

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 695 023**

51 Int. Cl.:

A61B 5/053 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.06.2006 PCT/GB2006/002038**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.12.2006 WO06129116**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.06.2006 E 06744092 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.08.2018 EP 1885245**

54 Título: **Aparato para medir la impedancia eléctrica de muestras de tejido**

30 Prioridad:

03.06.2005 GB 0511323

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

28.12.2018

73 Titular/es:

**ZILICO LIMITED (100.0%)
The Medtech Centre, Rutherford House, Pencroft
Way, Manchester Science Park
Manchester M15 6SZ, GB**

72 Inventor/es:

**BROWN, BRIAN HILTON y
TIDY, JOHN, ANTHONY**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 695 023 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

Aparato para medir la impedancia eléctrica de muestras de tejido

La presente invención proporciona un aparato para la medición de la impedancia eléctrica de una muestra de tejido.

5 Se sabe que ciertas condiciones médicas pueden ser monitoreados mediante la medición de la impedancia del tejido de un paciente. Esto se puede hacer aplicando electrodos al tejido a través del cual puede pasar una corriente de bajo voltaje a través del tejido. Se conoce el uso de esta técnica para detectar el crecimiento celular anormal que puede ser indicativo de un tumor. La espectroscopia de impedancia eléctrica se ha utilizado para identificar cambios premalignos en muestras de tejido, especialmente para identificar la fase precancerosa del cáncer cervical, conocida como neoplasia intraepitelial cervical (CIN).

10 Las mediciones de impedancia pueden usarse para detectar otras afecciones de un paciente. Por ejemplo, el inicio del parto está acompañado por cambios en la impedancia del tejido que pueden ser identificados por tales mediciones.

15 La espectroscopia de impedancia eléctrica mide los espectros de impedancia eléctrica de los tejidos superficiales, tales como por ejemplo el epitelio cervical mediante la colocación de una sonda eléctricamente conductor en contacto con la muestra de tejido. Los tejidos biológicos tienen una impedancia eléctrica que depende de la frecuencia de la corriente que pasa a través del tejido. Los tejidos biológicos contienen una serie de componentes, como un núcleo y un citoplasma que tienen propiedades resistivas y capacitivas. Se sabe que en tejidos cancerosos y precancerosos hay un cambio significativo en el tamaño de los núcleos celulares, en la forma de las células y en la disposición de las células que forman el tejido. Estos cambios afectan la impedancia eléctrica de la muestra de tejido y, por lo tanto, la tomografía de impedancia eléctrica se puede utilizar para detectar cambios significativos en la estructura celular y, por lo tanto, diagnosticar a los pacientes que padecen CIN.

20 La magnitud de la impedancia eléctrica y la dependencia de la impedancia eléctrica de la frecuencia de una muestra de tejido se han encontrado para ser indicativa de la composición del tejido. Se ha encontrado que diferentes estructuras tisulares están asociadas con diferentes bandas de frecuencia dentro de un espectro de impedancia eléctrica.

25 Se ha encontrado que en las frecuencias bajas (menos de aproximadamente 1 kHz) la corriente es incapaz de pasar a través de las células debido a la capacitancia de la de membrana celular y la acumulación de carga se produce en grandes interfaces de membrana. A frecuencias intermedias, como en la región de aproximadamente 1 kHz a 1 MHz (también conocida como región de dispersión β), las estructuras celulares son el principal determinante de la impedancia eléctrica del tejido y la corriente comienza a penetrar en las membranas celulares. Sin embargo, a frecuencias más altas (más de aproximadamente 1 MHz), la corriente puede pasar a través de las células y los núcleos y, a frecuencias aún más altas (> 1 GHz), la estructura molecular es el factor determinante que contribuye a la impedancia eléctrica de la muestra de tejido.

30 Dentro de la parte inferior del rango de dispersión β , la corriente de baja frecuencia puede ser considerada que pasa a través del espacio extracelular dentro de la muestra de tejido. La corriente pasa alrededor de las células y la resistencia al flujo de la corriente dependerá, por lo tanto, de la separación de las células y de cómo se disponen las células. A frecuencias más altas, sin embargo, la corriente puede penetrar las membranas celulares y pasar a través de los espacios tanto intracelulares como extracelulares. Por lo tanto, la corriente pasará a las células y la resistencia al flujo de corriente estará determinada por el volumen intracelular y posiblemente el tamaño del núcleo.

35 Se sabe que, mediante la medición de los patrones de corriente eléctrica producida por una muestra de tejido sobre una gama de frecuencias, y la aplicación de un procedimiento de modelado inverso, parámetros eléctricos que resultan de la estructura del tejido pueden determinarse. La resistencia intracelular de una muestra de tejido dada se ha visto afectada significativamente por los tamaños relativos del núcleo y la célula. Por lo tanto, se ha encontrado que la impedancia eléctrica de las muestras de tejido se puede usar para distinguir entre tejidos con diferentes relaciones de volumen nuclear respecto al volumen de citoplasma. Las muestras de tejido que tienen una mayor proporción de volumen nuclear respecto al volumen de citoplasma pueden ser indicativos de tejidos precancerosos. La aplicación de mediciones de impedancia eléctrica usando una sonda que lleva cuatro electrodos en una cara final en la citología cervical se describe en Electronics Letters, 36 (25) 2060-2062 y en The Lancet, 355: 892-95.

40 Por ejemplo, se sabe que en los tejidos cervicales los grandes cambios en las etapas precancerosas son la descomposición gradual de la estratificación celular superficial y el aumento en el tamaño de los núcleos celulares. Por lo tanto, estos cambios tendrán un efecto sobre la impedancia eléctrica de una muestra de tejido a frecuencias intermedias y, por lo tanto, se puede usar la impedancia eléctrica para diagnosticar la presencia de tejidos precancerosos.

45 La impedancia eléctrica de una muestra de tejido se mide para dar valores medios de impedancia eléctrica en varias frecuencias. Estos datos, que forman un espectro de impedancia eléctrica, luego se ajustan mediante un método de desviación por mínimos cuadrados a una ecuación de Cole como se describe en US-2003/0105411 de la forma:

$$Z = R_{\infty} + \frac{(R_0 - R_{\infty})}{(1 + (jF / F_c)^{1-\alpha})}$$

- 5 para dar estimaciones de R_0 , R_{∞} y F_c . R_0 y R_{∞} son las impedancias eléctricas de la muestra de tejido a frecuencias muy bajas y muy altas, respectivamente, F_c es una frecuencia y α es una constante, α aumenta con la falta de homogeneidad del tejido; sin embargo, se puede suponer que α es cero para mejorar la exactitud en la estimación de F_c . En este caso, un circuito eléctrico equivalente que consiste en una resistencia R colocada en paralelo con una resistencia S y un condensador C en serie tendrá una impedancia Z , dada por la ecuación anterior, donde:

$$R_0 = R, R_{\infty} = \frac{RS}{R+S}, F_c = \frac{1}{2\pi C(R+S)}$$

- 10 Por lo tanto, los parámetros R , S y C se pueden determinar a partir de la ecuación de Cole ajustada. Debido a que la sonda se calibró en solución salina de conductividad conocida, R y S son inversamente proporcionales a la conductividad y tienen las unidades de Ωm . R y S pueden, por lo tanto, relacionarse con los espacios extracelulares e intracelulares respectivamente. C está relacionada con la capacitancia de la membrana celular y se da en unidades de $\mu\text{F}\cdot\text{m}^{-1}$.

- 15 El documento WO-01/67098 describe el uso de una sonda eléctricamente conductora para medir la impedancia eléctrica de muestras de tejido que comprende una disposición de electrodo tetrapolar colocada en la punta de la sonda para la medición *in vivo* de los espectros de impedancia eléctrica de una muestra de tejido.

- Las sondas eléctricas conocidas tienen ciertas desventajas. La sonda debe esterilizarse después del uso, por ejemplo, mediante productos químicos de limpieza. La esterilización de las sondas es costosa y requiere mucho tiempo. Por lo tanto, la unidad de cribado debe obtener un número significativo de sondas, de modo que mientras se están esterilizando las sondas usadas, hay suficientes sondas esterilizadas disponibles para cribar el número deseado de pacientes.

- 25 El documento WO-98/41151 da a conocer una funda estéril desechable para uso en una sonda que realiza mediciones tanto ópticas como eléctricas. La funda comprende electrodos en la punta de la funda cerca de una ventana óptica provista por la funda. Los electrodos en la punta de la funda están cerca de la ventana óptica para garantizar que se puedan realizar mediciones ópticas y eléctricas en la misma área de tejido. La sonda interna comprende conexiones eléctricas que hacen contacto eléctrico con los electrodos en la funda. Sin embargo, cualquier falla en el contacto eléctrico entre las conexiones eléctricas de la sonda y los electrodos en la funda conducirá a lecturas falsas que pueden conducir al diagnóstico incorrecto de un paciente. Por lo tanto, existe una carga indebida para el operador al conectar la funda de la sonda a la sonda correctamente para proporcionar una medición precisa de la impedancia eléctrica de la muestra de tejido. La provisión de electrodos en la funda descrita también significa que su fabricación es costosa.

- 35 El documento US5.991.650 describe catéteres de electrodo para detección y ablación. El catéter incluye una sonda alargada a la que se aplica un recubrimiento externo de celulosa regenerada porosa durante el proceso de fabricación.

La presente invención proporciona un aparato para la medición de la impedancia eléctrica de una muestra de tejido según la reivindicación 1.

- 40 Preferentemente, la relación de la resistividad del material de la funda (cuando impregnado con el fluido corporal si la conductividad a través de la funda se basa en la conducción iónica en el fluido corporal) a la resistividad de la muestra de tejido es al menos aproximadamente 10, más preferiblemente al menos aproximadamente 50, especialmente al menos aproximadamente 100, más especialmente al menos aproximadamente 500, por ejemplo, al menos aproximadamente 1000.

- 45 Se sabe que la resistividad eléctrica típica de una muestra de tejido es de aproximadamente $1 \Omega\text{m}$. Preferentemente, al menos una porción de la funda está compuesta de un material que cuando se pone en contacto con una muestra de tejido tiene una resistividad mayor que aproximadamente $1 \Omega\text{m}$, preferiblemente mayor que aproximadamente $500 \Omega\text{m}$, por ejemplo mayor que aproximadamente $1000 \Omega\text{m}$. Preferentemente, al menos una porción de la funda está compuesta de un material que cuando se pone en contacto con una muestra de tejido tiene una resistividad de menos de aproximadamente $5000 \Omega\text{m}$, más preferiblemente de menos de aproximadamente $4000 \Omega\text{m}$, por ejemplo menos de aproximadamente $2500 \Omega\text{m}$.

- 50 Una sonda se puede calibrar colocándolos en contacto con soluciones de conductividad conocida y la obtención de mediciones de conductividad. La calibración puede tener en cuenta factores tales como la resistividad del material de la funda.

5 Se ha encontrado que los materiales adecuados para la funda tienen un tamaño de poro efectivo de al menos aproximadamente 0,5 nm, más preferiblemente mayor que aproximadamente 2 nm, por ejemplo, aproximadamente 3 nm. Preferentemente, el tamaño de poro efectivo del material de la funda no es mayor que aproximadamente 15 nm, más preferiblemente menor que aproximadamente 10 nm, por ejemplo, aproximadamente 5 nm. Un tamaño de poro pequeño puede ayudar a proporcionar una barrera eficaz contra los contaminantes, especialmente las bacterias y los virus.

10 Un procedimiento preferido para la medición de tamaño de poro implica el uso de soluciones de moléculas de polietilenglicol, que se diferencian una de otra respecto de los pesos moleculares de las moléculas. Las soluciones son presurizadas contra la membrana. Las variaciones en la capacidad del material de la funda para permitir que la solución pase a través de ella dependen del peso molecular del polietilenglicol. Una técnica de medición adecuada se describe en J Envir Engrg, volumen 128, número 5, páginas 399 a 407 (mayo de 2002).

15 El material de la funda en el extremo cerrado en el entorno de los electrodos puede ser diferente del material de la funda en otras partes de la misma. Al menos una porción de la pared de la funda puede estar formada de un material impermeable. Aunque se puede preferir que las paredes de la funda se formen de un material, se pueden usar diferentes materiales en diferentes porciones de la funda.

20 El extremo de la sonda en la que se proporcionan los electrodos se encuentra dentro de la cavidad de la funda antes de que la funda se coloque en contacto con una muestra de tejido. Preferentemente, al menos una porción de la funda está compuesta de un material no conductor de la electricidad que tiene una estructura porosa que cuando se pone en contacto con una muestra de tejido permite que la funda se impregne con una solución acuosa que permite la conducción iónica entre los electrodos en la sonda y la muestra de tejido. Alternativamente, al menos una porción de la funda está compuesta de un material conductor de la electricidad que tiene una mayor resistividad que la muestra de tejido y proporciona un camino conductor a través de la funda entre los electrodos y la muestra de tejido.

25 La funda tiene la ventaja de que se puede montar fácilmente sobre la sonda sin que se requiera que la funda esté alineada con los contactos eléctricos presentes en la sonda a fin de formar una conexión eléctrica entre la sonda y la funda. Además, la funda de la presente invención tiene la ventaja de que la funda hace contacto eléctrico con un área de tejido mayor que las fundas de la técnica anterior que tienen una pluralidad de electrodos espaciados sobre la superficie de la funda. Por lo tanto, la impedancia eléctrica de la muestra de tejido se puede medir en toda el área del tejido que está en contacto con la funda. El aparato de la presente invención, por lo tanto, tiene una sensibilidad y especificidad mejoradas en comparación con las construcciones conocidas previamente, por ejemplo, a partir del documento WO-98/41151.

30 Las dimensiones de la funda de la presente invención dependen de las dimensiones de la sonda que se va a cubrir. La funda de la presente invención tiene preferiblemente un diámetro de al menos aproximadamente 3 mm, más preferiblemente al menos aproximadamente 5 mm, por ejemplo 6 mm. Preferentemente, el diámetro de la funda es menor que aproximadamente 15 mm, más preferiblemente menor que aproximadamente 10 mm, por ejemplo 8 mm. Preferentemente, la funda tiene una longitud de al menos aproximadamente 100 mm, más preferiblemente al menos aproximadamente 125 mm, por ejemplo 150 mm. La longitud de la funda es preferiblemente menor que aproximadamente 250 mm, más preferiblemente menor que aproximadamente 200 mm, por ejemplo 175 mm.

35 La funda debe ser preferiblemente de un ajuste estrecho sobre la sonda. Se puede preferir que la funda se ajuste firmemente a la sonda cerca de los electrodos, de modo que los electrodos se humedezcan con la solución que impregna la funda que está compuesta por un material poroso no conductor de la electricidad para proporcionar un recorrido conductor entre los electrodos y la muestra de tejido. Alternativamente, se prefiere que la funda se ajuste firmemente a la sonda cerca de los electrodos, de modo que los electrodos entren en contacto con la funda eléctricamente conductora. También se puede preferir que la funda se ajuste bien a la sonda en el extremo abierto de la funda, para minimizar el ingreso de material (especialmente contaminantes) en la superficie de la sonda dentro de la funda.

40 La sonda puede comprender un mango y un eje. El mango de la sonda está unido al extremo proximal del eje. El eje a menudo tendrá una sección transversal generalmente constante. La sección transversal del eje (que puede variar a lo largo de su longitud) generalmente será menor que la sección transversal del mango. La sección transversal del mango puede variar a lo largo de su longitud, por ejemplo, para facilitar el manejo seguro por parte de un usuario. En particular, el mango puede tener una forma tal que se adapta cómodamente a la mano de un usuario.

45 Los electrodos generalmente serán dispuestos en o cerca del extremo del eje. Pueden proporcionarse en una cara final de la sonda de modo que se dirijan al menos parcialmente lejos de la región del mango de la sonda. Los electrodos se pueden proporcionar en una pared lateral de la sonda. La ubicación de los electrodos se seleccionará de acuerdo con la configuración de la muestra de tejido que se está examinando.

55 Preferentemente, la funda se utiliza para cubrir al menos el extremo de la sonda donde se encuentran los electrodos. La funda debe cubrir preferiblemente todas las superficies de la sonda que estarán en contacto con una muestra de tejido del paciente durante el procedimiento de examen, al menos aquellas superficies del tejido del paciente en las que hay fluidos corporales. Por consiguiente, la funda cubre preferiblemente la punta de la sonda y al menos una

porción del eje de la sonda, especialmente la punta de la sonda y toda la longitud del eje de la sonda.

5 La funda debe estar asegurado en su lugar en la sonda de modo que no se suelte o de otra forma desalojados durante el examen de tejido del paciente. El material del que se forma la funda puede tener propiedades elásticas en las que se puede confiar para ayudar a asegurar la funda en la sonda. Se puede aplicar una banda de un material elástico sobre la funda para asegurarla a la sonda. Se puede usar un clip u otro cierre mecánico. La sonda se puede configurar para ayudar a asegurar la funda a la sonda. Por ejemplo, se puede proporcionar una ranura en la sonda para que la funda se deforme, ya sea debido a las propiedades elásticas del material de la funda, o debido a un sujetador adicional.

10 Una funda que ha sido utilizada será desechada después de su uso, y luego se reemplaza con una nueva funda. La presente invención tiene la ventaja de que la misma sonda puede usarse repetidamente sin necesidad de esterilizar la sonda entre pacientes. La funda de la presente invención es, por lo tanto, más rentable que las sondas de detección o las fundas de sonda conocidas que requieren la esterilización de la sonda o la funda de la sonda o el reemplazo de la sonda.

15 Preferentemente, la sonda es capaz de pasar una corriente de al menos aproximadamente 1 μA de pico a pico, preferiblemente al menos aproximadamente 10 μA de pico a pico, por ejemplo, al menos aproximadamente 20 μA de pico a pico. Preferentemente, las sondas pasan una corriente de menos de aproximadamente 50 μA de pico a pico, por ejemplo 40 μA de pico a pico.

20 En una realización preferida, la funda de la presente invención es capaz de conducir una corriente de al menos aproximadamente 10 μA de pico a pico, preferiblemente al menos aproximadamente 20 μA de pico a pico, por ejemplo, al menos aproximadamente 30 μA de pico a pico. Preferentemente, la funda pasa una corriente de menos de aproximadamente 50 μA de pico a pico, por ejemplo 40 μA de pico a pico.

25 Preferentemente, el cuerpo tubular de la funda está en contacto directo con al menos una porción de la sonda conductora de la electricidad. Preferentemente, la funda está compuesta por un material eléctricamente no conductor permeable al agua que proporciona una serie de poros o canales a través de los cuales pueden difundir los iones acuosos. La difusión del agua y de los iones en y a través de la funda permite que la corriente de la sonda pase a la muestra de tejido. Si la funda de la presente invención está compuesta por un material poroso no conductor de la electricidad que permite que una gran proporción de iones acuosos se difundan a través de la funda, la funda tendrá una alta conductividad eléctrica.

30 Si la conductividad eléctrica de la funda de la presente invención cuando se colocan en contacto con una muestra de tejido es mayor que la conductividad eléctrica de la muestra de tejido de la corriente de la sonda pase a través de la funda en vez de a través de la muestra de tejido.

35 Durante el uso, al menos una porción de la funda se coloca en contacto con la muestra de tejido. Preferentemente, la funda está compuesta de un material eléctricamente no conductor permeable al agua que permite que los iones acuosos se difundan en el cuerpo tubular de la funda, proporcionando un contacto eléctrico entre los contactos eléctricos de la sonda y la muestra de tejido. Sin embargo, la difusión de los iones acuosos en la funda que está compuesta por un material eléctricamente no conductor permeable al agua ocurre durante un período de tiempo y, por lo tanto, hay un período de asentamiento asociado con las lecturas de la funda de la presente invención. El tiempo de asentamiento es el tiempo requerido para que las mediciones realizadas por el aparato de la presente invención se asienten para proporcionar mediciones precisas de la muestra de tejido. Si la porción de la funda que está en contacto con la muestra de tejido es relativamente gruesa, la difusión de los iones a través del agua permeable, la funda eléctricamente no conductora será relativamente lenta y, por lo tanto, el período de asentamiento asociado con la funda será relativamente largo. Alternativamente, si la porción de la funda permeable al agua, eléctricamente no conductora que está en contacto con la muestra de tejido es relativamente delgada, el tiempo de sedimentación será relativamente corto. Si la sonda está cubierta por una funda que es relativamente delgada, el riesgo de rotura de la funda durante el uso aumenta.

45 La corriente de la sonda debe ser capaz de penetrar en la muestra de tejido a una profundidad suficiente como para ser capaz de medir con precisión la impedancia eléctrica de la muestra de tejido. El epitelio escamoso del cuello uterino tiene un grosor de aproximadamente 400 μm . Por lo tanto, es preferible que la corriente de la sonda penetre en el epitelio a una profundidad superior a 400 μm .

50 Los factores que afectan la elección del espesor del material de la funda incluyen tener una funda que es suficientemente gruesa para que la funda tiene la dureza para resistir el tratamiento al que será sometido durante el uso sin ser dañado hasta el punto en que la sonda esté expuesta a los fluidos corporales del paciente. Sin embargo, también se puede preferir minimizar el grosor del material de la funda de modo que se minimice el grosor del recorrido conductor. Esto puede ayudar a minimizar el tiempo necesario para estabilizar las mediciones.

55 Preferentemente, el espesor máximo medio de la porción de la funda que está en contacto con la muestra de tejido es menos de aproximadamente 100 μm , más preferiblemente menos de aproximadamente 75 μm , por ejemplo, de aproximadamente 50 μm . Preferentemente, el grosor mínimo medio de la porción de la funda que está en contacto con la muestra de tejido es más de aproximadamente 10 μm , más preferiblemente más de aproximadamente 25 μm ,

por ejemplo 40 µm.

Las superficies interiores de las paredes del cuerpo tubular de la funda no necesitan estar en contacto con la sonda. Por ejemplo, el extremo cerrado de la funda no está en contacto directo con la punta de la sonda. Preferentemente, se proporciona un espacio entre el extremo distal de la sonda y la superficie interna del cuerpo tubular de la funda. Preferentemente, un agente humectante está presente dentro del espacio entre la sonda y la superficie interna del cuerpo tubular de la funda para permitir que se haga un contacto eléctrico entre la funda y la sonda. Los agentes humectantes adecuados incluyen soluciones acuosas, tales como, por ejemplo, soluciones salinas.

La funda de la presente invención puede estar compuesta de cualquier material adecuado que tenga las propiedades explicadas anteriormente. Preferentemente, el material de la funda debe ser físicamente estable en las condiciones a las que está expuesto durante el uso, por ejemplo, a temperaturas fisiológicas. Preferentemente, el material eléctricamente no conductor permeable al agua que se usa al menos en el extremo cerrado de la funda incluye al menos uno de acetato de celulosa, polietersulfona, poliamida y celulosa. Preferentemente, el material eléctricamente conductor que se usa al menos en el extremo cerrado de la funda incluye al menos un material biocompatible cargado de carbono. Los materiales adecuados para formar la funda de la invención incluyen los materiales poliméricos basados en celulosa vendidos por Medicell International Limited bajo la marca registrada Visking y vendidos por Membrana GmbH bajo la marca registrada Cuprophan.

El material de polímero a base de celulosa natural vendida bajo la marca comercial Visking tiene un intervalo de peso molecular de corte (MWCO) de 12000 a 14000. Este material de polímero a base de celulosa es estable a una temperatura de 60 °C, pero se distorsionará a aproximadamente 120 °C.

La membrana basada en celulosa natural vendida bajo la marca comercial Cuprophan tiene un corte de peso molecular de aproximadamente 10000 Daltons. Se sabe que Cuprophan tiene buena resistencia mecánica. Además, debido a la alta flexibilidad del material, se reduce el riesgo de perforación del Cuprophan. Cuprophan es una membrana de diálisis celulósica no modificada que fabrica Membrana GmbH y cubre todos los requisitos básicos del tratamiento de diálisis estándar.

La presente invención puede ser usada para medir la impedancia eléctrica de una muestra de células para detectar la presencia de células anormales. La presente invención también se puede usar para detectar otras afecciones de un paciente. Por ejemplo, el inicio del parto está acompañado por cambios en la impedancia del tejido que pueden ser identificados por tales mediciones. También se ha encontrado que hay una diferencia notable en la impedancia eléctrica de los tejidos cervicales de las mujeres embarazadas y las mujeres que no están embarazadas. Por lo tanto, la presente invención se puede usar para diagnosticar condiciones obstétrica o no obstéticamente relacionadas.

Las realizaciones de la invención se describirán ahora en los siguientes ejemplos:

Ejemplo 1 - Conductividad eléctrica

Se llevaron a cabo mediciones eléctricas preliminares en una gama de materiales de membrana que incluyen acetato de celulosa, polietersulfona (PES), poliamida (nylon) y celulosa. Las muestras de membranas basadas en celulosa natural vendidas bajo las marcas registradas Visking y Cuprophan fueron seleccionadas para mediciones eléctricas adicionales. La muestra de membrana a base de celulosa natural vendida bajo la marca registrada Visking está en forma de tubo. Las propiedades de las muestras de membranas basadas en celulosa natural vendidas bajo las marcas registradas Visking y Cuprophan se ilustran en la tabla 1.

Tabla 1

Material	Tipo	Espesor (µm)	Ancho (mm)	Longitud (mm)	MWCO (Daltons)	Uso normal
Cuprophan™	Lámina plana	11,5	250	250	10.000	Diálisis
Visking™	Tubería	75,8 ± 5,7	10 plana	600	12 -14.000	Diálisis

La medición del espesor de la muestra de la membrana a base de celulosa natural vendida bajo la marca comercial Visking es una media de doce mediciones hechas usando un micrómetro. Los otros datos han sido suministrados por el fabricante.

El primer conjunto de mediciones eléctricas se llevó a cabo directamente sobre muestras de materiales a base de celulosa naturales vendidos bajo las marcas comerciales Visking y Cuprophan que se coloca entre abrazaderas metálicas. El segundo conjunto de mediciones eléctricas se realizó utilizando una sonda tetrapolar colocada en primer lugar en soluciones salinas y en segundo lugar en pepino. Una muestra de la membrana basada en celulosa natural vendida bajo la marca registrada Visking o Cuprophan se colocó entre la sonda y las soluciones salinas o pepinos.

El pepino se usó como un material de ensayo, ya que el pepino es un objeto de ensayo conveniente que tiene una

estructura celular y, por lo tanto, un espectro característico de impedancia eléctrica.

a) Mediciones de membrana

5 Las medidas de borde a borde se obtuvieron a partir de una pieza rectangular de cada muestra que se sujetó en los extremos opuestos entre una placa de aluminio y un soporte de PTFE. Las mediciones cara a cara se obtuvieron emparedando una pieza rectangular de cada muestra entre dos placas de latón.

La combinación equivalente de la resistencia R y la capacitancia C presentada por cada muestra se midieron usando un Analizador Wayne Kerr de Precisión de tipo 6425 a frecuencias entre 2 kHz y 20 kHz.

10 Las muestras se midieron primero cuando estaban secas. Las muestras se lavaron luego en agua tibia durante 6 minutos y las mediciones se tomaron de nuevo. Las muestras se sumergieron luego en solución salina fisiológica al 5 % durante al menos 1 minuto antes de tomar una lectura adicional.

Los resultados de dos conjuntos de experimentos se muestran en las tablas 2 y 3.

Tabla 2

Material	Geometría	Condición	Ancho (mm)	Longitud (mm)	Grueso (µm)	C (pF) 2 kHz	C (pF) 20kHz	R (kΩ) 2k Hz	R (kΩ) 20 kHz
Cuprophan	cara cara a	Seco	10,0	10,0	15,7	60	57	∞	∞
Cuprophan	cara cara	Lavado	10,0	10,0	25,3	97	13	0,91	0,62
Cuprophan	cara cara a	Salina	10,0	10,0	27,3	1397	153	0,31	0,022
Cuprophan	borde borde a	Seco	30,0	30,0	15,7	1	1	∞	∞
Cuprophan	borde borde a	Lavado	28,0	30,0	25,3	2	2	540	579
Cuprophan	borde borde a	Salina	28,0	30,0	33,3	6	2	141	159
Visking	cara cara a	Seco	8,8	10,0	77,3	31	26	∞	∞
Visking	cara cara a	Lavado	8,8	10,0	120	50	12	3,0	1,0
Visking	cara cara a	Salina	8,8	10,0	119	937	88	0,031	0,023
Visking	borde borde a	Seco	19,3	30,0	77,3	2	6	∞	∞
Visking	borde borde a	Lavado	19,7	30,0	120	3	2	438	341
Visking	borde borde a	Salina	19,7	30,0	119	19	2	29	29

15

Tabla 3

Material	Geometría	Condición	Espesor (µm)	Impedancia (Ω)	Fase impedancia (grados)	de	Resistividad (Ωm)	Permitividad
Cuprophan	cara cara a	Seco	15,7	∞	89,9		∞	1,1
Cuprophan	cara cara a	Lavado	25,3	910	0,1		5796	27,7
Cuprophan	cara cara a	Salina	27,3	31	0		122	43,0
Cuprophan	borde borde a	Seco	15,7	∞	85,5		∞	-
Cuprophan	borde borde a	Lavado	25,3	540 k	0,8		12,7	-
Cuprophan	borde borde a	Salina	33,3	141 k	0,6		4,4	-
Visking	cara cara a	Seco	77,3	∞	89,9		∞	3,0
Visking	cara cara a	Lavado	120	3k	0,1		2200	7,7

Visking	cara cara	a	Salina	119	31	0	22,9	14,3
Visking	borde borde	a	Seco	77,3	∞	87,7	∞	-
Visking	borde borde	a	Lavado	120	438 k	0,9	34,5	-
Visking	borde borde	a	Salina	119	29 k	0,4	2,3	-

Las mediciones eléctricas se hicieron sobre muestras de membrana. Los resultados que se muestran en la tabla 3 son la media de las mediciones realizadas en tres muestras. Las resistividades superiores a 1 M Ω m y las impedancias superiores a 1 M Ω se muestran como ∞ . Las mediciones de impedancia se realizaron a una frecuencia de 2 kHz.

Las muestras secas no son conductores. La capacitancia 'cara a cara' de la muestra debe reflejar simplemente el grosor y la permitividad de las muestras. La permitividad relativa se puede calcular a partir del espesor y el área de la muestra. La permitividad relativa calculada de la muestra de membrana basada en celulosa natural vendida bajo la marca registrada Visking es 6, mientras que la permitividad relativa calculada de la membrana basada en celulosa natural vendida bajo la marca Cuprophan es 1.

Las resistividades pueden calcularse conociendo la distancia entre los electrodos y el área de sección transversal de la membrana. Las resistividades de las dos muestras a 20 kHz después del lavado con agua son 833 Ω m (cara a cara) y 26,9 Ω m (borde a borde) para la muestra de membrana a base de celulosa natural vendida bajo la marca registrada Visking y 2450 Ω m (cara a cara) y (borde a borde) 14,6 Ω m para la muestra de membrana a base de celulosa natural vendida bajo la marca registrada Cuprophan.

Después de la inmersión en solución salina al 5 % las resistividades de los dos materiales son 19,3 Ω m (cara a cara) y 2,27 Ω m (borde a borde) para la muestra de membrana a base de celulosa natural vendida bajo la marca comercial Visking y 80,6 Ω m (cara a cara) y 4,0 Ω m (borde a borde) para la muestra de membrana a base de celulosa natural vendida bajo la marca registrada Cuprophan.

b) Mediciones hechas en pepino

Se utilizó una sonda tetrapolar con un diámetro de 5,5 mm. Se aplicó una corriente alterna de 20 μ A pico a pico entre un par de electrodos y el potencial resultante se midió entre los dos electrodos restantes. Las mediciones se realizaron en el rango de frecuencia de 63 Hz a 64,5 kHz.

El pepino estaba recién rodajas con un espesor de 10 mm. Las mediciones espectrales se realizaron colocando la cara de la sonda aproximadamente a la mitad entre el centro y el borde del pepino. Las muestras se colocaron entre la sonda y el pepino. Se realizaron doce mediciones en el pepino utilizando muestras de 10 x 10 mm de la membrana a base de celulosa natural vendida bajo las marcas registradas Visking o Cuprophan. Las mediciones se tomaron después de que las mediciones se habían establecido. Los resultados se muestran en la figura 1.

Los resultados utilizando la muestra de la membrana a base de celulosa natural vendida bajo la marca comercial Cuprophan son casi indistinguibles de las mediciones de la impedancia eléctrica hecha por la sonda sin ninguna membrana presente. Las mediciones de la impedancia eléctrica realizadas con la muestra de la membrana a base de celulosa natural vendida bajo la marca Visking son más bajas que las mediciones realizadas por la sonda sin una funda a bajas frecuencias. Esta diferencia puede deberse a que la muestra de la membrana a base de celulosa natural vendida bajo la marca registrada Visking es relativamente gruesa y, por lo tanto, habrá una corriente de derivación. Por lo tanto, la sensibilidad de la sonda enfundada al tejido del pepino se reducirá cuando se compara con las mediciones de la sonda no envuelta ya que la sonda está más alejada del pepino.

c) Tiempos de asentamiento

Doce mediciones se hicieron en diferentes puntos en el pepino utilizando muestras de membranas a base de celulosa naturales vendidos bajo la marca Visking y Cuprophan. Se observó el tiempo de las mediciones de la impedancia eléctrica para asentarse. Las medias y las desviaciones estándar para estos tiempos de asentamiento se muestran en la tabla 4.

Tabla 4

Condición	Espesor (μ m)	Tiempo(s) de asentamiento
Sonda desenfundada	0	8,0 \pm 5,2
Funda Cuprophan™	18,3 \pm 6,1	6,6 \pm 2,4
Funda Visking™	75,8 \pm 5,7	46,9 \pm 5,2

Se puede ver que el tiempo de estabilización no se incrementó por la presencia de la muestra de la membrana a

base de celulosa natural vendida bajo la marca comercial Cuprophan. Sin embargo, el tiempo de asentamiento es de aproximadamente 8 segundos, incluso cuando se utiliza una sonda sin envoltura. Se observa un tiempo de asentamiento mucho más largo (46,9 segundos) para la sonda que tiene una funda compuesta por una membrana basada en celulosa natural vendida bajo la marca registrada Visking. También se observó que los tiempos de asentamiento aumentaron a frecuencias más bajas.

Después de que se han realizado estos ensayos, se utilizó la sonda que tiene una funda compuesta de una membrana a base de celulosa natural vendida bajo la marca comercial Visking para medir otros 12 puntos en el pepino. Se observó que el tiempo medio de asentamiento para este conjunto de mediciones fue de $16,1 \pm 7,9$ segundos. Esto es considerablemente menor que el tiempo medio de asentamiento para el primer conjunto de mediciones.

d) Mediciones en soluciones salinas

Las mediciones en soluciones salinas se realizaron sujetando la sonda por encima de la solución y luego bajándola hasta que se puso en contacto con una solución salina. Las muestras de las membranas basadas en celulosa natural vendidas bajo las marcas comerciales Cuprophan y Visking se colocaron cada una sobre el extremo de la sonda antes de que la sonda haga contacto con el fluido. Las muestras se mantuvieron en su lugar contra la sonda con una junta tórica de goma. Las mediciones se realizaron a una frecuencia de 9,6 kHz.

Las soluciones salinas tenían diferentes conductividades dentro de la gama que se esperaría en el tejido cervical. Los resultados se ilustran en las Tablas 5 y 6.

Tabla 5

Resistividad esperada (Ω m)	Resistividad medida (Ω m) - sonda sin revestimiento	Resistividad medida (Ω m) - Cuprophan™	Resistividad medida (Ω m) - Visking™
80,6	64,1	53,5	23,1
41,8	39,3	22,2	22,1
20,8	23,3	17,8	13,4
10,0	9,7	11,0	8,1
5,2	4,9	5,2	8,0
2,6	2,6	2,7	4,6

Tabla 6

Resistividad esperada (Ω m)	Resistividad medida (Ω m) - sonda sin revestimiento	Resistividad medida (Ω m) - Cuprophan™	Resistividad medida (Ω m) - Visking™
80,6	64,0	51,6	21,9
41,8	38,8	26,5	22,5
20,8	23,5	17,2	13,3
10,0	9,8	10,3	8,2
5,2	5,0	5,2	8,0
2,6	2,6	2,7	4,4

Las mediciones se realizaron utilizando una sonda colocada en contacto con una solución salina. Las resistividades medidas se presentan como la media en las 30 frecuencias entre 63 Hz y 48 Hz. Todas las mediciones realizadas con una membrana son significativamente diferentes ($p < 0,05$) de las realizadas con la sonda descubierta.

Cuando la sonda se enfundó en una muestra de una membrana a base de celulosa natural vendida bajo la marca comercial Visking™ parece producir mediciones que son subestimaciones de la verdadera resistividad de la solución salina a altas resistividades ($> 10 \Omega$ m). Las subestimaciones pueden ser causadas por una derivación de la corriente en la muestra de la membrana a base de celulosa natural vendida bajo la marca registrada Visking. La muestra de la membrana a base de celulosa natural vendida bajo la marca registrada Visking también produce sobreestimaciones de la resistencia real de la solución a bajas resistividades ($< 10 \Omega$ m), lo que podría deberse al grosor del tubo.

La muestra de membrana a base de celulosa natural vendida bajo la marca comercial Cuprophan también produce alguna subestimación de la verdadera resistividad de la solución a altas resistividades (mayor que $20,8 \Omega$ m).

Ejemplo 2 - Medidas de control de infección

Se evaluó la capacidad de las muestras de membranas basadas en celulosa natural vendidas bajo las marcas registradas Visking y Cuprophan para bloquear el paso de la vacuna contra la polio. La muestra de membrana a base de celulosa natural vendida bajo la marca registrada Visking se vende en forma de tubo.

Una porción de la muestra de la membrana a base de celulosa natural vendida bajo la marca comercial Visking se colocó dentro de una cámara que contiene 10 ml de PBS (solución tampón de fosfato). Se colocaron 2 ml de PBS

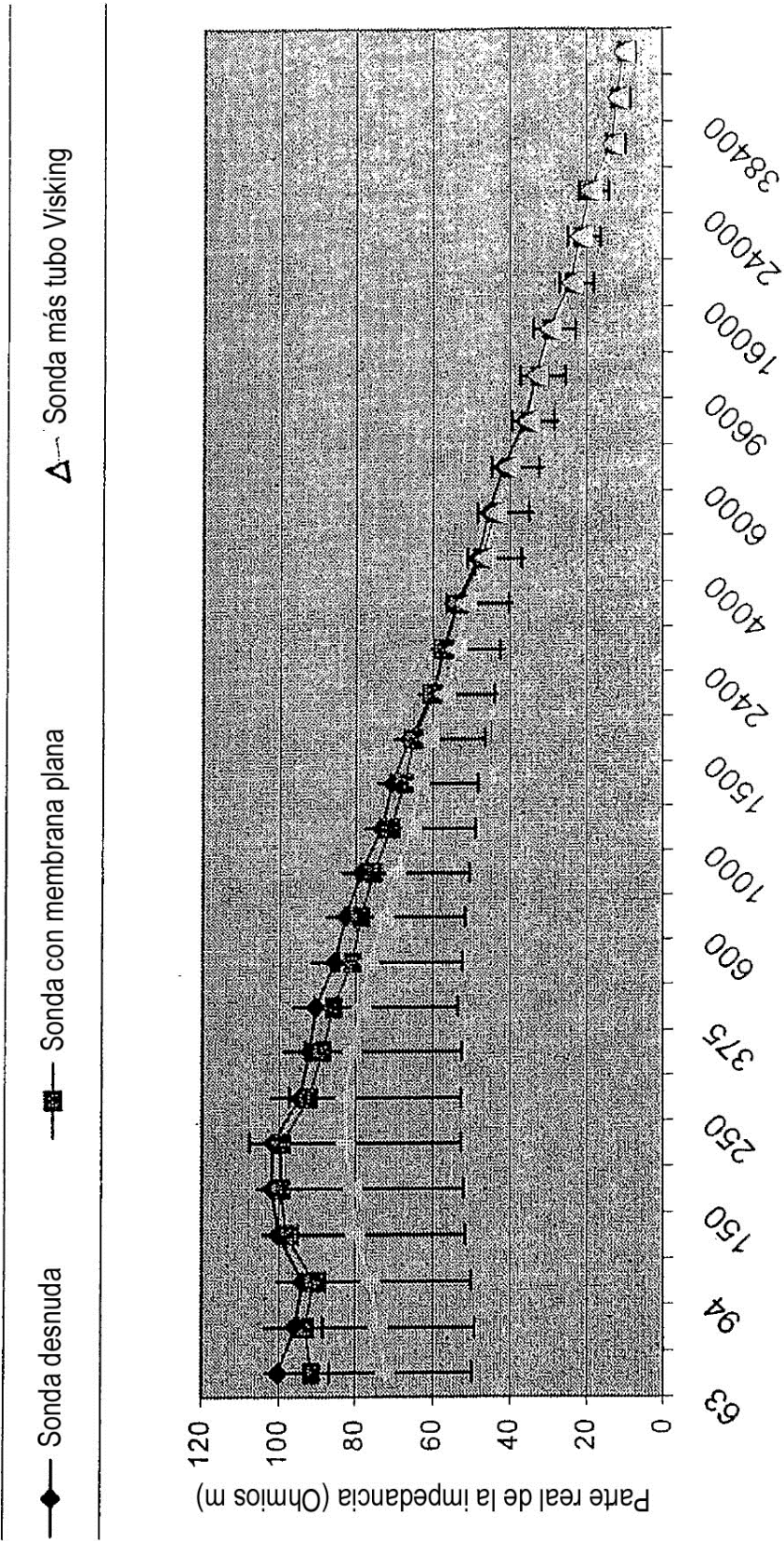
dentro de la región interna de la muestra de la membrana a base de celulosa natural vendida bajo la marca registrada Visking. Se agregaron 3 gotas de una vacuna contra la polio a la región interna de la muestra de membrana a base de celulosa natural vendida bajo la marca registrada Visking y mezclada suavemente con el PBS. La muestra de ensayo se dejó durante la noche. Se tomaron dos alícuotas de dialisato de la cámara externa y una alícuota se tomó de la cámara interna para el ensayo de PCR cualitativa (reacción en cadena de la polimerasa) de enterovirus.

La muestra de membrana a base de celulosa natural vendida bajo la marca comercial Cuprophan se ensayó mediante el montaje de la muestra entre las dos cámaras de una unidad de perspex. Se colocaron 50 ml de PBS estéril a ambos lados de la muestra. Se agregó una dosis de una vacuna contra la polio a la cámara del lado derecho de la unidad. La muestra de ensayo se dejó durante la noche. Se tomaron tres alícuotas de dializado de la unidad del lado izquierdo y una alícuota se tomó de la unidad del lado derecho para el ensayo de PCR cuantitativa de enterovirus.

Las partes alícuotas se enviaron a un laboratorio de referencia para el ensayo de PCR. No se detectó ARN enterovírico que haya pasado a través de ninguna de las muestras de la membrana a base de celulosa natural vendida bajo las marcas registradas de tubos Visking o la membrana de Cuprophan. La concentración de ARN de enterovirus detectada en el lado de la infección de la muestra de la membrana a base de celulosa natural vendida bajo la marca registrada Visking fue de 900000 DICT 50 por ml. La concentración de ARN de enterovirus detectada en el lado de la infección de la membrana de Cuprophan fue de 100000 DICT 50 por ml.

REIVINDICACIONES

1. Aparato para medir la impedancia eléctrica de una muestra de tejido, que comprende:
 - (a) una sonda alargada que tiene electrodos hacia uno de sus extremos a través de los cuales se transmite una señal eléctrica entre el aparato y el tejido en contacto con él; y
 - (b) una funda que comprende un cuerpo tubular alargado que tiene un extremo cerrado y un extremo abierto y que define una cavidad interna, en la cual el extremo de la sonda en la que se proporcionan los electrodos puede encajar en la cavidad, y en la cual al menos una porción de la funda se forma a partir de un material polimérico que tiene una estructura porosa de manera que puede ser impregnada con un fluido corporal que puede proporcionar un recorrido iónicamente conductor a través de la funda entre los electrodos y la muestra de tejido,
caracterizado porque la funda está dispuesta de manera desmontable en la sonda alargada, de manera que la funda se puede quitar de la sonda después de su uso y la sonda está configurada para ser cubierta por otra funda y utilizada en otro paciente sin requerir la esterilización de la sonda.
2. Aparato según la reivindicación 1, en el que el material de la funda en el extremo cerrado en la proximidad de los electrodos es diferente del material de la funda en otras partes de los mismos.
3. Aparato según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que el tamaño de poro efectivo del material poroso de la funda no es superior a aproximadamente 15 nm.
4. Aparato según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que el tamaño de poro efectivo del material poroso de la funda es de al menos aproximadamente 0,5 nm.
5. Aparato según la reivindicación 1, en el que la funda está compuesta por uno o más materiales seleccionados de acetato de celulosa, polietersulfona, poliamida, celulosa y material biocompatible cargado de carbono.
6. Aparato según la reivindicación 1, que incluye una cantidad de una solución acuosa de una sal entre los electrodos y la funda.



Frecuencia (Hz)

FIG 1