



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 371 877**

21 Número de solicitud: 200801041

51 Int. Cl.:
G01N 17/02 (2006.01)
A61L 27/04 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación: **11.04.2008**

43 Fecha de publicación de la solicitud: **11.01.2012**

43 Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
11.01.2012

71 Solicitante/s: **Universidad Autónoma Madrid
Ciudad Universitaria de Cantoblanco
c/ Einstein, 3
28049 Madrid, ES
Consejo Superior de Investigaciones Científicas
(CSIC)**

72 Inventor/es: **Alonso Fuente, Concepción;
García Alonso, María Cristina y
Lorenza Escudero, María**

74 Agente: **Pons Ariño, Ángel**

54 Título: **Célula electrolítica para estudio de la interfase formada por un implante metálico en medio celular y procedimiento de utilización de dicha célula electrolítica.**

57 Resumen:

Célula electrolítica para estudio de la interfase formada por un implante metálico en medio celular y procedimiento de utilización de dicha célula electrolítica.

Célula electrolítica (1) para estudio de la interfase formada por un implante metálico en medio celular y procedimiento de utilización de dicha célula electrolítica (1), comprendiendo la célula electrolítica (1) una base (2), un electrodo de trabajo (4) horizontal; una conexión eléctrica para el electrodo de trabajo (4); unos medios de sujeción del electrodo de trabajo (4); una cubierta (5) hermética; y una pluralidad de bocas para electrodos (6) y para adición (9) del medio celular. El procedimiento comprende esterilizar los componentes de la célula electrolítica (1); montarla en una campana de flujo laminar, añadiendo parte del medio celular; introducirla en un incubador; volver a introducirla en la campana de flujo laminar, añadiendo el resto del medio celular; conectar unos medios de termostatación; suministrar una atmósfera de aire con CO₂; y conectar los electrodos (4, 20, 21) a un potencióstato.

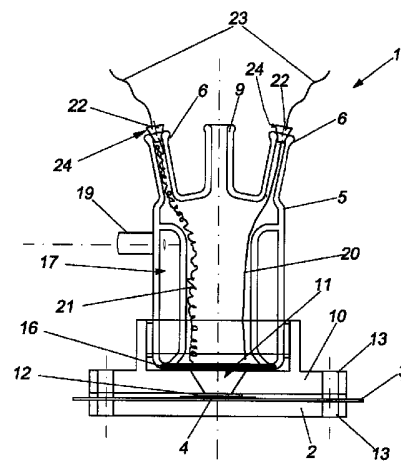


FIG. 1

ES 2 371 877 A1

DESCRIPCIÓN

Célula electrolítica para estudio de la interfase formada por un implante metálico en medio celular y procedimiento de utilización de dicha célula electrolítica.

Objeto de la invención

El objeto principal de la presente invención consiste en una célula electrolítica para estudio de la interfase formada por un implante metálico en medio celular y procedimiento de utilización de dicha célula electrolítica, utilizables para evaluar el comportamiento frente a la corrosión y las propiedades de la interfase electroquímica de biomateriales metálicos mediante medidas electroquímicas *in situ*.

Antecedentes de la invención

Las medidas electroquímicas *in situ* para evaluar el comportamiento frente a la corrosión y las propiedades de la interfase electroquímica de biomateriales metálicos y los medios fisiológicos son métodos muy utilizados.

Los biomateriales metálicos se emplean en diversas aplicaciones: como vástagos de prótesis parciales o totales de cadera, implantes dentales, sustituciones en las uniones de vértebras, placas craneales, etc.

Entre los distintos tipos de biomateriales metálicos convencionales, se pueden utilizar el Ti y sus aleaciones, acero inoxidable y aleaciones de base Co. El Cu modificado superficialmente, micro y/o nanoestructurado se puede utilizar en aplicaciones en dispositivos intrauterinos. Como materiales metálicos en vías de desarrollo, también se estudia el Mg y sus aleaciones en aplicaciones como dispositivos cardiovasculares, para sintetizar fracturas y/o como material de relleno en cavidades óseas.

Es necesario experimentar y estudiar la interfase que se forma entre los posibles biomateriales metálicos y los distintos medios celulares donde pueden ser utilizados. Así por ejemplo, se ensayan líneas celulares que se encuentran en el entorno fisiológico en el que va a ser implantado el biomaterial, tales como líneas celulares procedentes de tejido óseo, líneas establecidas de fibroblastos, líneas celulares endoteliales, líneas celulares procedentes del endometrio (CHO-K1, procedentes de ovario de hamster) y/o líneas celulares del sistema inmune. En general, cualquier biomaterial metálico (modificado, recubierto o funcionalizado) debería ser ensayado en presencia de las células del entorno biológico (osteoblastos, fibroblastos, etc).

Los estudios de comportamiento frente a la corrosión de biomateriales metálicos se llevan a cabo mediante células electrolíticas convencionales, que básicamente constan de un recipiente en el que se dispone un electrodo de trabajo del biomaterial en contacto directo con una solución que contiene las células, estudiando la interfase que se forma entre el biomaterial y la solución, mediante la medición de diversos parámetros electroquímicos, tales como el potencial de corrosión, resistencia de polarización y/o impedancia electroquímica. En la actualidad, estas células electrolíticas comprenden un cuerpo de vidrio con dos partes consistentes en un tronco y una cabeza, ubicándose en la cabeza los necesarios electrodos de referencia y auxiliar que se emplean para efectuar las mediciones electroquímicas.

Las células electrolíticas con la configuración descrita no permiten el estudio *in situ* del comportamiento frente a la corrosión de biomateriales metálicos en contacto con el medio celular, ya que el electrodo de referencia, normalmente de calomelanos o de cloruro de plata, no soporta las elevadas temperaturas de esterilización y la experimentación no se realiza en un medio completamente esterilizado.

Otro inconveniente de las células electrolíticas convencionales es la disposición vertical del electrodo de trabajo objeto de estudio, es decir el biomaterial metálico, que imposibilita la adhesión celular y por tanto el estudio del mecanismo y cinética de corrosión del biomaterial en contacto con el medio celular.

Descripción de la invención

La célula electrolítica de la invención sirve de una manera óptima para llevar a cabo estudios de la interfase de un biomaterial con el medio celular en el que está destinado a implantarse, subsanando las deficiencias descritas.

La célula electrolítica de la invención presenta, entre otras, las siguientes ventajas:

- 1) El electrodo de trabajo, esto es el biomaterial metálico a estudiar, se coloca horizontalmente, lo cual favorece la adhesión celular.
- 2) Toda la célula electrolítica con los electrodos de referencia y auxiliar pueden ser esterilizados en un autoclave para evitar la contaminación bacteriana.
- 3) Es posible estudiar *in situ* la proliferación, crecimiento y recubrimiento de las células sobre las superficies de los implantes metálicos durante varios días puesto que dispone de medios para mantener las células vivas durante este tiempo.

ES 2 371 877 A1

De acuerdo con la invención, la célula electrolítica comprende una base; al menos, un electrodo de trabajo de biomaterial metálico sujetable horizontalmente en dicha base; una conexión eléctrica accesible exteriormente para el electrodo de trabajo; unos medios de sujeción horizontal del electrodo de trabajo en la base de modo que quede en contacto eléctrico con la conexión eléctrica accesible exteriormente; una cubierta de cierre dispuesta sobre el electrodo de trabajo, provista de medios de cierre herméticos; y una pluralidad de bocas para electrodos y adición del medio celular.

Por cada electrodo de trabajo de biomaterial metálico a estudiar, se emplea un electrodo de referencia, y un electrodo auxiliar, para su conexión a un potenciostato en una configuración de tres electrodos. Así, el electrodo de referencia mide el potencial al que está el implante, y el electrodo auxiliar recoge la corriente procedente del electrodo de trabajo. El electrodo de trabajo es fácilmente desmontable y montable desde el exterior de la célula electrolítica.

La célula electrolítica de la invención también puede comprender unas bocas de entrada y salida para gases, que serán utilizadas para proporcionar una atmósfera con un porcentaje en CO₂ conveniente para la preservación con vida de las células; y también unos medios de termostatación del medio celular, mediante los que igualmente se consigue mantener la vida de las células hasta finalizar el ensayo.

Descripción de los dibujos

Para complementar la descripción que se está realizando y con objeto de ayudar a una mejor comprensión de las características de la invención, de acuerdo con un ejemplo preferente de realización práctica de la misma, se acompaña como parte integrante de dicha descripción, un juego de dibujos en donde con carácter ilustrativo y no limitativo, se ha representado lo siguiente:

Figura 1.- Muestra un alzado de conjunto montado de la célula electrolítica de la invención, seccionado por un plano vertical que pasa por dos bocas para electrodos.

Figura 2.- Muestra una vista en planta de la base de la célula electrolítica de la invención.

Figura 3.- Muestra una vista en planta del prensor de la célula electrolítica de la invención.

Figura 4.- Muestra una vista en alzado seccionado de un despiece del conjunto base-prensor-conexión eléctrica o chapa de cobre-electrodo de trabajo-junta del prensor.

Figura 5.- Muestra una vista en alzado de la cubierta de la célula electrolítica de la invención.

Figura 6.- Muestra una vista en planta de la cubierta de la célula electrolítica de la invención.

Figura 7.- Muestra una vista de la cubierta de la célula electrolítica de la invención según un alzado seccionado por un plano que pasa por las conexiones de entrada y salida de la cámara de circulación del fluido termostizador.

Realización preferente de la invención

La célula electrolítica (1) para estudio de la interfase formada por un implante metálico en medio celular de la invención comprende: una base (2); un electrodo de trabajo (4), que se trata concretamente de una porción del biomaterial metálico a estudiar, sujetable horizontalmente en dicha base (2); una conexión eléctrica accesible exteriormente para dicho electrodo de trabajo (4), e implementada en este ejemplo de la invención mediante una chapa de cobre (3), dispuesta inferiormente y en contacto respecto a dicho electrodo de trabajo (4), y que sobresale exteriormente de la base (2); unos medios de sujeción horizontal en la base (2) del electrodo de trabajo (4), de modo que quede en contacto con la conexión eléctrica accesible exteriormente con la chapa de cobre (3); una cubierta (5) de cierre dispuesta sobre el electrodo de trabajo (4), y provista de medios de cierre herméticos; y una pluralidad de bocas para electrodos (6), y bocas de adición (9) del medio celular. Esta configuración permite a la célula electrolítica (1) realizar el cultivo celular y las medidas electroquímicas simultáneamente.

Adicionalmente también puede comprender unos medios de termostatación del medio celular y/o unas bocas de entrada y salida (7) para gases, que cooperen en mantener unas condiciones de temperatura y atmósfera favorables para mantener las células vivas durante varios días y por tanto realizar las medidas que requiera el análisis durante este período. A través de las bocas de entrada y salida (7) para gases se suministra una atmósfera con un porcentaje adecuado en CO₂ para mantener la vida celular. Este porcentaje en CO₂ en general es del 5% en cualquier línea celular.

La conexión eléctrica del electrodo de trabajo se realiza a través de una pinza, no representada, acoplable con comodidad a la chapa de cobre (3) por el exterior de la célula electrolítica (1).

Los medios de sujeción horizontal del electrodo de trabajo (4) en la base (2) comprenden un prensor (10) horizontal que lo sujeta firmemente en contacto con la chapa de cobre (3). Dicho prensor (10) implementa una ventana de exposición (11) superior, y cubre íntegramente el electrodo de trabajo (4) por el interior de la célula electrolítica (1), a excepción del área coincidente con la ventana de exposición (11). También se ha previsto la disposición de una junta del prensor (12), dispuesta sobre dicho electrodo de trabajo (4) y circundando la ventana de exposición (11), y unos

ES 2 371 877 A1

medios de apriete del prensor (10) sobre la base (2). De este modo se puede delimitar el área del electrodo de trabajo (4) que queda expuesta al medio celular, y que será la definida por el contorno de la junta del prensor (12). Además, la ventana de exposición (11) tiene sus paredes (11a) inclinadas formando un ángulo de, al menos, 45 grados con la horizontal. Gracias a esta pendiente las células presentes en el medio celular deslizan hacia la superficie expuesta de la electrodo de trabajo (4), con el fin de asegurar que todas las células se encuentran sobre el electrodo de trabajo o biomaterial metálico objeto de estudio. Su forma es preferentemente circular, para evitar la aparición de aristas en sus paredes (11a).

Los medios de apriete del prensor (10) comprenden unas bridas (13) previstas en la base (2) y en el prensor (10), y unos vástagos de apriete, no representados, que pasan por dichas bridas (13).

Por su parte, los medios de cierre herméticos de la cubierta (5) comprenden una rosca (14) implementada en la cubierta (5), otra rosca complementaria (15) implementada en el prensor (10) y, al menos, una junta de la cubierta (16). En este ejemplo de la invención, la rosca complementaria (15) comprende una rosca hembra implementada en un cuello (30) emergente del prensor (10), donde se acopla la rosca (14) macho implementada en la parte extrema inferior exterior de la cubierta (5). Gracias al cuello (30) se permite introducir una primera parte del volumen del medio celular antes de acoplar la cubierta (5).

Los medios de termostatación del medio celular comprenden una cámara (17) de circulación de un fluido termostatazador, dotada de conexiones de entrada (18) y conexiones de salida (19) para dicho fluido, procedente de un baño termostatazador. Esta cámara se encuentra idealmente implementada periféricamente en la cubierta (5), en constitución monobloque, mientras que las conexiones de entrada (18) se encuentran prolongadas en sentido descendente por el interior de la misma para que se favorezca la circulación del fluido (la circulación es forzada por una bomba) y el intercambio homogéneo de calor.

Para trabajar con aplicaciones electroquímicas, la célula electrolítica (1) de la invención, según el ejemplo mostrado en las figuras, comprende la disposición de un electrodo de referencia (20) y un electrodo auxiliar (21), en las bocas para electrodos (6). Electrodo de referencia (20) comprende un alambre esencialmente recto, esto es, sin cambios bruscos o significativos de dirección a lo largo del mismo más que para adaptarse a la forma interior de la célula electrolítica (1); mientras que el electrodo auxiliar (21) comprende un alambre enrollado sobre sí mismo, para que su área sea varias veces mayor que la del electrodo de trabajo (4) a fin de evitar polarizaciones. Ambos tipos de electrodos se encuentran sustentados y sellados en tapones (22) con medios de acoplamiento sin fugas en las bocas para electrodos (6), disponiendo de terminales exteriores (23) para conexión. Los medios de acoplamiento sin fugas de los tapones (22) comprenden normalmente conos (24) para ajuste en las bocas para electrodos (6). Así se permite sustituir con facilidad y repetidamente los electrodos (20, 21).

Los elementos comprendidos en la constitución de la célula electrolítica (1) de la invención, y descritos anteriormente, están preferentemente constituidos en materiales resistentes a temperaturas de esterilización en autoclave, esto es, de al menos 120 grados centígrados. De este modo, la cubierta (5) y la cámara (17) de circulación del fluido termostatazador, implementada conjuntamente con la misma en constitución monobloque, está constituida en vidrio borosilicatado, que además permite ver la superficie del electrodo de trabajo (4) durante los trabajos, utilizando preferentemente agua o cualquier otro fluido transparente como fluido termostatazador. Igualmente, los tapones (22) están constituidos en vidrio borosilicatado.

Por su parte, la base (2) y el prensor (10) están constituidos en politetrafluoretileno, material que además presenta una adherencia celular muy baja.

La junta de cubierta (16) y la junta de prensor (12) están constituidas en silicona, que es un material que además propicia una alta supervivencia celular en comparación con otros materiales.

El electrodo de referencia (20) y el electrodo auxiliar (21) están constituidos en metales preferentemente inertes, y muy preferentemente en platino de 99,99% de pureza. El electrodo de trabajo (4) requerirá esterilización por otros medios.

El procedimiento de utilización de la célula electrolítica (1) de la invención comprende:

- Esterilizar los componentes de la célula electrolítica (1).
- Montar la célula electrolítica (1) en condiciones de esterilidad en una campana de flujo laminar, añadiendo durante el montaje una primera parte del volumen del medio celular.
- Extraer la célula electrolítica (1) montada, e introducirla en un incubador durante, al menos, 30 minutos para favorecer las etapas iniciales de adhesión.
- Extraer la célula electrolítica (1) del incubador y volver a introducirla en la campana de flujo laminar, añadiendo resto de volumen del medio celular.
- Conectar los medios de termostatación.

ES 2 371 877 A1

- Suministrar atmósfera de aire con CO₂, idealmente al 5% de CO₂ en volumen, a través de las bocas de entrada y salida (7) para gases.

5 - Conectar los electrodos (4, 20, 21) a un potencióstato en configuración de tres electrodos, para proceder con las medidas electroquímicas.

10 Dichas medidas electroquímicas comprenden la medición del potencial de corrosión, resistencia de polarización y/o impedancia electroquímica.

La etapa de montaje de la célula electrolítica (1) en el interior de la campana de flujo laminar comprende las etapas de:

15 - Montar la chapa de cobre (3) y sobre ella el electrodo de trabajo (4), y fijar el prensor (10).

- Añadir la primera parte del volumen del medio celular.

- Acoplar la cubierta (5).

20 - Insertar el electrodo de referencia (20) y el electrodo auxiliar (21).

La esterilización de la célula electrolítica (1) comprende las etapas de:

25 - Envolver los componentes de la célula, incluyendo el electrodo de referencia (20) y el electrodo auxiliar (21) en papel de aluminio, disponiendo cinta adhesiva termoseñaladora de alcance de la temperatura de esterilización.

- Esterilizar en autoclave a 120 grados centígrados durante, al menos, 20 minutos.

30 - Esterilizar el electrodo de trabajo (20) bajo luz ultravioleta durante un tiempo comprendido entre 4 y 6 horas.

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

- 5 1. Célula electrolítica (1) para estudio de la interfase formada por un implante metálico en medio celular **caracterizada** porque comprende: una base (2), un electrodo de trabajo (4) de biomaterial metálico sujetable horizontalmente en dicha base (2); una conexión eléctrica accesible exteriormente para dicho electrodo de trabajo (4); unos medios de sujeción horizontal en la base (2) del electrodo de trabajo (4) en contacto eléctrico con la conexión eléctrica accesible exteriormente; una cubierta (5) de cierre dispuesta sobre el electrodo de trabajo (4), y provista de medios de cierre herméticos; y una pluralidad de bocas para electrodos (6) y de bocas de adición (9) del medio celular.
- 10 2. Célula electrolítica (1) para estudio de la interfase formada por un implante metálico en medio celular según reivindicación 1 **caracterizada** porque adicionalmente comprende bocas de entrada y salida (7) para gases.
- 15 3. Célula electrolítica (1) para estudio de la interfase formada por un implante metálico en medio celular según reivindicaciones 1 o 2 **caracterizada** porque adicionalmente comprende unos medios de termostatación del medio celular.
- 20 4. Célula electrolítica (1) para estudio de la interfase formada por un implante metálico en medio celular según cualquiera de las reivindicaciones anteriores **caracterizada** porque los medios de sujeción horizontal en la base (2) del electrodo de trabajo (4) comprenden: un prensor (10) horizontal que se encuentra cubriendo íntegramente el electrodo de trabajo (4); una ventana de exposición (11) superior implementada en dicho prensor (10); una junta del prensor (12), dispuesta sobre dicho electrodo de trabajo (4) y circundando la ventana de exposición (11) en orden a exponer un área determinada de dicha electrodo de trabajo (4) al medio celular; y unos medios de apriete del prensor (10) sobre la base (2).
- 25 5. Célula electrolítica (1) para estudio de la interfase formada por un implante metálico en medio celular según reivindicación 4 **caracterizada** porque los medios de apriete del prensor (10) comprenden unas bridas (13) dispuestas en la base (2) y en el prensor (10), y unos vástagos de apriete que pasan por dichas bridas (13).
- 30 6. Célula electrolítica (1) para estudio de la interfase formada por un implante metálico en medio celular según reivindicaciones 4 o 5 **caracterizada** porque la ventana de exposición (11) tiene sus paredes (11a) inclinadas formando un ángulo de, al menos, 45 grados con la horizontal.
- 35 7. Célula electrolítica (1) para estudio de la interfase formada por un implante metálico en medio celular según cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6 **caracterizada** porque la ventana de exposición (11) tiene forma circular.
- 40 8. Célula electrolítica (1) para estudio de la interfase formada por un implante metálico en medio celular según cualquiera de las reivindicaciones anteriores **caracterizada** porque los medios de cierre herméticos de la cubierta (5) comprenden una rosca (14) implementada en la cubierta (5), otra rosca complementaria (15) implementada en el prensor (10) y, al menos, una junta de la cubierta (16).
- 45 9. Célula electrolítica (1) para estudio de la interfase formada por un implante metálico en medio celular según reivindicación 8 **caracterizada** porque la rosca complementaria (15) comprende una rosca hembra implementada en un cuello (30) emergente del prensor (10), donde se acopla la rosca (14) macho que se encuentra implementada en la parte extrema inferior exterior de la cubierta (5).
- 50 10. Célula electrolítica (1) para estudio de la interfase formada por un implante metálico en medio celular según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 9 **caracterizada** porque los medios de termostatación del medio celular comprenden una cámara (17) de circulación de un fluido termostatación, dotada de conexiones de entrada (18) y conexiones de salida (19) para dicho fluido.
- 55 11. Célula electrolítica (1) para estudio de la interfase formada por un implante metálico en medio celular según reivindicación 10 **caracterizada** porque la cámara (17) se encuentra implementada periféricamente en la cubierta (5) en constitución monobloque.
- 60 12. Célula electrolítica (1) para estudio de la interfase formada por un implante metálico en medio celular según reivindicaciones 10 o 11 **caracterizada** porque las conexiones de entrada (18) de la cámara (17) se encuentran prolongadas en sentido descendente por el interior de la misma.
- 65 13. Célula electrolítica (1) para estudio de la interfase formada por un implante metálico en medio celular según cualquiera de las reivindicaciones anteriores **caracterizada** porque comprende, al menos, un electrodo de referencia (20) y, al menos, un electrodo auxiliar (21) dispuestos en dos de las bocas para electrodos (6).
14. Célula electrolítica (1) para estudio de la interfase formada por un implante metálico en medio celular según reivindicación 13 **caracterizada** porque el electrodo de referencia (20) comprende un alambre esencialmente recto.

ES 2 371 877 A1

15. Célula electrolítica (1) para estudio de la interfase formada por un implante metálico en medio celular según reivindicaciones 13 o 14 **caracterizada** porque el electrodo auxiliar (21) comprende un alambre enrollado sobre sí mismo.

5 16. Célula electrolítica (1) para estudio de la interfase formada por un implante metálico en medio celular según cualquiera de las reivindicaciones 13 a 15 **caracterizada** porque el electrodo de referencia (20) y el electrodo auxiliar (21) se encuentran sustentados y sellados en tapones (22) con medios de acoplamiento sin fugas en las bocas para electrodos (6), disponiendo de terminales exteriores (23).

10 17. Célula electrolítica (1) para estudio de la interfase formada por un implante metálico en medio celular según reivindicación 16 **caracterizada** porque los medios de acoplamiento sin fugas de los tapones (22) comprenden conos (24) para ajuste en las bocas para electrodos (6).

15 18. Célula electrolítica (1) para estudio de la interfase formada por un implante metálico en medio celular según cualquiera de las reivindicaciones anteriores **caracterizada** porque las bocas para electrodos (6), las bocas de adición (9) y/o las bocas de entrada y salida (7) de gases se encuentran implementadas en la cubierta (5).

20 19. Célula electrolítica (1) para estudio de la interfase formada por un implante metálico en medio celular según cualquiera de las reivindicaciones anteriores **caracterizada** porque la base (2), la cubierta (5), el prensor (10), el electrodo de referencia (20), el electrodo auxiliar (21), la junta del prensor (12) y/o la junta de la cubierta (16) están constituidas en materiales resistentes a temperaturas de esterilización en autoclave.

25 20. Célula electrolítica (1) para estudio de la interfase formada por un implante metálico en medio celular según reivindicación 19 **caracterizada** porque la cubierta (5) está constituida en vidrio borosilicatado.

21. Célula electrolítica (1) para estudio de la interfase formada por un implante metálico en medio celular según reivindicaciones 19 o 20 **caracterizada** porque los tapones (22) están constituidos en vidrio borosilicatado.

30 22. Célula electrolítica (1) para estudio de la interfase formada por un implante metálico en medio celular según cualquiera de las reivindicaciones 19 a 21 **caracterizada** porque la base (2) y el prensor (10) están constituidos en politetrafluoretileno.

35 23. Célula electrolítica (1) para estudio de la interfase formada por un implante metálico en medio celular según cualquiera de las reivindicaciones 19 a 22 **caracterizada** porque la junta de cubierta (16) y la junta de prensor (12) están constituidas en silicona.

40 24. Célula electrolítica (1) para estudio de la interfase formada por un implante metálico en medio celular según cualquiera de las reivindicaciones 19 a 23 **caracterizada** porque el electrodo de referencia (20) y el electrodo auxiliar (21) están constituidos en platino de 99,99% de pureza.

45 25. Célula electrolítica (1) para estudio de la interfase formada por un implante metálico en medio celular según cualquiera de las reivindicaciones anteriores **caracterizada** porque la conexión eléctrica accesible exteriormente para el electrodo de trabajo (4) comprende una chapa de cobre (3) dispuesta inferiormente y en contacto respecto a dicho electrodo de trabajo (4), y que se encuentra sobresaliendo exteriormente de la base (2).

26. Procedimiento de utilización de la célula electrolítica (1) **caracterizado** porque comprende:

- Esterilizar los componentes de la célula electrolítica (1).

50 - Montar la célula electrolítica (1) en condiciones de esterilidad en una campana de flujo laminar, añadiendo durante el montaje una primera parte del volumen del medio celular.

- Extraer la célula electrolítica (1) montada, e introducirla en un incubador durante, al menos, 30 minutos.

55 - Extraer la célula electrolítica (1) del incubador y volver a introducirla en la campana de flujo laminar, añadiendo resto de volumen del medio celular.

- Conectar los medios de termostatación.

60 - Suministrar una atmósfera de aire con CO₂ a través de las bocas de entrada y salida (7) para gases.

- Conectar los electrodos (4, 20, 21) a un potencióstato en configuración de tres electrodos, para proceder con las medidas electroquímicas.

65 27. Procedimiento de utilización de la célula electrolítica (1) según reivindicación 26 **caracterizado** porque la atmósfera de aire con CO₂ contiene un 5% de CO₂ en volumen.

ES 2 371 877 A1

28. Procedimiento de utilización de la célula electrolítica (1) según reivindicaciones 26 o 27 **caracterizado** porque las medidas electroquímicas comprenden la medición del potencial de corrosión, resistencia de polarización y/o impedancia electroquímica.

5 29. Procedimiento de utilización de la célula electrolítica (1) según cualquiera de las reivindicaciones 26 a 28 **caracterizado** porque la etapa de montaje de la célula electrolítica (1) en el interior de la campana de flujo laminar comprende las etapas de:

10 - Colocar el electrodo de trabajo (4) en la base (2) de modo que quede superiormente y en contacto con una conexión eléctrica accesible exteriormente, y fijar el prensor (10).

- Añadir la primera parte del volumen del medio celular.

15 - Acoplar la cubierta (5).

- Insertar el electrodo de referencia (20) y el electrodo auxiliar (21).

20 30. Procedimiento de utilización de la célula electrolítica (1) según cualquiera de las reivindicaciones 26 a 29 **caracterizado** porque la etapa de esterilización de la célula electrolítica (1) comprende las etapas de:

- Envolver los componentes de la célula, incluyendo el electrodo de referencia (20) y el electrodo auxiliar (21), en papel de aluminio, disponiendo cinta adhesiva termoseñaladora de alcance de la temperatura de esterilización.

25 - Esterilizar en autoclave a 120 grados centígrados durante, al menos 20 minutos.

- Esterilizar el electrodo de trabajo (4) bajo luz ultravioleta durante un tiempo comprendido entre 4 y 6 horas.

30

35

40

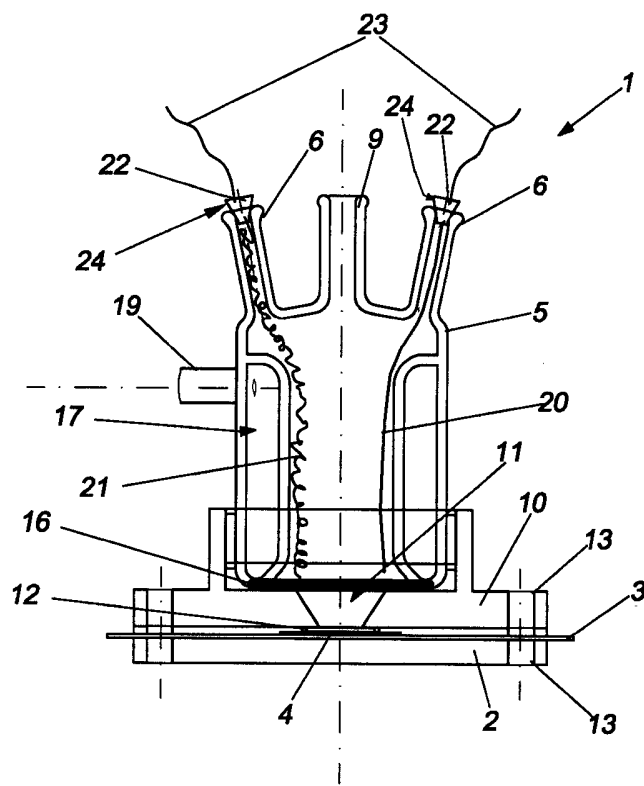
45

50

55

60

65



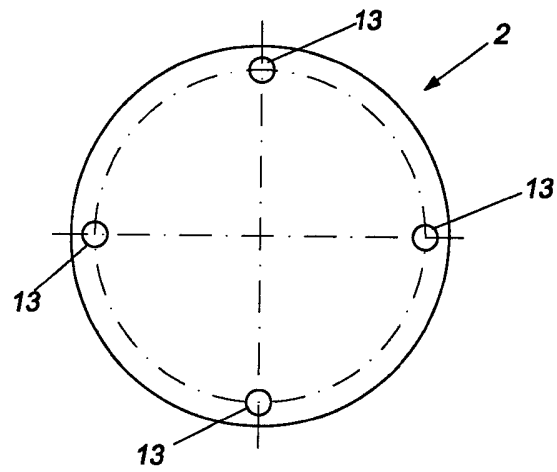


FIG. 2

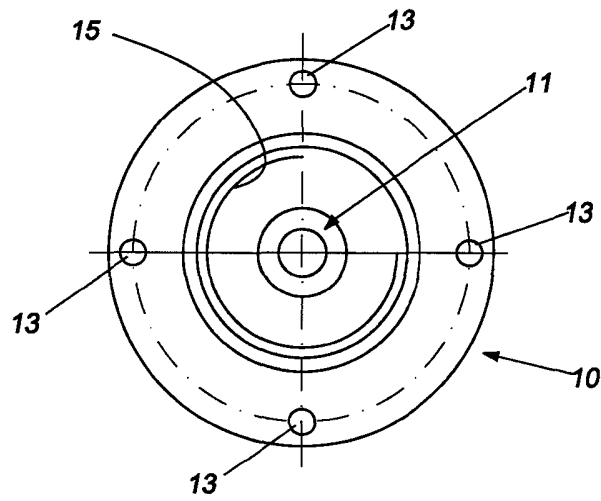


FIG. 3

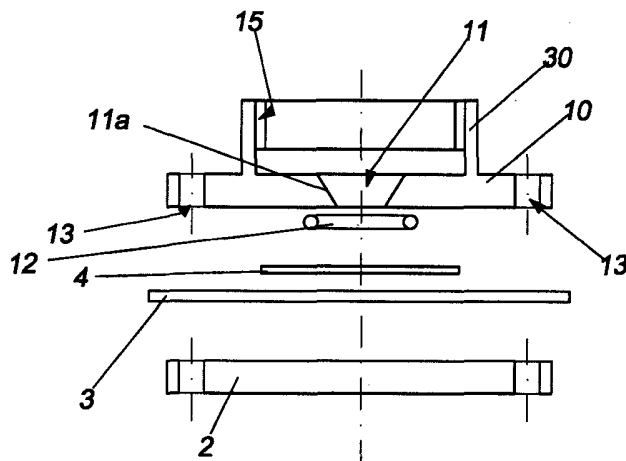


FIG. 4

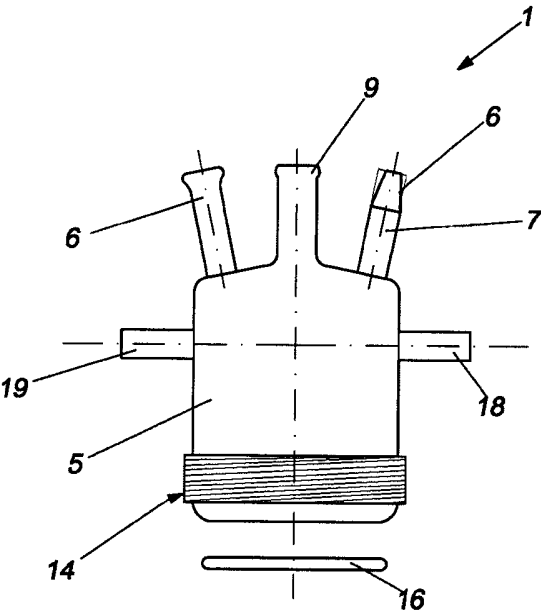


FIG. 5

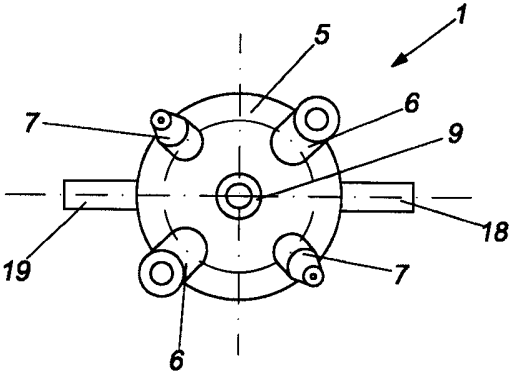


FIG. 6

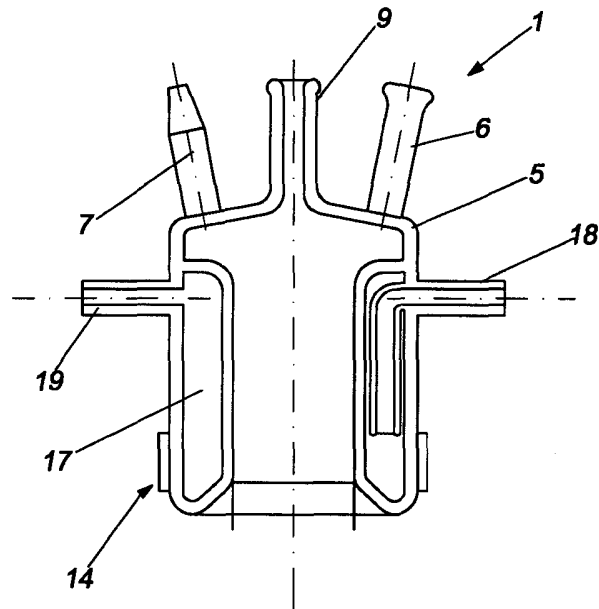


FIG. 7



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

21 N.º solicitud: 200801041

22 Fecha de presentación de la solicitud: 11.04.2008

32 Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

5 Int. Cl. : **G01N17/02** (2006.01)
A61L27/04 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
Y	LIN H-Y et al. In vitro biocorrosion of Co-Cr-Mo implant alloy by macrophage cells. Journal of Orthopaedic Research, Vol. 22, No. 6, Noviembre de 2004, páginas 1231-1236 [en línea], [recuperado el 15.12.2011]. Recuperado de Internet <URL: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0736026604001044 > <DOI: 10.1016/j.orthres.2004.04.005>	1-30
Y	DE 3715881 A1 (BAYERISCHE MOTOREN WERKE AG) 24.11.1988, todo el documento.	1-30
A	Standard Reference Test Method for Making Potentiostatic and Potentiodynamic Anodic Polarization Measurements. ASTM International. Designation: G5 -94 (Reapproved 2004) [en línea], 2004 [recuperado el 30.11.2011]. Recuperado de Internet: <URL= http://depa.pquim.unam.mx/labcorr/publicaciones/ASTM-G5-94-Anodic-polarization-measurements.pdf >	2,16,17,19-22
A	RECLARU, L. et al. Corrosion behavior of a welded stainless-steel orthopedic implant. Biomaterials, Vol. 22, No. 3, 2001, páginas 269-279. [en línea], [recuperado el 15.12.2011]. Recuperado de Internet <URL: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014296120000185X > <DOI: 10.1016/S0142-9612(00)00185-X>	6,7
A	US 6611151 B1 (US NAVY) 26.08.2003, resumen; columna 10, línea 66 – columna 11, línea 8; figura 1.	15
A	EP 1087193 A1 (AIR LIQUIDE) 28.03.2001, párrafo [13]; figura 1.	12

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones n.º:

Fecha de realización del informe
19.12.2011

Examinador
A. Figuera González

Página
1/6

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

G01N, A61L

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, TXTEN, NPL, BIOSIS, EMBASE, MEDLINE, COMPENDEX, XPESP, XPESP2, Internet

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 19.12.2011

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)

Reivindicaciones 1 - 30
Reivindicaciones

SI
NO

Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)

Reivindicaciones
Reivindicaciones 1 - 30

SI
NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	LIN H-Y et al. In vitro biocorrosion of Co-Cr-Mo implant alloy by macrophage cells. Journal of Orthopaedic Research, Vol. 22, No. 6, páginas 1231-1236.	Noviembre de 2004
D02	DE 3715881 A1 (BAYERISCHE MOTOREN WERKE AG)	24.11.1988
D03	Standard Reference Test Method for Making Potentiostatic and Potentiodynamic Anodic Polarization Measurements. ASTM International. Designation: G5 -94 (Reapproved 2004)	2004
D04	RECLARU, L. et al. Corrosion behavior of a welded stainless-steel orthopedic implant. Biomaterials, Vol. 22, No. 3, páginas 269-279.	2001
D05	US 6611151 B1 (US NAVY)	26.08.2003
D06	EP 1087193 A1 (AIR LIQUIDE)	28.03.2001

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

REIVINDICACIÓN 1

Se considera que el documento D01 es el documento del estado de la técnica más próximo al objeto de la reivindicación 1.

En el documento D01 se analiza la biocorrosión in vitro debido a la presencia de macrófagos de un implante de Co-Cr-Mo. Se utiliza una célula electroquímica diseñada ex profeso para estudiar la corrosión debida al cultivo celular realizando ensayos que simulan las condiciones in vivo en que las células crecen en la superficie del implante.

La célula está hecha de teflón (politetrafluoroetileno) con una tapa de plexiglás (polimetilmetacrilato). El electrodo de referencia y un puente salino se disponen en una boca en la tapa. La placa de metal que se desea estudiar actúa de electrodo de trabajo. Esta placa de metal se coloca en el fondo de la caja y dos electrodos auxiliares de carbono se colocan encima de la placa de metal. En la figura 1 se aprecia que estos electrodos auxiliares se introducen en la célula electrolítica a través de unas bocas en la tapa. La placa de metal presenta una superficie tratada orientada hacia arriba en contacto con las células y el medio de cultivo. Un tornillo de acero inoxidable en contacto con la placa de metal se une a un conductor para su conexión al potencióstato.

Véase D01, apartado "Materials and methods", página 1232 y figura 1.

Se considera, aunque no se indique expresamente en el documento D01, que el tornillo permite sujetar la placa a la base y se corresponde pues con los "medios de sujeción horizontal en la base (2) del electrodo de trabajo (4)" de la reivindicación 1.

Se aprecian las siguientes diferencias entre la célula electrolítica objeto de la reivindicación 1 y la célula electrolítica descrita en el documento D01:

- La cubierta de D01 no cierra herméticamente, de hecho se indica que está encajada sin apretar fuerte para permitir el intercambio de gases (véase D01, fig.1)

No obstante existen células electrolíticas para el estudio de la corrosión que tienen un cierre hermético tal como por ejemplo la que se describe en el documento D02.

Así pues el experto en la materia, enfrentado al problema técnico de poder controlar el intercambio de gases de la célula electrolítica del documento D01, hubiera podido recurrir a una unión entre la base de la célula y la célula del tipo descrito en el documento D02 para la unión de elemento roscado 12 con el cuerpo tubular 1 de la célula electrolítica (véase D02, columna 2, líneas 27-47).

- En el documento D01 no se menciona la existencia de una boca de adición de medio celular. No obstante, se trata de una mera opción de diseño obvia para el experto en la materia. Además en el documento D02 la célula electroquímica tiene un sistema de circulación del medio 10 con una boca de entrada 10' y una boca de salida 10" (véase D02, col. 2, lín. 39-42 y fig. 1)

En conclusión, se considera que, de acuerdo con las enseñanzas de los documentos D01 y D02, la reivindicación independiente 1 carece de actividad inventiva según lo establecido el artículo 8 de la Ley de Patentes

REIVINDICACIONES 2 A 25

Las reivindicaciones 2 a 25 son reivindicaciones dependientes directa o indirectamente de la reivindicación 1, que carece de actividad inventiva y carecen a su vez de actividad inventiva por responder a elementos ya conocidos en el estado de la técnica o a meras opciones de diseño evidentes para el experto en la materia.

A continuación se ilustran con ejemplos estos aspectos para cada reivindicación:

Reiv. 2: la posibilidad de incorporar a una célula electrolítica unas bocas de entrada y salida de gases se ilustra por ejemplo en el documento D03, pág. 1-3, apartado 4. Apparatus y fig. 3.

Reiv. 3, 10 y 11: la célula electrolítica del documento D02 tiene unos medios de termostatación que consisten en una esfera envolvente 15 por la que circula un fluido 16 que permite controlar la temperatura en el interior de la célula electrolítica. Véase D02, col.2, lín. 50-53, col. 2, lín. 68- col. 3, lín. 4 y fig.1.

Reiv. 4: se puede establecer la siguiente correspondencia entre los medios de sujeción del electrodo de trabajo objeto de la reivindicación 4 y los elementos del documento D02:

- Prensor 10 con ventana 11 y junta 12
-> placa 2 con apertura 4 y junta de estanqueidad 8
- Medios de apriete del sensor sobre la base <-> muelle 6

El disponer estos elementos de forma que el electrodo de trabajo sea horizontal es una opción de diseño obvia para el experto en la materia.

Reiv. 5: los medios de apriete del prensor de la reiv. 5 son diferentes de los medios de apriete de la placa 2, del documento D02. No obstante se considera que el uso de bridas y tornillo como medios de apriete son medios sobradamente conocidos en el estado de la técnica cuyo empleo por parte del experto en la materia es una alternativa equivalente obvia a los medios descritos en el documento D02.

Reiv. 6 y 7: para el experto en la materia el inclinar las paredes de una ventana circular al menos 45º con respecto a la horizontal es una opción de diseño obvia y que ya es conocida tal y como se ilustra, por ejemplo, en el documento D04, fig. 2.

Reiv. 8 y 9: En el documento D02, en la figura 1, se aprecia que el cierre entre el cuerpo 1 y el elemento roscado 12 incorpora una junta de estanqueidad

Reiv. 12: El empleo de entradas de fluido termostatazador prolongadas en sentido descendente en una camisa termostatazadora se ilustra por ejemplo en el documento D06, párrafo 13 y figura 1, circuitería de llenado 11.

Reiv. 13 y 16 a 18: se trata de características de diseño conocidas. Por ejemplo, en el documento D01, figura 1, se aprecia que existen dos electrodos auxiliares y un electrodo de referencia dispuestos en la tapa en bocas para electrodos con tapones. El que los tapones tengan forma cónica no se menciona explícitamente en los documentos citados pero puede apreciarse en D01, fig 1 en la boca del electrodo de referencia 14 o en el D03, pág. 3, apartado "4.6.1. Electrode holder", fig. 3 y 5.

Reiv. 14 y 15: el uso de electrodos en forma de alambre rectos o enrollados sobre sí mismos es conocido en el estado de la técnica. El uso de un electrodo auxiliar enrollado se ilustra por ejemplo en el D05, figura 1, electrodo auxiliar 16.

Reiv. 19 a 23: El uso de vidrio borosilicatado y de politetrafluoroetileno como materiales para diversos elementos de la célula electrolítica se corresponde al uso de materiales en función de sus propiedades conocidas por lo que se considera obvio para el experto en la materia. Pero además en el documento D03 (pág. 1, col, derecha, nota 1) se comenta que el borosilicato y el politetrafluoroetileno son materiales que se consideran adecuados. El uso de silicona en juntas de estanqueidad es sobradamente conocido para el experto en la materia.

Reiv. 24: el uso de platino como material para electrodos es sobradamente conocido en el estado de la técnica. El reemplazar electrodos de calomelano por electrodo de platino si se desea una mayor resistencia a temperaturas elevadas no parece plantear ningún problema técnico concreto ni se reivindica ninguna otra característica técnica específica del electrodo necesaria para dicho uso.

Reiv. 25 En el documento D01 el electrodo de trabajo 4 tiene una conexión exterior por el lado contrario a la célula electrolítica en contacto con el electrodo 4 que sobresale exteriormente. La forma (chapa) y el (material (cobre) son simples alternativas de diseño.

REIVINDICACIÓN 26

De acuerdo con lo expuesto anteriormente, la célula electrolítica de la reivindicación 1 carece de actividad inventiva.

El procedimiento de uso objeto de la reivindicación 26 es un procedimiento basado en etapas de uso común en cualquier laboratorio que emplean aparatos conocidos de forma conocida y que producen los efectos esperados.

Se considera por lo tanto que la reivindicación independiente 26, que se refiere a un procedimiento de uso de una célula electrolítica según la reivindicación 1 que carece de actividad inventiva, carece a su vez de actividad inventiva.

REIVINDICACIONES 27 A 30

Las reivindicaciones 27 a 30 son reivindicaciones dependientes directa o indirectamente de la reivindicación 26 que carece de actividad inventiva y carecen a su vez de actividad inventiva por responder a elementos ya conocidos en el estado de la técnica o a meras opciones de diseño evidentes para el experto en la materia.

Reiv. 27: en D01 el incubador tiene un 5% de CO₂ (véase D01, pág. 1232, col, derecha, segundo párrafo).

Reiv 28: en D01 se utiliza un analizador de impedancia electroquímica (véase D01, pág. 1232, col, derecha, primer párrafo).

Reiv. 29: Son etapas obvias de montaje y utilización de la célula electrolítica objeto de la reivindicación 1.

Reiv: 30: Son etapas de esterilización que se corresponde a métodos de uso común en laboratorios.

Las condiciones particulares del procedimiento, como por ejemplo, los tiempos de esterilización, no parecen responder a la resolución de ningún problema técnico concreto ni producir ningún efecto sorprendente sino que aparentemente responden a valores razonables determinados de forma rutinaria sin hacer intervenir la actividad inventiva del experto en la materia.