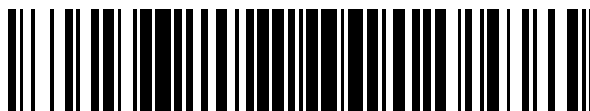


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 648 991**

51 Int. Cl.:

**G01N 21/03** (2006.01)

**G01N 21/82** (2006.01)

**G01N 33/49** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.07.2013 PCT/EA2013/000007**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.02.2014 WO14026697**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.07.2013 E 13829294 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.08.2017 EP 2887064**

54 Título: **Dispositivo para monitorizar la coagulación espacial de la sangre y de componentes de la misma**

30 Prioridad:

**15.08.2012 EA 201201022**

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

**09.01.2018**

73 Titular/es:

**OBSHESTVO S OGRANICHENNOY  
OTVETSTVENNOSTYU  
«GEMATOLOGICHESKAYA KORPORATSIYA»  
(100.0%)  
Nauchniy Proezd, d.20, Stroenie 2  
Moscow 117246, RU**

72 Inventor/es:

**ATAULLAKHANOV, FAZOIL INOYATOVICH;  
SARBASH, VASILII IVANOVICH;  
PANTELEEV, MIKHAIL ALEKSANDROVICH y  
KARAMZIN, SERGEY SERGEEVICH**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

ES 2 648 991 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

Dispositivo para monitorizar la coagulación espacial de la sangre y de componentes de la misma

### Campo técnico

5 La presente decisión técnica se refiere a la medicina y la biología y puede usarse, en particular, con fines de diagnóstico e investigación para determinar características de coagulación de la sangre y sus componentes, así como en biotecnología y en investigación biológica fundamental.

### Antecedentes de la técnica

10 Los estudios de coagulación de la sangre y sus componentes son de gran interés práctico porque no sólo permiten que se diagnostiquen determinadas enfermedades sino que también hacen posible que se evalúe la actividad de preparaciones que afectan a parámetros de la coagulación sanguínea. Se conocen diversos dispositivos para determinar la velocidad de coagulación en sangre completa y en plasma a partir de los antecedentes de la técnica. Sin embargo, hasta ahora, estos estudios se han diseñado en un sistema homogéneo con mezclado permanente. Como el volumen completo de plasma se mezcla permanentemente desde el comienzo de la prueba y hasta el final de la misma, todos los factores de coagulación formados durante el proceso de formación de un coágulo de plasma se distribuyen de manera homogénea en el medio de prueba, y la formación de coágulos continúa simultáneamente en el volumen completo de la muestra de prueba. Desde el punto de vista fisiológico, este proceso es diferente de manera fundamental de las condiciones de formación de coágulos *in vivo*.

20 A partir de los antecedentes de la técnica, se conoce un aparato para monitorizar la formación espacial de coágulos de fibrina dada a conocer en la solicitud internacional PCT/CH2007/000543 (publicación internacional WO 2009/055940, cl. G01N 33/49, publicada el 07/05/2009). El aparato contiene un conjunto de cubeta que consiste en una cubeta y una pieza de inserción con activador de la coagulación inmovilizado sobre el extremo inferior de la pieza de inserción. El conjunto de cubeta se coloca en un soporte que comprende un termostato para la estabilización térmica de la cubeta y dispositivos para fijar la cubeta en el interior del termostato. El termostato se llena con un fluido al menos parcialmente transparente. Dicho aparato permite el registro del proceso de formación de un coágulo de fibrina que es el producto final del trabajo del sistema de coagulación sistema sin proporcionar la posibilidad de registrar el proceso de formación y la distribución espacial de otros factores de coagulación que regulan el proceso de crecimiento espacial de un coágulo de fibrina. El análogo más próximo a la solución dada a conocer es el dispositivo para la investigación de características de coagulación de la sangre y sus componentes (patente RU 2395812, cl. G01N33/49, publicada el 27/07/2010) que comprende una cámara controlada termostáticamente llena de fluido y que alberga una cubeta con una muestra de prueba y una pieza de inserción con el activador de la coagulación inmovilizado, unos medios de iluminación para iluminar el contenido de la cubeta y el coágulo formado cerca del extremo inferior de la pieza de inserción, y una cámara digital; el dispositivo se conecta con un ordenador para procesar los datos obtenidos.

35 Las desventajas de dicho dispositivo incluyen la formación de burbujas de gas en las muestras de prueba y en el fluido, dentro del área de registro, durante el calentamiento de las muestras de prueba en una cámara controlada termostáticamente: estas burbujas distorsionan la señal de dispersión de luz procedente del coágulo de fibrina. Además, el dispositivo contiene unos medios de iluminación sólo con una longitud de onda, por ejemplo, luz roja, que impide el estudio de la distribución espaciotemporal de enzimas proteolíticas, por ejemplo, con métodos de fluorescencia, de manera simultánea al estudio de la formación de coágulos de fibrina.

### 40 Sumario de la invención

El resultado técnico que puede obtenerse a través de la realización de la solución reivindicada es la potenciación de la precisión y fiabilidad del método en cuanto a la definición de parámetros de la coagulación espacial de la sangre y sus componentes necesarios para diagnosticar varios trastornos sanguíneos, así como la posibilidad de determinar varios parámetros adicionales que no se han estudiado previamente.

45 El objeto resuelto por la solución reivindicada es excluir la influencia de las burbujas de gas dentro de la muestra de prueba y el fluido controlado termostáticamente sobre el propio procedimiento de prueba (por ejemplo, coagulación sanguínea) y sobre el procesamiento de datos registrados al tiempo que influye en la integridad de prueba y la precisión de los resultados obtenidos, así como recibir nueva información sobre el proceso de coagulación y sus parámetros específicos.

50 El objeto se logra mediante el dispositivo definido según la reivindicación independiente 1 adjunta.

Realizaciones del dispositivo comprenden al menos otro medio de iluminación.

Realizaciones del dispositivo comprenden elementos ópticos, que dirigen, enfocan y proporcionan una corrección espectral de la iluminación.

Realizaciones del dispositivo comprenden una unidad de control para sincronizar el rendimiento del al menos un

medio de iluminación, unos medios para el registro de imágenes y unos medios de regulación de presión.

Realizaciones del dispositivo comprenden la conexión a unos medios de procesamiento de los resultados de prueba.

La figura 1 muestra una representación esquemática del dispositivo reivindicado.

5 El dispositivo reivindicado contiene una cámara controlada termostáticamente 1 fabricada con la capacidad de regulación de temperatura y llena de fluido. Existe la posibilidad de proporcionar diferentes tipos de control termostático incluyendo control termostático con agua y aire así como control termostático que implica el uso de gel; por supuesto, ha de tenerse en cuenta que el medio de prueba debe seguir siendo transparente a la radiación. Es preferible el control termostático con agua. Durante el control termostático, se mantiene una temperatura permanente. La cubeta 2 se coloca en el interior de dicha cámara 1. La cubeta 2 puede fabricarse con al menos un canal 3. Se coloca una muestra de medio de prueba en el canal 3. Una muestra de medio de prueba puede estar representada por fluido biológico de un mamífero (ser humano o animal), tal como plasma sanguíneo, sangre completa, plasma pobre en plaquetas o plasma rico en plaquetas. Además, la muestra puede contener mezclas de proteínas naturales, sintéticas o recombinantes purificadas y/u otras preparaciones/reactivos con actividad hemostática. La pieza de inserción 4 con un agente aplicado en su extremo inferior y que facilita que se inicie el proceso estudiado, por ejemplo, de coagulación, puede colocarse en dicha cubeta 2. Pueden usarse los siguientes agentes para facilitar que se inicie el proceso de coagulación: una proteína, el denominado factor tisular (tromboplastina) inmovilizado mediante diferentes medios sobre la superficie frontal de la pieza de inserción 4 o directamente sobre la superficie interior de la cubeta 2 en un lugar predefinido; así como otros agentes orgánicos tales como preparaciones de células y tejidos. También pueden usarse otros agentes trombogénicos, tales como vidrio, caolín, etc., como activador.

Una desventaja importante de los dispositivos conocidos a partir de los antecedentes de la técnica es la distorsión de los parámetros de monitorización provocada por la formación de burbujas de gas en la muestra así como en el fluido en el interior de la cámara controlada termostáticamente 1 durante el calentamiento. Con el fin de eliminar la desventaja, los autores propusieron dotar el dispositivo reivindicado de unos medios 5 de regulación y mantenimiento de presión estable durante la prueba. Con este fin, los medios 5 de regulación de presión se conectan con la cámara controlada termostáticamente 1. Los medios 5 de regulación de presión, en un caso particular de fabricación, pueden estar representados por una bomba de aire conectada a través de una válvula de retorno a la parte interior (sellada a presión) de la cámara controlada termostáticamente 1 y un sensor de presión que mide la presión en dicha cámara 1. Basándose en las lecturas del sensor de presión, la unidad de control (no mostrada en la figura 1) proporciona el control de la bomba de aire (la enciende/apaga). La bomba se conecta a la cámara controlada termostáticamente 1 a través de la línea de presión, por ejemplo formada por tuberías en las que se integra, impidiendo la válvula de retorno la liberación eventual de presión desde la cámara controlada termostáticamente 1 a través de la bomba de aire. La válvula puede ser pasiva mecánica o electromecánica, regulada por la unidad de control. Tras el sellado a presión de la cámara controlada termostáticamente 1 y bajo el mando de la unidad de control, la bomba se enciende para comenzar la presurización en la cámara 1; después de alcanzar la presión seleccionada como objetivo medida por el sensor de presión, la bomba se apaga. Durante la prueba, se mantiene la presión seleccionada como objetivo encendiendo/apagando la bomba cuando la presión disminuye por debajo del nivel seleccionado como objetivo.

Mientras se mantiene la presión seleccionada como objetivo, se proporciona el sellado a presión de la cámara controlada termostáticamente 1. El sellado a presión puede proporcionarse, por ejemplo, usando los medios de sellado 6 de la parte interior de la cámara controlada termostáticamente 1. Los medios de sellado 6 pueden estar representados por una cubierta, una copa, un obturador, o cualquier otro medio común. Al mismo tiempo, los medios de sellado 6 pueden ser mecánicos, cerrarse por el operario o de mando electromecánico por la unidad de control.

Además, la presión puede producirse directamente en la cubeta 2. Entonces, los medios 5 de regulación de presión proporcionan un suministro de presión a la cubeta 2, y la línea (tuberías) de presión se conectan con dicha cubeta.

Se estableció que es posible la eliminación de burbujas cuando se mantiene una presión en exceso con respecto a la atmosférica, preferiblemente de desde 0,2 hasta 0,5 atm, durante toda la prueba.

La cámara controlada termostáticamente 1 está equipada con una ventana transparente 7 a través de la que al menos un medio de iluminación 8 ilumina la muestra de prueba y el coágulo formado en la misma. Pueden usarse LED o cualquier otra fuente de radiación del rango espectral requerido (por ejemplo, lámparas con filtros ópticos) como medios de iluminación. Se capta la imagen del coágulo en crecimiento (dispersión de luz desde el coágulo) mediante los medios para el registro de imágenes 9, por ejemplo, una cámara digital equipada con una lente 10. Con el fin de mejorar la calidad de la imagen registrada (correlación señal/fondo) así como para monitorizar parámetros de coagulación adicionales en la cámara controlada termostáticamente 1, se proporciona la trampa luminosa 11. Dicha trampa luminosa 11 se usa para reducir la radiación de fondo. La radiación de fondo es toda la radiación excepto la dispersada en dirección a los medios para el registro de imágenes por el coágulo o cualquier otra estructura estudiada que pueda dispersar la luz. La trampa luminosa 11 puede fabricarse de diferentes maneras, entre otros formada por una geometría específica de las superficies interiores de la cámara controlada termostáticamente, en particular representada por un cono aplanado. También puede formarse confiriendo

características de absorción de luz a las superficies interiores de la cámara, por ejemplo, oscureciéndolas y haciendo que sean algo rugosas. La geometría y las características ópticas de la trampa luminosa 11 se determinaron de modo que proporcionasen una nueva reflexión y absorción repetidas de la radiación de fondo.

5 A su vez, los medios para el registro de imágenes 9 se conectan eléctricamente y de manera informativa con los medios 13 de procesamiento de los resultados de prueba, por ejemplo, un ordenador. Los medios de iluminación y los medios para el registro de imágenes se fabrican con la posibilidad de regulación por la unidad de control (no mostrada en la figura 1).

10 La aparición de sustratos cromogénicos, y más tarde fluorogénicos, permitió la obtención de nueva información sobre los principios de funcionamiento del sistema de coagulación. Cuando se añade dicho sustrato a la muestra de prueba que contiene una enzima proteolítica, esta última escinde una marca de señal del sustrato. La marca puede o bien cambiar la densidad óptica de la muestra de prueba (sustrato colorante) o bien fluorescer cuando se ilumina (sustrato fluorogénico). Es posible determinar la distribución espacial de la enzima proteolítica correspondiente basándose en la distribución espacial de la marca de señal usando las ecuaciones de tipo reacción-difusión-convección.

15 Cuando se usan sustratos fluorogénicos, el dispositivo reivindicado está dotado de al menos un medio de iluminación 12 adicional que ilumina la muestra del medio de prueba en determinados instantes de tiempo con la radiación de excitación con el fin de excitar la fluorescencia de la marca. Los medios de iluminación 12 proporcionan un suministro de radiación, preferiblemente en perpendicular a la pared de la cubeta 2 a través de elementos ópticos que dirigen, enfocan y proporcionan una corrección espectral de la iluminación, por ejemplo, usando el espejo así  
20 como los filtros de emisión 15 y de excitación 16, a través de la ventana 7 en la cámara controlada termostáticamente 1. Se usan fuentes de radiación UV, como LED de espectro UV, como medios de iluminación 12. El filtro de excitación proporciona la separación del espectro de fluorescencia de la marca del espectro de los medios de iluminación 12.

25 El dispositivo funciona de la siguiente manera. Se establece la temperatura en la cámara controlada termostáticamente 1 y se mantiene a un nivel fijo, y la cubeta 2 colocada en el interior de la misma se calienta de manera uniforme. Antes de la prueba, se coloca una muestra, por ejemplo plasma, en la cubeta 2. Cuando se ha llegado a la misma temperatura dentro del volumen completo de la muestra, y se han detenido las corrientes de convección en la misma, se coloca la pieza de inserción 4 en el interior de la cubeta de modo que se ponga el agente trombogénico aplicado en el extremo de dicha pieza de inserción 4 en contacto con la muestra y se inicie el  
30 proceso de coagulación estudiado. La cámara controlada termostáticamente 1 se cierra con los medios de presurización 6, y se crea una presión en exceso en la cámara usando los medios 5 de regulación de presión. Durante el estudio, la trampa luminosa 11 proporciona una absorción eficiente de la radiación que pasa detrás del plano de la cubeta 2 debido a la geometría y el comportamiento de superficie de la misma que proporcionan una nueva reflexión y absorción repetidas de la radiación de fondo de modo que la radiación reflejada no retrocede al  
35 área de registro de la cubeta 2 ni a la abertura de entrada de la lente 10. Se suministran las imágenes del coágulo que crece en el interior de la cubeta 2 a través de la ventana transparente 7 y la lente 10 a los medios para el registro de imágenes 9. Después de eso, se suministran imágenes digitalizadas a la memoria de los medios 13 para el procesamiento digital adicional de los resultados.

40 Si, por ejemplo, se añaden sustratos fluorogénicos a la muestra de prueba, esta última se ilumina en determinados instantes por los medios de iluminación 12 para excitar la fluorescencia de la marca, y se registra la distribución espacial de fluorescencia de la marca en la muestra por los medios para el registro de imágenes 9. Software desarrollado especialmente permite que la unidad de control de los medios de iluminación y los medios para el registro de imágenes enciendan los medios de iluminación 8 y/o 12 sólo durante un tiempo corto cuando se realiza el registro. Tal régimen de funcionamiento de los medios de iluminación reduce el efecto de fotodecoloración de la  
45 marca del sustrato. De manera simultánea a la iluminación de la marca del sustrato, la muestra de medio de prueba se ilumina por los medios de iluminación 8 para registrar parámetros ópticos de la muestra de prueba seleccionados del grupo que consiste en: la distribución espacial de la dispersión de luz, la distribución espacial de la transmisión de luz dentro de la muestra, o una combinación de las mismas. De ese modo, se registra la distribución espacial de los parámetros de coagulación sanguínea, en particular, la distribución espacial de fibrina. Ha de observarse que la  
50 longitud de onda de iluminación se selecciona según el espectro de excitación de la marca en el que caso en que se estudia la fluorescencia, o según el espectro de dispersión de luz y la sensibilidad de los medios para el registro de imágenes en el que caso en que se estudia la dispersión de luz.

55 Por tanto, el dispositivo reivindicado permite un estudio más preciso y detallado de todas las fases del proceso de coagulación en el tiempo y el espacio, aumentando la precisión y fiabilidad de las evaluaciones clínicas de las muestras de prueba en condiciones normales y patológicas diferentes.

**REIVINDICACIONES**

1. Dispositivo para la monitorización óptica de la coagulación espacial de la sangre y sus componentes en una muestra de un medio de prueba, comprendiendo el dispositivo:
- 5 una cámara controlada termostáticamente (1) fabricada con la capacidad de regulación de temperatura,  
un fluido que llena la cámara (1),  
una cubeta (2) para contener la muestra del medio de prueba que está ubicado dentro del fluido que llena la cámara (1),  
al menos un medio de iluminación (8) para iluminar la muestra del medio de prueba en la cubeta,  
10 unos medios para el registro de imágenes (9) de la muestra iluminada del medio de prueba contenido en la cubeta (2),  
caracterizado porque el dispositivo comprende además  
una trampa luminosa (11) formada por la geometría de las superficies interiores de la cámara controlada termostáticamente (1),  
15 y unos medios de regulación de presión (5) conectados de manera fluida con la cámara controlada termostáticamente (1) o la cubeta (2),  
mediante lo cual al menos una de la cámara controlada termostáticamente (1) o la cubeta (2) se sella de manera fluida excepto por la conexión a los medios de regulación de presión (5).
2. Dispositivo según la reivindicación 1, que comprende al menos otro medio de iluminación (12).
3. Dispositivo según la reivindicación 1, que comprende además elementos ópticos (14, 15, 16), que dirigen,  
20 enfocan y proporcionan una corrección espectral de la iluminación.
4. Dispositivo según la reivindicación 1, que comprende además una unidad de control para sincronizar el rendimiento del al menos un medio de iluminación (8), los medios para un registro de imágenes (9) y los medios de regulación de presión (5).
5. Dispositivo según la reivindicación 1, conectado además a unos medios (13) de procesamiento de los  
25 resultados de prueba.

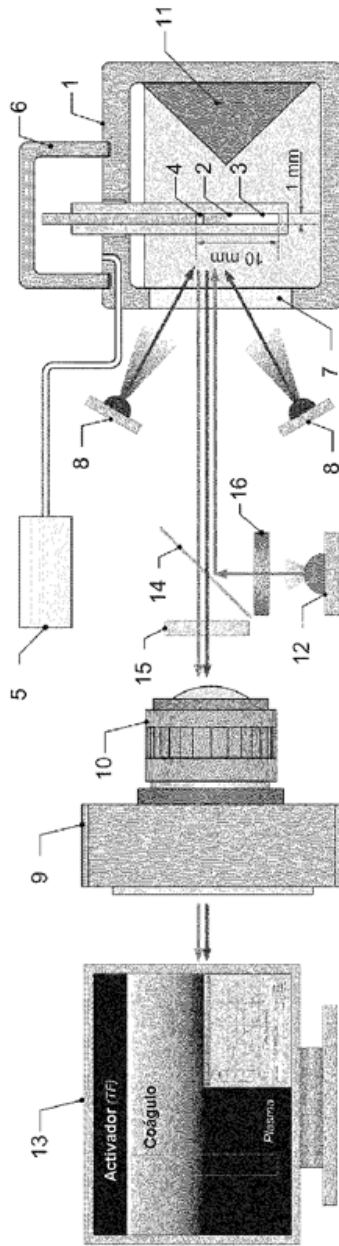


Fig.1