

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 662 027**

51 Int. Cl.:

G01N 15/02 (2006.01)
G01N 21/03 (2006.01)
G01N 21/05 (2006.01)
G01N 21/19 (2006.01)
G01N 21/53 (2006.01)
G01N 21/64 (2006.01)
G01N 21/51 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.01.2007** **PCT/CH2007/000025**
87 Fecha y número de publicación internacional: **24.07.2008** **WO08086632**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.01.2007** **E 07700123 (8)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.12.2017** **EP 2106541**

54 Título: **Procedimiento y aparato para la determinación de parámetros de contaminantes en una solución líquida**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
05.04.2018

73 Titular/es:
ARVINTE, TUDOR (100.0%)
Tiefweg 50
4125 Riehen, CH

72 Inventor/es:
ARVINTE, TUDOR

74 Agente/Representante:
DURAN-CORRETJER, S.L.P

ES 2 662 027 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

Procedimiento y aparato para la determinación de parámetros de contaminantes en una solución líquida

5 Descripción

La invención se refiere a un procedimiento de determinación de parámetros de contaminantes en una solución líquida, y a un aparato para llevar a cabo este procedimiento tal como está definido en las reivindicaciones independientes.

10 La evaluación de muestras analíticas por medio de un escáner de mesa o de otro dispositivo electro-óptico es conocida. En la patente WO 89/07255, se da a conocer la obtención de información acerca de productos químicos o de ensayos o procedimientos biológicos, en concreto el análisis de muestras de sangre, etc. por medio de un escáner de mesa. En la patente U.S.A. 2002/0168784, se da a conocer un sistema de diagnóstico que utiliza un
15 escáner de mesa que, especialmente, determina y almacena el resultado de ensayos de aglutinación. Las propiedades ópticas que se detectan son fluorescencia, color, dispersión de la luz o características de las muestras y de los aglutinados resultantes.

20 Para todos estos procedimientos conocidos, las cubetas de muestra, preferentemente en forma de placas de micro-titulación, son colocadas sobre la mesa del escáner, y expuestas a la luz incidente. Se ha descubierto que cuando se expone una muestra a un rayo láser se generan efectos ópticos que contienen información acerca de las propiedades de la muestra y que, mediante la exploración digital de los efectos ópticos, la información es almacenada y está disponible para su evaluación electrónica.

25 Por lo tanto, la invención está dirigida a un procedimiento según la reivindicación 1 y a un aparato para llevar a cabo este procedimiento tal como está definido en la reivindicación independiente 9. A continuación, se describen realizaciones preferentes de la invención, haciendo referencia a los dibujos adjuntos. Se muestra en

- 30 la figura 1, una disposición para analizar un vial colocado horizontalmente,
- la figura 2, una disposición para analizar un vial colocado verticalmente,
- la figura 3, una disposición de múltiples láseres para una muestra,
- 35 la figura 4, una disposición para varias muestras y láseres,
- la figura 5, el análisis de varias muestras con un láser,
- 40 la figura 6, la espectroscopía de fluorescencia además de excitación mediante láser,
- la figura 7, el análisis en línea de agregados en viales,
- la figura 8, el análisis en línea de agregados en jeringas,
- 45 la figura 9, el análisis en línea de agregados en jeringas colocadas horizontalmente,
- la figura 10, una disposición de espectrofluorímetro,
- 50 la figura 11, un dispositivo de flujo pasante para cromatografía de líquidos,
- la figura 12, un dispositivo de flujo pasante para cromatografía de líquidos con detección de fluorescencia,
- la figura 13, un dispositivo de flujo pasante como parte de un detector de dispersión,
- 55 la figura 14, un dispositivo que contiene un espectrómetro de fluorescencia y de UV para ser colocado sobre la superficie de un escáner.

60 En todas las realizaciones de la invención que se describen a continuación, se utiliza un rayo de luz altamente enfocado tal como el rayo de láseres, nano-LED, etc. para la excitación y la visualización de partículas en soluciones. La utilización de un rayo láser junto con la ampliación de la imagen mediante el escáner permite la visualización y el análisis de partículas que dispersan el rayo láser en la solución. Se pueden determinar parámetros tales como el tamaño, la morfología y el número de partículas de un tamaño definido tales como agregados de proteínas y/o de lixiviados en un volumen dado. Se prefieren los láseres rojos para la detección de partículas más grandes, mientras que la utilización de láseres verde y azul permite la detección de partículas más pequeñas.

65

Los recipientes -1- tales como viales, cubetas, placas de múltiples pocillos tales como las placas de micro-titulación, jeringas, etc. que contienen soluciones de muestra para ser analizadas están posicionados sobre o adyacentes a la superficie de un escáner -2- de mesa y son expuestos a un rayo -4- láser generado por un láser -3- situado al lado del escáner. Tal como se muestra en la figura 1, un vial está colocado horizontalmente sobre la mesa del escáner y el rayo -4- emitido por el láser -3- entra en el vial por su parte inferior. Si la solución contenida en el vial está contaminada con partículas, el rayo láser se dispersa. La dispersión es realizada por cada partícula individual en la solución. El efecto óptico generado por la dispersión del rayo láser o, en otras palabras, la imagen del rayo en la solución es explorada digitalmente, lo que da como resultado la imagen -5- que se muestra bajo el escáner. La ampliación electrónica da como resultado una imagen aumentada -6- que muestra partículas individuales. Por medio de procedimientos conocidos de procesamiento de imagen de este tipo, las partículas pueden ser analizadas mediante recuento, clasificación por tamaño, morfología, distribución de tamaño, etc.

Tal como se muestra en la figura 2, los viales -1- pueden estar asimismo en posición vertical sobre la mesa del escáner -2-. En este caso, el rayo láser -4- emitido por el láser -3- entra en la solución a través de la pared lateral del vial.

Para investigaciones detalladas, está dispuesto un conjunto de dos o más láseres -3- para emitir rayos -4-, preferentemente de diferente color, en o a través del recipiente -1- de muestra, tal como se muestra en la figura 3.

Tal como se muestra en la figura 4, varios recipientes -1- que pueden ser asimismo de diferentes tipos, tales como viales, cubetas, etc. están dispuestos en una cámara -7- de muestra en forma de un marco posicionado sobre la superficie de un escáner -2-. Un conjunto de láseres -3- emite rayos láser -4- para el análisis simultáneo de viales o cubetas -1- de muestra situados en la cámara de muestra. En la figura 5, se muestra una posibilidad alternativa en la que varios viales -1- posicionados en la superficie de un escáner -2- están expuestos simultáneamente a un rayo láser -4-. Estas disposiciones permiten el análisis simultáneo de un gran número de muestras.

Tal como se muestra en la figura 6, la utilización de excitación por láser se puede combinar con espectroscopía de fluorescencia. Como en los ejemplos descritos anteriormente, un rayo láser -4- emitido por un láser -3- es dirigido a través de un recipiente -1- de muestra posicionado en la superficie del escáner -2-. Simultáneamente, la luz de excitación -8-, que puede ser transmitida por fibra óptica desde un espectrofluorímetro, es guiada hacia la muestra, y la luz de fluorescencia es recibida por un detector que puede ser de fibra óptica para el espectrofluorímetro.

Tal como se muestra en la figura 7, una realización preferente de la invención es útil para la detección continua en línea de agregados en viales que contienen, por ejemplo, soluciones de productos farmacéuticos. Los viales -1- que contienen un producto se están desplazando a lo largo de una línea de producción -10-, indicada esquemáticamente. La dirección del movimiento se muestra con flechas. En una estación de medición --11, los viales pasan frente a la superficie del escáner -12- posicionada verticalmente. Mientras los viales pasan por el escáner, están expuestos a un rayo -4- emitido por un láser -3- situado en el lateral de la línea.

La figura 8 muestra una utilización similar para la detección de partículas en jeringas -13- precargadas que pasan por una estación de medición -11- similar, donde son expuestas a un rayo -4- emitido por un láser -3-. El rayo láser -4- que se hace visible mediante materia en partículas en la solución es explorado mediante el escáner -12- dispuesto verticalmente. Si se detectan partículas tales como agregados proteicos y/o elementos capaces de ser lixiviados, los viales o las jeringas son separados de manera automática.

Tal como se muestra en la figura 9, las jeringas 13 pueden ser transportadas asimismo sobre una correa -14- que se desplaza sobre la superficie del escáner -2-. Un láser -3- está colocado en el lado de la correa móvil para emitir un rayo -4- que pasa a través de la solución en la jeringa.

La figura 10 muestra el equipo a introducir en el soporte -15- de la cubeta para medir la fluorescencia. Al igual que en la estación de medición para el análisis en línea de los productos, un pequeño escáner vertical está dispuesto al lado de la superficie que sostiene la muestra. Un láser está posicionado para emitir un rayo paralelo a la superficie del escáner. Una fuente de luz -16- de excitación de la fluorescencia está dispuesta opuesta al láser, y un detector -17-, que puede ser fibra óptica que transmite la luz de fluorescencia a un espectrofluorímetro, está dispuesto desplazado angularmente con respecto al rayo de excitación. Un equipo similar de este tipo puede ser adaptado a otros procedimientos espectroscópicos tales como UV-VIS, dicroísmo circular, infrarrojo o espectrometría Raman.

La excitación de fluorescencia frecuentemente genera un efecto visible en la muestra que puede ser registrado asimismo por el escáner, incluso sin un rayo láser. Por consiguiente, la combinación de un escáner con un equipo de medición de fluorescencia es asimismo un aspecto de la presente invención.

Una realización adicional de la invención mostrada en la figura 11 es un dispositivo de flujo continuo -18- para la caracterización en línea de agregados en diferentes procedimientos cromatográficos líquidos tales como: exclusión por tamaño (SEC - Size ExClusion, en inglés), cromatografía líquida de alta presión (HPLC - High Pressure Liquid Chromatography, en inglés), fraccionamiento por flujo de campo (FFF - Field Flow Fractionation, en inglés), cromatografía de intercambio iónico, enfoque isoeléctrico o electroforesis capilar en zona (CZE - Capillary Zone

Electrophoresis, en inglés). La figura 12 muestra la misma disposición con un equipo adicional de medición de fluorescencia, tal como en la realización mostrada en la figura 10.

5 Además de la detección y la visualización de las partículas por el escáner, el equipo en línea puede incorporar otras detecciones tales como fluorescencia, UV, dispersión estática o dinámica de la luz.

10 La figura 13 muestra la utilización de un láser y de un escáner como parte de un detector de dispersión -19- dinámico o estático de la luz conocido, que tiene un capilar -20- de flujo continuo. La utilización del escáner visual permite el análisis de partículas grandes. El escáner -2- está posicionado debajo del detector de dispersión -19- de la luz, mientras que el láser está dispuesto en un lado del mismo. El sistema es especialmente útil para técnicas de cromatografía, tales como el fraccionamiento por flujo de campo.

15 El dispositivo mostrado en la figura 14 es básicamente una caja -21- para ser colocada en un escáner -2-. Tiene una abertura -22- para introducir una cubeta -23- de muestra. La caja contiene un láser -24- dispuesto para dirigir un rayo a través de la muestra. El rayo láser -25- está atravesando la muestra en paralelo a la parte larga de la cubeta, pero puede ser dirigido asimismo bajo un ángulo, tal como diagonal, etc. Asimismo, contenida y dispuesta en el lado de la cubeta, se encuentra una fuente de luz -26- que emite luz de excitación de fluorescencia, tal como desde un espectrofluorímetro y una luz monocromática UV-Vis. Por encima de la cubeta, está posicionado un detector -27- de emisión de fluorescencia. Y en el lado opuesto a la fuente de luz está dispuesto un detector -28- de absorción de UV-Vis. Con pequeñas adaptaciones, este dispositivo podría ser utilizado, asimismo, por supuesto, para placas de múltiples pocillos.

20

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la determinación de parámetros de partículas contaminantes individuales en un volumen dado de una solución líquida en un recipiente (1), por medio de un escáner (2) de mesa, que comprende las etapas de
- 5 - colocar el recipiente (1) con la solución en su interior o adyacente a la mesa del escáner (2) de mesa,
- guiar un rayo láser (4) a través del recipiente (1) y de la solución en su interior,
- 10 - explorar digitalmente el recipiente (1) con la solución en su interior, mientras se expone al rayo láser (4) para excitar y visualizar las partículas contaminantes individuales en la solución,
- generar una imagen de los efectos ópticos generados por las partículas contaminantes individuales contenidas en la solución, y de la dispersión de la luz láser en base a los parámetros de las partículas contaminantes individuales, incluido el tamaño, la morfología y el número de partículas contaminantes individuales de un tamaño definido, y
- 15 - analizar las partículas mediante el procesamiento de la imagen.
2. Procedimiento, según la reivindicación 1, **caracterizado por que** varios rayos láser son guiados hacia la solución.
- 20 3. Procedimiento, según la reivindicación 2, **caracterizado por que** los rayos láser son de diferente color.
4. Procedimiento, según la reivindicación 1, **caracterizado por que** un rayo láser es dirigido simultáneamente a través de varios recipientes con solución en su interior.
- 25 5. Procedimiento, según la reivindicación 1, **caracterizado por que** la detección de fluorescencia se combina con la excitación mediante láser.
- 30 6. Procedimiento, según la reivindicación 1, **caracterizado por que** el contenido de los recipientes es analizado en línea.
7. Procedimiento, según la reivindicación 1, **caracterizado por que** la excitación mediante láser es utilizada en una disposición de flujo pasante.
- 35 8. Procedimiento, según la reivindicación 7, **caracterizado por que** la disposición de flujo pasante forma parte de un sistema de cromatografía de líquidos.
9. Aparato para llevar a cabo los procedimientos, según las reivindicaciones anteriores, que comprende una fuente de luz (3) posicionada para guiar un rayo láser (4) a través de una solución líquida en un recipiente (1) y un escáner (2) de mesa dispuesto en una posición relativa con respecto a la solución líquida para explorar el efecto óptico generado por las partículas contaminantes individuales que dispersan la luz láser en la solución líquida.
- 40

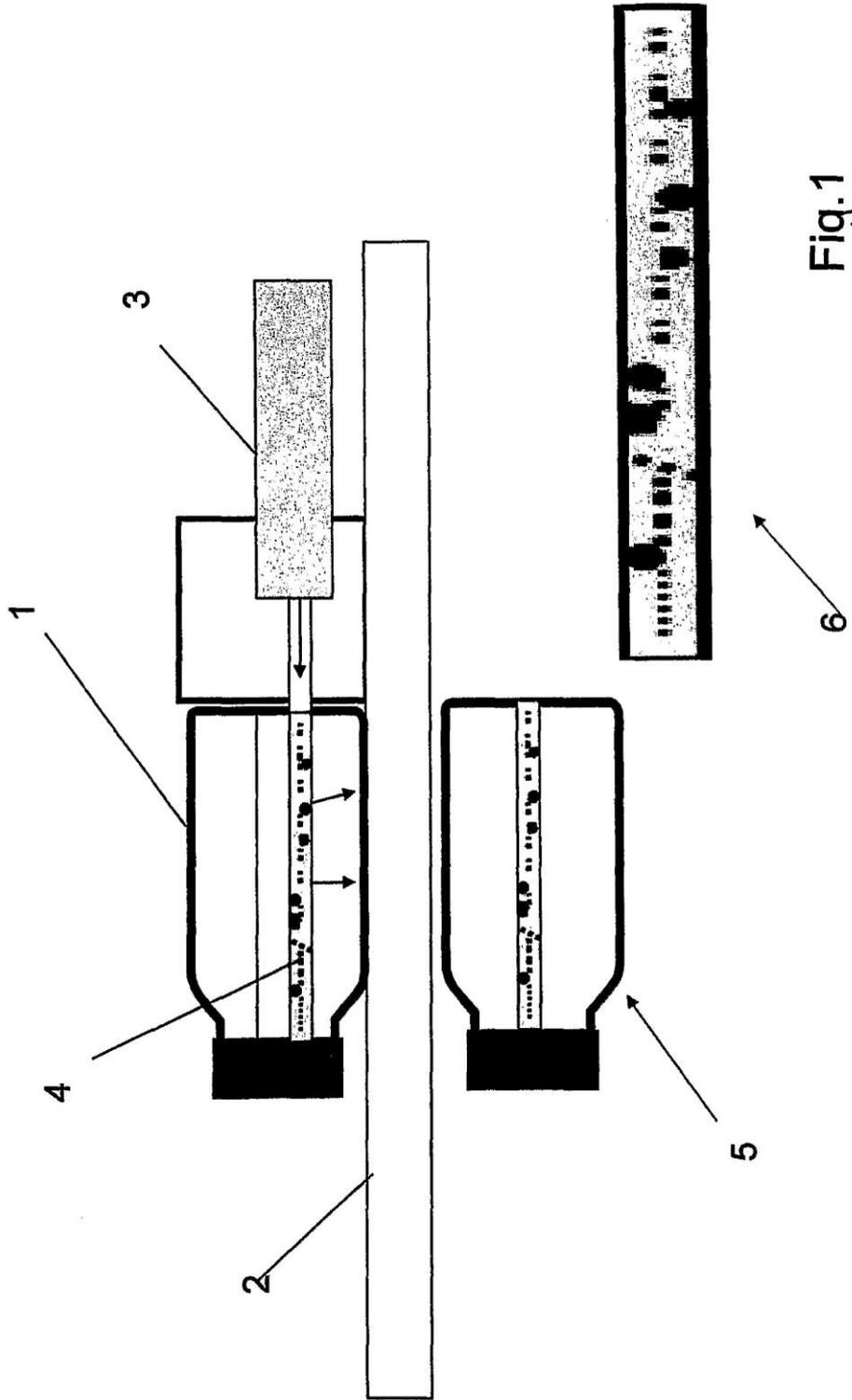


Fig.1

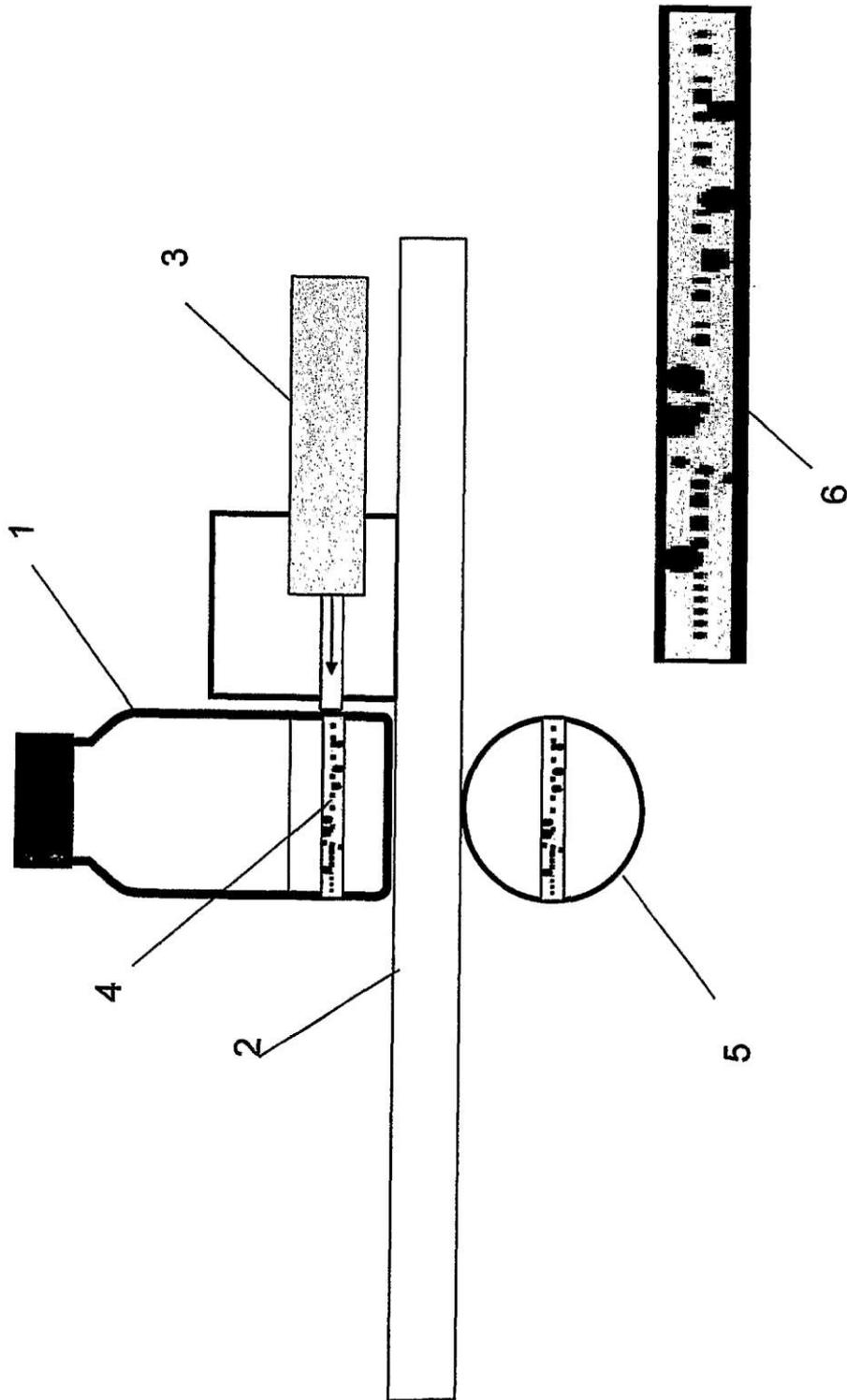


Fig.2

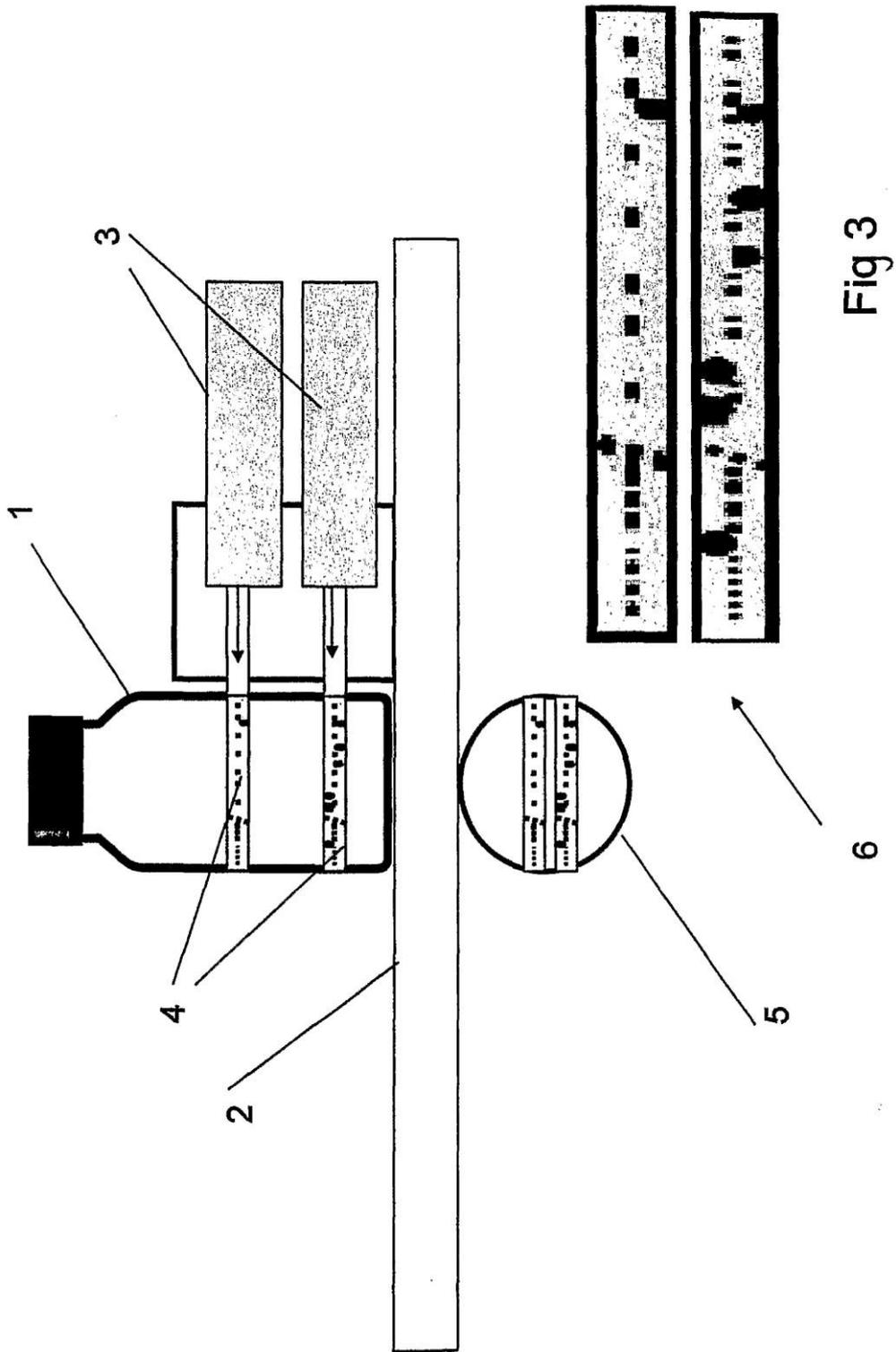


Fig 3

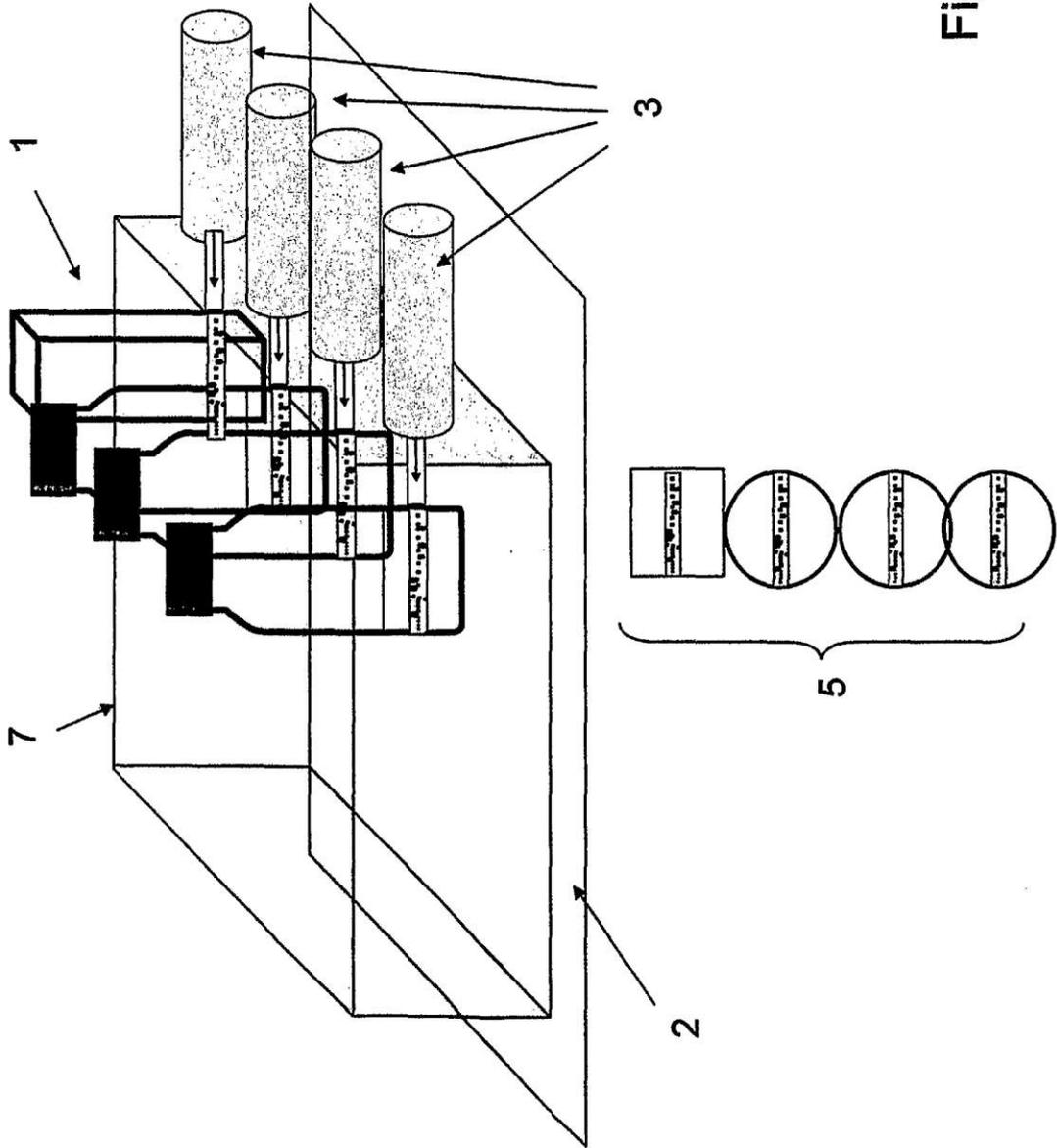


Fig. 4

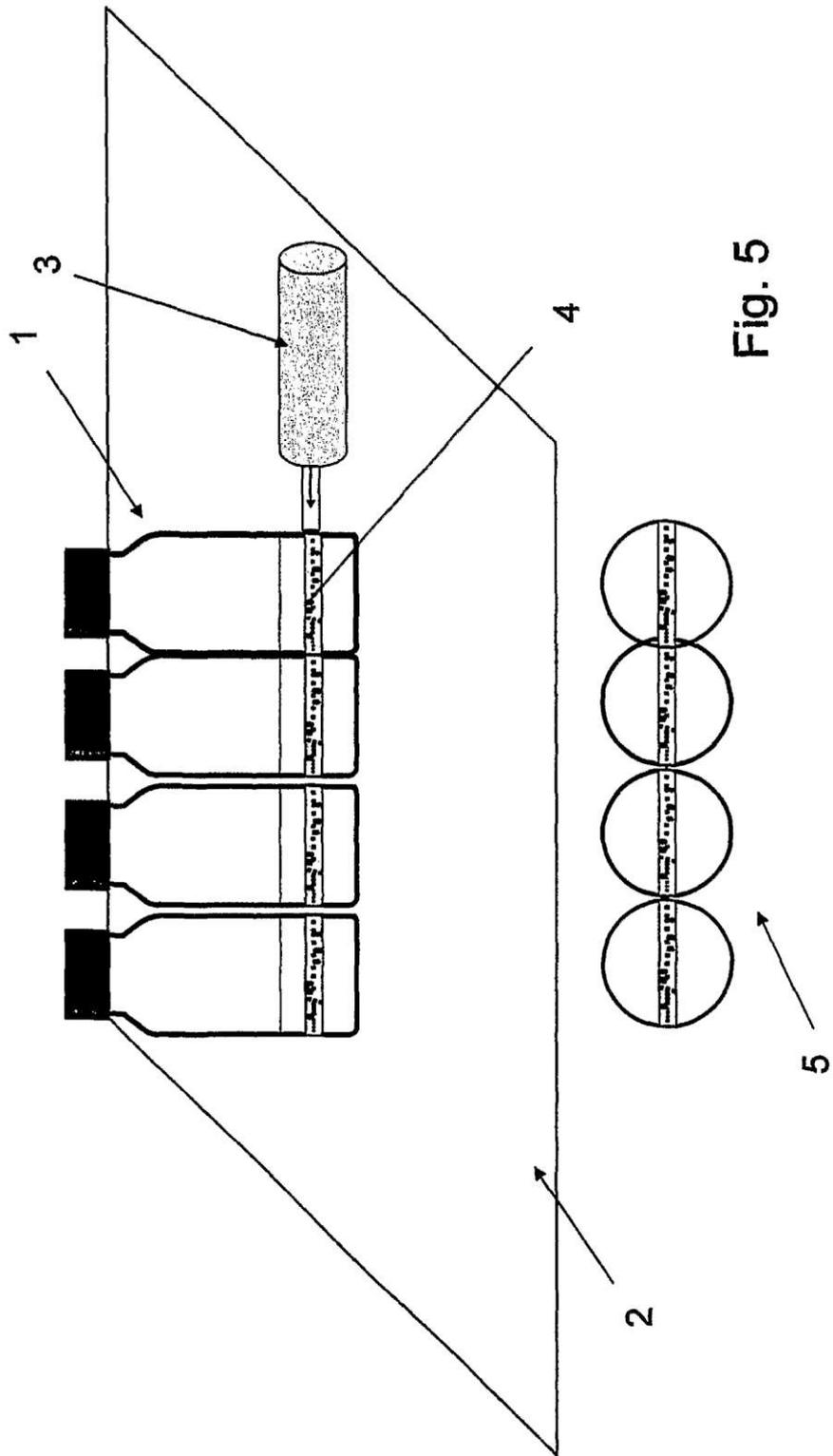


Fig. 5

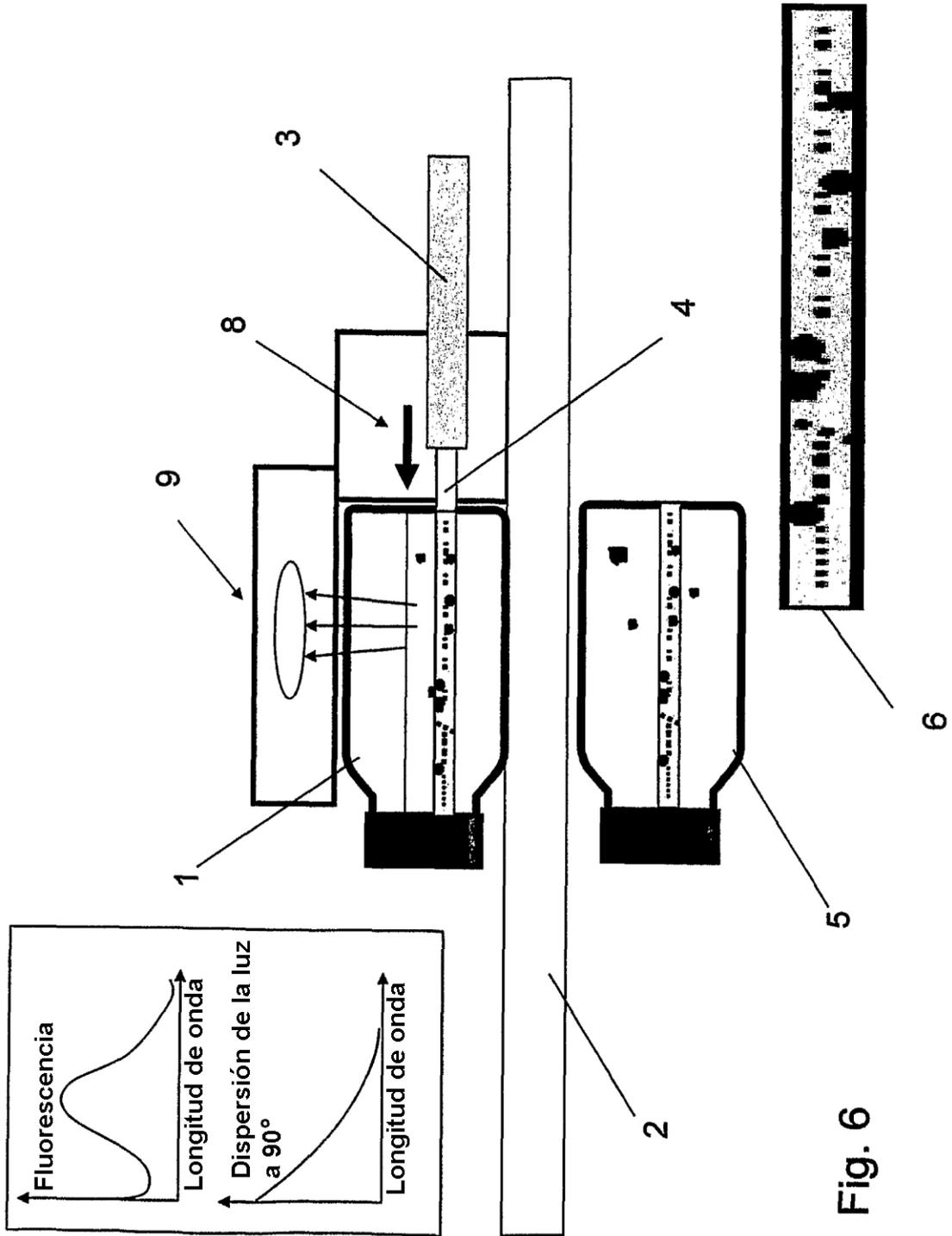


Fig. 6

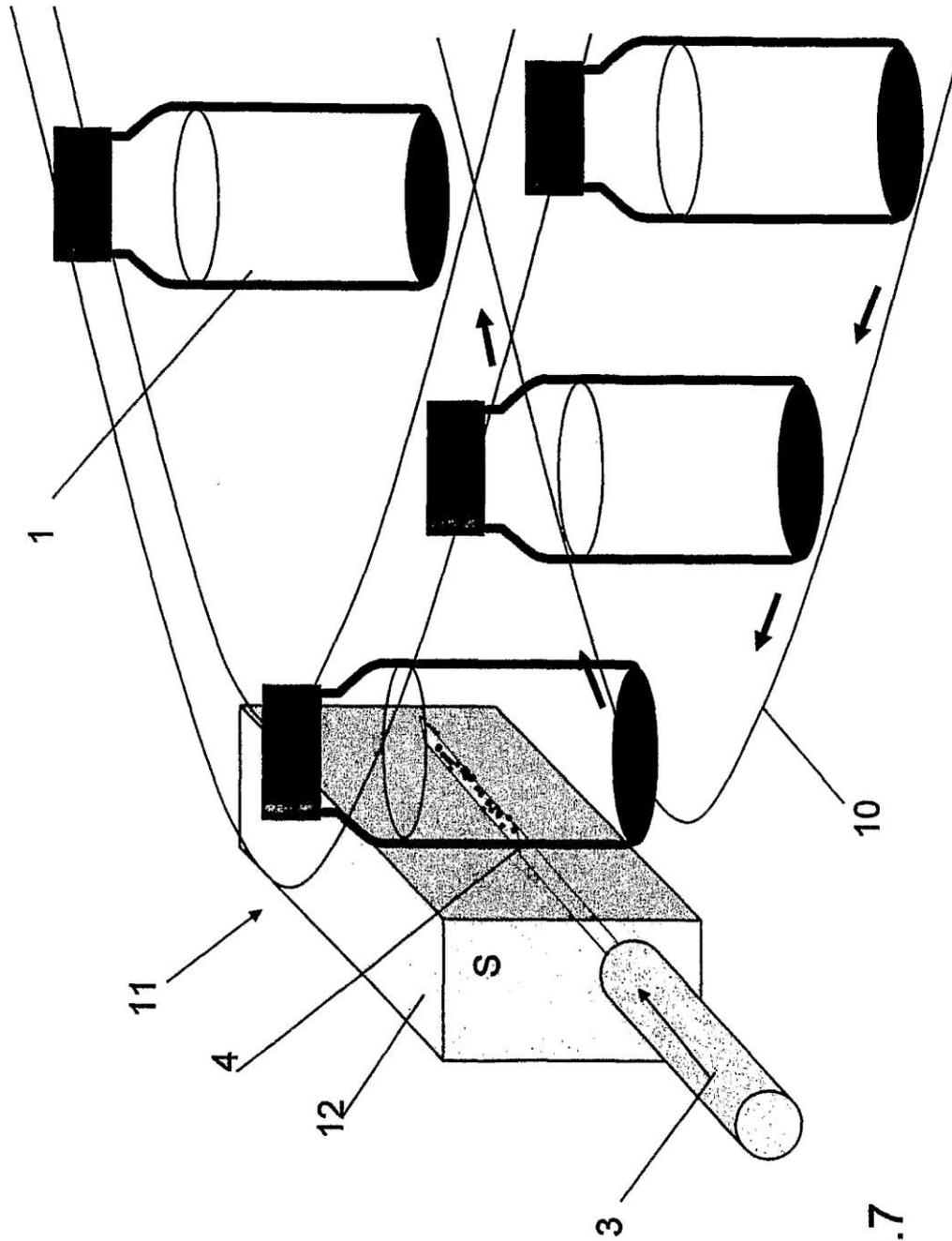


Fig.7

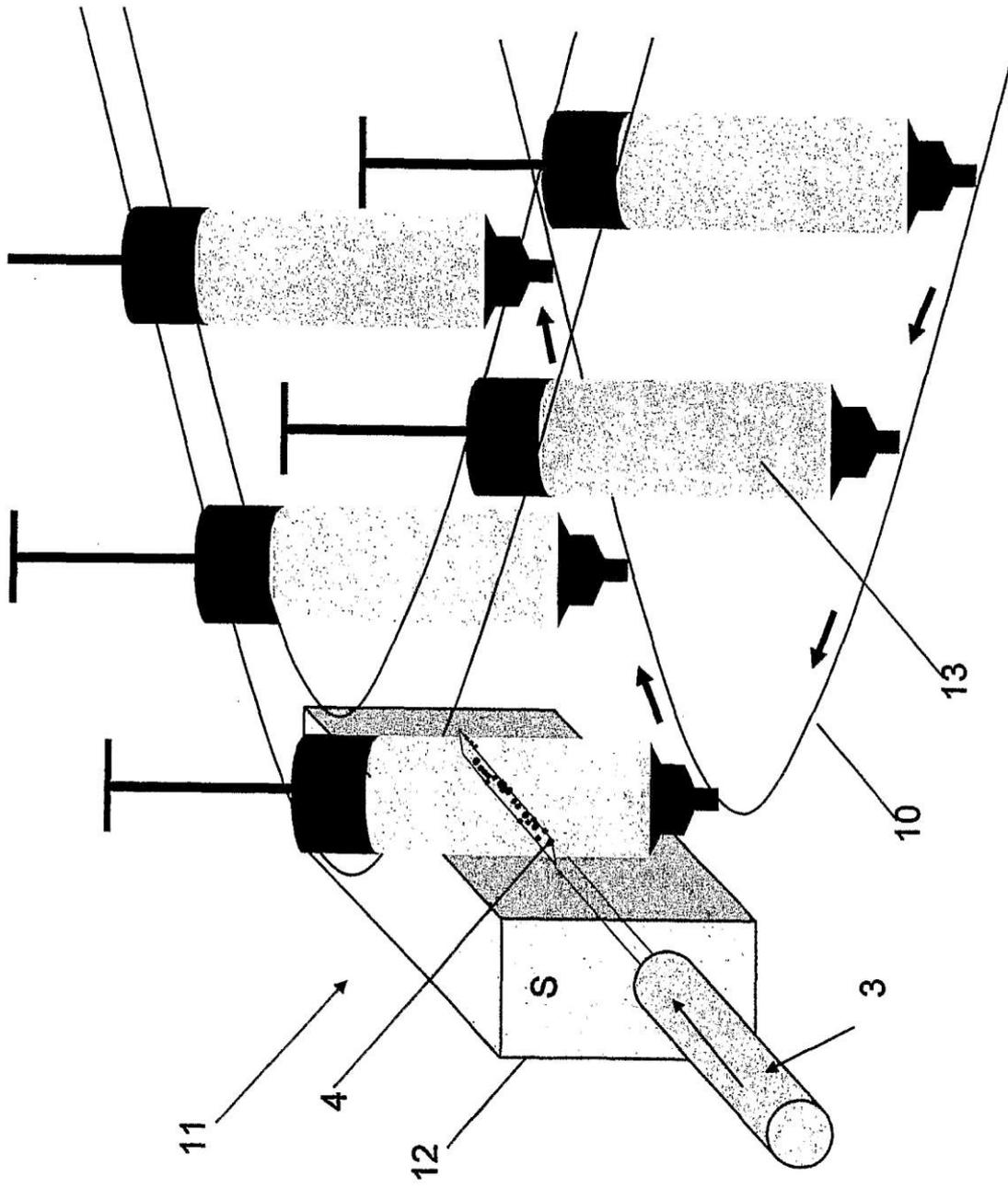


Fig.8

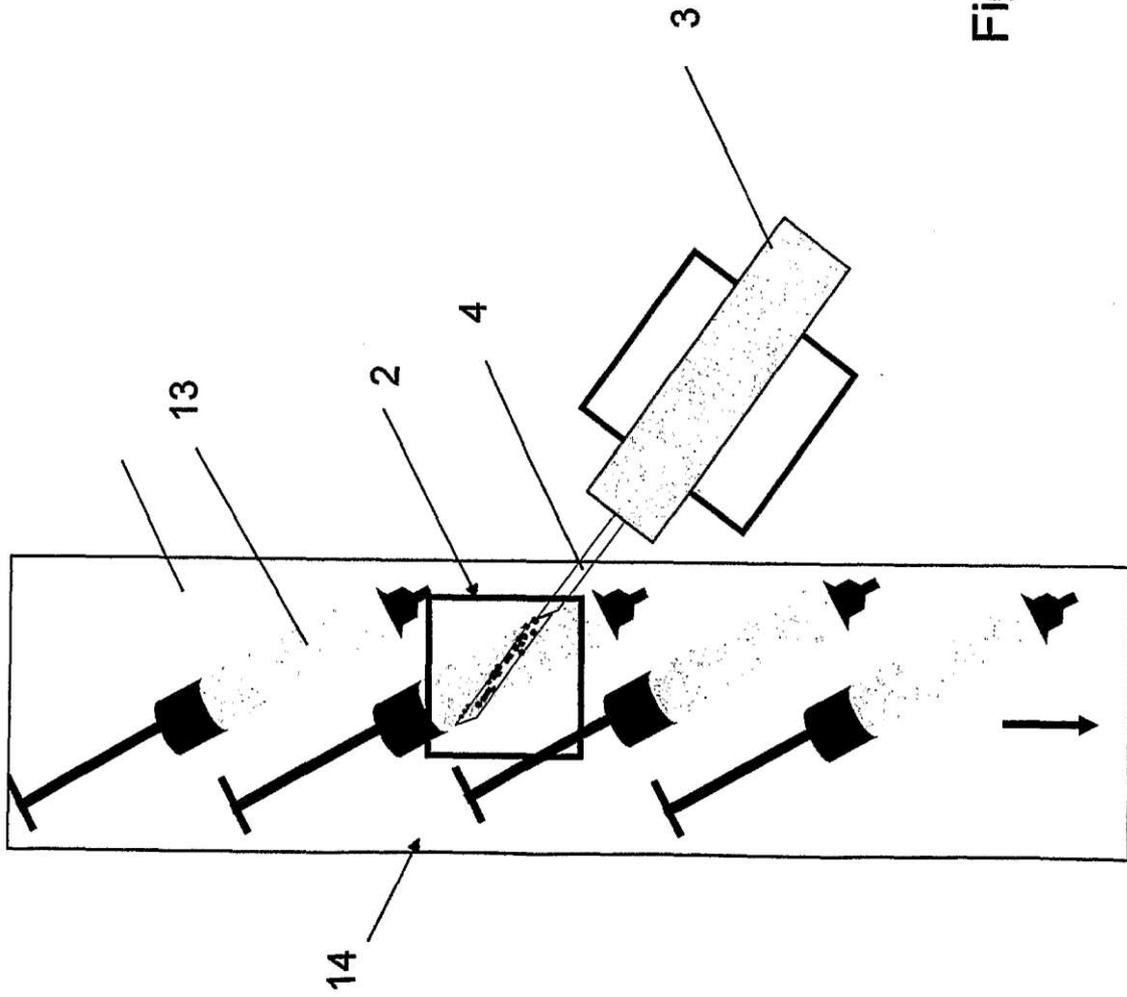


Fig. 9

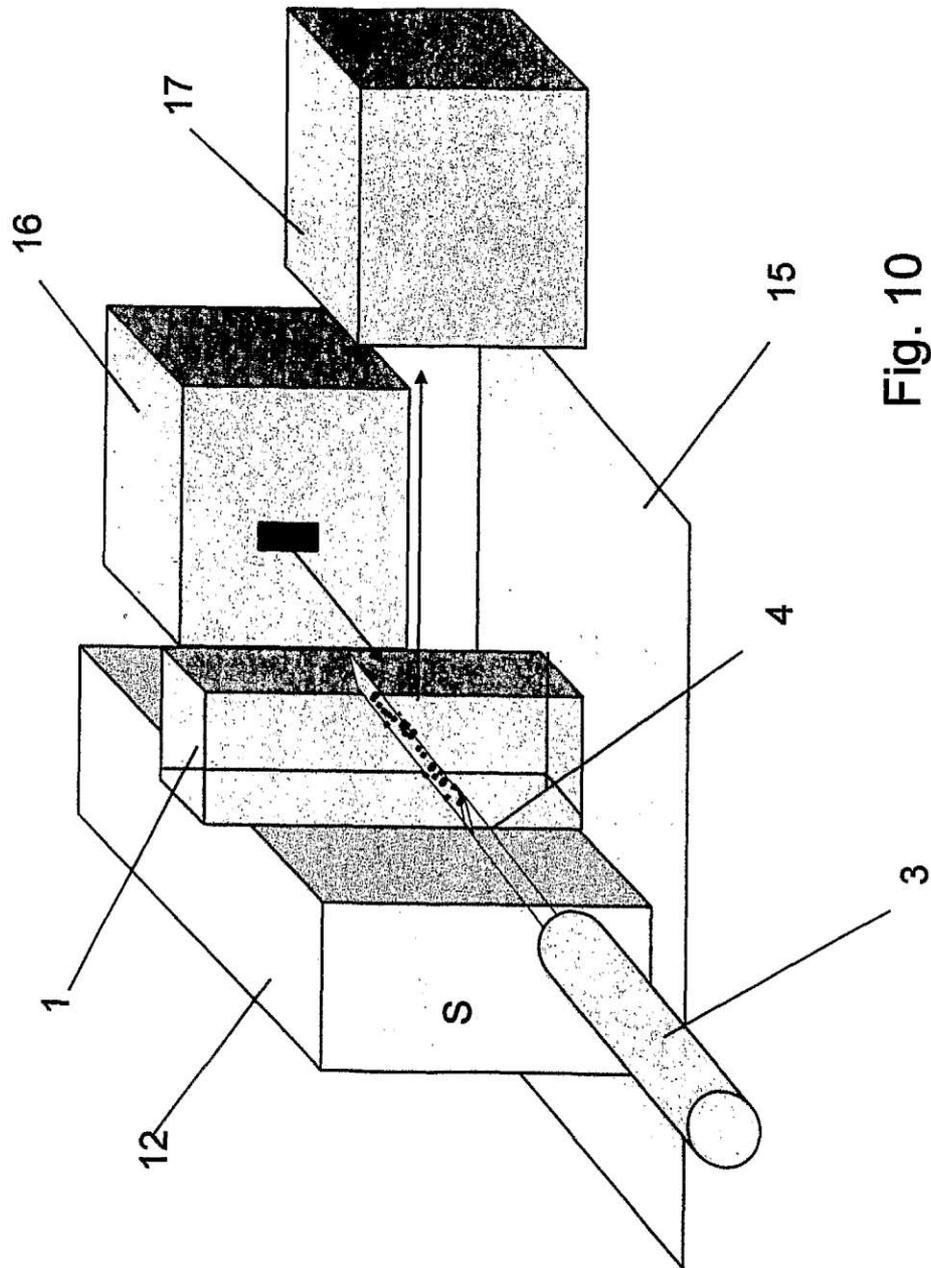


Fig. 10

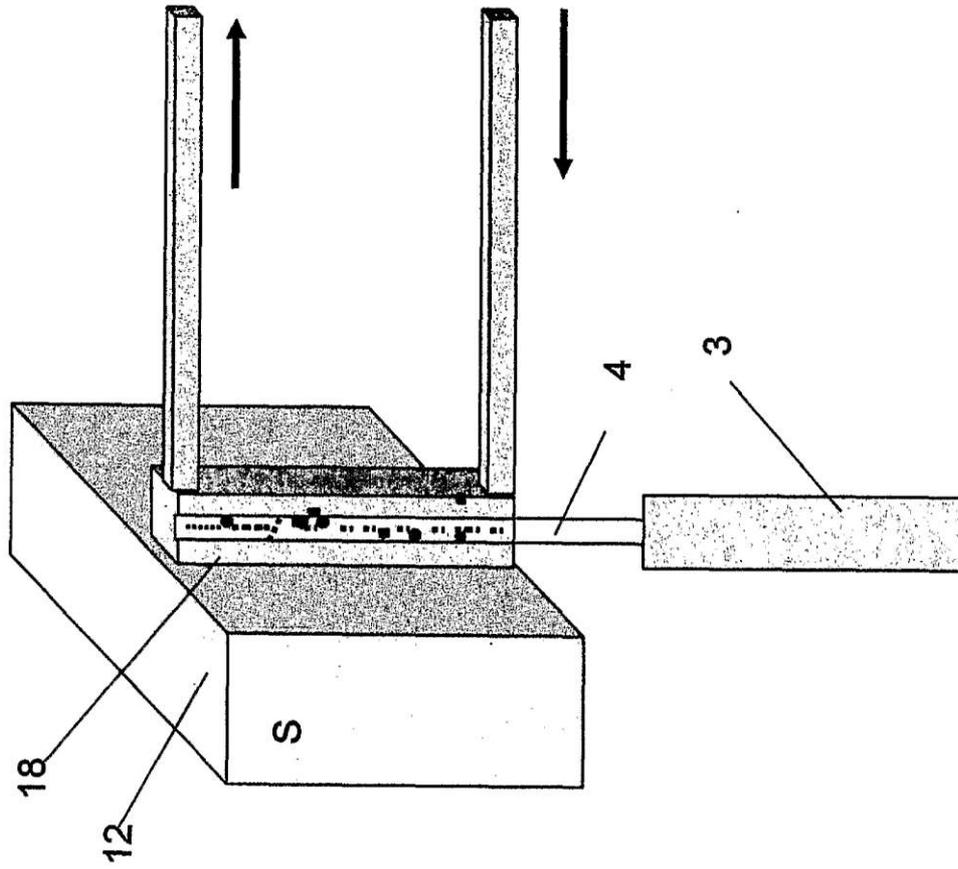


Fig. 11

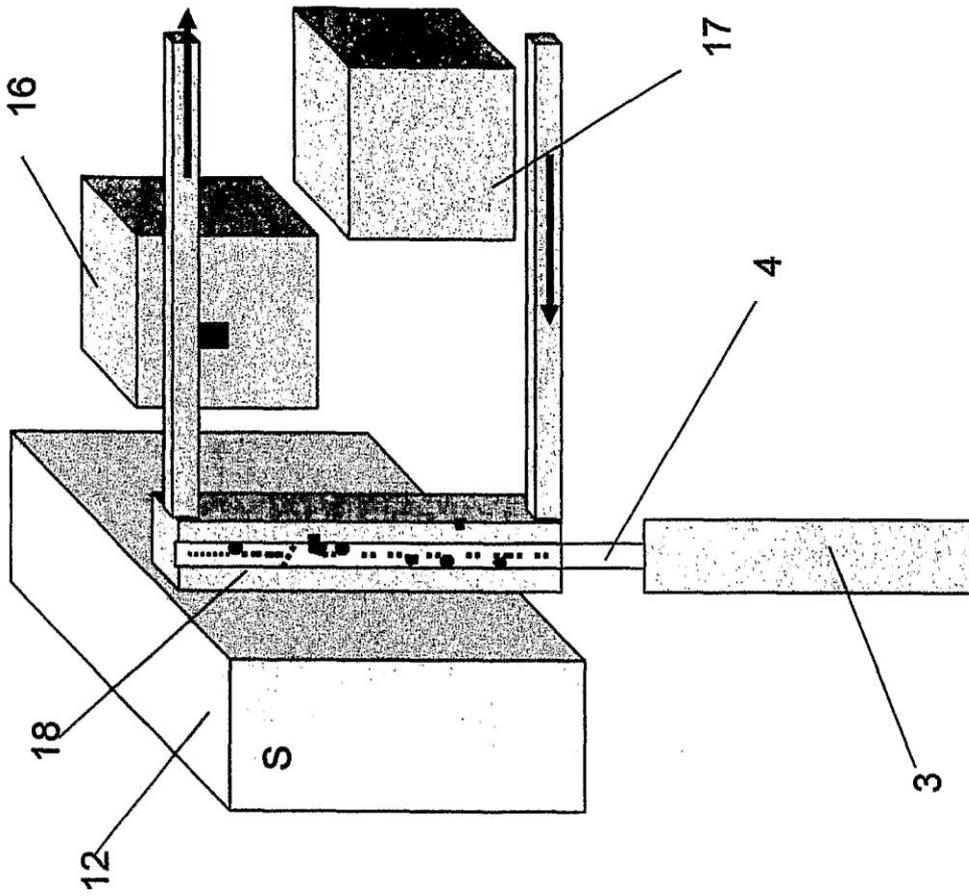


Fig.12

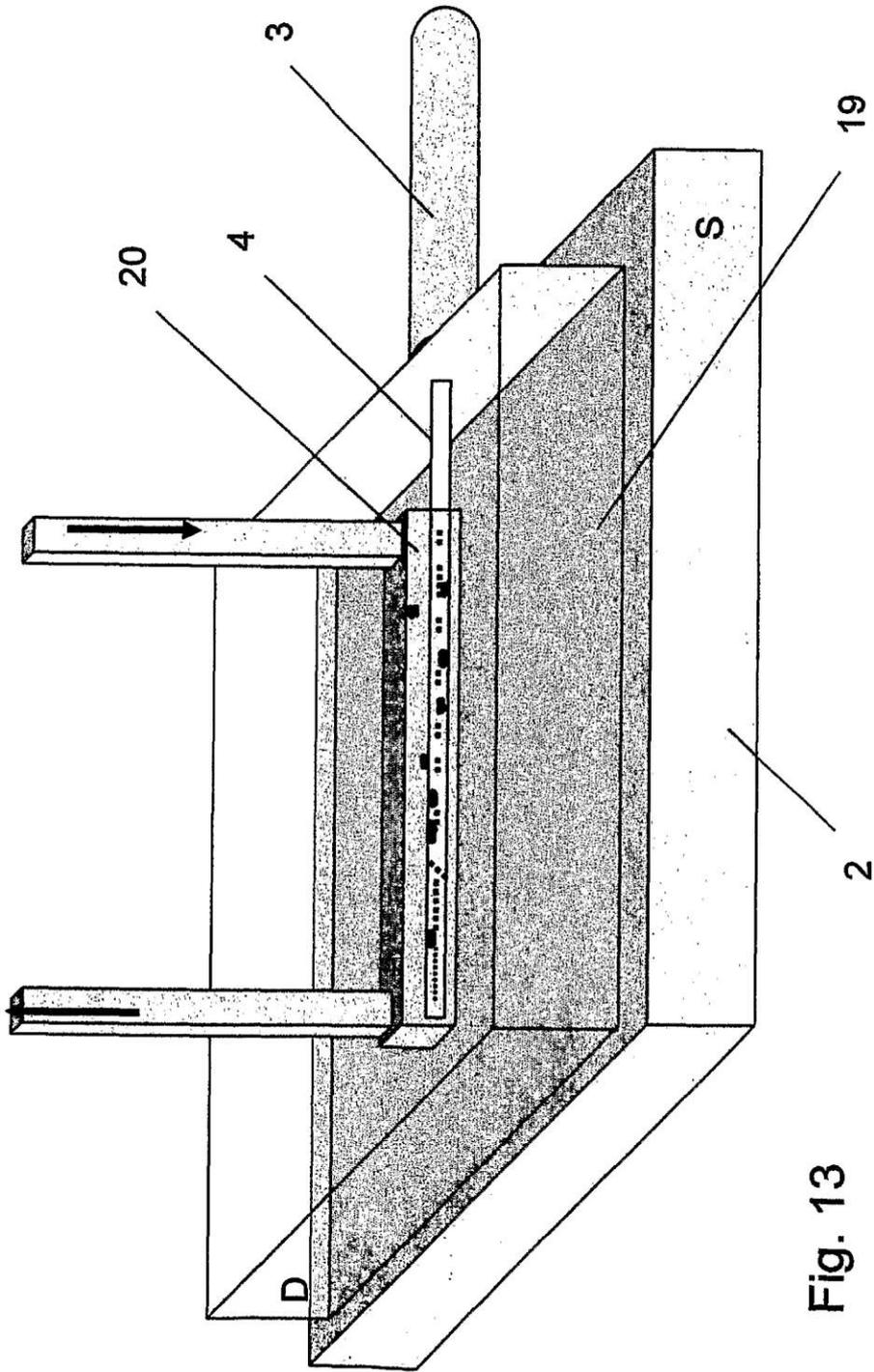


Fig. 13

