Lab του UNIWA [19]

Η λίστα για τη περίπτωση των POCT εφαρμογών με βάση το smartphone που αξιοποιούν και εξωτερικούς αισθητήρες είναι αρκετά μεγαλύτερη. Η πρόσδεση περαιτέρω αισθητήρων αυτόματα μας δίνει τη δυνατότητα για τη μέτρηση περισσότερων βιοσημάτων.

Μια απο τις πιο διαδεδομένες in-vivo εφαρμογές είναι η σύνδεση φορητού υπερηχητικού ηχοβολέα με το smartphone για real-time απεικόνιση υπερηχοτομογραφίας. Η διάταξη ενός τέτοιου συστήματος απεικονίζεται σχηματικά στην Εικόνα 1-10. Οι πιεζοηλεκτρικοί κρύσταλλοι του ηχοβολέα, τροφοδοτούνται απο το smartphone, ασύρματα ή μέσω καλωδίου απο τις USB θύρες. Στη συνέχεια λόγω τάσης ταλαντώνονται και παράγουν ενα μέτωπο από κύματα. Μέρος των κυμάτων ανακλάται καθώς διεισδύει στις διάφορες δομές του σώματος. Κατά την λήψη των ανακλώμενων κυμάτων ο ηχοβολέας πραγματοποιεί την αντίστροφη λειτουργία, μετατρέπει τη ταλάντωση σε τάση ανάλογη του χρόνου που λήφθηκε. Στη συνέχεια με το κατάλληλο λογισμικό, η τάση-βιοσήμα μετατρέπεται σε εικόνα 2 και 3 διαστάσεων. Με την αξιοποίηση του φαινομένου του doppler μας δίνεται η δυνατότητα μέτρησης

και της αιματικής ροής. Οι φορητοί υπέρηχοι χρησιμοποιούνται ευρέως στα επείγοντα περιστατικά, σε παρακεντήσεις, σε κλινικές αιμοκάθαρσης, στην αθλητική ιατρική, στη φυσιολογική και τη μυοσκελετική αποκατάσταση, τη κτηνοτροφία, την αγγειοχειρουργική και οπουδήποτε απαιτείται ευκολία στη μετακίνηση, αμεσότητα και φορητότητα [18,20,21].



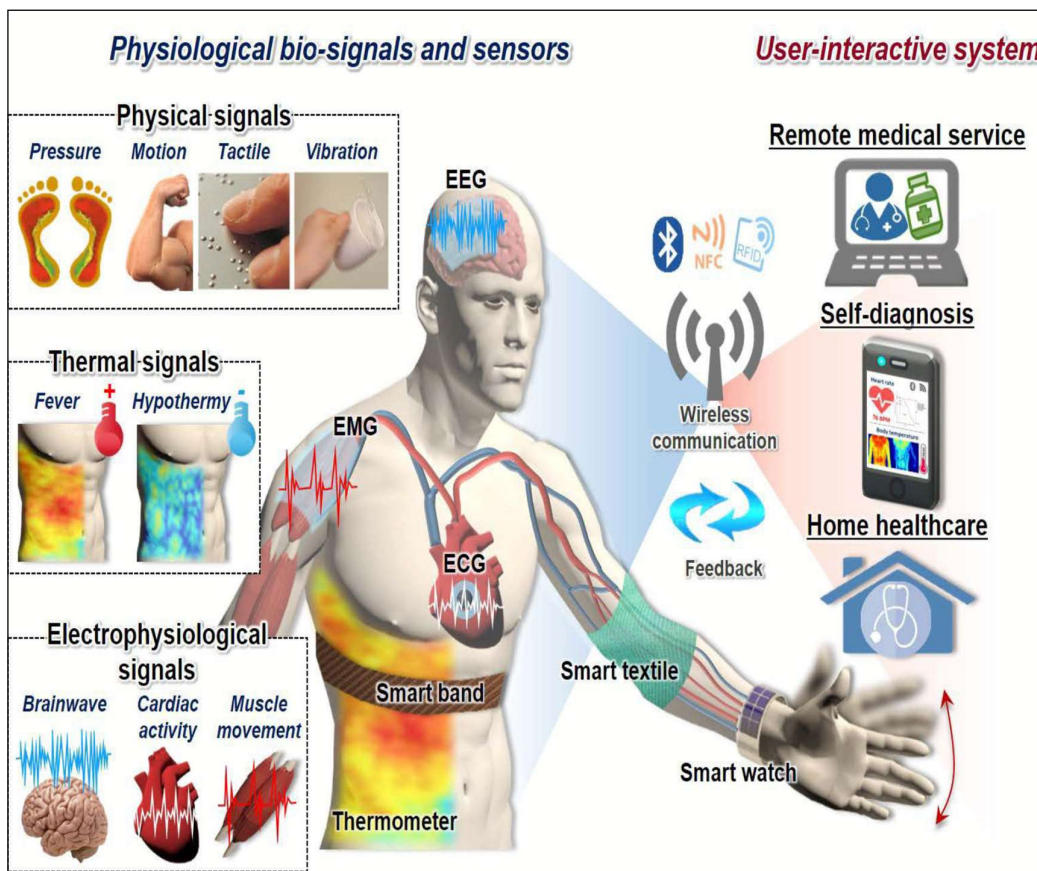
Εικόνα 1-10 Δομή φορητού υπερήχου με βάση το Smartphone [20]

Επίσης, έδαφος στο διαγνωστικό τομέα κατακτούν οι διατάξεις με smartphones που έχουν συνδεδεμένα πάνω στη κάμερα οπτικά συστήματα τα οποία είτε αυξάνουν την μεγεθυντική τους ικανότητα και την εστίαση, είτε καθοδηγούν τη πηγή του φλας πιο στοχευμένα. Ενδεικτικά μερικά από αυτά είναι: ενδοσκόπια-κολποσκόπια με οπτικό σύστημα και ρυθμιζόμενη μετακινούμενη βάση τροχήλατη όπως της Εικόνας 1-11, ωτοσκόπια και δερματοσκόπια.

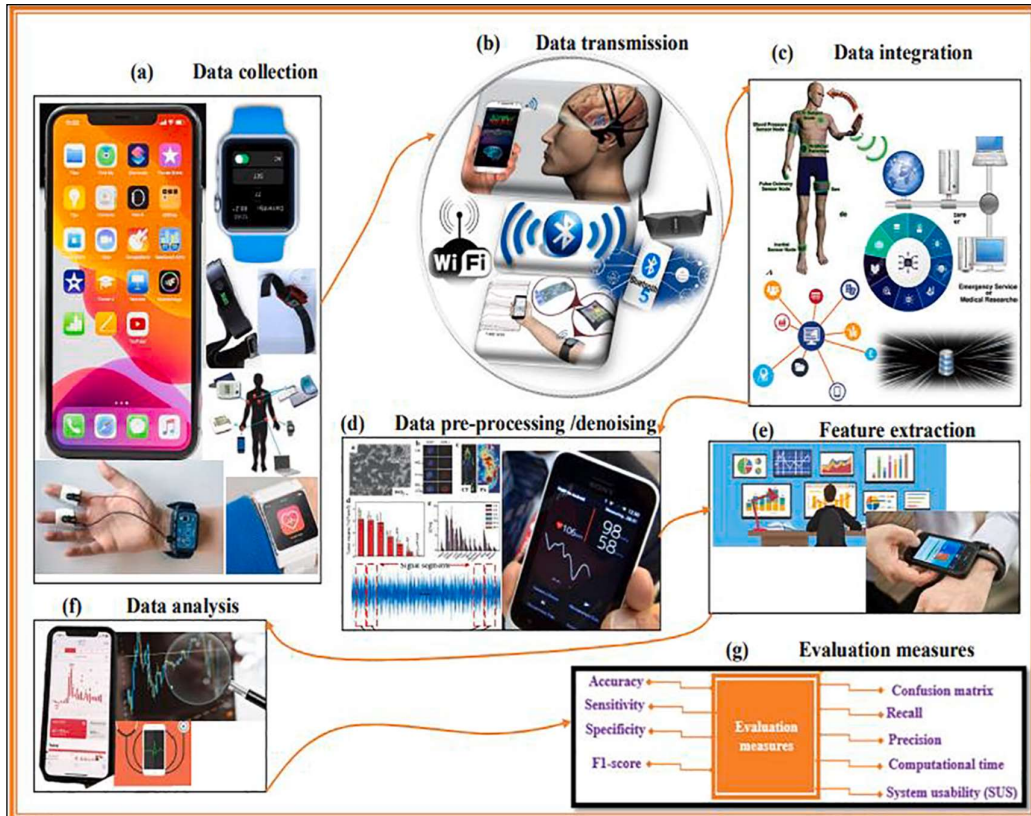


Εικόνα 1-11 (A) Φορητό κολποσκόπιο Eνα® με βάση το smartphone, (B) διατάξεις που το απαρτίζουν [23]

Τελευταία και ίσως η πιο εξελισσόμενη κατηγορία είναι τα δίκτυα παρακολούθησης πολλαπλών βιοσήματων (body area networks) μέσω smartphone. Σε ένα BAN τα βιοσήματα συλλέγονται, παραμετροποιούνται, μεταδίδονται, επεξεργάζονται και αναλύονται είτε απευθείας στο κινητό, είτε από κάποιο cloud. Τα δεδομένα από τα βιοσήματα μπορεί να επιτηρηθούν και να αναλυθούν ταυτόχρονα από έναν γιατρό ή επαγγελματία υγείας. Η δομή συστημάτων BAN απεικονίζονται στην Εικόνα 1-12 και 1-13. Η συλλογή των ηλεκτρικών βιοσημάτων γίνεται μέσω εμφυτεύσιμων ή φορετών βιοαισθητήρων. Με τους βιοαισθητήρες, επιτηρείται η κινητική δραστηριότητα και οι λειτουργίες των ζωτικών οργάνων μέσω μετρήσεων όπως: θερμοκρασία, παλμική οξυμετρία, αιματική πίεση, ΗΚΓ, ΗΕΓ, ΗΜΓ κλπ. Οι ιδιότητες και τα υλικά από τα οποία αποτελούνται οι παραπάνω αισθητήρες καθώς και τα σημεία του σώματος που εφαρμόζονται, παρουσιάζονται στην Εικόνα 1-14 και 1-15 αντίστοιχα [20-25].



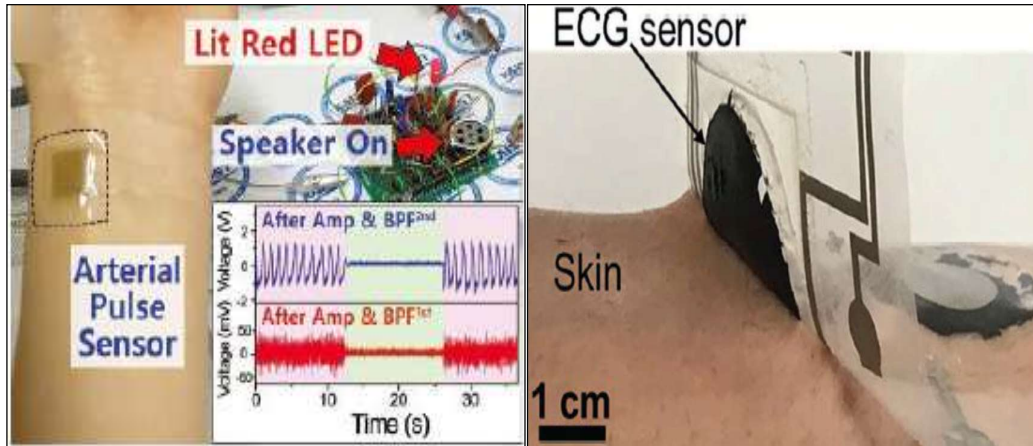
Εικόνα 1-12 Δίκτυο Πολλαπλών Εμφυτεύσιμων και Φορετών Βιοαισθητήρων [25]



Εικόνα 1-13 Δομή ενός BAN [24]

Signal transduction	Materials	Types and applicable body sites	Sensitivity/ Gauge factor	Minimum detection	Response time	Detectable physical signs
Resistivity ⁸	CNT nanoarchitecture	Skin-attachable (wrist, neck, finger)	35 (~85% strain)	–	30 ms	Pulse wave, respiration, finger motions
Resistivity ⁴⁰	MXene	Wearable (all body part)	180.1 (0.26 – 1.78% strain)	0.35 kPa	<30 ms	Muscle activities
Resistivity ²⁵	Ag NPs, PDMS film	Skin-adhesive (all body part)	767 (0 – 1% strain)	0.1% strain	–	Respiration, cardiac cycle
Resistivity ²¹	Cracked Pt film	Wearable (neck, wrist)	2,000 (0 – 2% strain)	~5 Pa	–	Heart rate
Resistivity ¹⁰⁵	Graphene, paper	Wearable (wrist)	17.2 kPa ⁻¹ (0 – 2 kPa)	–	120 ms	Pulse wave, respiration, body motions
Capacitance ¹⁶⁶	Single-layer graphene	Wearable (finger)	0.01 kPa ⁻¹ (<80 kPa)	0.11 kPa	–	Hand motion
Capacitance ²³	P(VDF-TrFE-CFE)	Wearable (wrist, fingertip, foot ankle)	0.7 kPa ⁻¹ (0 – 40 kPa)	4 Pa	–	Pulse wave
Capacitance ¹⁶⁷	Ionic liquids based nanochannel	Wearable (finger)	1.4 nF kPa ⁻¹ (~10 kPa)	~10 Pa	47 ms	Artery pressure, tactile perception
Capacitance ⁷	Ionic thin film	Skin-attachable (all body part)	5 nF kPa ⁻¹ (<5 kPa)	0.8 kPa	–	Artery pulse waves, muscle activities
Capacitance ¹⁶⁸	Iontronic nanofabric	Wearable	114 nF kPa ⁻¹ (<1.3 kPa)	–	4.2 ms	Artery pulse waves
Piezoelectricity ⁵	PZT film	Skin-attachable (wrist, neck)	0.018 kPa ⁻¹ (1 – 30 kPa)	< 1 kPa	60 ms	Artery pulse, swallowing motion, respiration
Piezoelectricity ¹⁶⁹	P(VDF-TrFE), graphene	Wearable (finger)	389	0.008%	–	Hand motion
Resistivity, piezoelectricity ⁹	PVDF, graphene oxide	Wearable (wrist)	35 A kPa ⁻¹ (<2.45 kPa)	2 Pa	–	Artery pulse pressure, tactile perception
Triboelectricity ²⁸	Metal, graphene oxide	Wearable	14.4 mV mm ⁻¹	–	21 ms	Tactile sensation
Triboelectricity ¹⁷⁰	PET, conductive fiber	–	0.77 V Pa ⁻¹	–	80 ms	Sleep monitoring
Triboelectricity ¹⁷¹	Nanostructured Cu, Kapton	Wearable	–	–	<50 μs	Heart rate, blood pressure
Triboelectricity ¹⁵⁹	Hierarchical P(VDF-TrFE), PDMS	Wearable	0.55 V kPa ⁻¹	0.15 Pa	5 ms	Artery pulse waves, hand motion

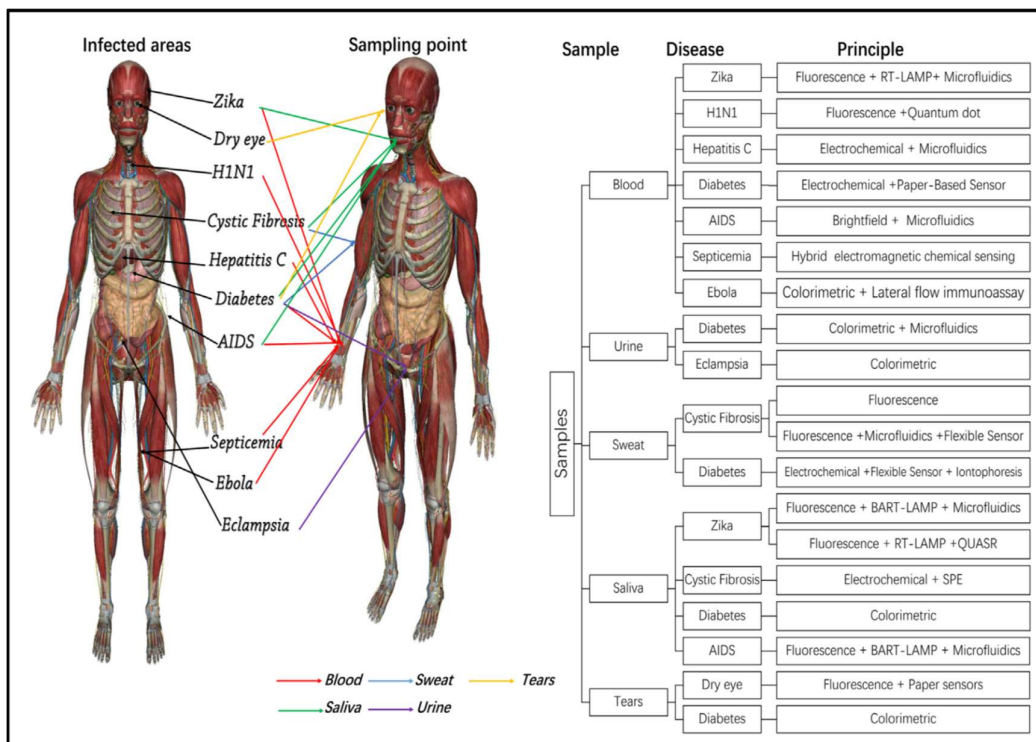
Εικόνα 1-14 Περιληπτικός πίνακας με υλικά, σημεία εφαρμογής, μετρούμενο βιοσήμα και μέθοδοι μετάδοσης σήματος για Δίκτυο Πολλαπλών Εμφυτεύσιμων και Φορητών Βιοαισθητήρων [25]



Εικόνα 1-15 Εφμυτεύσιμοι βιοαισθητήρες πίεσης και ΗΚΓ [25]

1.5.2 In-Vitro POCT Βιοϊατρικές Εφαρμογές Με Βάση Τα Smartphone.

Σε αυτή τη κατηγορία τα smartphone, χρησιμοποιούνται για τη μέτρηση σημάτων που προέρχονται από βιολογικά συστατικά. Με τη κατάλληλη in vitro τεχνική, μπορούν να μετρηθούν ή να ανιχνευθούν πρωτεΐνες, μεταβολίτες, νουκλεϊνικά οξέα και οργανισμοί όπως κύτταρα και μικρόβια. Η μέτρηση μπορεί να εφαρμοστεί σε βιολογικά δείγματα όπως το αίμα, το σάλιο, ο ιδρώτας, τα ούρα και τα δάκρυα [18]. Στην Εικόνα 1-16 παρουσιάζεται γραφικά το σύνολο των ασθενειών που μπορεί να ανιχνευθούν σε σχέση με το είδος του δείγματος και της αναλυτικής τεχνικής.



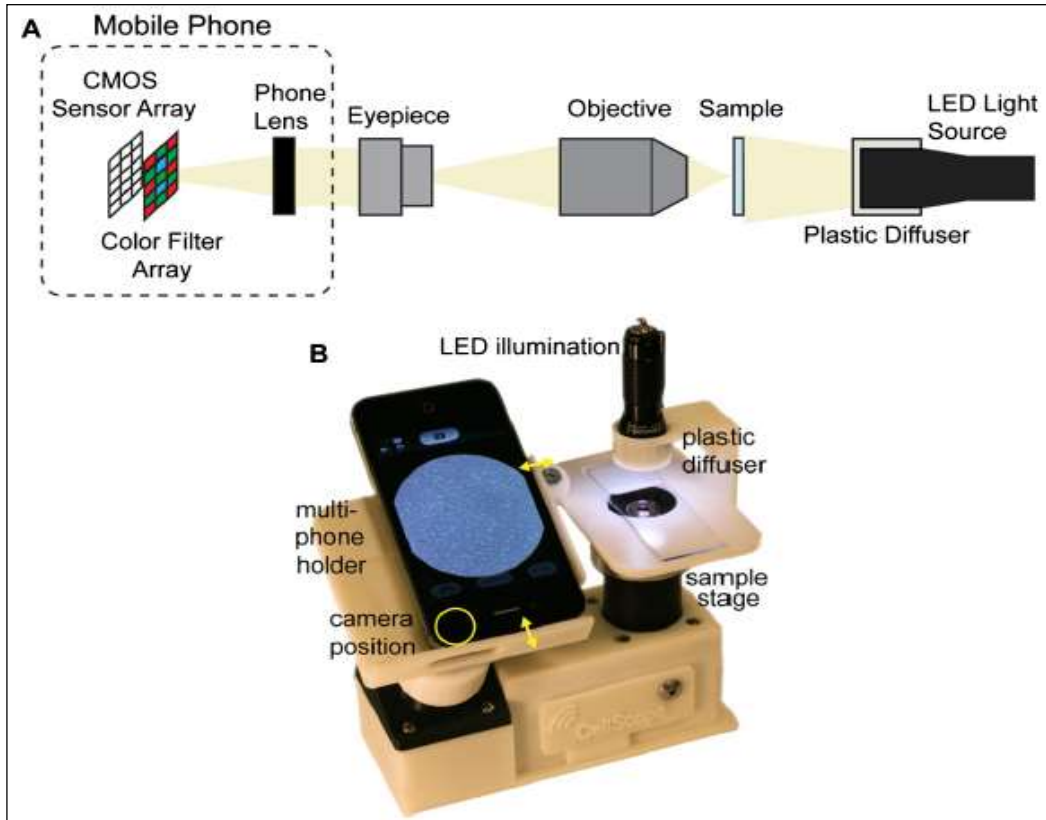
Εικόνα 1-16 Η αναλυτική τεχνική, τα δείγματα και οι σχετιζόμενες παθολογίες που μπορούν να ανιχνευθούν με μια smartphone-based in-vitro POCT συσκευή [24]

Θα ακολουθήσει μια κατηγοριοποίηση των in vitro smartphone συσκευών βάσει της αναλυτικής τεχνικής που χρησιμοποιείται από το κάθε σύστημα καθώς και της οργανολογίας από το οποίο απαρτίζεται.

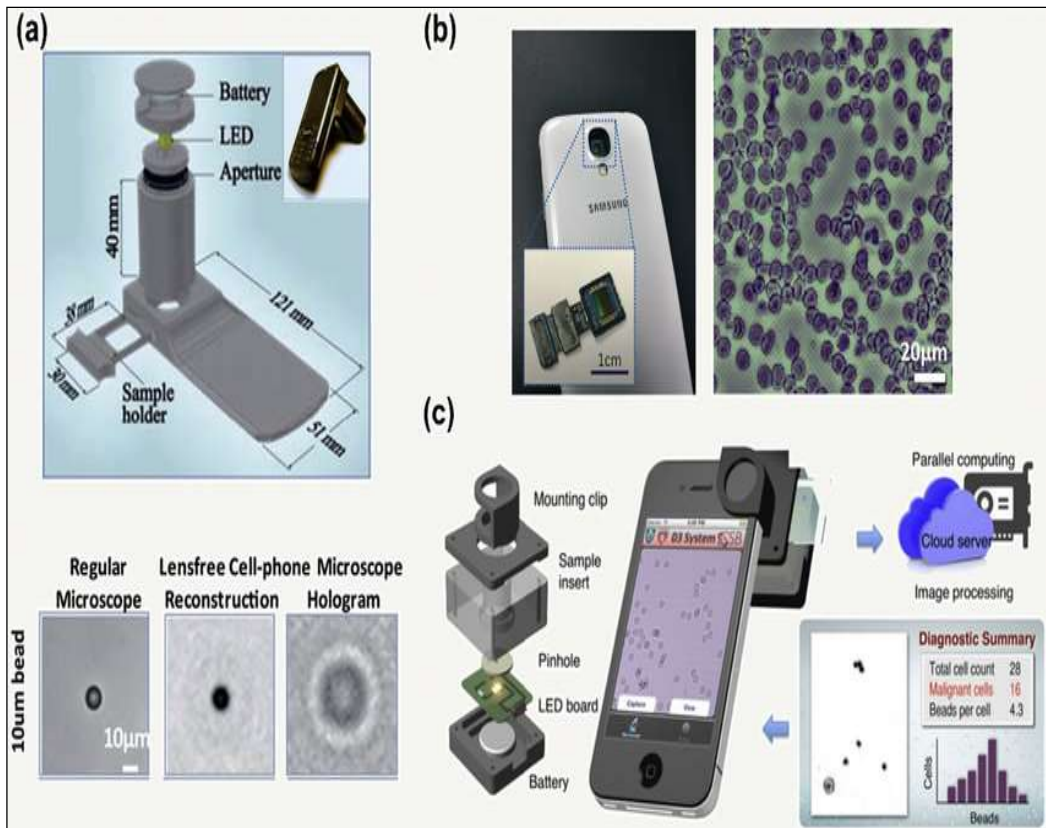
A) Διατάξεις μικροσκοπίας με βάση το smartphone.

Από τα μέσα του 17^{ου} αιώνα που ανακαλύφθηκε το μικροσκόπιο έως σήμερα, αποτελεί αναπόσπαστο κομμάτι της ιατρικής διαγνωστικής τεχνολογίας. Η ιδέα να μετατραπεί το σύγχρονο κινητό σε μικροσκόπιο γεννήθηκε όταν οι υψηλής ανάλυσης κάμερες των κινητών, έγιναν εμπορικά διαθέσιμες και προσιτές. Τα περισσότερα μικροσκόπια που βασίζονται στο smartphone, διαθέτουν ένα σύστημα φακών και λοιπών οπτικών διατάξεων/οπτικών πηγών, για να μεγενθύνουν το προς ανάλυση δείγμα ώστε αποτυπωθεί στη κάμερα. Η ποιότητα της παραγόμενης εικόνας εξαρτάται κυρίως από την ανάλυση της κάμερας και το οπτικό της πεδίο (FOV). Μεγάλο FOV ισοδυναμεί με χαμηλότερη ανάλυση και αντίστροφα [26].

Οι 2 κύριες κατηγορίες τέτοιων διατάξεων είναι: α) μικροσκόπια με σύστημα φακών και β) μικροσκόπια χωρίς σύστημα φακών. Οι δομές τους παρουσιάζονται στις εικόνες 1-17 και 1-18 αντίστοιχα. Η πρώτη κατηγορία αξιοποιεί φακούς και εξαρτήματα όπως πρόσθετη φωτεινή πηγή, συγκεντρωτές και προσοφθάλμιους φακούς. Στη δεύτερη κατηγορία, μεταξύ οπτικής πηγής και κάμερας του κινητού δεν διαμεσολαβεί φακός και η τελική εικόνα ανακατασκευάζεται με τη βοήθεια λογισμικού. Στο Πίνακα 1 περιγράφονται αναλυτικά μερικές τεχνικές απεικόνισης μικροσκοπίου βασιζόμενες σε smartphone, που έχουν υλοποιηθεί. Η ταξινόμηση γίνεται βάσει τρόπου ανίχνευσης, ορίου, μοντέλο κινητού και πρόσθετων εξαρτημάτων που χρησιμοποιήθηκαν [18,27].



Εικόνα 1-17 Δομή ενός In-Vitro smartphone-based POCT μικροσκοπίου με σύστημα φακών [27]



Εικόνα 1-18 Smartphone-based μικροσκόπιο με τεχνικές χωρίς σύστημα φακών [27]

Table 1. Biosensor based on imaging on smartphone platform.				
Sensing Mechanism	Detect Target	Limit of Detection	Smartphone Model	Accessory
Brightfield and fluorescence	Red blood cells (brightfield) sputum (fluorescence)	$\geq 1.2 \mu\text{m}$	Nokia N73 3.2 megapixel	LED, filter(for fluorescence), lenses, eyepiece, objective
Contact microscope	White blood cells	$\geq 1.6 \mu\text{m}$ (Samsung) $\geq 1.5 \mu\text{m}$ (Sony-Ericsson)	Samsung Galaxy S2, 8 megapixel; Sony-Ericsson Aino, 8 megapixel	LED, lenses, rotater, fiber-optic taper
Brightfield	CD4+ T-cells	≥ 60 cells per μL	MotoX-XT1575, Motorola	Functionalized microfluidic chip, light source, lenses
Fluorescent	White blood cells	$\sim 2 \mu\text{m}$	Sony-Erickson U10i Aino, 8 megapixel	Microfluidic chip, LED, plastic color filter, batteries, lens
Quantitative phase microscope	Red blood cells, pap smear, monocot root, broad bean epidermis	-	Nubia Z9 mini	3D printed shell, eyepiece, micro-objective, LED, precision translation stage
Lensfree microscopy	Red blood cells, white blood cells, platelets, Giardia lamblia cysts	$\geq 2.2 \mu\text{m}$	Moto Zine ZN5, 5 megapixel	LED, plastic components, battery
Lensfree Shadow imaging	Blood cells, microorganisms	$\geq 500 \text{ nm}$	Samsung galaxy S4, 13megapixels	-
Lensfree Image recognition	Paper-based blood typing device	-	Google Nexus 5	-

Πίνακας 1 Τεχνικές μικροσκοπικής απεικόνισης με smartphone, βάσει μηχανισμού και τύπο βιολογικού δείγματος [27]

B) In-Vitro διατάξεις με βάση το smartphone για ανάλυση βιολογικών δειγμάτων σε δοκιμαστικούς σωλήνες και μετρητικές ταινίες.

Η απόσπαση τμήματος βιολογικού ιστού ή υγρού για ανάλυση αποτελεί μέθοδος για το χαρακτηρισμό και τη διάγνωση πολλών παθολογιών [18]. Σε ένα τέτοιο σύστημα με βάση το κινητό τηλέφωνο, το δείγμα τοποθετείται μέσα σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα ή μετρητική ταινία, εμβαπτισμένα με αντιδραστήριο. Μεταξύ αντιδραστηρίου και δείγματος, δημιουργείται μια χρωματική αντίδραση η οποία φωτογραφίζεται. Για τη φωτομόνωση της κάμερας χρησιμοποιούνται ειδικές κατασκευές. Στη συνέχεια λαμβάνονται εικόνες, του πρὸς εξέταση δείγματος και δείγματος αναφοράς, με αποτέλεσμα να προσδιοριστεί η συγκέντρωση ή η θέση του πρώτου. Οι λαμβανόμενες ψηφιακές φωτογραφίες, επεξεργάζονται με το κατάλληλο λογισμικό είτε στην ίδια τη συσκευή, είτε αποστέλλονται σε μια θέση δικτύου, όπου υπολογιστής αναλαμβάνει αυτή τη διαδικασία [27]. Στο Πίνακα 2 περιγράφονται αναλυτικά μερικές *poct in vitro* τεχνικές βασισμένες σε smartphone, που έχουν υλοποιηθεί. Η ταξινόμηση γίνεται

βάσει τρόπου ανίχνευσης, ορίου, μοντέλο κινητού και πρόσθετων εξαρτημάτων που χρησιμοποιήθηκαν [18,27].

Η αναλυτική μέθοδος που αναφέρθηκε προηγουμένως, ονομάζεται χρωματομετρική. Οι κύριοι μηχανισμοί ανίχνευσης μιας χρωματομετρικής μεθόδου που χρησιμοποιούνται είναι:

1) Ανοσοχρωματογραφική δοκιμασία πλευρικής ροής (Lateral Flow Immunoassay-LFIA) πάνω σε μια μετρητική ταινία εμβαπτισμένη με τα κατάλληλα αντιγόνα ή αντισώματα, όπου το δείγμα μετατοπίζεται κατά μήκος ζώνων δοκιμής λόγω τριχοειδικών δυνάμεων, όπως φαίνεται στην Εικόνα 1-19.

2) Ηλεκτροχημειοφωταύγεια, ανοσολογική μέθοδος οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων που οδηγούν στην εκπομπή φωτονίων η οποία ενεργοποιείται ηλεκτρικά μέσω εφαρμοζόμενης τάσης, όπως φαίνεται στην Εικόνα 1-20.

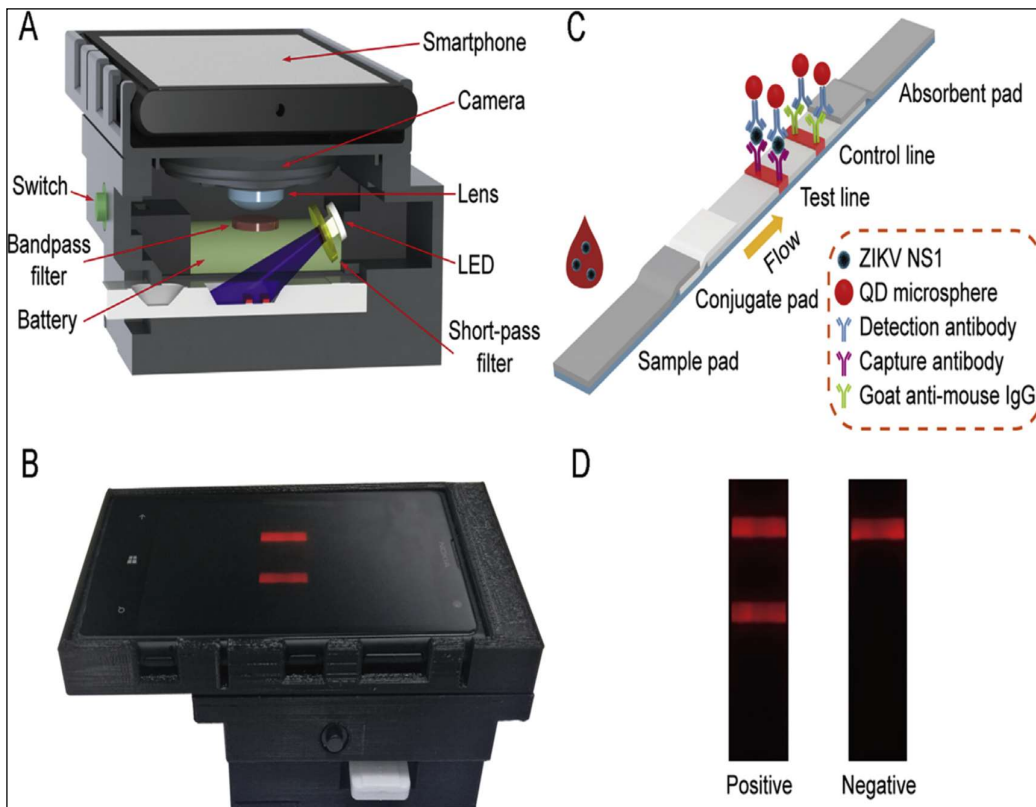
3) Ανοσοχημειοφωταύγεια, μερικός κορεσμός ή ανταγωνισμός της υπό ανίχνευσης ουσίας, κατάλληλα συνδεδεμένη με έναν ιχνηθέτη ο οποίος αντιδρά και εκπέμπεται ορατή ακτινοβολία [28], όπως φαίνεται στην Εικόνα 1-21.

4) Διάθλαση Mie, ανίχνευση μέσω μέτρησης της έντασης του φωτός συναρτήσει της γωνίας. [27], όπως φαίνεται στην Εικόνα 1-22.

5) Ετερογενείς ανοσοενζυμικές μέθοδοι (Enzyme Linked Immuno Sorbit Assay-ELISA), πρόσδεση ενός ενζύμου μέσω αντιγόνου ή αντισώματος το οποίο αντιδρά και παράγει χρώμα ανιχνεύσιμο, όπως φαίνεται στην Εικόνα 1-23.

Sensing Mechanism	Detect Target	Limit of Detection	Smartphone	Accessory
Colorimetric	Sweat pH	-	iPhone 4 and 4S	3D printed shells, flash diffuser, test strip
Colorimetric	pH	~0.5 unit (pH)	HTC and BlackBerry	Test strip, reference strip
Colorimetric	Electrolytes in tear	1.0 mmol/L (Na ⁺); 1.3 mmol/L (K ⁺); 0.02 mmol/L (Ca ²⁺); 0.13 unit (pH)	iPhone 6S	Paper-based microfluidic
Colorimetric	Blood (concentration of hematocrit)	0.1%	Galaxy S II	PDMS light diffuser, microfluidic device, PMMA box
Fluorescence	proteins	10 pg/mL	iPhone 5S	LED, 3D printed attachment, organ-on-a-chip
Chemiluminescence	Lactate levels in oral fluid and sweat	0.5 mmol/L (oral fluid); 0.1 mmol/L (sweat)	Samsung Galaxy SII Plus	3D printed analytical device
Chemiluminescence	H ₂ O ₂	250 nmol/L	iPhone	Disposable paper-plastic microfluidic device
Reflective Phantom Interface	Hepatitis B and HIV	10 ng/mL	HTC DesireHD	Plastic cradle

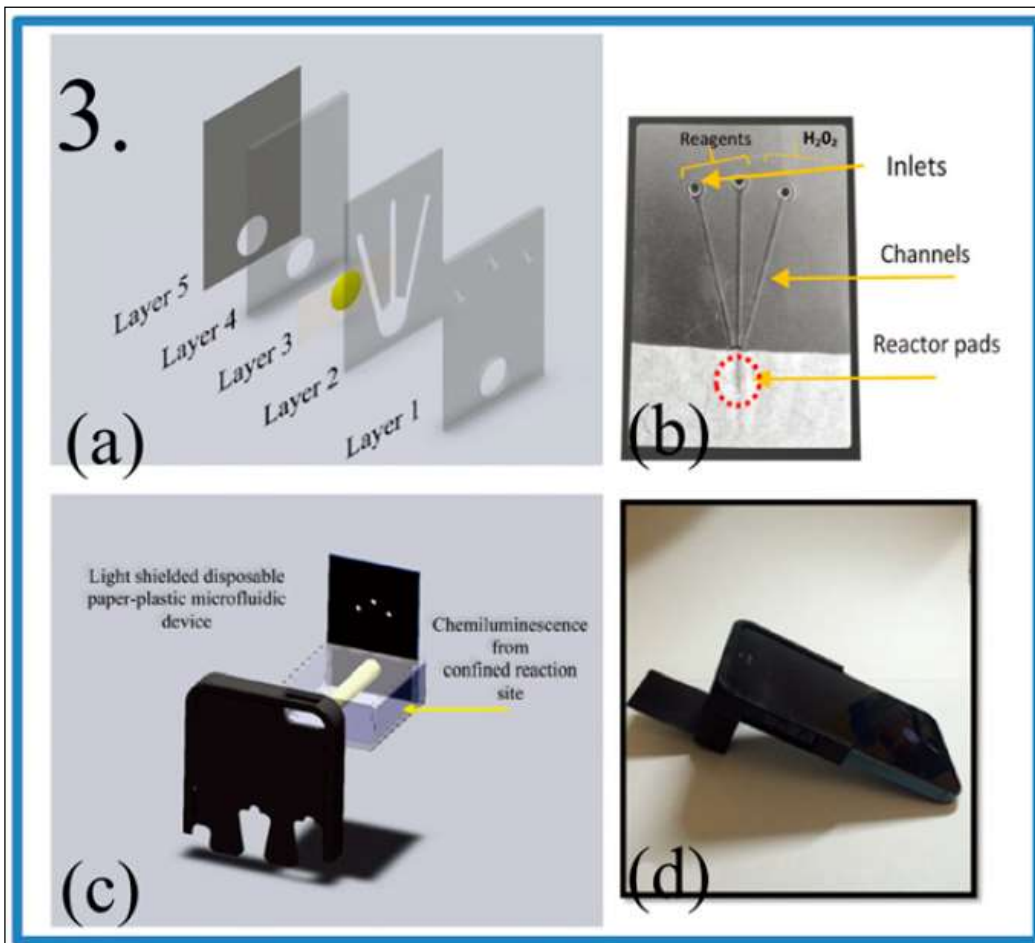
Πίνακας 2 Αναλυτικές τεχνικές, βιολογικό δείγμα και αισθητήρες-εξαρτήματα [27]



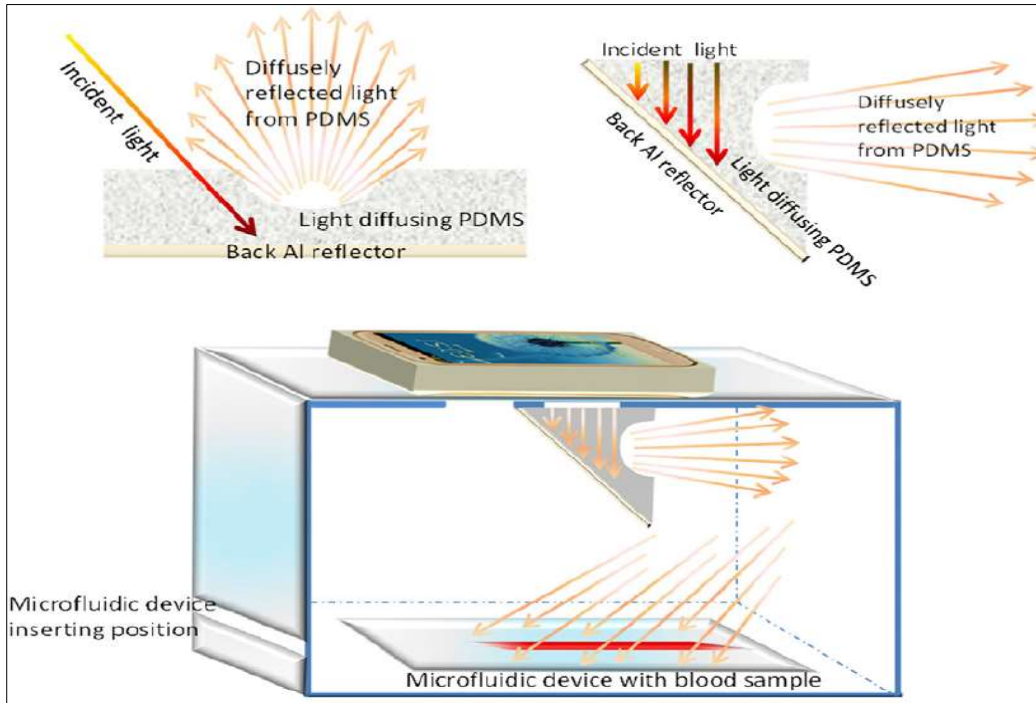
Εικόνα 1-19 In-Vitro smartphone based διάταξη ανοσοχρωματογραφικής δοκιμασίας πλευρικής ροής - LFIA [29]



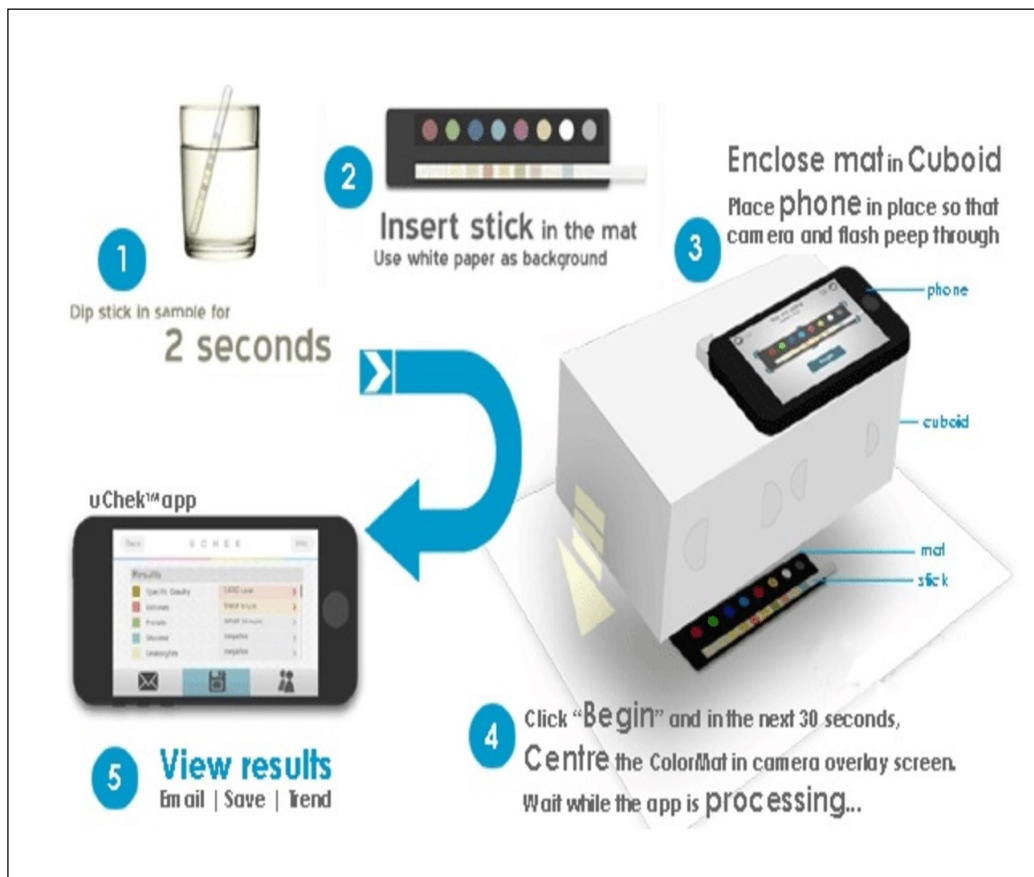
Εικόνα 1-20 In-Vitro smartphone-based διάταξη ηλεκτροχημειοφωταύγειας σε ιδρώτα[29]



Εικόνα 1-21 In-Vitro smartphone-based διάταξη, ανοσοχημειοφωταύγειας [29]



Εικόνα 1-22 In-Vitro smartphone-based διάταξη, διάθλασης Mie [21]



Εικόνα 1-23 In-Vitro Smartphone-based εμπορική διάταξη Biosense uCheck®, μέτρησης ούρων και σακχάρου μέσω μετρητικών ταινιών[21]

2. Μεθοδολογία

Σκοπός αυτής της διπλωματικής εργασίας είναι να δημιουργηθεί μία διάταξη με βάση το smartphone, για την επιτήρηση των ασθενών που λαμβάνουν αντιπηκτική αγωγή, κατ' οίκον ή απομακρυσμένα, η οποία συν τοις άλλοις θα είναι φορητή, οικονομικότερη από τις ήδη διαθέσιμες και απλή στη χρήση της.

Στα περισσότερα εμπορικά διαθέσιμα POCT συστήματα μέτρησης INR, ο προσδιορισμός του γίνεται ηλεκτροχημικά. Η παρούσα κατασκευή διαφέρει ως προς τη τεχνική μέτρησης. Η μέθοδος που προτείνεται είναι φωτομετρική και στηρίζεται στην χρήση του φλάς και της κάμερας του κινητού. Καθώς το αίμα πήζει λαμβάνονται πολλαπλές φωτογραφίες, μέσα σε μία ειδικά διαμορφωμένη 3d printed διάταξη. Στη συνέχεια οι εικόνες αυτές, επεξεργάζονται με το κατάλληλο λογισμικό, για την εξαγωγή χαρακτηριστικών ώστε να μετρηθεί ο χρόνος προθρομβίνης και συνεπώς το INR.

Λόγου του τεράστιου όγκου εργασίας που απαιτείται για την επαλήθευση του άνωθεν θεωρήματος και για να μπορέσει να παραμείνει εφικτό για τα πλαίσια μιας διπλωματικής εργασίας, η υλοποίησή της χρειάστηκε να χωρισθεί σε δύο μέρη. Το ένα μέρος αφορά το λογισμικό επεξεργασίας της εικόνας που χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση των δειγμάτων, ενώ το δεύτερο μέρος αφορά τη πειραματική διαδικασία, δηλαδή την υλοποίηση της διάταξης και ρύθμισης παραμέτρων λήψης των εικόνων από τα δείγματα.

Στη παρούσα εργασία παρουσιάζεται το 2^ο μέρος δηλαδή η μεθοδολογία και τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν για την υλοποίηση της κατασκευής καθώς και η διενέργεια πειραματικών μετρήσεων σε διαγνωστικό αιματολογικό εργαστήριο.

2.1 Υλικά και Εξοπλισμός

2.1.1 Υλικά και Εξοπλισμός Διάταξης

Η διάταξη αποσκοπεί στο να δημιουργηθεί ένας θάλαμος μέτρησης των δειγμάτων από το αίμα των εξεταζόμενων. Ρυθμίζει τούς τεχνικούς και χωρικούς παράγοντες για τη σωστή λήψη φωτογραφιών του αίματος ενώ αυτό πήζει, όπως:

- 1) σταθερή στήριξη του smartphone σε θέση ώστε να μπορεί να ρυθμίζεται ταυτόχρονα το λογισμικό, ενώ αυτό λαμβάνει φωτογραφίες
- 2) υποδοχή για τη στήριξη των δειγμάτων μέσα στα σωληνάρια αιμοληψίας
- 3) πρόσβαση για τη τοποθέτηση των αντιδραστηρίων μέσα στο δείγμα
- 4) μόνωση για το περιορισμό του θορύβου λόγω εξωτερικού φωτός
- 5) ρύθμιση του εστιακού πεδίου τής κάμερας (FOV)

Για την υλοποίηση της διάταξης στη τελική της μορφή, χρειάστηκαν συνολικά 3 προσπάθειες. Στην αρχή η 1^η έκδοση εμπεριείχε 4 πλαστικούς δοκούς, μεταλλικές βάσεις στήριξης για τους δοκούς μεταξύ τους και για τη σταθεροποίηση του κινητού και μία ξύλινη λεπτή βάση για να στηρίζονται τα δείγματα. Οι δοκοί διέθεταν πολλαπλές τρύπες ώστε η θέση των γωνιών σύνδεσης να ήταν μεταβλητές, για να μπορέσει να ρυθμιστεί το FOV. Η μόνωση για το φως έγινε με μαύρη πλαστική σακούλα. Η κατασκευή αποσύρθηκε λόγω βάρους και πρακτικότητας.

Στη 2^η έκδοση, η διάταξη σχεδιάστηκε με τη διαδικτυακή ηλεκτρονική εφαρμογή Tinkercard, της © 2022 Autodesk [30]. Μετρήθηκαν οι διαστάσεις του κινητού, των δοκιμαστικών σωληνάρων και τέλος η θέση της κάμερας συγκεκριμένης μάρκας κινητού. Στη συνέχεια το σχέδιο εκτυπώθηκε με φιλικό προς το περιβάλλον νήμα πολυεστέρας PLA+ της e-sun©2022 Shenzhen Esun Industrial Co. Ltd [31] από τον εκτυπωτή τριών διαστάσεων της © 2022 Shenzhen Creality 3D Technology Co. Ltd, μοντέλο Ender 3 V.2. [32]. Η κατασκευή αποσύρθηκε λόγω ασυμβατότητας της θέσης της κάμερας της συγκεκριμένης διάταξης με άλλου τύπου smartphone και λόγω προβλημάτων σταθερότητας του κινητού πάνω σε αυτήν.

Στη 3^η και τελική έκδοση της κατασκευής, αλλάχθηκε η θέση του κινητού πάνω στη βάση, με αποτέλεσμα να επιλυθεί το ζήτημα της σταθερότητας. Η νέα θέση προσφέρει επίσης τη δυνατότητα ελέγχου του smartphone όσο αυτό φωτογραφίζει τα δείγματα. Επιπλέον η διάταξη σχεδιάστηκε με τρόπο ώστε να είναι συμβατό με τους περισσότερους τύπους κινητών που κυκλοφορούν στο εμπόριο. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε, ο εξοπλισμός και τα υλικά είναι η ίδια με τη 2^η έκδοση.

2.1.2 Υλικά και Εξοπλισμός Πειραματικών Μετρήσεων

Για την επιβεβαίωση λειτουργίας της διάταξης και του λογισμικού, στην αρχή πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις σε δείγμα ζαχαροπλαστικής ζελατίνης ως προσομοίωση του ανθρώπινου αίματος, με τη 1^η έκδοση της κατασκευής.

Στη συνέχεια κατόπιν συμφωνίας με τα Ιατρικά Διαγνωστικά Εργαστήρια “Ανάλυση” καταφέραμε και μετρήσαμε με τη τελική έκδοση της διάταξης, πραγματικά αιματολογικά δείγματα με σκοπό τον έλεγχο λειτουργίας, ευαισθησίας και τη βαθμονόμηση του συστήματός μας.

Στην αρχή έγινε μια δοκιμαστική 1^η μέτρηση με 50 μl ολικό αίμα από ένα τυχαίο άγνωστο δείγμα για αξιολογηθεί η ποιότητα των φωτογραφιών, της θέσης των δειγμάτων και της εστίασης της κάμερας.

Το αίμα συλλέχθηκε με τη πιπέτα της Thermo Labsystems Finnpipette [33], από ένα γυάλινο σωληνάριο αιμοληψίας κενού αέρος της BD © 2022 Vacutainer® [34] το οποίο μέσα περιέχει αντιπηκτικό νάτριο. Στη συνέχεια μεταφέρθηκε σε σωληνάριο πολυπροπυλενίου RIA και τοποθετήθηκε στην ειδική υποδοχή της διάταξης. Κατόπιν, μέσω της πιπέτας Acura® 825 της Socorex © 2019 Isba SA [35] τοποθετήθηκε μέσα στο δείγμα 200 μl αντιδραστήριο από λυοφιλοποιημένη ανθρώπινη θρομβοπλαστίνη από πλακούντα και χλωριούχο ασβέστιο με την εμπορική ονομασία Thromborel® S της Siemens Healthcare Diagnostics [36] προετοιμασμένο στους 37 βαθμούς κελσίου. Η τοποθέτηση του ενεργοποιητικού αντιδραστηρίου σηματοδοτεί και την έναρξη λήψης φωτογραφιών, για την επιτήρηση των μεταβολών των pixel. Το σύνολο των εικόνων που τραβήχτηκαν για αυτό το δείγμα είναι 44.

Για την λήψη των φωτογραφιών χρησιμοποιήθηκε το smartphone Huawei P20 Lite της © Huawei Technologies Co. Ltd. 2018 [37]. Το συγκεκριμένο κινητό διαθέτει μονού τύπου led flash και διπλή κάμερα. Η ανάλυση της είναι 4608 x 3456 στα 16 megapixel με μέγεθος εικονοστοιχείων 1.0 μm. Διαθέτει σύστημα αυτόματης εστίασης στη κάμερα του, με μηχανισμό ανίχνευσης διαφοράς φάσης και αυτόματο white balance. Το μέγιστο διάφραγμα του φακού είναι f/2.2.

Για τη ρύθμιση του χρόνου των λήψεων χρησιμοποιήθηκε η εφαρμογή Open Camera η οποία διατίθεται δωρεάν μέσω του Play Store για τους χρήστες Android [38]. Η συγκεκριμένη εφαρμογή μας δίνει τη δυνατότητα να ρυθμίσουμε στοιχεία ελέγχου της κάμερα όπως αυτόματη λήψη, συχνότητα λήψης, εστίαση και φίλτρα.

Ακολούθησε 2^ο σετ μετρήσεων σε 100 μl πλάσματος με γνωστό INR. Το δείγμα ανήκει σε ασθενή που βρισκόταν υπό αντιπηκτική αγωγή. Το πλάσμα διαχωρίστηκε με τη φυγόκεντρο Haematocrit H-24 της Boeckel & Co (GmbH & Co.) και τοποθετήθηκε σε σωληνάριο της BD Vacutainer® εμπλουτισμένο με αντιπηκτικό EDTA. Στη συνέχεια μεταφέρθηκε με πιπέτα και τοποθετήθηκε στο σωληνάριο RIA για να μετρηθεί στη διάταξή μας. Στο σωληνάριο RIA τοποθετήθηκε 200 μl από το αντιδραστήριο Thromborel® S και τραβήχτηκαν 20 φωτογραφίες για να παρατηρηθεί η μεταβολή των pixel.

Τέλος, κατόπιν αιμοληψίας πάνω μου, πραγματοποιήθηκε μέτρηση του INR σε 100 μl πλάσματος, στον αυτόματο αναλυτή BFT Analyzer II, της Siemens Healthcare GmbH ©2022. Ακολούθησε μέτρηση INR σε άλλα 100 μl πλάσματος μέσω της διάταξης μας, με σκοπό να συγκριθούν τα αποτελέσματα από δείγματα που προέρχονται από ίδιο εξεταζόμενο. Τέλος, έγινε μέτρηση με το σύστημά μας έγιναν και σε 100 μl από ολικό αίμα. Η αναλογία δείγματος -αντιδραστηρίου ήταν 1:2 σε όλες τις μετρήσεις. Στη μέτρηση με το πλάσμα λήφθηκαν 23 φωτογραφίες ενώ στη μέτρηση με το ολικό αίμα λήφθηκαν 45.

3. Αποτελέσματα

Στο παρών κεφάλαιο θα γίνει αναλυτική παρουσίαση όλων των εκδόσεων της POCT διάταξης που κατασκευάστηκαν, καθώς και ο τρόπος που πραγματοποιήθηκαν οι μετρήσεις.

-1^η Έκδοση

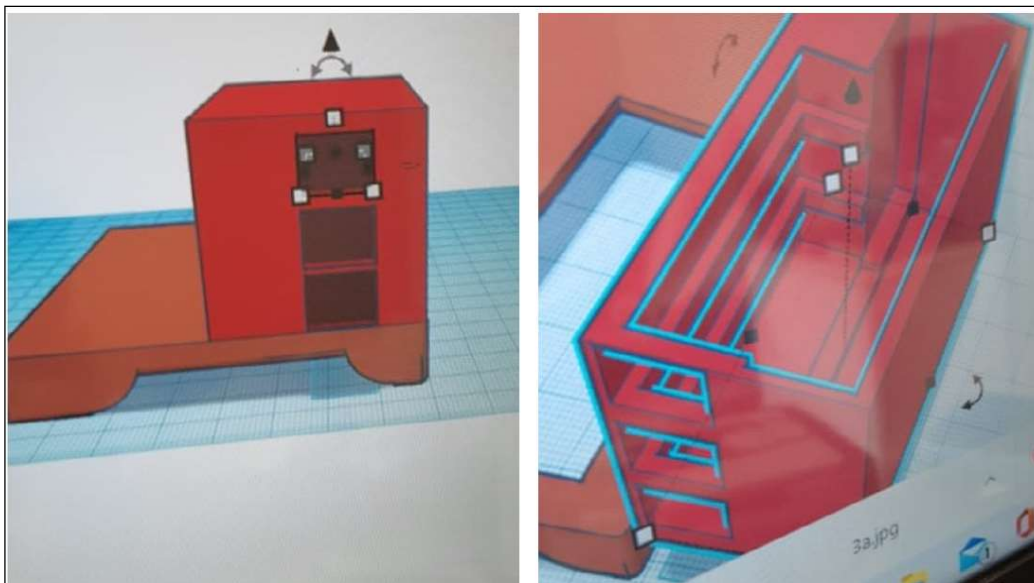
- Πλαστικοί δοκοί, μεταλλικές γωνίες στήριξης, ξύλινη βάση δείγματος και πλαστική σακούλα για μόνωση.



Εικόνα 3-1 Η 1^η έκδοση της διάταξης και τα εξαρτήματά της.

-2^η Έκδοση

- Μέτρηση των διαστάσεων του κινητού και σχεδίαση της διάταξης με το λογισμικό Tinkercard, © 2022 της Autodesk και εκτύπωση με τον με τον τρισδιάστατο εκτυπωτή Ender V.2 της Creality ©.



Εικόνα 3-2 Η σχεδίαση της 2^{ης} έκδοσης και το περιβάλλον του λογισμικού της Tinkercard.

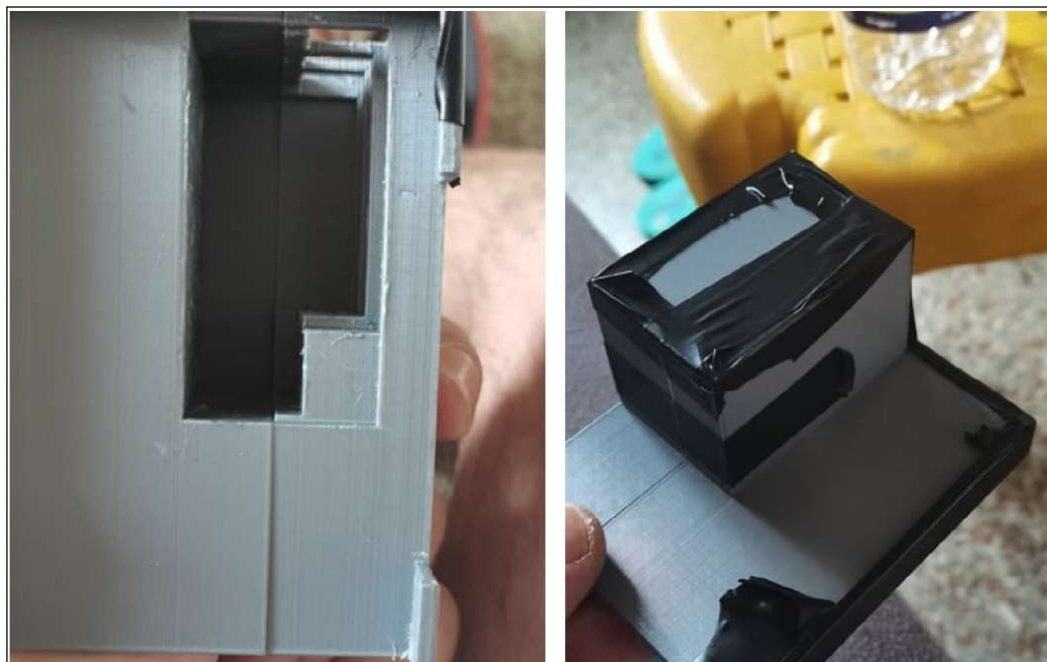


Εικόνα 3-3 Τελειοποίηση του σχεδιασμού και προετοιμασία για εκτύπωση.

Φορητό σύστημα μέτρησης προθρομβίνης με βάση smartphone.



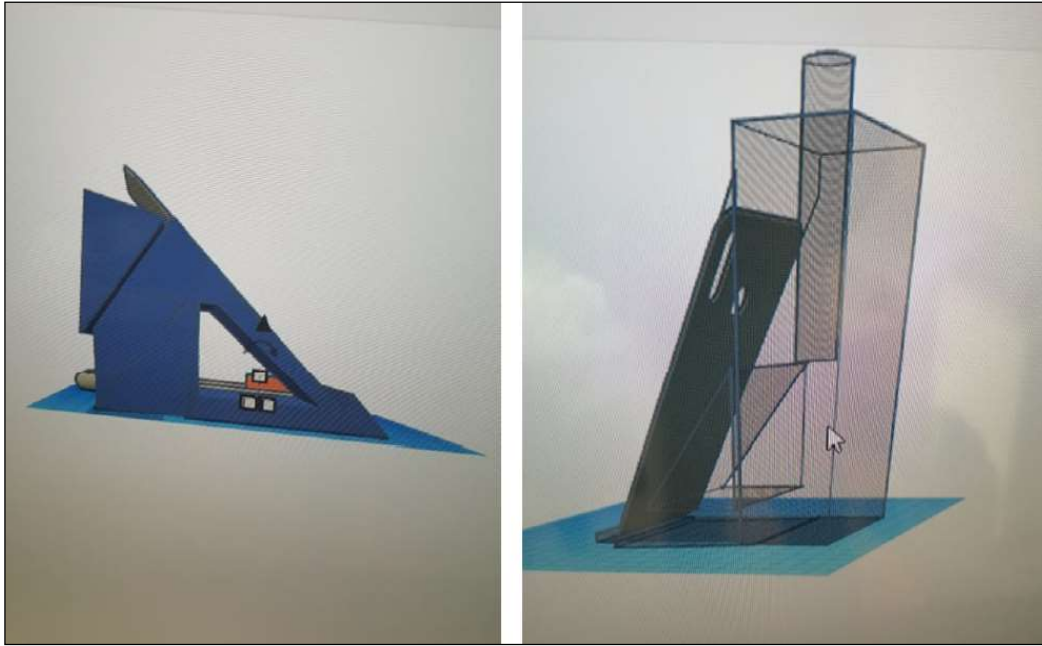
Εικόνα 3-4 Η 3-D εκτύπωση του σχεδίου, με τον Ender V.2 της Creality ©.



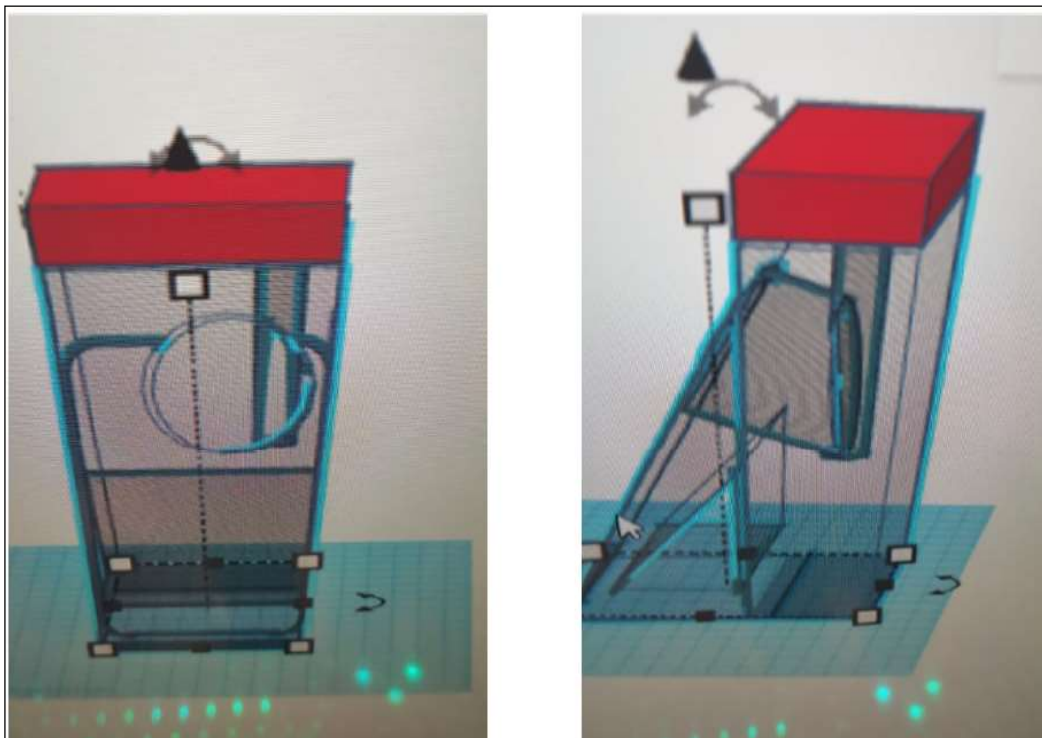
Εικόνα 3-5 Το τελικό αποτέλεσμα της 2^{ης} διάταξης.

-3^η Έκδοση

- Μέτρηση των διαστάσεων του κινητού και σχεδίαση της διάταξης με το λογισμικό Tinkercard, © 2022 της Autodesk και εκτύπωση με τον με τον τρισδιάστατο εκτυπωτή Ender V.2 της Creality ©.

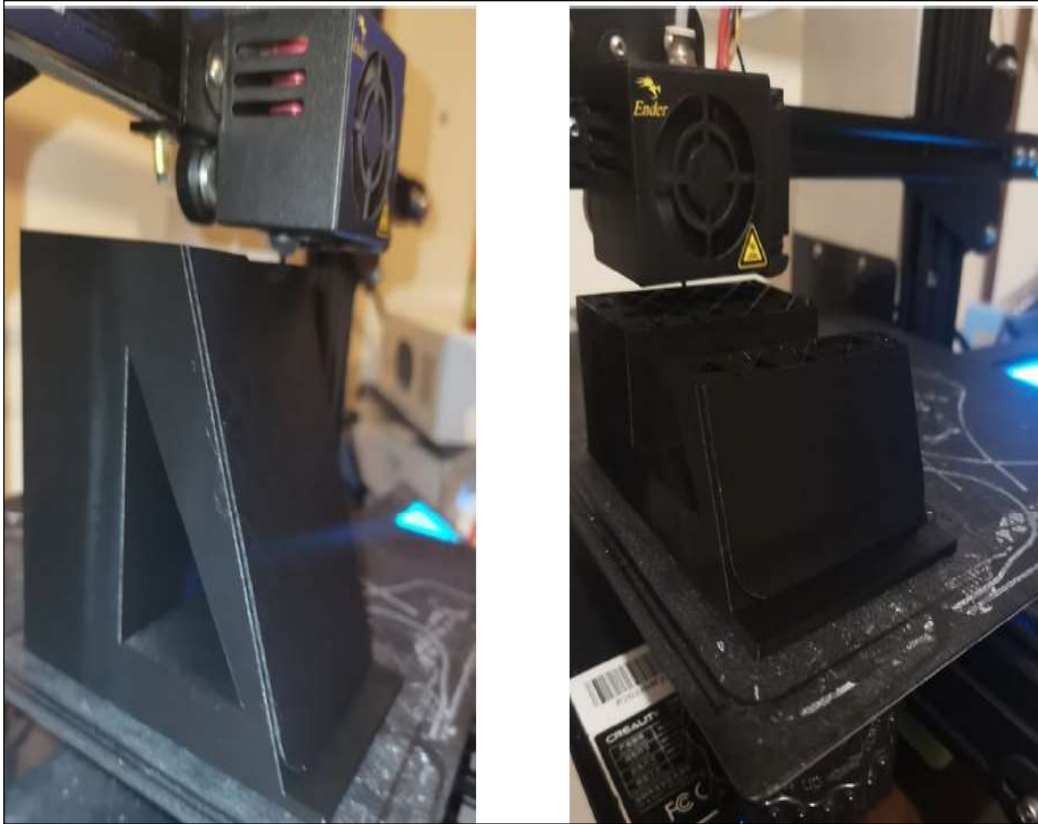


Εικόνα 3-6 Μέτρηση των διαστάσεων του κινητού και σχεδίαση με Tinkercard,

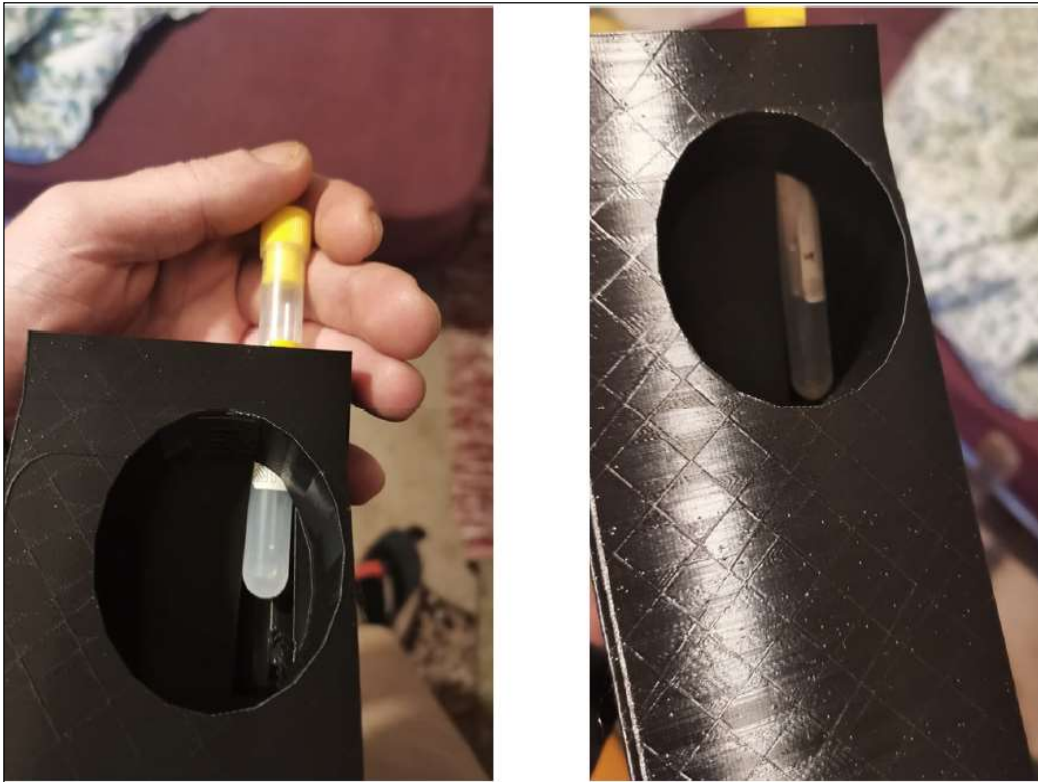


Εικόνα 3-7 Τελειοποίηση του σχεδιασμού και προετοιμασία για εκτύπωση.

Φορητό σύστημα μέτρησης προθρομβίνης με βάση smartphone.



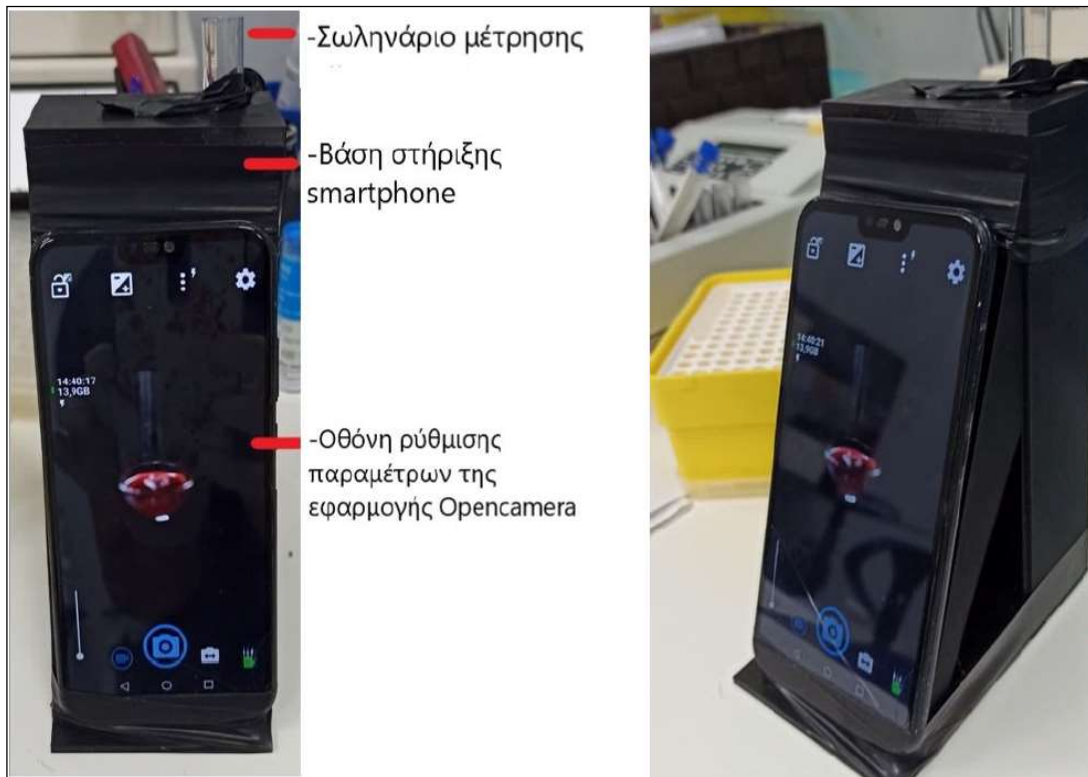
Εικόνα 3-8 Η 3-D εκτύπωση του σχεδίου, με τον Ender V.2 της Creality © 2022.



Εικόνα 3-9 Το τελικό αποτέλεσμα της 3^{ης} διάταξης και ο θάλαμος μέτρησης.

-Πειραματικές μετρήσεις

- Η τελική μορφή της POCT διάταξης με βάση το smartphone που χρησιμοποιήθηκε για το προσδιορισμό του χρόνου πήξης είχε την εξής μορφή:



Εικόνα 3-10 Η δομή της διάταξης κατά τη διενέργεια των μετρήσεων.

1^η μέτρηση

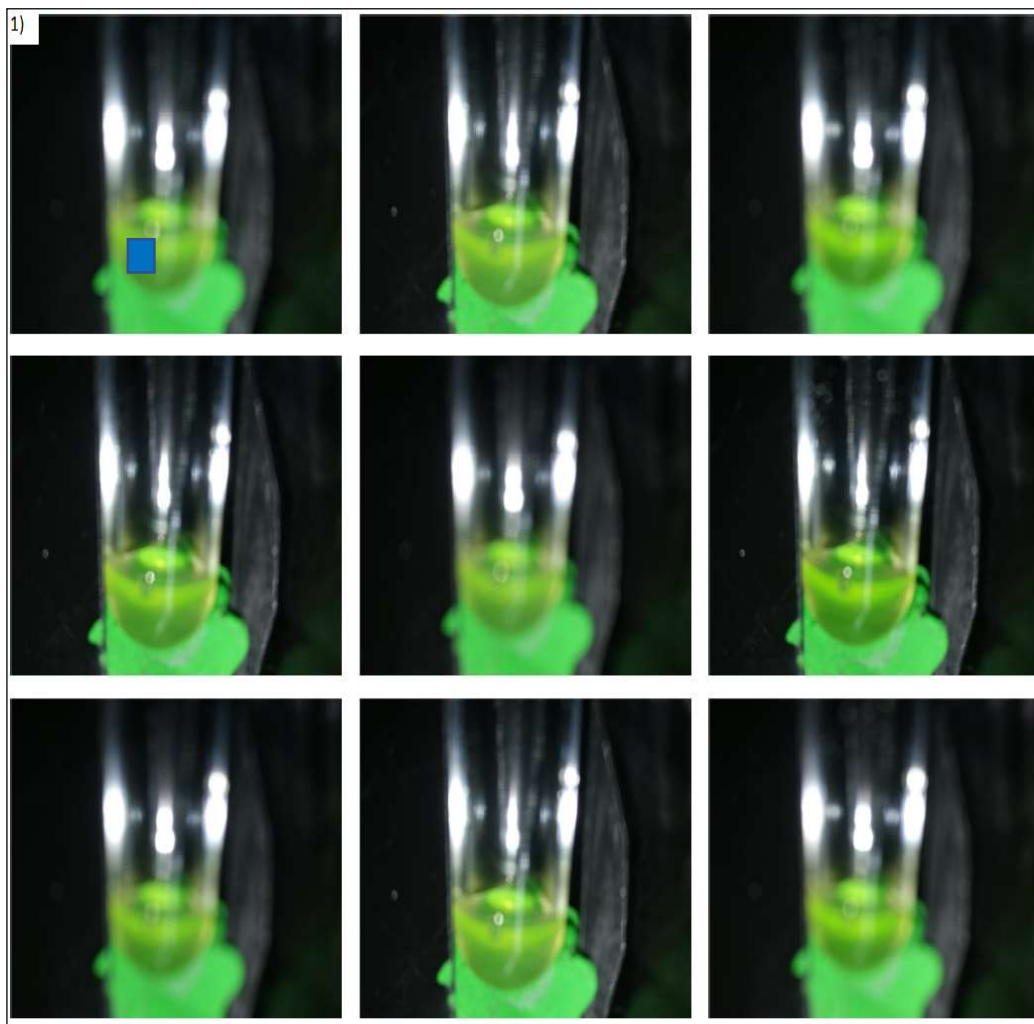
Στις εικόνες 3-11 έως 3-13 που ακολουθούν παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της 1^{ης} πειραματικής μέτρησης. Οι εικόνες είναι ταξινομημένες ανά θάδες με χρονική σειρά, πρώτα από αριστερά προς τα δεξιά και από πάνω προς τα κάτω όπως ακριβώς λήφθηκαν με το σύστημά μας. Στη συνέχεια, μέσω της γραφικής παράστασης η οποία φαίνεται στην Εικόνα 3-14, προβάλλεται η μεταβολή της έντασης της φωτεινότητας των pixel στο χρόνο.

Για την εξαγωγή των χαρακτηριστικών της φωτεινότητας των pixel, έγινε ανάλυση με τον αλγόριθμο επεξεργασίας εικόνας του συναδέλφου Ουζούνη Σ. [39] σε συγκεκριμένη περιοχή ενδιαφέροντος (ROI) στις εικόνες. Επιλέχθηκε το σημείο της εικόνας με το λιγότερο θόρυβο όπως επισημαίνεται γραφικά με ένα μπλε τετραγώνάκι στην 1^η εικόνα του 1^{ου} σετ των εικόνων. Το μέγεθος του ROI είναι 5x5 pixel και στο γράφημα παρουσιάζεται η μέση τιμή της έντασης της φωτεινότητας των pixel συναρτήσει του χρόνου.

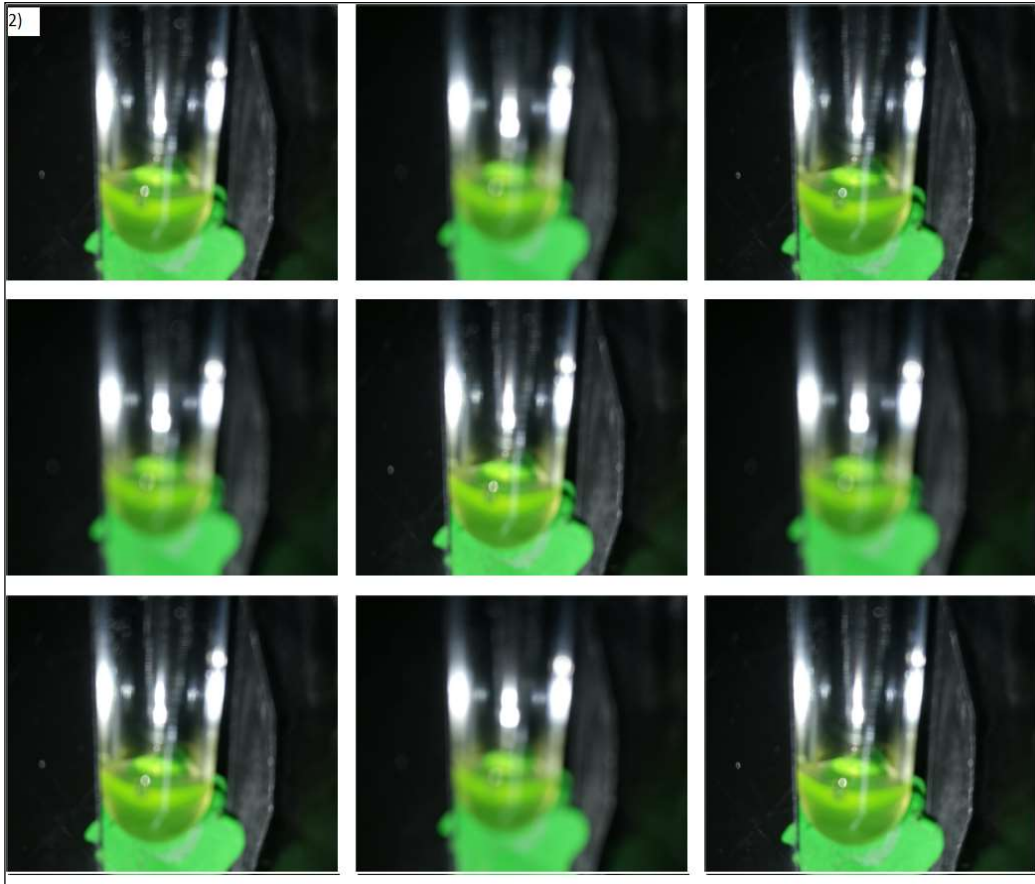
Τα χαρακτηριστικά των εικόνων από το δείγμα της 1^{ης} μέτρησης παρουσιάζονται στο Πίνακα 3. Το συγκεκριμένο δείγμα προέρχεται από εξεταζόμενο ο οποίος βρίσκεται υπό αντιπηκτική αγωγή. Κατόπιν ανάλυσης αυτού του δείγματος μέσω του αυτόματου αναλυτή BFT Analyzer II, ο χρόνος προθρομβίνης που μετρήθηκε είναι **24.4** δευτερόλεπτα, ενώ η τιμή του INR είναι : **2.52** .

Συχνότητα λήψης	Δείγμα	Μορφή εικόνας	Σύνολο εικόνων	R ² %	Μέγεθος pixel	Εστιακό μήκος
3 sec	-100 μl πλάσμα -200 μl αντιδραστήριο	Jpg	20	31,52	3456x3456	26 mm

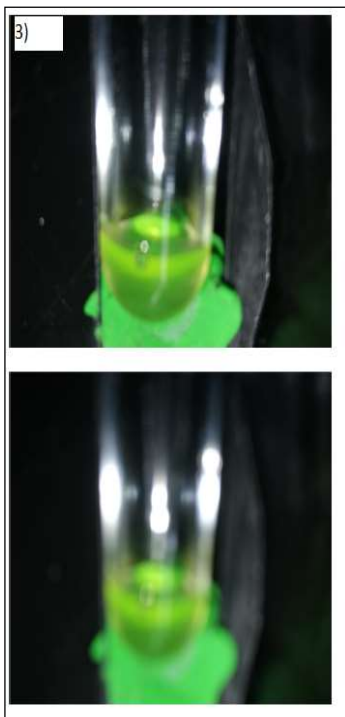
Πίνακας 3 Χαρακτηριστικά λήψης και εικόνων της 1^{ης} μέτρησης .



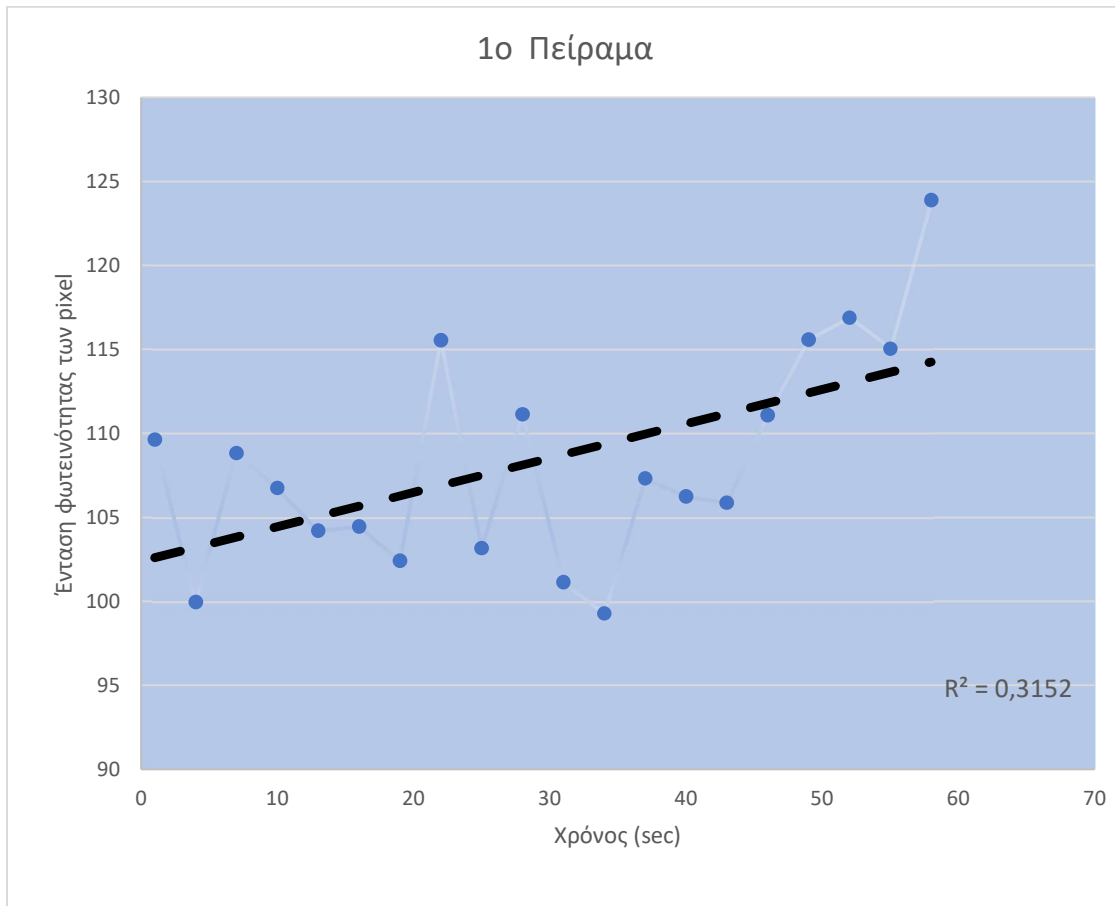
Εικόνα 3-11 Εικόνες του δείγματος κατά τη πήξη και το σημείο δειγματοληψίας-ROI .



Εικόνα 3-12 2^ο σετ από εικόνες του δείγματος κατά τη πήξη.



Εικόνα 3-13 Τελευταίο σετ από εικόνες του δείγματος κατά τη πήξη.



Εικόνα 3-14 Γραφική παράσταση με τα αποτελέσματα της μεταβολής της έντασης της φωτεινότητας των pixel καθώς το πλάσμα πήζει.

2^η μέτρηση

Στις εικόνες 3-15 έως 3-19 που ακολουθούν παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της 2^{ης} πειραματικής μέτρησης. Οι εικόνες είναι ταξινομημένες ανά 9άδες με χρονική σειρά, πρώτα από αριστερά προς τα δεξιά και από πάνω προς τα κάτω όπως ακριβώς λήφθηκαν με το σύστημά μας. Στη συνέχεια, μέσω της γραφικής παράστασης η οποία φαίνεται στην Εικόνα 3-20, προβάλλεται η μεταβολή της έντασης της φωτεινότητας των pixel στο χρόνο.

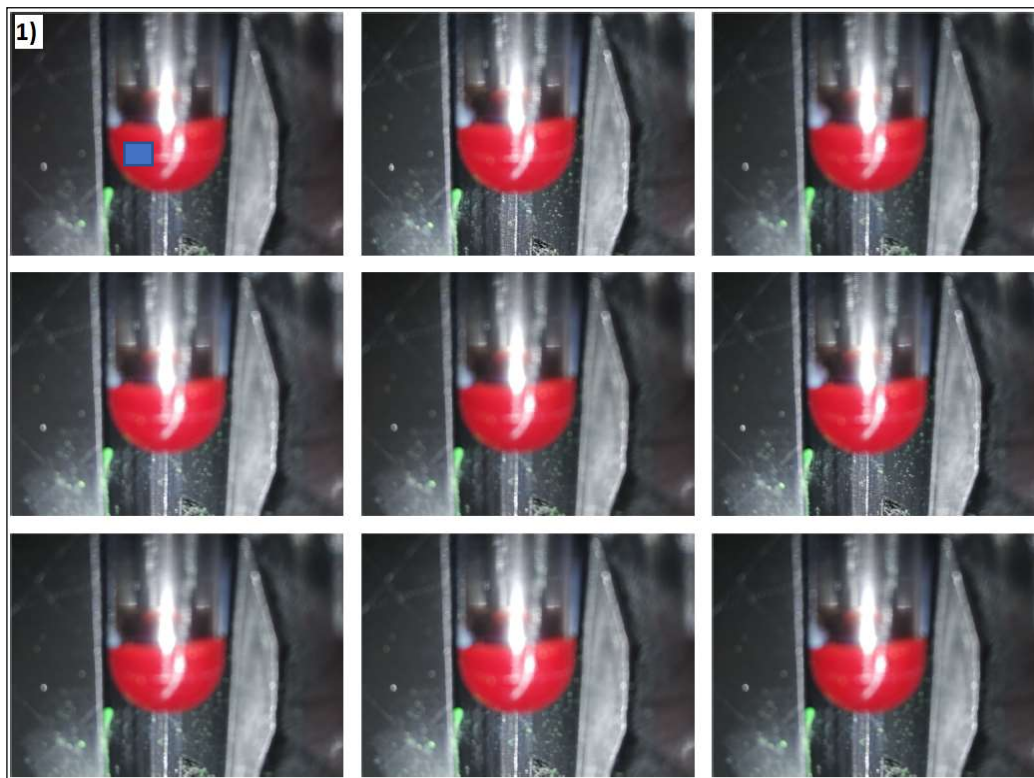
Για την εξαγωγή των χαρακτηριστικών της φωτεινότητας των pixel, έγινε ανάλυση με τον αλγόριθμο επεξεργασίας εικόνας του συναδέλφου Ουζούνη Σ. [39] σε συγκεκριμένη περιοχή ενδιαφέροντος (ROI) στις εικόνες. Επιλέχθηκε το σημείο της εικόνας με το λιγότερο θόρυβο όπως επισημαίνεται γραφικά με ένα μπλε τετραγώνάκι στην 1^η εικόνα του 1^{ου} σετ των εικόνων. Το μέγεθος του ROI είναι 5x5

pixel και στο γράφημα παρουσιάζεται η μέση τιμή της έντασης της φωτεινότητας των pixel συναρτήσει του χρόνου.

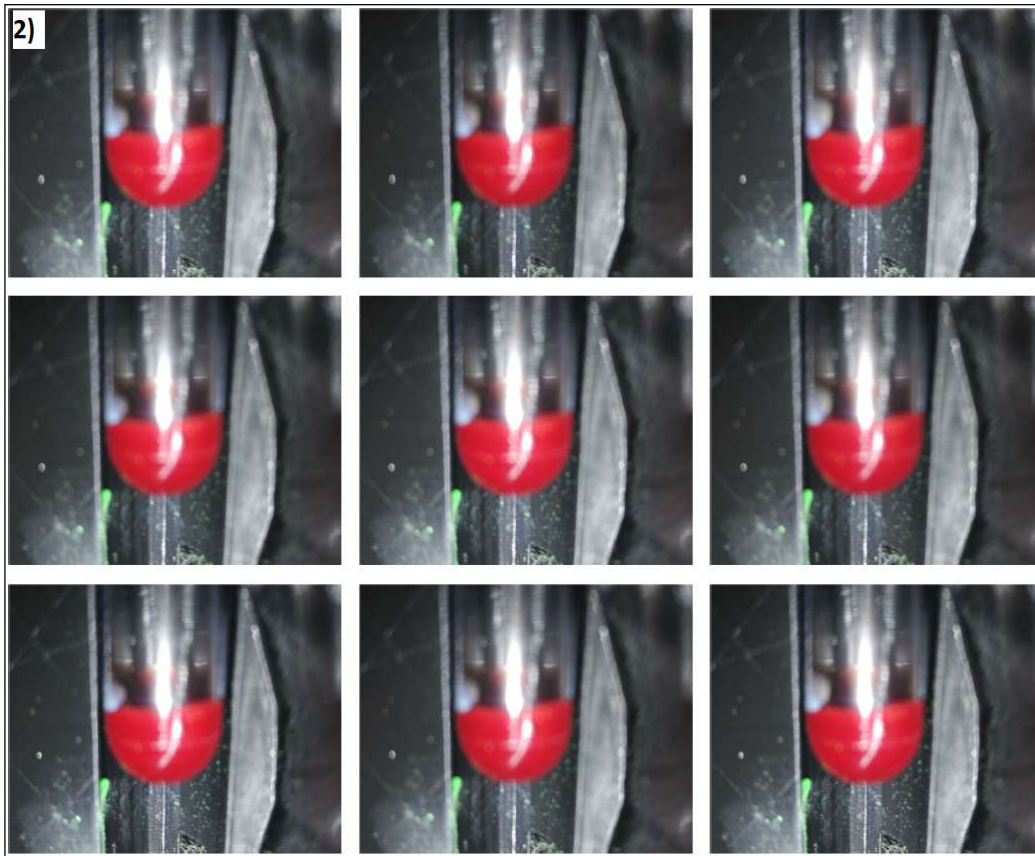
Τα χαρακτηριστικά των εικόνων από το δείγμα της 2^{ης} μέτρησης παρουσιάζονται στο Πίνακα 4. Το συγκεκριμένο δείγμα είναι ολικό αίμα στο οποίο δεν έγινε φυγοκέντριση και προέρχεται από εξεταζόμενο με φυσιολογικό χρόνο πήξης. Κατόπιν ανάλυσης αυτού του δείγματος μέσω του αυτόματου αναλυτή BFT Analyzer II, ο χρόνος προθρομβίνης που μετρήθηκε είναι **11.6** δευτερόλεπτα, ενώ η τιμή του INR είναι : **1.11**

Συχνότητα λήψης	Δείγμα	Μορφή εικόνας	Σύνολο εικόνων	R ² %	Μέγεθος pixel	Εστιακό μήκος
3 sec	-100 μl ολικό αίμα -200 μl αντιδραστήριο	Jpg	45	58,84	3456x3456	26 mm

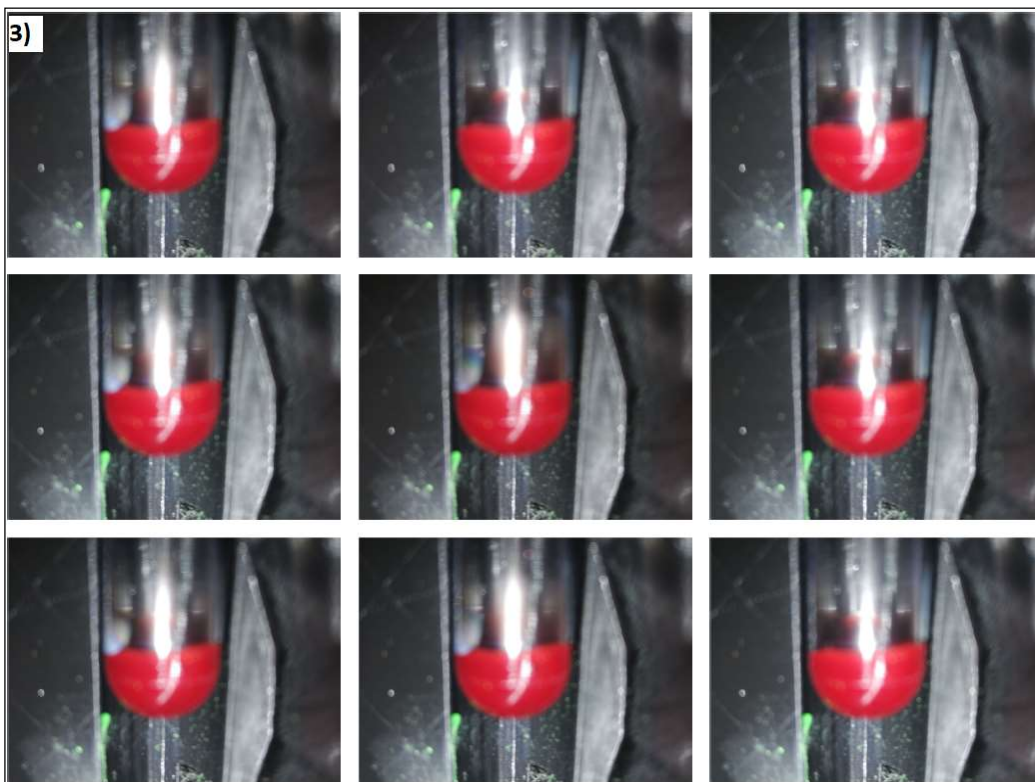
Πίνακας 4 Χαρακτηριστικά λήψης και εικόνων της 2^{ης} μέτρησης .



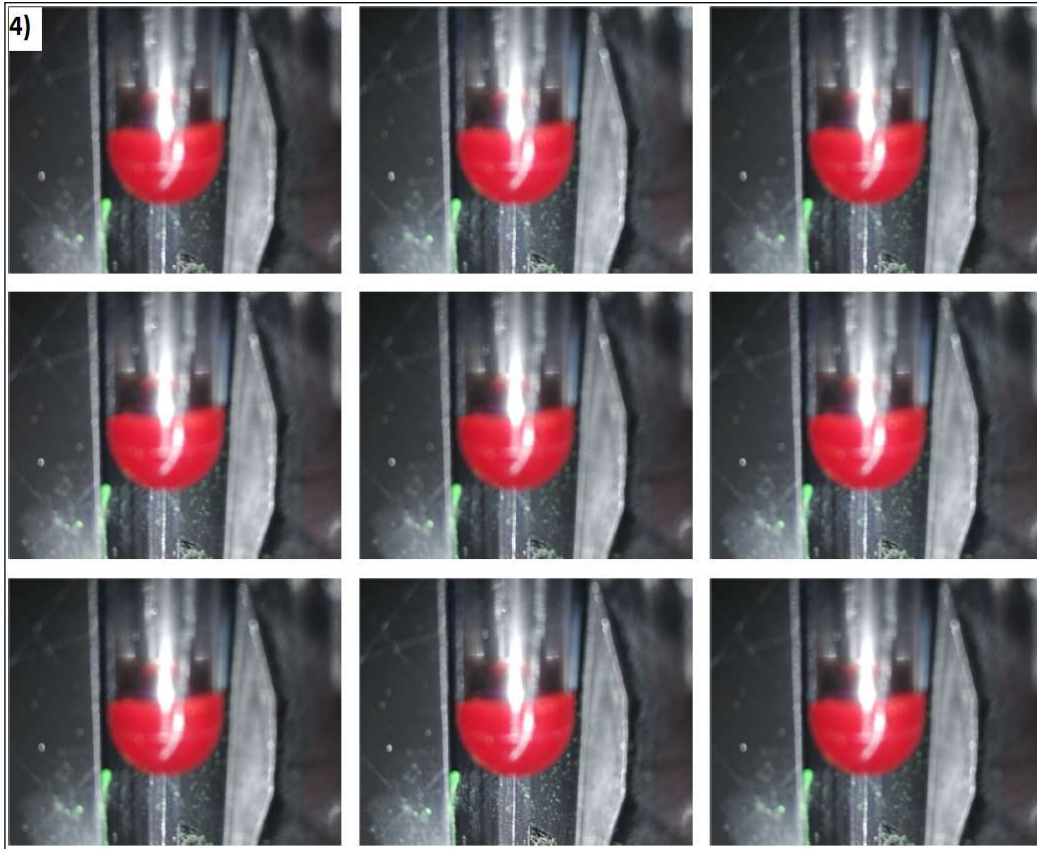
Εικόνα 3-15 Εικόνες του δείγματος κατά τη πήξη και το σημείο δειγματοληψίας-ROI .



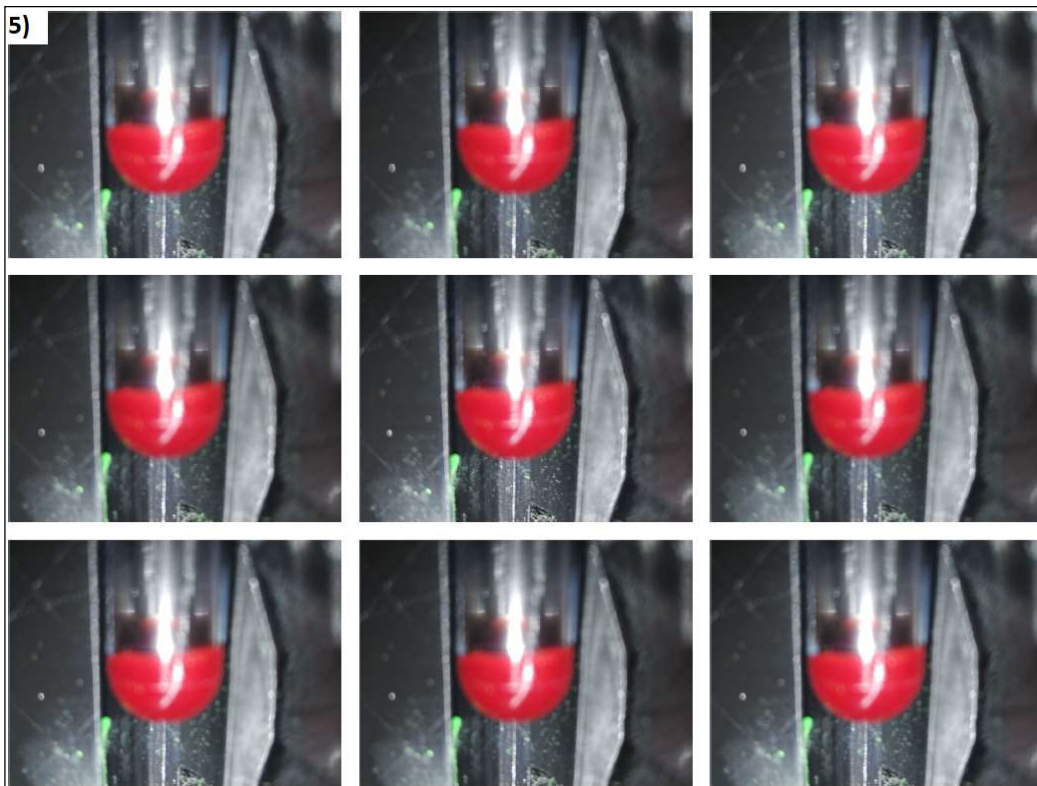
Εικόνα 3-16 2^ο σετ από εικόνες του δείγματος κατά τη πήξη.



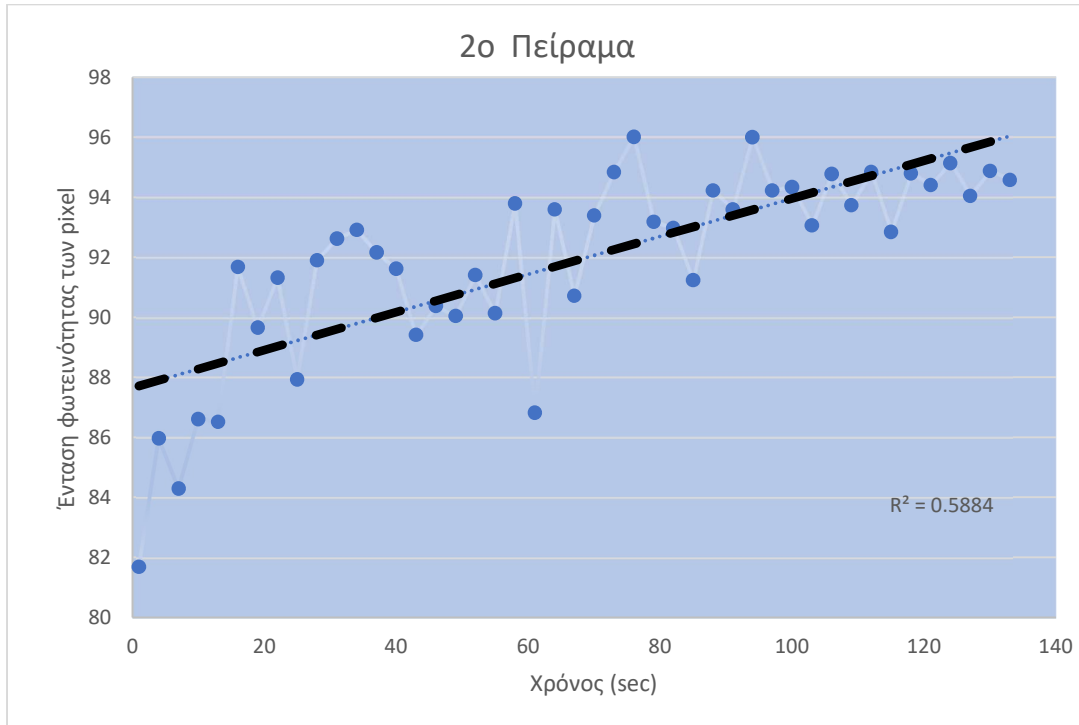
Εικόνα 3-17 3^ο σετ από εικόνες του δείγματος κατά τη πήξη.



Εικόνα 3-18 4^ο σετ από εικόνες του δείγματος κατά τη πήξη.



Εικόνα 3-19 Τελευταίο σετ από εικόνες του δείγματος κατά τη πήξη.



Εικόνα 3-20 Γραφική παράσταση της μεταβολής της έντασης της φωτεινότητας των pixel καθώς το ολικό αίμα πήζει.

3^η μέτρηση

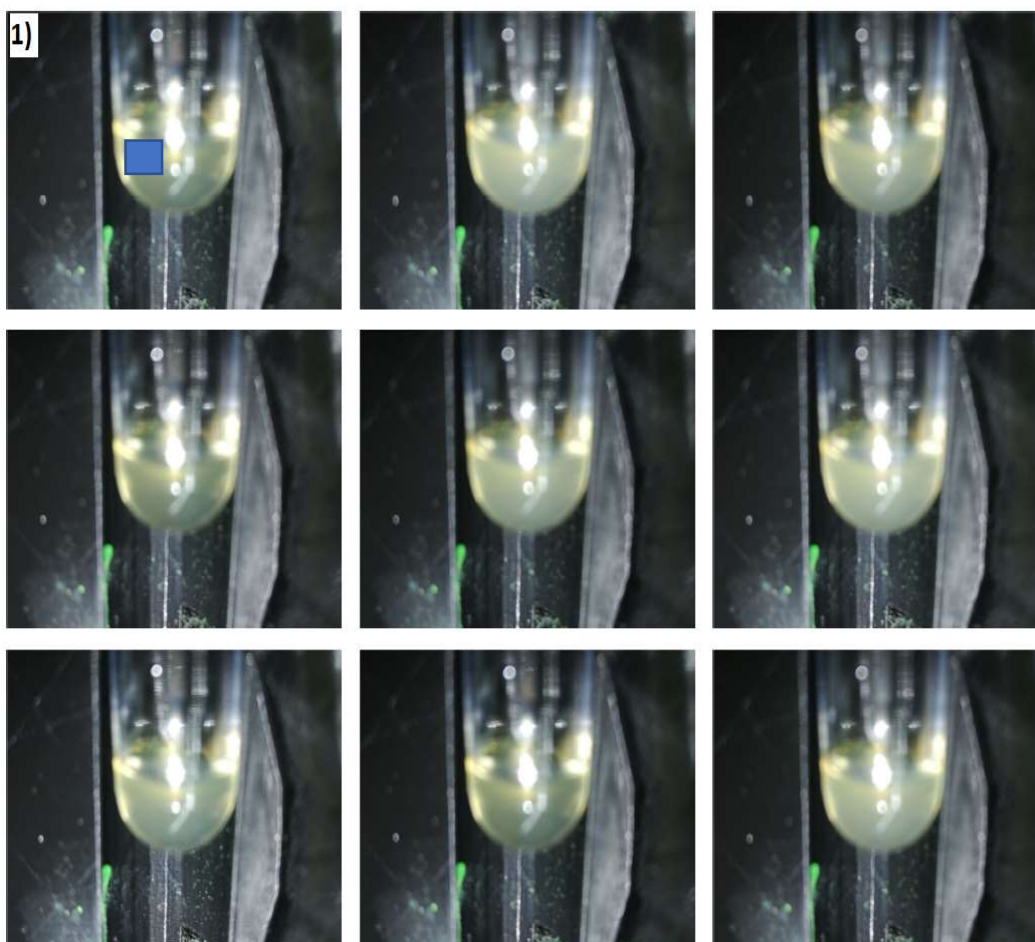
Στις εικόνες 3-21 έως 3-23 που ακολουθούν παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της τελευταίας πειραματικής μέτρησης. Οι εικόνες είναι ταξινομημένες ανά 9άδες με χρονική σειρά, πρώτα από αριστερά προς τα δεξιά και από πάνω προς τα κάτω όπως ακριβώς λήφθηκαν με το σύστημά μας. Στη συνέχεια, μέσω της γραφικής παράστασης η οποία φαίνεται στην Εικόνα 3-24, προβάλλεται η μεταβολή της έντασης της φωτεινότητας των pixel στο χρόνο.

Για την εξαγωγή των χαρακτηριστικών της φωτεινότητας των pixel, έγινε ανάλυση με τον αλγόριθμο επεξεργασίας εικόνας του συναδέλφου Ουζούνη Σ. [39] σε συγκεκριμένη περιοχή ενδιαφέροντος (ROI) στις εικόνες. Επιλέχθηκε το σημείο της εικόνας με το λιγότερο θόρυβο όπως επισημαίνεται γραφικά με ένα μπλε τετραγωνάκι στην 1^η εικόνα του 1^{ου} σετ των εικόνων. Το μέγεθος του ROI είναι 5x5 pixel και στο γράφημα παρουσιάζεται η μέση τιμή της έντασης της φωτεινότητας των pixel συναρτήσει του χρόνου.

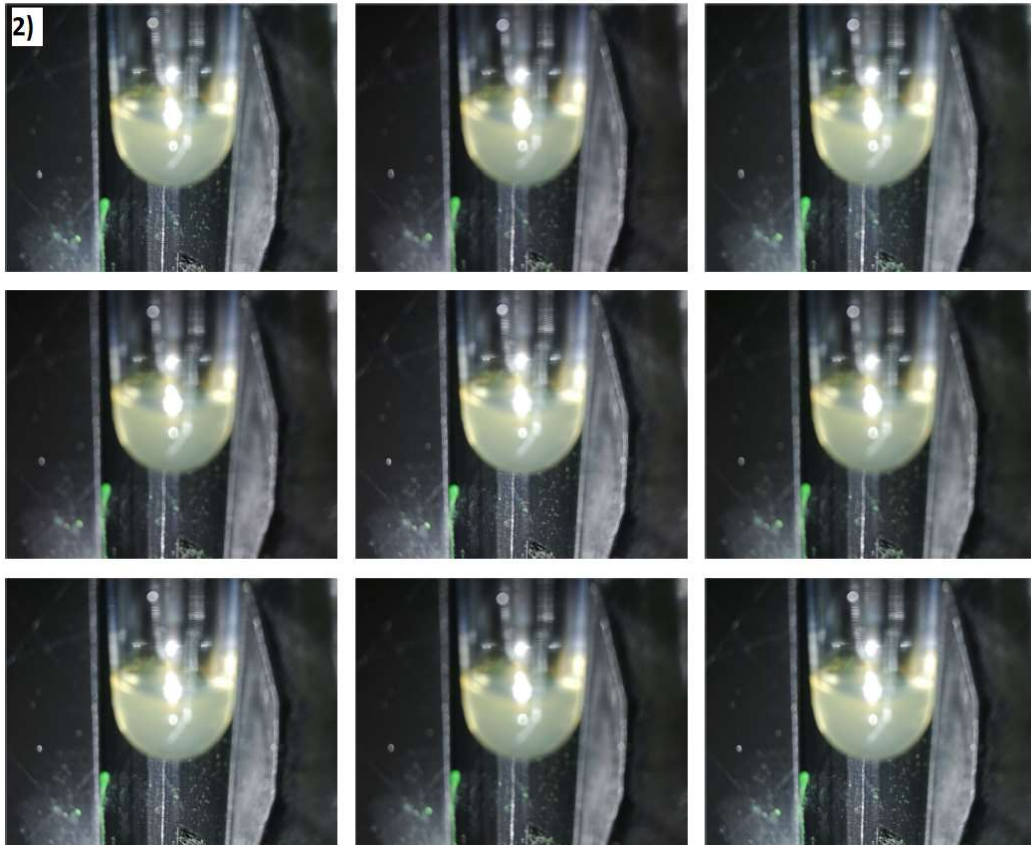
Τα χαρακτηριστικά των εικόνων από το δείγμα αυτής της μέτρησης παρουσιάζονται στο Πίνακα 5. Το συγκεκριμένο δείγμα προέρχεται από εξεταζόμενο με φυσιολογικό χρόνο πήξης. Κατόπιν ανάλυσης αυτού του δείγματος μέσω του αυτόματου αναλυτή BFT Analyzer II, ο χρόνος προθρομβίνης που μετρήθηκε είναι **11.6** δευτερόλεπτα, ενώ η τιμή του INR είναι : **1.11**

Συχνότητα λήψης	Δείγμα	Μορφή εικόνας	Σύνολο εικόνων	R ² %	Μέγεθος pixel	Εστιακό μήκος
3 sec	-100 μλ πλάσμα -200 μλ αντιδραστήριο	Jpg	45	34,52	3456x3456	26 mm

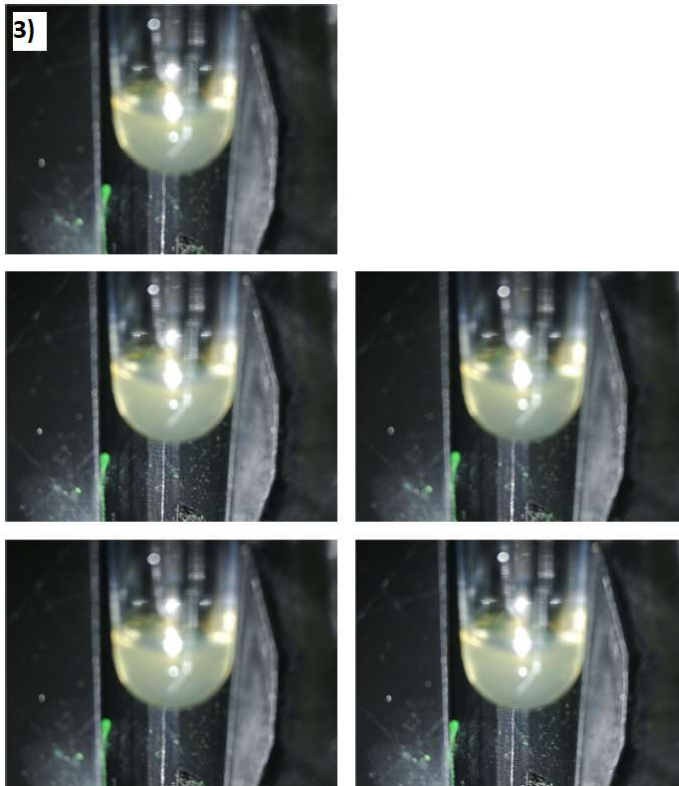
Πίνακας 5 Χαρακτηριστικά λήψης και εικόνων της 3^{ης} μέτρησης .



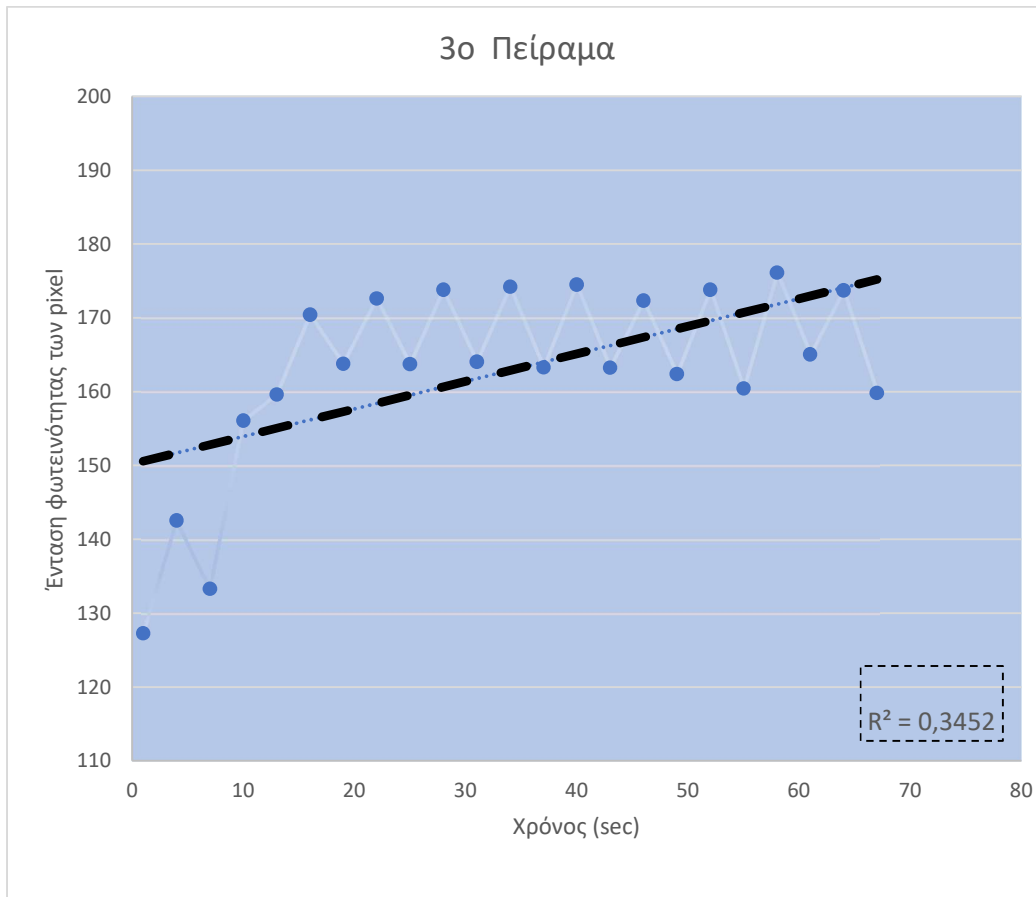
Εικόνα 3-21 Εικόνες του δείγματος κατά τη πήξη και το σημείο δειγματοληψίας-ROI .



Εικόνα 3-22 2^ο σετ από εικόνες του δείγματος κατά τη πήξη.



Εικόνα 3-23 Τελευταίο σετ από εικόνες του δείγματος κατά τη πήξη.



Εικόνα 3-24 Γραφική παράσταση με τα αποτελέσματα της μεταβολής της έντασης της φωτεινότητας των pixel καθώς το πλάσμα πήζει.

4. Συζήτηση & Συμπεράσματα

Όπως διακρίνεται γραφικά από τα αποτελέσματα, η συγκεκριμένη διάταξη μπορεί να αναγνωρίσει τη μεταβολή στη φωτεινότητα των pixels όσο το αίμα πήζει, γεγονός που επιβεβαιώνει την αρχή λειτουργίας του συστήματος. Συμπεραίνεται ότι είναι δυνατό να εξαχθούν χαρακτηριστικά για τη ποσοτικοποίηση της ρευστότητας ενός δείγματος καθώς αυτή μεταβάλλεται. Ωστόσο για τη συσχέτιση αυτής της μεταβολής για τον ακριβή προσδιορισμό του χρόνου προθρομβίνης και INR, χρειάζεται περαιτέρω μελέτη. Οι παρούσες εικόνες δεν μπορούν να αποτυπώσουν με ακρίβεια τις μεταβολές της φωτεινότητας. Τα συγκεκριμένα δείγματα έχουν πολύ θόρυβο και η ένταση των pixels παρουσιάζει μεγάλη διακύμανση με τη πάροδο του χρόνου ενώ θα αναμέναμε η μεταβολή της να ήταν γραμμική, με αποτέλεσμα να μη μπορεί να συσχετισθεί με το INR. Άλλος ένας λόγος που δεν μπορούμε να συσχετίσουμε το INR με τη μεταβολή της φωτεινότητας των pixels είναι ο μικρός αριθμός των δειγμάτων που μετρήσαμε. Ιδανικά θα θέλαμε πάρα πολλά δείγματα με γνωστό INR και μεγάλη ακρίβεια στο χρόνο λήψεων των φωτογραφιών κατά την εκκίνηση και κατά το τέλος της πήξης, ώστε να μπορέσει να γίνει η συσχέτιση της μέσης τιμής των μεταβολών αυτών με την ένταση των pixels. Ως μελλοντική προοπτική, προτείνεται η δημιουργία ενός αλγορίθμου μηχανικής μάθησης ο οποίος θα κάνει αναγνώριση προτύπων στην εικόνα. Με περισσότερα δείγματα λοιπόν, το μοντέλο θα γενικεύει καλύτερα άρα και καλύτερη συσχέτιση με το INR γιατί θα έχει “δει” πολλά παραδείγματα.

Επίσης, η ανάκλαση που προέρχεται από τα δοκιμαστικά σωληνάρια, εισάγει θόρυβο στις εικόνες με αποτέλεσμα η εξαγωγή χαρακτηριστικών ρευστότητας να επηρεάζεται. Για να αποφευχθεί ο υψηλός θόρυβος που οφείλεται στη διάταξη, προτείνεται να μη διαμεσολαβεί δοκιμαστικός σωλήνας μεταξύ κάμερας και δείγματος, δηλαδή η μέτρηση να γίνεται κατευθείαν στο δείγμα το οποίο θα είναι τοποθετημένο σε ένα δοκιμαστικό δοχείο ανοιχτού τύπου παρόμοιο με τα τρυβλία της καλλιέργειας των μικροοργανισμών. Ως αποτέλεσμα των προαναφερόμενων μετατροπών θα είναι η αποφυγή των ανακλάσεων που προκύπτουν από την επιφάνεια του δοκιμαστικού σωλήνα, ώστε η συσχέτιση των χαρακτηριστικών των εικόνων με το χρόνο INR να μπορέσει να γίνει με μεγαλύτερη ακρίβεια.

Η ποσότητα του αίματος που αναλύεται και η απλοποίηση της μέτρησης είναι εξίσου ένα ζήτημα που πρέπει να μελετηθεί. Η διαχείριση βιολογικών δειγμάτων και αντιδραστηρίων, απαιτούν εξειδικευμένη γνώση και αυστηρούς κανονισμούς ασφαλείας, το οποίο είναι δύσκολο να εφαρμοστεί στα πλαίσια του point of care testing.

Συνοψίζοντας, η νέα τεχνολογική τάση στην υγεία είναι η δημιουργία μικρών κατασκευών με ευκολία στη χρήση και σύνδεση στο διαδίκτυο. Τα smartphone και η τρισδιάστατη εκτύπωση διατάξεων, βρίσκει πολλές εφαρμογές στη βιοϊατρική τεχνολογία. Με το κατάλληλο σχεδιασμό, βιοαισθητήρα και λογισμικό ανοίγει ο δρόμος για τη δημιουργία πολλών ωφέλιμων POCT διαγνωστικών ή και θεραπευτικών συστημάτων, τα οποία θα παρέχουν ποιοτικές υπηρεσίες υγείας με γρήγορα και οικονομικά αποτελέσματα.

- [8] Α. Κριεμπάρδης, "Αιματολογία Ι (Θ). Ενότητα 12: Εισαγωγή στην παθολογία του αίματος- Διαταραχές πήξης και αιμόστασης," Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Αθήνας, Αθήνα, 2014.
- [9] Α. Περδίου, Δ. Συμεωνίδης, Κ. Σταθερού, Α. Κουσουλάκου, "Διάχυτη Ενδοαγγειακή Πήξη: Παθοφυσιολογία, Διάγνωση, Αντιμετώπιση και η σχέση της με την κύηση και τον καρκίνο.," Επιστημονικά Χρονικά 2018; 23(1): 10-34, 2018.
- [10] Π. Κώστας, "Η Πήξη του Αίματος – η Αιμόσταση – η Θρόμβωση και οι Θρομβοφιλίες," Βόλος , 2020. [Online]. Available:
<https://www.καρδιολογοσπισσαριδησκ.gr/2020/10/02/%CE%B7-%CF%80%CE%B7%CE%BE%CE%B7-%CF%84%CE%BF%CF%85-%CE%B1%CE%B9%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%BF%CF%83-%CE%B7-%CE%B1%CE%B9%CE%BC%CE%BF%CF%83%CF%84%CE%B1%CF%83%CE%B7-%CE%B7-%CE%B8%CF%81%CE%BF%CE%BC/>
- [11] A. Kahn, "What to Know About Bleeding Diathesis: Causes, Symptoms, Treatment," 24 9 2019. [Online]. Available:
<https://www.healthline.com/health/symptoms-causes-and-treatment-for-bleeding-diathesis>.
- [12] Γαληνός, "Γαληνός, Οδηγός Φαρμάκων," [Online]. Available:
www.gallinos.gr.
- [13] Paul, C., Baby, M., Anthraper, A.R. et al., "NOACs: an emerging class of oral anticoagulants-a review article," Future Journal of Pharmaceutical Sciences, pp. 6, 95, 24 November 2020.
- [14] Ν. Τσοτσόλης, "Πήξη Ι," Θέματα Αναισθησιολογίας Και Εντατικής Ιατρικής, Δεκέμβριος 2009.

- [15] Shikdar S, Vashisht R, Bhattacharya PT., "International Normalized Ratio (INR)," In: StatPearls [Internet]. Treasure Island, 8 May 2022.
- [16] Barcellona, D., Fenu, L., & Marongiu, F., "Point Of Care Testing INR: An Overview," *Clinical chemistry and laboratory medicine*, vol. 55(6), pp. 800-805, 1 May 2017.
- [17] V. H. Medical, "https://vanhoudt-medical.be/," [Online]. Available: <https://vanhoudt-medical.be/catalogus/diagnose/testmeters-en-teststrips/testmeters/coaguchek-xs/>.
- [18] Xiayu Xu, Altug Akay, Huilin Wei, ShuQi Wang, Belinda Pinguang-Murphy, Björn-Erik Erlandsson, XiuJun Li, WonGu Lee, Jie Hu, Lin Wang, and Feng Xu, "Advances in Smartphone-Based Point-of-Care Diagnostics," *Proceedings of the IEEE*, Vols. Vol. 103, No. 2, February 2015.
- [19] T. M. I. a. S. P. L. MEDISP, "MARK1 – A Decision Support System for the Early Detection of Malignant Melanoma," University of West Attica, Athens, 2015.
- [20] Jonathan M. Rothberg, Tyler S. Ralston, Alex G. Rothberg, John Martina, Jaime S. Zahoriana, Susan A. Aliea, Nevada J. Sanchez, Kailiang Chena, Chao Chena, Karl Thielea, David Grosjeana, Jungwook Yanga, Liewei Baoa, Rob Schneidera, Sebastian Schae, "Ultrasound-on-chip platform for medical imaging, analysis, and collective intelligence," *PNAS*, vol. Vol. 118 No. 27 e2019339118, 1 July 2021.
- [21] Junjie Liua, Zhaoxin Genga, Zhiyuan Fanb, Jian Liuc, Hongda Chenb, "Point-of-care testing based on smartphone: The current state-of-the-art 2017–2018," *Biosensors and Bioelectronics*, p. 17–37, 2019.
- [22] Brady Hunt, Alberto J. Ruiz, Brian W. Pogue, "Smartphone-based imaging systems for medical applications: a critical review," *Journal of Biomedical Optics*, pp. 26(4), 040902, 2021.

- [23] Curtis W. Peterson, Donny Rose, Jonah Mink, David Levitz, "Real-Time Monitoring and Evaluation of a Visual-Based Cervical Cancer Screening Program Using a Decision Support Job Aid," *Diagnostics*, pp. 6(2), 20, 2016.
- [24] Chioma Virginia Anikwe, Henry Friday Nweke, Anayo Chukwu Ikegwu, Chukwunonso Adolphus Egwuonwu, Fergus Uchenna Onu, Uzoma Rita Alo, Ying Wah Teh, "Mobile and wearable sensors for data-driven health monitoring system: State-of-the-art and future prospect," *Expert Systems with Applications*, vol. 202, p. 117362, 2022.
- [25] Minjeong Ha, Seongdong Lim and Hyunhyub Ko, "Wearable and flexible sensors for user-interactive health-monitoring devices," *Journal of Materials Chemistry B*, pp. 6(24):4043-4064., 2018.
- [26] Juliane Pfeila, Luise N. Dangelata, Marcus Frohmea, Katja Schulzeb, "Smartphone based mobile microscopy for diagnostics," *Journal of Cellular Biotechnology* 4 (2018) 57–65.
- [27] Zhaoxin Geng, Xiong Zhang, Zhiyuan Fan, Xiaoqing Lv, Yue Su, Hongda Chen, "Recent Progress in Optical Biosensors Based on Smartphone Platforms," *Sensors* 2017, 17(11), 2449.
- [28] Β. Σπυρόπουλος, Εισαγωγή στην Τεχνολογία Χειρουργείου, Εντατικής και Επείγουσας Ιατρικής, Κάλλιπος, Ανοικτές Ακαδημαϊκές Εκδόσεις.
<http://hdl.handle.net/11419/3023>, 2015.
- [29] Zhen Rong, Qiong Wang, Nanxi Sun, Xiaofei Jia, Keli Wang, Rui Xiao, "Smartphone-based fluorescent lateral flow immunoassay platform for highly sensitive point-of-care detection of Zika virus nonstructural protein 1," *Analytica Chimica Acta* 1055 (2019) 140e147.

- [30] © 2022 Autodesk, "<https://www.tinkercad.com/>," [Online]. [Accessed 20 April 2022].
- [31] Shenzhen Esun Industrial Co., "e-sun 3d," [Online]. Available: <https://www.esun3d.com/>. [Accessed 10 January 2022].
- [32] Creality, "<https://www.creality3dofficial.com/>," [Online]. [Accessed 1 January 2021].
- [33] Pipette, "Thermo LabSystems Finnpiquette," [Online]. Available: <https://www.pipette.com/21377289-Thermo-Labsystems-Finnpiquette-Dig-20-200ul>. [Accessed 10 May 2022].
- [34] D. Becton. [Online]. Available: <https://www.bd.com/en-us/products-and-solutions/products/product-page.363080#overview>. [Accessed 10 May 2022].
- [35] "Socorex Isba S.A.," [Online]. Available: <https://www.socorex.com/en/laboratory/manual-pipettes/acura-manual/825-manual-micropipette>. [Accessed 10 May 2022].
- [36] "Siemens Healthineers," [Online]. Available: <https://www.siemens-healthineers.com/hemostasis/systems/bft-2-analyzer>. [Accessed 10 May 2022].
- [37] "Huawei Technologies," [Online]. Available: <https://consumer.huawei.com/gr/support/phones/p20-lite/>. [Accessed 10 May 2022].
- [38] "Open Camera," [Online]. Available: <https://play.google.com/store/apps/details?id=net.sourceforge.opencamera>. [Accessed 10 May 2022].
- [39] Σ. Ουζούνης, "Προσομοίωση μέτρησης INR με χρήση Smartphone και λογισμικού επεξεργασίας εικόνας," Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, Αθήνα, 2020.

Φορητό σύστημα μέτρησης προθρομβίνης με βάση smartphone.