

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 627 090**

51 Int. Cl.:

G01N 33/497 (2006.01)

A61B 5/097 (2006.01)

A61B 5/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.09.2013 PCT/EP2013/068860**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.03.2014 WO14041045**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.09.2013 E 13766246 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.03.2017 EP 2895855**

54 Título: **Sistema y método para la elución y análisis de sustancias de una muestra de aerosol exhalado**

30 Prioridad:

11.09.2012 EP 12183840

11.09.2012 US 201261699307 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

26.07.2017

73 Titular/es:

SENSA BUES AB (100.0%)

Anhaltsvägen 38

191 40 Sollentuna, SE

72 Inventor/es:

BECK, OLOF

74 Agente/Representante:

ELZABURU SLP, .

ES 2 627 090 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Sistema y método para la elución y análisis de sustancias de una muestra de aerosol exhalado

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a métodos para eluir compuestos no volátiles de una matriz sólida. En particular, la invención es un método para eluir y opcionalmente analizar compuestos no volátiles recogidos en una membrana a partir de aire exhalado.

Antecedentes de la invención

El aire exhalado se usa habitualmente en las pruebas de alcohol y la tecnología actual permite llevar a cabo pruebas de aliento en el sitio con resultados legalmente defendibles usando espectroscopía infrarroja.

10 Las pruebas de ADN y pruebas de drogas, sea toxicomanía o de uso terapéutico, en general requieren tomar muestras de sangre u orina para la prueba. También se puede usar cabello, sudor y fluido oral para las pruebas de drogas y ADN. La toma de muestra de sangre es invasiva y requiere personal médico entrenado, y el sujeto de la prueba a menudo se traslada a un hospital u otra instalación especializada para la toma de muestra. Estos procedimientos requieren tiempo y esfuerzo. La recogida de muestras de orina también se puede considerar que
15 invade la integridad personal. Otros asuntos problemáticos relacionados con la toma de muestras y especímenes de un sujeto incluyen el riesgo de transmisión de enfermedad o infección y el riesgo de que el sujeto intercambie muestras o el uso de una muestra limpia de otro sujeto para evitar la detección de drogas ilegales.

La necesidad de proporcionar un aparato, sistema y/o método no basado en muestras, no invasivo para detectar la presencia (es decir, cualitativo) o determinar la cantidad cuantitativa de una sustancia en un sujeto se satisface, al
20 menos parcialmente, por la invención descrita en el documento WO2012/120140, en concreto un aparato, sistema y método de toma de muestras del aire exhalado de un sujeto para un fármaco/droga y/o biomarcador. Los aerosoles de los pulmones del sujeto se recogen en una membrana de toma de muestra y después se analiza la presencia y opcionalmente la cantidad de uno o más compuestos no volátiles. En el documento DE19718924, el aire en un dispositivo de exhalación específico es trasladado por un haz de fibras. Las partículas de aerosol grandes son
25 atrapadas en el haz de fibras por condensación. El dispositivo del documento DE19718924, comprende varias válvulas que aumentan la resistencia a soplar por el dispositivo. El haz de fibras se retira de la carcasa, plegado en la parte superior de un tubo de centrífuga. El haz de fibras se puede contaminar por este procedimiento. Se añade una disolución de elución estándar, tal como tampón de ELISA o disoluciones salinas al tubo. Se determina una cantidad total de las sustancias pulmonares del aerosol atrapado a partir del eluato obtenido. La cantidad total
30 determinada de sustancias pulmonares permite el diagnóstico y terapia de enfermedades, tales como el asma. Sin embargo, la descripción de DE19718924 no es muy detallada. La cantidad total de sustancias pulmonares obtenidas como resultado no es muy específica y permite solo diagnósticos generales y tratamiento cuestionable basado en dichos diagnósticos. Los tiempos de toma de muestra en un intervalo de 5-15 minutos son bastante largos y no está demostrada la homogeneidad de los resultados a lo largo del intervalo. El método y dispositivo del documento
35 DE19718924, no parece ser muy eficaz y tiene un espectro de aplicación limitado.

Olof Beck et al., "Demonstration that methadone is being present in exhaled breath aerosol fraction", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 56 (2011) 1024-1028, describen métodos de extracción de metadona de diferentes filtros que recogen metadona del aire exhalado.

40 La presente invención proporciona un método para la elución de compuestos no volátiles de una membrana de toma de muestra, de modo que los compuestos eluidos se analizan fácilmente. El presente método mejora el rendimiento y la regularidad de la recuperación de compuestos no volátiles de membranas de toma de muestra usadas para recoger aerosoles de aire exhalado.

Resumen de la invención

45 Por consiguiente, las realizaciones de la presente invención buscan preferiblemente mitigar, aliviar o eliminar una o más deficiencias, desventajas o problemas en la técnica, como los identificados antes, individualmente o en cualquier combinación proporcionando un método, de acuerdo con las reivindicaciones de patente adjuntas.

Se proporciona un método de recuperación para recoger compuestos no volátiles de una muestra tomada del aire exhalado de un sujeto para el posterior análisis. La membrana de toma muestra está colocada en una carcasa de un dispositivo de toma de muestra de aire exhalado.

50 Los compuestos no volátiles son eluidos pasando un disolvente polar a través de una entrada y una salida en una carcasa adaptada. El dejar la membrana de toma de muestra en el sitio y eluir a través de la carcasa disminuye el riesgo de contaminación de la membrana. También se proporciona una forma más conveniente y rápida de manejar la muestra de aire exhalado recogida.

Una membrana de toma de muestra que comprende aerosoles recogidos de aire exhalado que contiene compuestos

no volátiles de interés, se eluye pasando un disolvente orgánico polar a través de la membrana usando solo la gravedad o con presión o fuerza centrífuga.

La membrana de toma de muestra es una membrana de filtro electrostática, y lo más preferiblemente una membrana electrostática que comprende fibras de polietileno y acrílicas no tejidas.

5 La membrana de toma de muestra puede ser una membrana de filtro que comprende al menos una capa de medio de filtración no tejido con un peso específico en el intervalo de 23 g/m^3 a 500 g/m^3 , preferiblemente en el intervalo de 150 hasta 300 g/m^3 , e incluso más preferiblemente en el intervalo de 200 hasta 280 g/m^3 y puede comprender al menos una capa adicional que es un soporte hilado con un peso de malla de 10 a 20 g/m^3 .

10 Los disolventes polares adecuados para usar en el método son miscibles con el agua, son capaces de disolver componentes solubles en agua y solubles en lípidos del aerosol exhalado y son capaces de eluir los compuestos no volátiles de interés. Los disolventes polares que cumplen estos criterios incluyen metanol, acetonitrilo, isopropanol y acetona.

15 Los compuestos no volátiles de interés pueden proceder de la sangre por un mecanismo de producción de una fase gaseosa en los alveolos o de otras partes de las vías aéreas, y ser transferidos desde los pulmones transportados por un aerosol. Los compuestos no volátiles pueden ser fármacos, drogas, metabolitos de fármacos/drogas, marcadores indicativos de uso de fármacos/drogas, o marcadores que se encuentran de forma natural en enfermedades o afecciones metabólicas de sujetos. El análisis de compuestos no volátiles de membranas de muestra puede incluir espectroscopía de masas (MS) y espectroscopía Raman amplificada en superficie (SERS) y otros métodos analíticos sensibles conocidos en la técnica.

20 En algunos ejemplos de la invención, el aerosol en la membrana de toma de muestra puede contener compuestos no volátiles de al menos un fármaco/droga en el aire exhalado. Los ejemplos no limitantes de fármacos/drogas incluyen anfetaminas, éxtasis, cannabis, THC, cannabinoides, opiáceos, heroína, morfina, 6-AM, cocaína, benzodiazepinas, propoxifeno, metadona, buprenorfina, tramadol, LSD, drogas de diseño/internet, catinona, GHB, Meprobamat, fármacos Z, triptaminas y esteroides anabólicos.

25 La MS y SERS son los métodos de análisis preferidos, siendo preferida la cromatografía líquida/MS (LC/MS) frente a la cromatografía de gases/MS (GC/MS).

Se definen ejemplos adicionales de la invención en las reivindicaciones dependientes, en donde las características para el segundo y siguientes aspectos de la invención son como para el primer aspecto mutatis mutandis.

30 Algunos biomarcadores no volátiles conocidos que pueden ser transportados por los aerosoles en el aire exhalado están comprendidos en la lista que comprende lípidos, péptidos, nucleótidos, prostanoides, proteínas, ADN o ARN. Estos biomarcadores se pueden usar para el diagnóstico de enfermedades o dolencias, tales como el cáncer (tal como cáncer de pulmón), asma, inflamación, infección (tal como la tuberculosis) y/o estrés oxidativo u otras afecciones médicas.

35 El término "comprende/comprender" cuando se usa en esta memoria descriptiva se considera que especifica la presencia de características, números enteros, pasos o componentes expuestos, pero no impide la presencia o adición de una o más características, números enteros, pasos, componentes o grupos de los mismos.

Breve descripción de los dibujos

40 Estos y otros aspectos, características y ventajas que se encuentran en los ejemplos de la invención serán evidentes y se elucidarán a partir de la siguiente descripción de ejemplos de la presente invención, haciendo referencia a los dibujos que acompañan, en los que

La figura 1 es una ilustración esquemática que ilustra un ejemplo de un dispositivo portátil configurado para recoger una muestra de aire exhalado de un sujeto;

La figura 2 es un diagrama de flujo que ilustra un método de uso de un dispositivo portátil configurado para recoger una muestra de aire exhalado de un sujeto;

45 La figura 3 es un diagrama de flujo de etapas del método para un método de recuperación de acuerdo con la invención;

La figura 4 ilustra un sistema para detectar la presencia o determinar la cantidad cuantitativa de al menos un compuesto fármaco/droga en el aire exhalado; y

La figura 5 ilustra cromatogramas típicos para cuatro fármacos/drogas diferentes.

50 Descripción de realizaciones

Ahora se describirán realizaciones específicas de la invención con referencia a los dibujos que acompañan. Sin

embargo, esta invención se puede realizar en muchas formas diferentes y no debe considerarse limitada a las realizaciones expuestas en la presente memoria; más bien, estas realizaciones se proporcionan de modo que esta descripción sea detallada y completa, y transmita completamente el alcance de la invención a los expertos en la técnica. La terminología usada en la descripción detallada de las realizaciones ilustradas en los dibujos que acompañan, no se pretende que limiten la invención. En los dibujos, números iguales se refieren a elementos iguales.

La figura 1 es una ilustración esquemática que muestra un ejemplo de un sistema portátil configurado para recoger una muestra de aire exhalado de un sujeto. El sistema de toma de muestra 20 está configurado para recoger una muestra de aire exhalado de un sujeto 201. El sujeto exhala a través de una boquilla y un elemento tubular 202 que está en comunicación fluida con una carcasa 204 por al menos una entrada 203. La boquilla y el elemento tubular 202 pueden ser del mismo tamaño o tipo como se usa de forma conveniente para alcoholímetros. Preferiblemente, la boquilla y el elemento tubular 202 están configurados para permitir que pasen principalmente aerosoles a través de ellos.

La carcasa 204 puede estar hecha de cualquier material adecuado o combinaciones de los mismos tales como metal, plástico, vidrio o materiales cerámicos y comprende una membrana de toma de muestra 205, que es una membrana de fibra, para recoger aerosoles que comprenden fármacos/drogas no volátiles del aire exhalado. El aire exhalado sale de la carcasa por al menos una salida 206. El sistema portátil se puede sellar después de usarlo y enviar a un laboratorio 207 para ser analizado. El análisis de la cantidad de drogas ilegales se puede llevar a cabo usando cualquier método adecuado con espectroscopía Raman amplificada en superficie (SERS) y espectroscopía de masas (MS), por ejemplo, siendo la más preferida la cromatografía líquida-MS (LCMS).

La membrana de toma de muestra puede estar colocada en cualquier sitio en la carcasa 204. Preferiblemente, la membrana de toma de muestra 205 está sujeta a las paredes interiores de la carcasa 204 y estirada en la sección transversal de la carcasa. La carcasa 204 preferiblemente está construida de dos o más piezas, una primera pieza con una entrada 203 y una pieza con al menos una salida 206.

La boquilla y el elemento tubular 202 son desmontables y están en comunicación fluida con la carcasa 204 por la entrada 203. El elemento tubular 202 funciona como un prefiltro para separar por filtración la saliva y/o moco y/o partículas grandes y/o agregados del aire exhalado. Por lo tanto, se obtiene una membrana de filtro de toma de muestra más limpia para analizar, lo que da como resultado un análisis mejor y más preciso. Otra ventaja de usar un elemento tubular 202 es que previene la contaminación entre sujetos y muestras.

El aire exhalado después de fluir por el elemento tubular 202, viajará a la carcasa 204 y se pondrá en contacto con la membrana de filtro de toma de muestra 205.

Los fármacos/drogas, que son compuestos no volátiles transportados por los aerosoles en el aire exhalado, son recogidos por la membrana de toma de muestra 205 cuando el aire exhalado permea a través de la membrana de toma de muestra 205.

La membrana de toma de muestra 205, que es una membrana de filtro no debe confundirse con una unidad y/o trampa de toma de muestra electrónica o química. El elemento de toma de muestra 205 es una entidad física en la que se recoge el fármaco/droga. La recogida, en diferentes realizaciones, se puede basar en diferentes principios, individualmente o en combinación, que comprenden depositar, captar, sujetar y condensar constituyentes no volátiles en el elemento de toma de muestra 205.

El uso de una membrana de filtro permite una caída de presión baja a través del sistema de toma de muestra portátil, haciendo fácil y cómodo exhalar a través del dispositivo. Esto es importante para sujetos que tienen problemas pulmonares.

En un ejemplo de un sistema de toma de muestra portátil, la membrana de filtro se coloca para bloquear el camino del aire exhalado a través del sistema portátil.

Hay muchas posibilidades para sujetar la membrana de filtro, por ejemplo, usar una estructura de soporte separada para retener el filtro, que puede ser un elemento que se sujeta en el interior de las paredes de la carcasa 204 o un segmento que se desliza en una primera pieza de la carcasa durante el ensamblado antes de montar la segunda pieza de la carcasa.

Alternativa y/o adicionalmente, la membrana de filtro se puede sujetar directamente en las paredes interiores de la carcasa 204, mediante pegamento o por calor y de esta forma fundir una pequeña parte del borde de la membrana de filtro.

La segunda pieza de la carcasa se enrosca o desliza sobre la primera pieza de la carcasa, La segunda pieza comprende al menos una salida 206. Alternativa y/o adicionalmente, la carcasa 204 puede comprender al menos dos salidas 206. Esto ayudará a evitar que el sujeto que está haciendo la prueba bloquee la salida y de esta forma se infle el elemento de medición de volumen permeando una cantidad mínima de aire exhalado a través de la membrana de filtro.

- El elemento de toma de muestra 205 preferiblemente es una membrana de filtro hecha de fibras sintéticas y/o semisintéticas para que el aire exhalado se difunda a través de ellas. La membrana de filtro tiene una estructura que atrapa aerosoles y por lo tanto recoge fármacos/drogas que son exhaladas mientras que deja pasar el gas a través de la misma. Las partículas de aerosol comprenden los compuestos fármacos/drogas no volátiles. Preferiblemente, la membrana de filtro se puede hacer funcionar para que recoja aerosoles del aire con una capacidad volumétrica alta mientras se mantiene una caída de presión baja a través del sustrato de filtro. De acuerdo con la presente invención, la membrana de filtro es un filtro electrostático hecho de fibras. La membrana de filtro puede ser de una fibra polimérica no tejida que puede ser un electreto.
- La membrana de filtro puede ser un filtro electrostático, siendo preferiblemente una membrana de filtro no tejida que comprende una mezcla de fibras acrílicas y fibras de polipropileno. La membrana de filtro puede tener una densidad (a veces llamada grado o peso) en el intervalo de 23 hasta 500 g/m². Pero se ha mostrado que es preferido el intervalo de 130 hasta 300 g/m². Incluso es más preferido el intervalo de 200 hasta 280 g/m².
- La capa no tejida puede estar unida a al menos una capa adicional. Se pueden usar capas adicionales para potenciar las propiedades físicas de la membrana de filtro o mejorar el rendimiento de la membrana. La capa extra puede ser un soporte, preferiblemente un soporte de polipropileno hilado. El soporte hilado puede tener un peso de malla en el intervalo de 10 hasta 20 g/m², preferiblemente 15 g/m².
- Por ejemplo, una membrana de filtro de tres capas que comprende una capa no tejida con una densidad de 250 g/m² y dos capas que son soportes, cada una con un peso de malla de 15 g/m², tendrá una resistencia al flujo de aire de aproximadamente 36 Pa a una velocidad media de 9,5 m/min. Alternativa y/o adicionalmente, la membrana de filtro puede estar corrugada para aumentar el área de filtración dentro de un volumen dado de carcasa.
- El sistema portátil combinado con el método de elución del contenido de la membrana de filtro está configurado y adaptado para tener una sensibilidad para las drogas ilegales suficientemente alta para obtener resultados normalizados para usar como prueba en un tribunal de justicia.
- Los aerosoles recogidos pueden comprender compuestos no volátiles de al menos un fármaco/droga en el aire exhalado. El fármaco/droga puede ser, a modo de ejemplo, una anfetamina, éxtasis, cannabis, THC, un cannabinoide, un opiáceo, heroína, morfina, 6-AM, cocaína, una benzodiazepina, propoxifeno, metadona, buprenorfina, tramadol, LSD, una droga de diseño/internet, catinona, GHB, Meprobamat, fármacos Z, una triptamina y esteroides anabólicos. Otras drogas ilegales (drogas de abuso) y fármacos terapéuticos que no están incluidos en la lista también pueden ser detectables debido a intercambios similares con el cuerpo humano como las drogas ilegales mencionadas antes.
- Alternativa y/o adicionalmente, los compuestos no volátiles pueden incluir biomarcadores transportados por los aerosoles en el aire exhalado. Estos biomarcadores pueden comprender lípidos, péptidos, nucleótidos, prostanoïdes, proteínas, ADN o ARN, y se pueden usar para el diagnóstico de enfermedades o dolencias tales como el cáncer (tal como cáncer de pulmón), asma, inflamación, infección (tal como tuberculosis) y/o estrés oxidativo u otras afecciones médicas. Estos biomarcadores se pueden recoger y recuperar usando el sistema y métodos descritos en la presente memoria.
- La figura 2 es un diagrama de flujo que ilustra un método 50 para usar en un sistema portátil configurado para recoger una muestra 502 de aire exhalado de un sujeto. Brevemente, la figura 2 ilustra la detección de la presencia y/o determinación de la cantidad cuantitativa 503 de al menos una droga ilegal o compuesto en una muestra recogida. Los compuestos drogas ilegales se recogen como aerosoles, que son partículas y/o compuestos no volátiles, del aire exhalado. El método comprende: un sujeto que exhala 501 en el sistema portátil inventado; una unidad de toma de muestra recoge una muestra 502 que comprende las drogas o compuestos; la muestra recogida se extrae de la membrana de muestra y se analiza 503 usando MS o SERS.
- Con referencia a la figura 2, un sujeto exhala dentro y fuera 501; preferiblemente el sujeto exhala en el sistema portátil hasta que ha pasado un volumen específico de aire exhalado a través de la membrana de toma de muestra, preferiblemente una membrana de filtro.
- Alternativa y/o adicionalmente, el sujeto puede exhalar durante un determinado tiempo o un número fijo de veces, tal como de 1 a 10 veces, en un sistema portátil. Cuando exhala un número fijo de veces, cada exhalación se puede establecer que dure un tiempo fijo.
- Para medir un volumen específico, un método preferido es usar un puerto situado en la boquilla o entre la boquilla y la entrada de la carcasa. Una parte del aire exhalado se extrae 504 por el puerto e hincha un elemento, tal como una bolsa no elástica. Así, cuando la bolsa está llena el volumen de dicha bolsa será proporcional al volumen que pasa por la membrana de toma de muestra.
- Alternativa y/o adicionalmente, se puede usar una bolsa con propiedades elásticas.
- Se prefiere una respiración profunda para obtener el aire exhalado de partes del pulmón profundas, tales como regiones pulmonares central o periférica.

Después el aire exhalado es recogido 502 por el elemento de toma de muestra, es decir, una membrana de filtro a través de la cual es fácil respirar, adecuada para recoger fármacos/drogas antes de salir del sistema. La membrana de filtro preferiblemente está hecha de fibras sintéticas o semisintéticas. La membrana de filtro tiene propiedades electrostáticas. El uso de una membrana de filtro crea un método pequeño, ligero y fácil de usar que se puede usar en cualquier sitio por cualquier persona, para detectar si un sujeto está bajo la influencia de una droga ilegal. El método de toma de muestra tiene una calidad tan alta que los resultados obtenidos tienen un estándar aprobado por la justicia. Estos resultados se obtienen usando un método que no es ni invasivo como p. ej. la extracción de sangre, ni intrusivo en la integridad personal como p. ej. la muestra de orina. Por lo tanto, se evitan los inconvenientes conocidos con estos métodos.

Después de usarla, la carcasa del sistema de toma de muestra se sella mediante el sellado de la entrada y salida, y el dispositivo se puede enviar a un laboratorio, donde se recuperan y analizan los compuestos recogidos en el filtro.

La figura 3 ilustra un método 30 para recuperar uno o más compuestos no volátiles de una membrana de filtro de toma de muestra. Las fibras son preferiblemente no tejidas y el filtro lo más preferiblemente es un fieltro o material enmarañado. El filtro es un filtro electrostático y lo más preferiblemente comprende fibras acrílicas y fibras de polipropileno. El método comprende poner en contacto 301 el filtro con una cantidad de un disolvente polar capaz de neutralizar la carga electrostática en el filtro. El contacto del filtro con el disolvente polar eluye los compuestos no volátiles del filtro de toma de muestra para formar un eluato. Los disolventes polares preferidos incluyen metanol, acetonitrilo, isopropanol, acetona y combinaciones de los mismos, siendo el metanol y el acetonitrilo los más preferidos por su facilidad relativa de manipulación. Los disolventes polares son miscibles con el agua, son capaces de disolver componentes solubles en agua y solubles en lípidos del aerosol, y de esta forma eluir los compuestos no volátiles de interés de la membrana de filtro. Los disolventes polares que cumplen estos criterios incluyen metanol, acetonitrilo, isopropanol y acetona. El metanol y el acetonitrilo son disolventes polares preferidos en combinación con membranas de filtro que comprenden fibras acrílicas y de polietileno. Preferiblemente, los disolventes polares se usan en forma pura, es decir, no mezclados con otros compuestos o disolventes. Los disolventes puros son, p. ej., metanol puro o acetonitrilo puro.

La cantidad de disolvente usada depende del tamaño del filtro y debe ser suficiente para eluir los compuestos no volátiles, pero no debe diluir innecesariamente los compuestos. A modo de ejemplo, la cantidad de disolvente puede estar entre 0,02 ml y 20 ml. El contacto se puede llevar a cabo lavando el filtro con el disolvente, pasando una cantidad del disolvente a través del filtro. El filtro 205 está en la carcasa 204 del dispositivo de toma de muestra, pasándose el disolvente a través del dispositivo desde uno de la entrada 203 o salida 206 al otro de la entrada 203 o salida 206 del dispositivo.

Después de que el disolvente se ha puesto en contacto con la membrana de filtro, se recoge el eluato 302 en un recipiente adecuado. La recogida se puede llevar a cabo, por ejemplo, por flujo por gravedad desde un filtro en un dispositivo, o alternativamente, saturando el filtro con disolvente y poniendo el dispositivo en una centrífuga con un recipiente de recogida colocado para recibir el eluato durante la centrifugación. El eluato también se puede recoger aplicando disolvente a un dispositivo de toma de muestra y aplicando presión para forzar el disolvente a través del filtro y a un recipiente de recogida. La recogida se puede llevar a cabo por gravedad, presión o centrifugación de un filtro que se ha retirado de un dispositivo de toma de muestra y se ha colocado en una columna o tubo para la elución por gravedad, presión o centrifugación.

El eluato recogido se puede almacenar u opcionalmente suministrar 303 a un sistema de análisis capaz de detectar (análisis cualitativo) y/o medir (análisis cuantitativo) uno o más compuestos no volátiles en el eluato. Se puede usar cualquier sistema de análisis adecuado, siendo LC/MS, GC/MS y SERS los más preferidos. La MS puede incluir, por ejemplo, MS por tiempo de vuelo, MS con cuadrupolo de trampa iónica, MS en tándem, MS con ionización por electropulverización, y MS con ionización por desorción por láser asistida por matriz. Dependiendo del análisis que se use, el eluato se puede tratar previamente o concentrar antes de suministrar al sistema de análisis. Para LC/MS, el eluato se puede cargar en una columna de cromatografía de líquidos, opcionalmente después de reducir el volumen del eluato por evaporación del disolvente con o sin vacío parcial. Para SERS, el eluato se puede poner en un sustrato de SERS que comprende, por ejemplo, coloides de oro o plata, opcionalmente después de reducir el volumen del eluato. El eluato alternativamente se puede evaporar hasta sequedad para formar un residuo seco que se vuelve a suspender en el mismo o diferente disolvente o combinación de disolventes antes de aplicación a un sistema de análisis.

La figura 4 ilustra un sistema 60 para detectar la presencia o determinar la cantidad cuantitativa de al menos un compuesto fármaco/droga en aire exhalado. El sistema comprende un dispositivo de prueba de fármaco/droga portátil 602 para recoger manualmente una muestra de aire exhalado de un sujeto 601. El dispositivo 602 podría ser según cualquier realización descrita en la presente memoria. Además, el sistema 60 comprende una unidad de detección 603 para analizar los compuestos recogidos en el dispositivo de prueba 602. El detector podría ser cualquier tipo de detector conocido, pero preferiblemente es de espectroscopía de masas o SERS. Para poder analizar la muestra recogida, se extrae el contenido de la membrana de filtro en el dispositivo 602. Esto se podría hacer, por ejemplo, usando un disolvente que se va a analizar usando la unidad de detección 603.

Una ventaja es que la prueba se puede realizar prácticamente en cualquier sitio con un coste bajo y plazo de

ejecución corto antes de obtener un resultado.

Ejemplo 1

5 La tabla 1 muestra los resultados de la recuperación de una variedad de compuestos no volátiles de una membrana de filtro electrostática que comprende fibras acrílicas y fibras de polietileno por elución con metanol. Los eluatos se analizaron usando LC-MS/MS con disolución de referencia. La recuperación y el análisis de cada compuesto no volátil analito se hizo por triplicado. En la figura 5 se ilustran los cromatogramas típicos de algunos fármacos/drogas cuando se analizan los eluatos usando equipo de LC-MS/MS. De arriba a abajo el cromatograma muestra picos de anfetamina 70, 75; morfina 80, 85; diazepam, 90, 95; y THC, 100, 105. Puesto que hay una relación lineal entre la concentración (pg/filtro) y la relación de áreas del analito a la referencia interna para todos los compuestos, se puede determinar la cantidad de fármaco/droga en el filtro basándose en las curvas de calibración de las disoluciones de referencia.

Analito	Recuperación (%)	Analito	Recuperación (%)
Anfetamina	101	Metanfetamina	107
THC	95	Morfina	98
Codeína	97	MDMA	93
Benzoilecgonina	95	Cocaína	95
Buprenorfina	116	Metadona	115
Oxazepam	106	Flunitrazepam	107
6-Acetil morfina	97	Diazepam	105

Tabla 1. Recuperación de compuestos no volátiles por elución con metanol

15 La presente invención se ha descrito antes con referencia a realizaciones específicas. Sin embargo, otras realizaciones alternativas y/o adicionales a las descritas antes son igualmente posibles dentro del alcance de la invención. Se pueden proporcionar diferentes etapas del método a las descritas antes, llevando a cabo el método por hardware o software, dentro del alcance de la invención. Las diferentes características y etapas de la invención se pueden combinar en otras combinaciones además de las descritas. El alcance de la invención solo está limitado por las reivindicaciones de la patente adjuntas.

REIVINDICACIONES

- 1.- Un método para recuperar compuestos no volátiles de una membrana de filtro electrostática, que comprende:
proporcionar dicha membrana de filtro electrostática (205) que comprende un aerosol exhalado que comprende compuestos no volátiles;
- 5 lavar (301) dicha membrana de filtro electrostática con un disolvente orgánico polar para formar un eluato;
recoger (302) dicho eluato que comprende dichos compuestos no volátiles; y
se caracteriza porque dicha membrana de filtro electrostática (205) se ajusta en una carcasa (204) que comprende al menos una entrada (203) y al menos una salida (206), y dicho lavado incluye verter dicho disolvente en una de dicha entrada (203) o salida (206) y recoger dicho eluato por la otra (203, 206).
- 10 2.- El método según la reivindicación 1, en donde dicha membrana de filtro comprende al menos una capa de medio de filtración no tejido con un peso específico en el intervalo de 23 g/m^3 a 500 g/m^3 , preferiblemente en el intervalo de 150 hasta 300 g/m^3 , e incluso más preferiblemente en el intervalo de 200 hasta 280 g/m^3 .
- 3.- El método según la reivindicación 2, en donde dicha membrana de filtro electrostática comprende al menos una capa adicional, siendo dicha capa adicional un soporte hilado con un peso de malla de 10 a 20 g/m^3 .
- 15 4.- El método según la reivindicación 2, en donde dicha membrana de filtro electrostática tiene una superficie de filtro por la que va a pasar el gas exhalado de aproximadamente 800 mm^2 y una caída de presión de 36 Pa a una velocidad media de 9,5 m/min.
- 5.- El método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde dicha membrana de filtro electrostática comprende una mezcla de fibras acrílicas y fibras de polipropileno.
- 20 6.- El método según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dichos aerosoles comprenden compuestos no volátiles de al menos un fármaco/droga en dicho aire exhalado; en donde dichos aerosoles comprenden compuestos no volátiles de al menos un fármaco/droga en dicho aire exhalado, y en donde dicho fármaco/droga se selecciona de la lista que comprende anfetaminas, éxtasis, cannabis, THC y cannabinoides, opiáceos, heroína, morfina, 6-AM, cocaína, benzodiazepinas, propoxifeno, metadona, buprenorfina, tramadol, LSD, drogas de diseño/internet, catinona, GHB, Meprobamat, fármacos Z, triptaminas, esteroides anabólicos, o combinaciones de los mismos.
- 25 7.- El método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde dichos aerosoles comprenden biomarcadores no volátiles en dicho aire exhalado; en donde dichos aerosoles comprenden compuestos no volátiles de al menos un biomarcador en dicho aire exhalado y en donde dicho biomarcador se selecciona de la lista que comprende lípidos, péptidos, nucleótidos, prostanoídes, proteínas, ADN, ARN o combinaciones de los mismos.
- 30 8.- El método según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, y que además comprende poner en contacto dicho eluato recogido con una superficie de SERS.
- 9.- El método según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, y que además comprende evaporar dicho disolvente de dicho eluato.
- 35 10.- El método según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, y que además comprende llevar a cabo un análisis cualitativo y/o cuantitativo de un contenido que comprende dichos compuestos no volátiles en la superficie de SERS usando una técnica de SERS.
- 11.- El método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, y que comprende además analizar dicho eluato usando un método de espectroscopía de masas.
- 40 12.- El método según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho disolvente es metanol.
- 13.- El método según cualquiera de las reivindicaciones precedentes 1-11, en donde dicho disolvente es acetonitrilo.

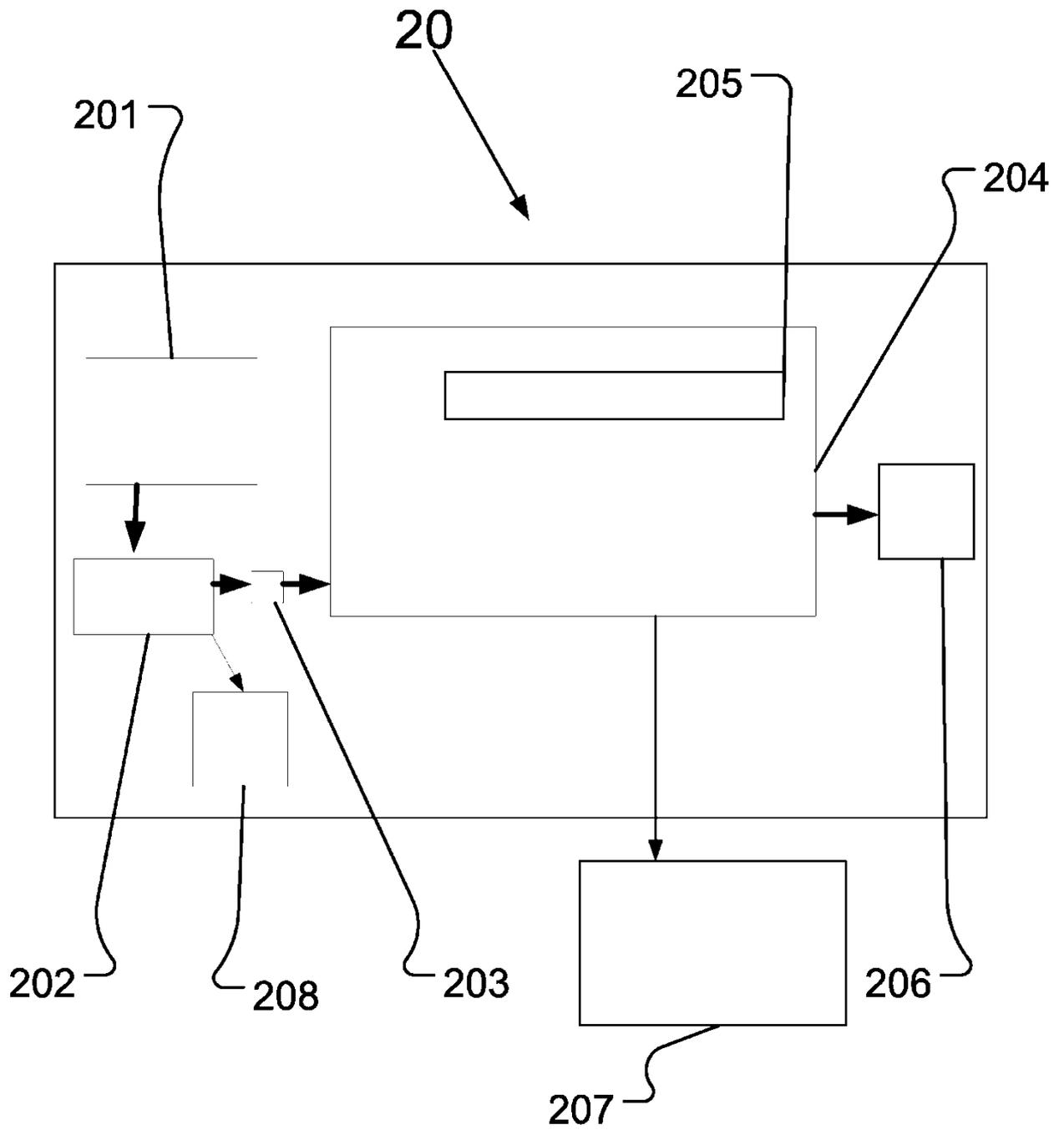


Fig. 1

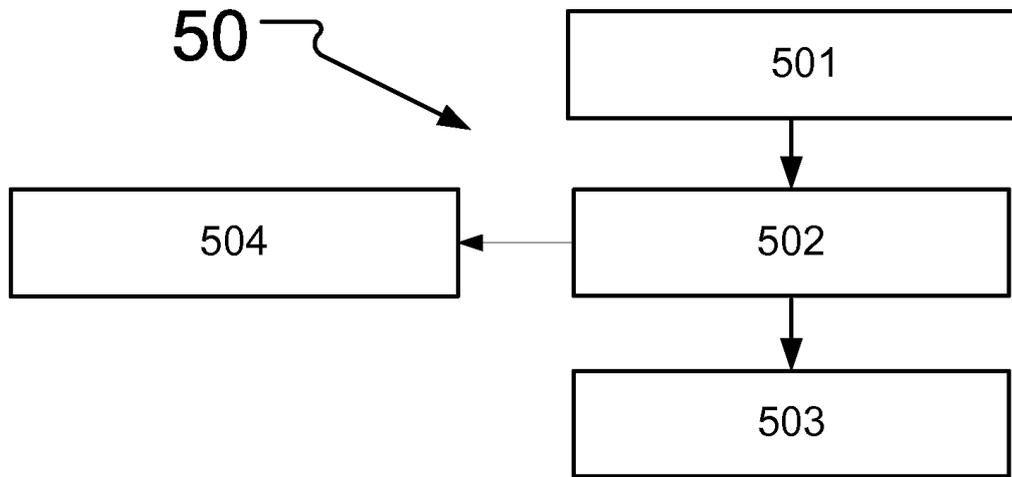


Fig. 2

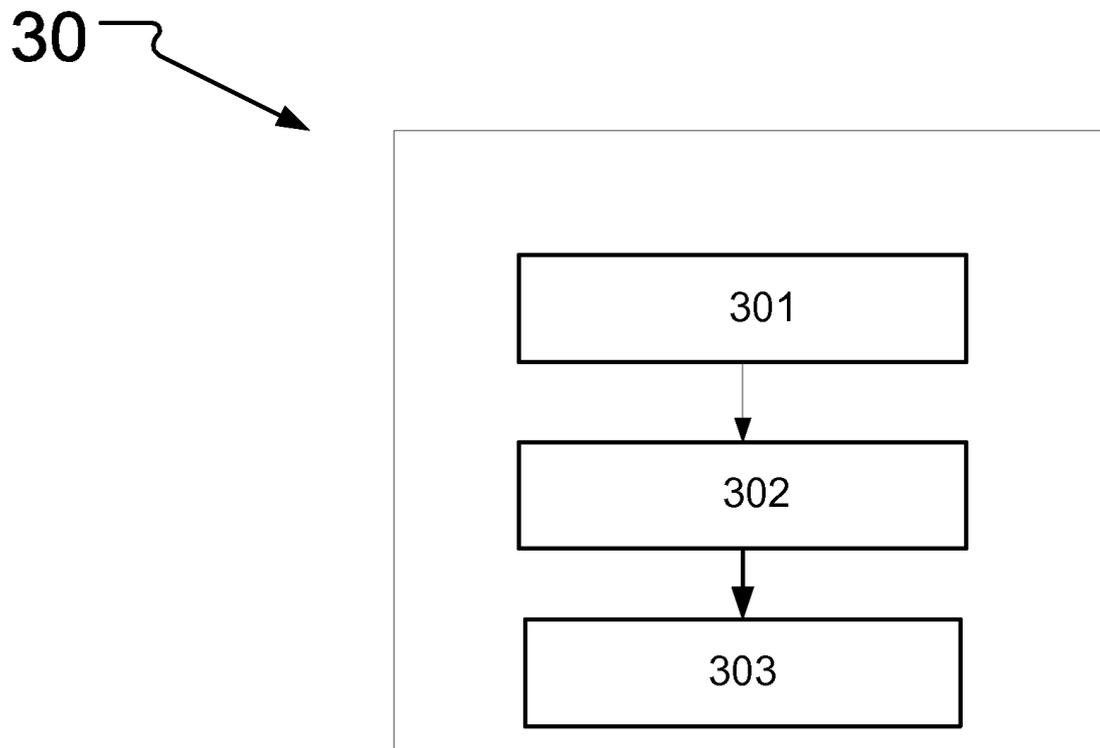


Fig. 3

60

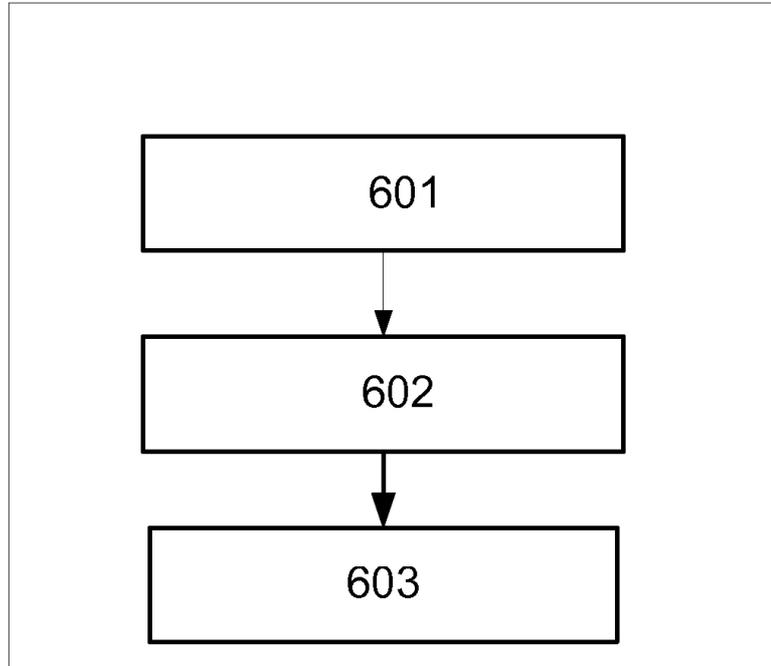
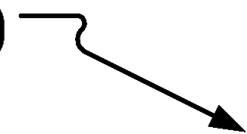


Fig. 4

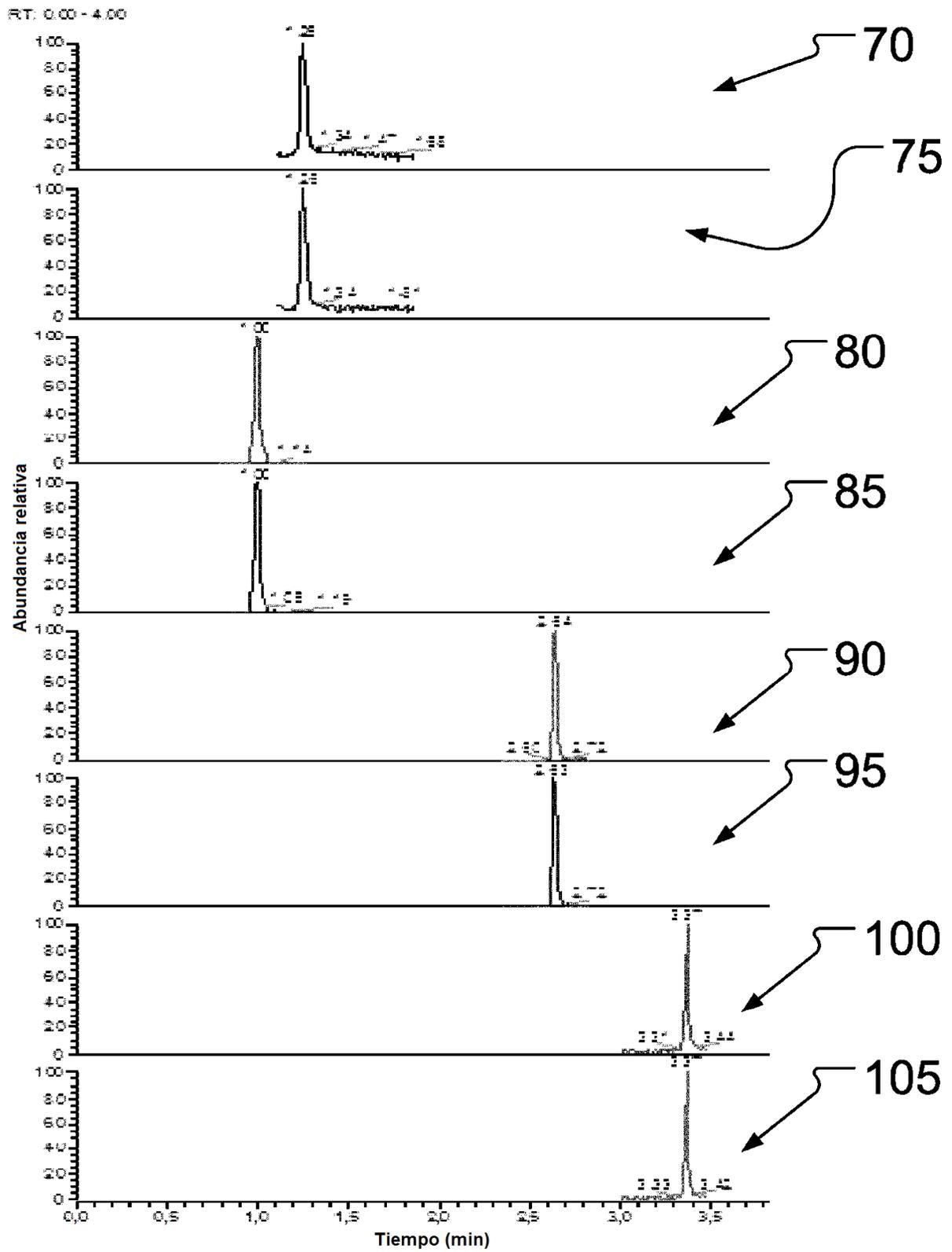


Fig. 5