

19 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
COURBEVOIE

11 N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

3 140 440

21 N° d'enregistrement national : 22 10130

51 Int Cl⁸ : G 01 N 33/48 (2023.01), G 01 N 21/17, 21/25

12

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

22 Date de dépôt : 04.10.22.

30 Priorité :

43 Date de mise à la disposition du public de la demande : 05.04.24 Bulletin 24/14.

56 Liste des documents cités dans le rapport de recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du présent fascicule*

60 Références à d'autres documents nationaux apparentés :

Demanda(s) d'extension :

71 Demandeur(s) : CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE Etablissement public à caractère scientifique et technologique (EPST) — FR, Université de Franche-Comté Etablissement Public à caractère Scientifique, Culturel et Professionnel (EPCSCP) — FR et Centre Hospitalier Régional Universitaire de BESANCON Etablissement d'hospitalisation — FR.

72 Inventeur(s) : WACOGNE Bruno, AZZOPARDI Charles-Louis, GAUTHIER-MANUEL Bernard et CHARRIERE Karine.

73 Titulaire(s) : CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE Etablissement public à caractère scientifique et technologique (EPST), Université de Franche-Comté Etablissement Public à caractère Scientifique, Culturel et Professionnel (EPCSCP), Centre Hospitalier Régional Universitaire de BESANCON Etablissement d'hospitalisation.

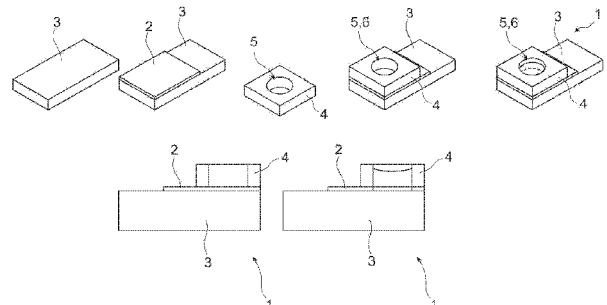
74 Mandataire(s) : IPAZ.

54 Procédé de détermination du taux de Lithium dans un fluide biologique.

57 « Procédé de détermination du taux de Lithium dans un fluide biologique »

Procédé de détermination d'une quantité de Lithium contenu dans un fluide biologique, ledit procédé comprend les étapes consistant à ajouter, dans un échantillon de fluide biologique de volume connu, un volume donné d'une solution discriminante ayant pour effet d'obtenir une solution de fluide biologique tamponnée à un pH compris entre 6 et 8 et de provoquer une précipitation d'au moins une partie des cations contenus dans l'échantillon de fluide biologique à l'exception des ions Lithium. Le procédé comprend, en outre, les étapes consistant à déposer un volume donné de solution de fluide biologique sur une couche active (2) d'une optode (1), ladite couche active comprend un transducteur chimique dont au moins une propriété optique est modifiée en présence d'ions Lithium dans la solution de fluide biologique, à mesurer au moins une caractéristique d'au moins une onde lumineuse émise ou réfléchiée par la couche active de l'optode et à déterminer, à partir de l'au moins une caractéristique mesurée et à partir de données de calibration, une quantité de Lithium contenu dans le fluide biologique.

Figure pour l'abrégé : Figure 5



FR 3 140 440 - A1



Description

Titre de l'invention : Procédé de détermination du taux de Lithium dans un fluide biologique

Domaine technique

- [0001] La présente invention se rapporte au domaine de la détermination de la quantité de Lithium contenu dans des fluides biologiques ou corporels au moyen d'une optode.
- [0002] La présente invention concerne, en particulier, le suivi du taux de Lithium, à domicile, par des personnes souffrant de troubles de l'humeur et recevant un traitement à base de lithium comme, de manière non limitative, le trouble bipolaire ou en association avec d'autres traitements pour les troubles dépressifs résistants.

Etat de la technique antérieure

- [0003] On connaît dans l'état de la technique le produit vendu par la société FISIC sous le nom commercial de « Medimate Multireader ». Cet appareil permet la mesure par un utilisateur de son taux Lithium dans l'organisme. La mesure est précise car basée sur l'électrophorèse. Toutefois, l'analyse nécessite le recueil d'un échantillon de sang de l'utilisateur, ce qui constitue un acte invasif.
- [0004] On connaît également dans l'état de la technique, l'utilisation d'une optode pour la détermination du taux de Lithium dans les fluides biologiques. Le document Albero et al., « Novel flow-through bulk optode for spectrophotometric determination of lithium in pharmaceuticals and saliva », Sensors and Actuators B, 145, (2010) 133–138 décrit la détermination de la concentration en Lithium dans la salive au moyen d'une optode par spectrophotométrie.
- [0005] Un but de l'invention est, en outre, de proposer un procédé de détermination du taux de Lithium dans un fluide biologique :
- permettant de déterminer le taux Lithium à une concentration inférieure à 5 mM, et/ou
 - ou
 - permettant de déterminer le taux Lithium salivaire, et/ou
 - à bas coût, et/ou
 - simple à mettre en œuvre, et/ou
 - permettant à l'utilisateur de réaliser lui-même et à domicile le procédé.

Présentation de l'invention

- [0006] A cet effet, il est proposé un procédé de détermination d'une quantité de Lithium contenu dans un fluide biologique. Le procédé comprend les étapes consistant à :
- obtenir, à partir d'un échantillon de fluide biologique de volume connu, une solution de fluide biologique tamponnée à un pH compris entre 6 et 8, notée étape A,
 - ajouter, dans la solution de fluide biologique, un volume donné d'une solution dis-

criminante ayant pour effet de provoquer une précipitation d'au moins une partie des cations contenus dans la solution de fluide biologique à l'exception des ions Lithium, notée étape B,

- déposer un volume, de préférence un volume donné, de solution de fluide biologique sur une couche active d'une optode ; ladite couche active comprend un transducteur chimique dont au moins une propriété optique est modifiée en présence d'ions Lithium dans la solution de fluide biologique, notée étape C,

- mesurer au moins une caractéristique d'au moins une onde lumineuse émise ou réfléchiée par la couche active de l'optode, de préférence par le transducteur chimique,

- déterminer, à partir de l'au moins une caractéristique mesurée et à partir de données de calibration, une quantité de Lithium contenue dans le fluide biologique.

[0007] La solution de fluide biologique peut être une solution quelconque, liquide ou visqueuse, de préférence aqueuse, contenant des ions Lithiums.

[0008] Les étapes A, B peuvent être mises en œuvre dans un ordre chronologique quelconque. De préférence, l'étape C est mise en œuvre subséquentement aux étapes A et B.

[0009] De préférence, les étapes A et B constituent une seule et même étape consistant à ajouter, dans un échantillon de fluide biologique de volume connu, un volume donné d'une solution discriminante ayant pour effet :

- d'obtenir une solution de fluide biologique tamponnée à un pH compris entre 6 et 8, et

- de provoquer une précipitation d'au moins une partie des cations contenus dans l'échantillon de fluide biologique à l'exception des ions Lithium.

[0010] De préférence, la solution discriminante a pour effet de précipiter les bi-cations contenus dans la solution de fluide biologique, en particulier les ions Magnésium et Calcium. De préférence, la solution discriminante a pour effet de précipiter les mono-cations contenus dans la solution de fluide biologique, à l'exception des ions Lithium, en particulier les ions Potassium et Sodium. De préférence, la solution discriminante a pour effet de précipiter l'ensemble des cations, à l'exception des ions Lithium, contenus dans la solution de fluide biologique.

[0011] De préférence, l'obtention d'une solution de fluide biologique tamponnée à un pH compris entre 6 et 8 a pour effet de s'affranchir de l'influence d'au moins une partie des cations contenus dans la solution de fluide biologique, de préférence les bi-cations, de préférence les ions Calcium et Magnésium, et les mono-cations, à l'exception des ions Lithium, contenus dans la solution de fluide biologique, de préférence les ions Potassium et Sodium, sur la capture du Lithium par la couche active de l'optode.

[0012] De préférence, le fluide biologique peut être du sang ou de la salive. Dans le contexte du suivi du taux de Lithium à domicile par l'utilisateur lui-même, la salive est, de

préférence, le fluide biologique privilégié.

- [0013] De préférence, le procédé ne comprend pas d'étape invasive de prélèvement de l'échantillon de fluide biologique. Le procédé peut comprendre une étape d'obtention d'un fluide biologique.
- [0014] Le terme « donné » peut être défini comme déterminé ou connu.
- [0015] De préférence, l'au moins une propriété optique est modifiée comparativement à la quantité de Lithium dans la solution de fluide biologique. De préférence, l'au moins une propriété optique est modifiée de manière proportionnelle ou non mais bijectivement à la quantité de Lithium dans la solution de fluide biologique.
- [0016] Il peut être entendu par propriété optique ou par caractéristique de l'au moins une onde lumineuse une intensité lumineuse, une teinte, une absorption ou une luminescence.
- [0017] Il peut être entendu par l'au moins une caractéristique de l'au moins une onde lumineuse au moins une variation d'au moins une caractéristique de l'au moins une onde lumineuse.
- [0018] La propriété optique du transducteur peut être une émission et/ou une variation d'une émission et/ou un arrêt d'une émission d'au moins une onde lumineuse par le transducteur chimique.
- [0019] La caractéristique de l'au moins une onde lumineuse émise ou réfléchiée par la couche active peut être définie comme la propriété optique de la couche active.
- [0020] Les données de calibration peuvent être des données stockées. Les données de calibration peuvent être une courbe ou une fonction de calibration ou une table de valeur ou de correspondance.
- [0021] De préférence, l'étape d'obtention de la solution de fluide biologique tamponnée est réalisée en ajoutant un volume, de préférence un volume donné, d'une solution tampon ne comprenant pas de cations, à l'exception des ions Hydronium, de préférence ne comprenant pas de bi-cations, en particulier Magnésium et Calcium de préférence encore ne comprenant pas de mono-cations, en particulier des ions Sodium et Potassium, dans l'échantillon de fluide biologique.
- [0022] De préférence, l'étape de mesure de l'au moins une caractéristique d'au moins une onde lumineuse émise ou réfléchiée par la couche active de l'optode est réalisée au moyen d'un dispositif de mesures optiques. La mesure optique, par le dispositif de mesures optiques, peut être réalisée par transmission ou par réflexion.
- [0023] L'étape consistant à ajouter, dans la solution de fluide biologique, un volume donné de solution discriminante peut avoir pour effet de provoquer une désolvation d'au moins une partie des cations contenus dans la solution de fluide biologique à l'exception des ions Lithium.
- [0024] Le procédé peut comprendre, préalablement à l'étape d'ajout de la solution dis-

criminante, une étape de filtration de la solution de fluide biologique ou du fluide biologique sur une membrane poreuse présentant un seuil de coupure inférieur ou égal à 50 μm .

- [0025] De préférence, la solution discriminante est une solution tampon ne comprenant pas de cations à l'exception des ions Hydronium.
- [0026] De préférence, la solution discriminante est une solution tampon ne comprenant pas de di-cations.
- [0027] De préférence, la solution discriminante est une solution tampon ne comprenant pas de mono-cations à l'exception des ions Hydronium.
- [0028] De préférence, la solution discriminante est une solution tampon ne comprenant pas d'ions Magnésium et Calcium.
- [0029] De préférence, la solution discriminante est une solution tampon ne comprenant pas d'ions Sodium et Potassium.
- [0030] De préférence, la solution tampon est une solution tampon à pH 7 de tris(hydroxyméthyl)aminométhane:HCl.
- [0031] De préférence, le ratio molaire tris(hydroxyméthyl)aminométhane:HCl est de 1:1.
- [0032] La solution tampon peut être une solution tampon de ou comprenant ou à base de Tricine ou de N-(2-Hydroxy-1,1-bis(hydroxyméthyl)éthyl)glycine, de bicine ou [Bis(2-hydroxyéthyl)amino]acetic acid, d'HEPES ou d'acide 4-(2-hydroxyéthyl)-1-pipérazine éthane sulfonique ou de MES ou d'acide 2-(N-morpholino)éthanosulfonique.
- [0033] De préférence, la solution discriminante est une solution aqueuse comprenant des ions oxalate à une concentration supérieure ou égale à 1 milliMolaire (mM), ou 1 mmol.l⁻¹, de préférence à 5 mM.
- [0034] La concentration en ions oxalate dans la solution discriminante peut être comprise entre 1 mM et la limite de solubilité de l'acide oxalique dans l'eau. De préférence, la concentration en ions oxalate dans la solution discriminante est de 5 mM.
- [0035] De préférence, l'au moins une caractéristique de l'au moins une onde lumineuse émise ou réfléchiée par la couche active de l'optode comprend, de préférence est, une valeur de teinte de la couche active.
- [0036] La teinte de la solution peut être la valeur Hue dans un espace ou système colorimétrique, par exemple HSL ou HSV.
- [0037] De préférence, le procédé comprend une étape de traitement de l'au moins une caractéristique mesurée de l'au moins une onde lumineuse émise ou réfléchiée par la couche active de l'optode dans laquelle l'au moins une caractéristique mesurée comprend un ensemble de valeurs colorimétriques dans un espace colorimétrique, par exemple CIE XYZ, ou un autre espace, par exemple HSV, obtenu à partir de, ou qui est fonction de, l'espace colorimétrique CIE XYZ.

- [0038] L'ensemble de valeurs colorimétriques peut être, ou peut être représenté sous forme de, un diagramme de chromaticité.
- [0039] De préférence, l'au moins une caractéristique mesurée comprend trois valeurs colorimétriques. L'ensemble de valeurs colorimétriques peut comprendre la teinte et/ou la saturation et/ou la luminance.
- [0040] De préférence, l'étape de traitement de l'au moins une caractéristique mesurée comprend :
- un changement de repère, au sein de l'espace colorimétrique, réalisé sur les deux dimensions XY, puis
 - une projection sur l'axe Y de l'espace colorimétrique des valeurs colorimétriques mesurées.
- [0041] Le changement de repère peut être une étape de rotation, dans l'espace colorimétrique CIE XYZ, de préférence réduit à deux dimensions, notées XY, d'un angle compris entre 35° et 60° des valeurs colorimétriques mesurées. Le changement de repère peut être une analyse en composantes principales ou toute autre transformation.
- [0042] De préférence, l'étape de traitement de l'au moins une caractéristique mesurée est réalisée sur deux valeurs colorimétriques de l'ensemble de valeurs colorimétriques.
- [0043] Le changement de repère, au sein de l'espace colorimétrique, peut être réalisé sur les trois dimensions de l'espace colorimétrique XYZ.
- [0044] Selon l'invention, il est également proposé une optode, de préférence pour la détermination de la quantité de Lithium contenu dans un fluide biologique, comprenant :
- un support blanc en matériau inerte chimiquement,
 - une couche active reposant sur le support, ladite couche active comprend un transducteur chimique agencé pour qu'au moins une propriété optique soit modifiée en présence d'une espèce ionique spécifique, de préférence des ions Lithium,
 - une couche noire en matériau inerte chimiquement comprenant au moins une ouverture formant un puit agencé pour recevoir une solution à analyser destinée à être en contact avec la couche active.
- [0045] Il peut être entendu par inerte chimiquement un matériau qui n'interfère pas ou peu avec le fluide biologique ou le milieu contenant le fluide biologique et/ou ne dégrade pas ou peu l'optode, en particulier la couche active de l'optode.
- [0046] Il peut être entendu par inerte chimiquement biocompatible. Il peut être entendu par biocompatible un matériau qui n'interfère pas et/ou ne dégrade pas le milieu biologique ou le milieu comprenant le fluide biologique avec lequel il est destiné à être mis en contact.
- [0047] Il peut être entendu par reposant sur le support immobilisé, accroché, solidaire ou fixé sur le support.
- [0048] Il peut être entendu par spécifique déterminé ou particulier.

- [0049] De préférence, le matériau inerte chimiquement est un polymère.
- [0050] De préférence, la couche noire en matériau inerte chimiquement repose, au moins en partie, de préférence en totalité, sur la couche active.
- [0051] De préférence, la couche active de l'optode comprend un ionophore et un chromophore.
- [0052] La couche active peut comprendre, en outre, un additif, par exemple un additif anionique lipophile.
- [0053] De préférence, le matériau inerte chimiquement est du poly(méthacrylate de méthyle) (PMMA).
- [0054] Le matériau inerte chimiquement peut être du téflon.
- [0055] Le matériau inerte chimiquement peut être inorganique. Le matériau inerte chimiquement peut être une céramique.
- [0056] De préférence, l'optode selon l'invention convient, de préférence encore est particulièrement adaptée, de manière davantage préférée est conçue et de manière particulièrement avantageuse est spécialement conçue, pour mettre en œuvre le procédé de détermination d'une quantité de Lithium contenu dans un fluide biologique selon l'invention.
- [0057] Toute caractéristique de l'optode selon l'invention est directement transposable au procédé de détermination selon l'invention et inversement.
- [0058] Selon l'invention, il est également proposé une utilisation d'une solution aqueuse comprenant des ions oxalate à une concentration supérieure à 1 mM, de préférence à 5 mM, et présentant un pH supérieur ou égal à 6 pour la détermination de la quantité de Lithium contenu dans un fluide biologique.
- [0059] La concentration en ions oxalate dans la solution aqueuse peut être comprise entre 1 mM et la limite de solubilité de l'acide oxalique dans l'eau. De préférence, la concentration en ions oxalate dans la solution aqueuse est de 1 mM.
- [0060] Il peut être entendu par « aqueuse comprenant des ions oxalate à une concentration supérieure à 1 mM et présentant un pH supérieur ou égal à 6 pour la détermination de la quantité de Lithium contenu dans un fluide biologique », l'utilisation de ladite solution aqueuse pour la préparation d'une solution de fluide biologique destinée à être analysée pour déterminer la quantité de Lithium qu'elle contient.

Description des figures

- [0061] D'autres avantages et particularités de l'invention apparaîtront à la lecture de la description détaillée de mises en œuvre et de modes de réalisation nullement limitatifs, et des dessins annexés suivants :
- [0062] [Fig. 1a] la [Fig. 1a] est une représentation schématique d'un mode de réalisation d'un dispositif de mesures optiques portatif couplé à l'optode selon l'invention dans une

- configuration apte à effectuer une mesure des propriétés optiques de l'optode,
- [0063] [Fig.1b] la [Fig.1b] est une représentation schématique du dispositif de mesures optiques portatif découplé de l'optode,
- [0064] [Fig.2] la [Fig.2] est une représentation schématique d'une optode illustrant la variation de teinte de la couche active de l'optode en fonction de la concentration en Lithium,
- [0065] [Fig.3a] la [Fig.3a] est une représentation des composantes xy de l'espace colorimétrique CIE xyY obtenues à partir de données mutlispectrales mesurées sur une optode selon l'invention,
- [0066] [Fig.3b] la [Fig.3b] est un agrandissement des composantes xy de l'espace colorimétrique CIE xyY présentées sur la [Fig.3a],
- [0067] [Fig.4] la [Fig.4] est une représentation des données obtenus par traitement des composantes XY de l'espace colorimétrique CIE XYZ présentées sur les FIGURES 3a et 3b,
- [0068] [Fig.5] la [Fig.5] est une représentation d'une optode comprenant un unique puits selon l'invention.

Description des modes de réalisation

- [0069] Les modes de réalisation décrits ci-après étant nullement limitatifs, on pourra notamment considérer des variantes de l'invention ne comprenant qu'une sélection de caractéristiques décrites, isolées des autres caractéristiques décrites (même si cette sélection est isolée au sein d'une phrase comprenant ces autres caractéristiques), si cette sélection de caractéristiques est suffisante pour conférer un avantage technique ou pour différencier l'invention par rapport à l'état de la technique antérieure. Cette sélection comprend au moins une caractéristique, de préférence fonctionnelle sans détails structurels, ou avec seulement une partie des détails structurels si cette partie uniquement est suffisante pour conférer un avantage technique ou pour différencier l'invention par rapport à l'état de la technique antérieure.
- [0070] En référence aux FIGURES 1 à 4, il est présenté le procédé de détermination de la quantité de Lithium contenu dans un liquide. Le mode de réalisation porte sur la détermination de la quantité de Lithium dans les fluides biologiques et, en particulier mais de manière non limitante, dans la salive. La salive est un fluide ne nécessitant pas d'étape délicate ou invasive de prélèvement et son prélèvement peut donc être réalisé à domicile par l'utilisateur lui-même. Les agents stabilisateurs de l'humeur font partie des différentes molécules existantes pour traiter les troubles bipolaires. Sur le plan clinique, les principales actions qui qualifient une molécule de stabilisateur d'humeur sont ses effets aux deux extrémités du spectre de l'humeur (la dépression et la manie) et sa capacité à maintenir l'euthymie en prévenant l'instabilité future de l'humeur. Selon

ces facteurs, le lithium est le meilleur agent stabilisateur de l'humeur et donc celui de référence. L'avantage du procédé selon l'invention est qu'il est conçu pour qu'un utilisateur puisse le mettre en œuvre à domicile sans intervention d'un tiers et qu'il puisse mesurer son taux de Lithium lorsque c'est nécessaire en obtenant des résultats à bref délais. Toutefois, le procédé peut également être mise en œuvre par une tierce personne.

- [0071] La salive est préférablement filtrée mécaniquement au travers d'un filtre à membrane, des membranes avec des seuils de coupures de 0,45 μm et 0,8 μm ont été utilisées. Un volume de 1 ml de salive filtrée a été utilisé selon le mode de réalisation non limitatif. L'utilisation d'un filtre à membrane n'est pas limitative et d'autres moyens de filtration pourraient également être utilisés.
- [0072] Des cations Sodium, Potassium, Magnésium et Calcium sont présents dans la plupart des fluides biologiques. Les inventeurs ont observé que la variabilité de la concentration en cations d'un échantillon de fluide biologique à l'autre modifie le point de fonctionnement de l'optode utilisée pour la mesure optique et rend donc peu fiable la détermination de la concentration en Lithium. L'utilisation d'un chélateur, l'EDTA (Éthylènediaminetétraacétique), pour complexer ces cations s'est avérée peu concluante. Aussi, pour pallier ce problème, le procédé comprend l'étape consistant à obtenir une solution de fluide biologique en ajoutant un volume donné d'une solution discriminante dans l'échantillon de fluide biologique, ici de la salive filtrée, de volume connu. Selon le mode de réalisation, 1 ml de solution discriminante est ajouté dans 1 ml de salive filtrée. La salive peut contenir des résidus et l'étape de filtration vise à éliminer ces derniers de sorte à améliorer la reproductibilité et la fiabilité de la mesure subséquente réalisée sur l'optode 1. En pratique, un volume compris entre 100 et 500 μl de salive sera préféré.
- [0073] Selon le mode de réalisation, la solution discriminante est une solution tampon Tris/HCl à pH 7 contenant de l'Oxalate de Sodium à une concentration de 50 mM. De l'Oxalate d'Ammonium est préféré en ce qu'il n'ajoute pas d'ions Sodium supplémentaires.
- [0074] L'utilisation de cette solution discriminante permet l'obtention d'une solution de fluide biologique tamponnée à un pH compris entre 6 et 8. De cette manière, les échanges entre le Lithium et la surface réactive de l'optode sont maximisés ce qui permet d'optimiser la variation colorimétrique de la couche active 2 et donc la sensibilité de détection du Lithium. En outre, l'utilisation de cette solution discriminante a également pour effet de retirer les mono-cations, en particulier les ions Calcium et Magnésium, de la solution de fluide biologique et ainsi fiabiliser la détermination du taux de Lithium. De manière privilégiée, le mélange est acheminé par l'intermédiaire de canaux fluidiques ou de tubulures depuis la zone de filtration vers le ou les puits 6

de l'optode 1.

- [0075] L'utilisation de cette solution discriminante a également pour effet surprenant de provoquer une précipitation d'au moins une partie des cations contenus dans l'échantillon de fluide biologique à l'exception des ions Lithium. En particulier, l'utilisation de la solution discriminante permet de précipiter efficacement les cations contenus dans l'échantillon de fluide biologique, en particulier les ions Magnésium et Calcium, et ainsi fiabiliser encore davantage la détermination du taux de Lithium.
- [0076] Après mélange de la solution discriminante et de l'échantillon de fluide biologique, 30 à 40 μL de la solution de fluide biologique obtenue sont ensuite déposés dans un puits 6 circulaire d'une optode 1. Le fond du puits 6 est constitué par la couche active 2 de l'optode 1. La solution est laissée au contact de la couche active 2 entre deux et cinq minutes avant que la mesure optique ne soit effectuée. La couche active 2 d'une optode 1 comprend un transducteur chimique dont au moins une propriété optique est modifiée en présence d'ions Lithium dans la solution de fluide biologique.
- [0077] Il est ensuite réalisé la mesure d'au moins une caractéristique d'au moins une onde lumineuse en provenance, c'est-à-dire émise ou réfléchi, par la couche active 2 de l'optode 1 puis la détermination de la quantité de Lithium contenue dans le fluide biologique à partir de l'au moins une caractéristique mesurée et à partir de données de calibration de l'optode 1. Selon le mode de réalisation non limitatif, une courbe d'étalonnage peut constituer les données de calibration.
- [0078] Selon le mode de réalisation, la concentration en lithium dans l'échantillon est déterminée par analyse colorimétrique de la couche active 2 de l'optode 1. La mesure de la caractéristique des ondes lumineuses provenant de la couche active 2 de l'optode 1 est réalisée par un dispositif de mesures optiques 7 portatif illustré sur les FIGURES 1a et 1b. Le dispositif de mesures optiques 7 est agencé pour coopérer avec l'optode 1. Le dispositif de mesures optiques 7 est destiné à être couplé de manière réversible avec le puits 6 d'une optode 1. Le dispositif de mesures optiques 7 comprend une source lumineuse 8 et un capteur multispectral 9 de modèle AS7341 vendu par la société AMS® qui mesure la lumière réfléchi 10 par l'optode 1. Une unité de traitement, connectée ou non au dispositif de mesure, est agencée et/ou configurée pour traiter les données mesurées. Le dispositif de mesure 7 comprend deux diodes électroluminescentes 8 de modèle YJ-VTC-5730-G01-65 vendues par la société YUJILEDS® qui sont agencées pour éclairer la couche active 2 de l'optode 1 avec une lumière blanche D65 CRI 98. Le faisceau lumineux réfléchi 10 par la couche active 2 est mesuré par le capteur multispectral 9. De préférence, le dispositif de mesures optiques 7 comprend un capot 11 destiné à être porté en contact avec la couche 4 noire en matériau inerte chimiquement de l'optode 1 qui constitue la couche externe ou supérieure de l'optode

1. Le capteur multispectral 9 est placé face à l'optode 1 lorsque cette dernière est couplée avec le dispositif de mesures optiques 7. La lumière provenant des LEDs 8 est « guidée » à 45° dans des canaux 12 ménagés dans le capot 11 pour éclairer un puit 6 individuel de l'optode 1.

- [0079] Les données issues de la mesure multispectrale sont ensuite converties, par l'unité de traitement, dans un espace colorimétrique en trois dimensions puis une valeur de concentration en lithium est déterminée. L'étape de conversion des caractéristiques mesurées de l'onde lumineuse provenant de la couche active 2, ou des valeurs multispectrales, est une étape bien connue de l'homme du métier.
- [0080] La mesure de l'au moins une caractéristique d'au moins une onde lumineuse provenant de la couche active 2 de l'optode 1 correspond à la mesure multispectrale.
- [0081] Les mesures ou résultats présentés dans la suite de la description ont été obtenus par mise en œuvre du procédé décrit ci-dessus et, en particulier par utilisation de la solution discriminante selon l'invention.
- [0082] En référence à la [Fig.2], il est illustré les variations de teinte de la couche active 2 de l'optode 1 telles qu'acquises par photographie de l'optode 1 et telles qu'observables à l'œil nu pour des concentrations en Lithium de 0 (a), 1 (b), 2 (c), 3 (d) et 4 (e) mM dans de l'eau dé-ionisée. Le taux de lithium influe sur la teinte de la couche active 2 de l'optode 1. Ces résultats sont obtenus à partir d'une optode 1 ne comprenant pas de puits 6. Une goutte de chaque solution de Lithium de concentration différente a été déposée sur la couche active 2. Cette optode 1 est, de préférence, dédiée aux études expérimentales ou à l'obtention des données de calibration. L'optode 1 destinée à être utilisée par un utilisateur comprendra, de préférence, un unique puits 6 constituant un consommable destiné à être remplacé. Ces résultats montrent qu'il est possible de détecter des variations de teinte de la couche active 2 à l'œil nu. Bien évidemment, il est également possible de détecter de très faibles variations de teinte de la couche active 2, qui sont indétectables à l'œil nu, en analysant numériquement les valeurs de teinte converties à partir des mesures spectrales réalisées.
- [0083] Cependant, la variation de teinte de la couche active 2 de l'optode 1 dans la fenêtre thérapeutique est faible et est difficilement perceptible à l'œil nu. De plus, d'autres facteurs peuvent modifier la teinte comme la variation d'épaisseur de la couche active 2 de l'optode 1, le photo-blanchiment du chromophore de la couche active 2 et le vieillissement de l'optode 1. Les variations de teinte, même légères, perturbent et faussent la mesure. Il a été observé par les inventeurs que les autres composantes de l'espace colorimétrique varient aussi avec ces perturbations. Aussi, l'invention consiste également à exploiter l'information contenue dans toutes les composantes de l'espace colorimétrique XYZ pour compenser l'erreur de mesure.
- [0084] Aussi, il est présenté un autre mode de réalisation offrant une plus grande sensibilité

de détection et une meilleure reproductibilité des mesures. Le diagramme de chromaticité, renseignant sur la teinte, correspond aux composantes xy de l'espace colorimétrique CIE xyY . Le diagramme de chromaticité est une représentation en deux dimensions de l'espace colorimétrique CIE XYZ sans information de luminance. Des mesures ont été réalisées sur l'optode 1 à partir de solutions aqueuses d'eau dé-ionisée comprenant 0,25, 0,5, 1 et 1,5 mM de Lithium. Afin d'évaluer la stabilité de l'émission lumineuse par la couche active 2 de l'optode 1, ces mesures ont été réalisées sur la même optode 1 au premier jour de sa fabrication puis au septième et au quatorzième jours après sa fabrication. En outre, ces mesures ont été réalisées sur plusieurs optodes 1 distinctes dont les couches actives 2 ont été déposées à deux vitesses de dépôt distinctes. Une première vitesse de dépôt de la couche active 2 par dip-coating est de 50 mm/s, dite vitesse de dépôt rapide, et une seconde vitesse de dépôt de la couche active 2 par dip-coating est de 10 mm/s. Les mesures multispectrales réalisées dans chacun des cas ont été converties dans l'espace colorimétriques CIE XYZ en trois dimensions. En référence aux FIGURES 3a et 3b, il est représenté le diagramme de chromaticité, correspondant aux valeurs colorimétriques des deux dimensions xy de l'espace colorimétrique CIE xyY . Le diagramme de chromaticité renseigne sur la teinte de la couche active 2.

- [0085] Dans cet espace colorimétrique CIE xyY , il est possible d'appliquer une régression linéaire sur les différentes mesures de lithium malgré les variations de teintes parasites. Toutefois, ces régressions n'étant pas parallèles, il n'est pas possible de calculer une métrique fiable dépendant de la couleur et correspondant à une concentration de lithium.
- [0086] Aussi, il est d'abord opéré un changement de repère, au sein de l'espace colorimétrique CIE XYZ, sur les deux dimensions XY. Ce changement de repère peut être, par exemple, une analyse en composantes principales ou une rotation des composantes dans l'espace colorimétrique CIE XYZ. Selon le mode de réalisation, il est réalisé une rotation comprise entre 45 et 47° au sein de l'espace CIE XYZ. Cette gamme de valeurs n'est pas limitative et sera adaptée en fonction des conditions expérimentales utilisées, telles que, par exemple, la composition de la solution discriminante, en particulier la concentration en sels dans la solution tampon, le type de tampon, le pH de la solution ou encore le type de contre-ion accompagnant l'oxalate, le fluide biologique visé ou encore la composition de la couche active 2 utilisée. L'angle de rotation sera principalement compris entre 35° et 60°. Suite au changement de repère, il est réalisé une projection sur l'axe Y de l'espace colorimétrique CIE XYZ des composantes colorimétriques XY. Le résultat de la projection est illustré sur la [Fig.4]. Suite à ce changement de repère et à cette projection, on peut observer que les valeurs colorimétriques projetées sur l'axe Y sont fonction de et varient de manière linéaire par

rapport à la concentration en Lithium en abscisses. Les données ainsi obtenues peuvent servir de données de calibration lors de la mise en œuvre du procédé pour déterminer le taux de Lithium dans un fluide biologique.

[0087] En référence à la [Fig.5], il est illustré un mode de réalisation privilégié de l'optode 1 selon l'invention destinée à être utilisée par un utilisateur. L'optode 1 décrite ci-dessous est celle qui a été utilisée lors de la mise en œuvre du procédé décrit ci-dessus. L'optode 1 comprend un support 3 blanc en matériau inerte chimiquement. Selon le mode de réalisation, le matériau utilisé est un polymère, en particulier du PMMA. Il a été observé que le PMMA allonge significativement la durée de vie de la couche active 2 et diminue les variations d'émission lumineuse de la couche active 2 avec le temps. L'optode 1 est utilisable pendant au moins quatorze jours sans que des variations conséquentes du chromophore soit observées. A titre d'exemples comparatifs, il a été observé que l'utilisation de Polyéthylène comme support 3 confère une durée de vie ou d'utilisation de un jour à la couche active 2 et que l'utilisation de poly(chlorure de vinyle) comme support 3 rend l'optode 1 inutilisable car non fonctionnelle. Toutefois, il est également envisageable d'utiliser d'autres polymères tels que, par exemple, du Téflon, du polyétheréthercétone ou du polyuréthane ou d'autres matériaux tel que, par exemple, la céramique.

[0088] Selon le mode de réalisation non limitatif, la couche active 2 reposant sur le support 3 comprend du poly(chlorure de vinyle), du DOS (Bis(2-ethylhexyl) sebacate), du Lithium ionophore VIII, du Chromoionophore 1 (ETH 5294) et du Potassium tetrakis(4-chlorophenyl)borate (K-TCPB). En pratique la couche active 2 est déposée par dip-coating sur le support 3 à partir d'une solution obtenue en dissolvant dans 25 ml de tétrahydrofurane 417 mg de PVC, 911 µl de DOS (Bis(2-ethylhexyl) sebacate), 23,7 mg Lithium ionophore VIII, 11,1 mg de Chromoionophore 1 (ETH 5294) et 12,6 mg de Potassium tetrakis(4-chlorophenyl)borate (K-TCPB). L'épaisseur de la couche active 2 obtenue après dip-coating est comprise, par exemple, entre 1 et 3 µm. En pratique et de manière non limitative, le support 3 en PMMA blanc, sous forme de languette selon le mode de réalisation, est trempé dans la solution à une vitesse de 10 mm/s, puis est laissé 0,5 s dans la solution, puis est remonté à une vitesse de 10 mm/s. Le support peut être séché pendant environ 30 min afin que le solvant, du THF selon le mode de réalisation, s'évapore.

[0089] Selon le mode de réalisation non limitatif, l'optode 1 comprend également une couche 4 noire en matériau inerte chimiquement, du PMMA selon le mode de réalisation, comprenant au moins une ouverture formant un puits agencé pour recevoir la solution à analyser destinée à être contact avec la couche active 2. A titre d'exemple, un puits 6 circulaire peut présenter un diamètre de 4,5 mm et une hauteur, depuis la couche active 2 jusqu'au sommet du puits 6, de 3 mm.

- [0090] La couche 4 noire en matériau inerte chimiquement comprend une ouverture traversant 5. La couche 4 noire en PMMA repose sur la couche active 2. La couleur noire du matériau inerte chimiquement comprenant l'ouverture traversant 5 permet de limiter l'influence des réflexions lumineuses et de la lumière ambiante sur la mesure multispectrales.
- [0091] Bien sûr, l'invention n'est pas limitée aux exemples qui viennent d'être décrits et de nombreux aménagements peuvent être apportés à ces exemples sans sortir du cadre de l'invention.
- [0092] Ainsi, dans des variantes combinables entre elles des modes de réalisation précédemment décrits, la solution aqueuse, et/ou son utilisation pour la détermination de la quantité de Lithium contenu dans un fluide biologique, comprend des ions oxalate à une concentration supérieure à 5mM et présente un pH supérieur ou égal à 6.
- [0093] De plus, les différentes caractéristiques, formes, variantes et modes de réalisation de l'invention peuvent être associés les uns avec les autres selon diverses combinaisons dans la mesure où ils ne sont pas incompatibles ou exclusifs les uns des autres.

Revendications

- [Revendication 1] Procédé de détermination d'une quantité de Lithium contenu dans un fluide biologique, ledit procédé comprend les étapes consistant à :
- ajouter, dans un échantillon de fluide biologique de volume connu, un volume donné d'une solution discriminante ayant pour effet :
 - d'obtenir une solution de fluide biologique tamponnée à un pH compris entre 6 et 8, et
 - de provoquer une précipitation d'au moins une partie des cations contenus dans l'échantillon de fluide biologique à l'exception des ions Lithium,
 - déposer un volume donné de solution de fluide biologique sur une couche active (2) d'une optode (1) ; ladite couche active comprend un transducteur chimique dont au moins une propriété optique est modifiée en présence d'ions Lithium dans la solution de fluide biologique,
 - mesurer au moins une caractéristique d'au moins une onde lumineuse émise ou réfléchie par la couche active de l'optode,
 - déterminer, à partir de l'au moins une caractéristique mesurée et à partir de données de calibration, une quantité de Lithium contenue dans le fluide biologique.
- [Revendication 2] Procédé selon la revendication 1, comprenant, préalablement à l'étape d'ajout de la solution discriminante, une étape de filtration de la solution de fluide biologique sur une membrane poreuse présentant un seuil de coupure inférieur ou égal à 50 μm .
- [Revendication 3] Procédé selon la revendication 1 ou 2, dans lequel la solution discriminante est une solution tampon ne comprenant pas de cations Magnésium et Calcium et/ou Sodium et Potassium.
- [Revendication 4] Procédé selon la revendication 1 ou 2, dans lequel la solution discriminante est une solution tampon ne comprenant pas de di-cations et/ou de mono-cations à l'exception des ions Hydronium.
- [Revendication 5] Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel la solution tampon est une solution tampon à pH 7 de tris(hydroxyméthyl)aminométhane:HCl.
- [Revendication 6] Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel la solution discriminante est une solution aqueuse comprenant des ions oxalate à une concentration supérieure à 1mM.
- [Revendication 7] Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel l'au moins une caractéristique de l'au moins une onde lumineuse

émise ou réfléchi par la couche active (2) de l'optode (1) comprend une valeur de teinte de la couche active.

[Revendication 8]

Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, comprenant une étape de traitement de l'au moins une caractéristique mesurée de l'au moins une onde lumineuse émise ou réfléchi par la couche active (2) de l'optode (1) :

- dans laquelle l'au moins une caractéristique mesurée comprend un ensemble de valeurs colorimétriques dans un espace colorimétrique, - comprenant :

- un changement de repère, au sein de l'espace colorimétrique, réalisé sur deux dimensions de l'espace colorimétrique, notées XY, puis
- une projection sur l'axe Y de l'espace colorimétrique des valeurs colorimétriques mesurées.

[Revendication 9]

Optode (1) pour la mise en œuvre du procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, ladite optode comprend :

- un support (3) blanc en matériau inerte chimiquement,
- une couche active (2) reposant sur le support, ladite couche active comprend un transducteur chimique agencé pour qu'au moins une propriété optique soit modifiée en présence d'une espèce ionique spécifique,
- une couche (4) noire en matériau inerte chimiquement comprenant au moins une ouverture (5) formant un puit (6) agencé pour recevoir une solution à analyser destinée à être contact avec la couche active.

[Revendication 10]

Optode (1) selon la revendication précédente, dans laquelle :

- la couche active (2) comprend un ionophore et un chromophore,
- le matériau inerte chimiquement est du poly(méthacrylate de méthyle) (PMMA).

[Fig. 1a]

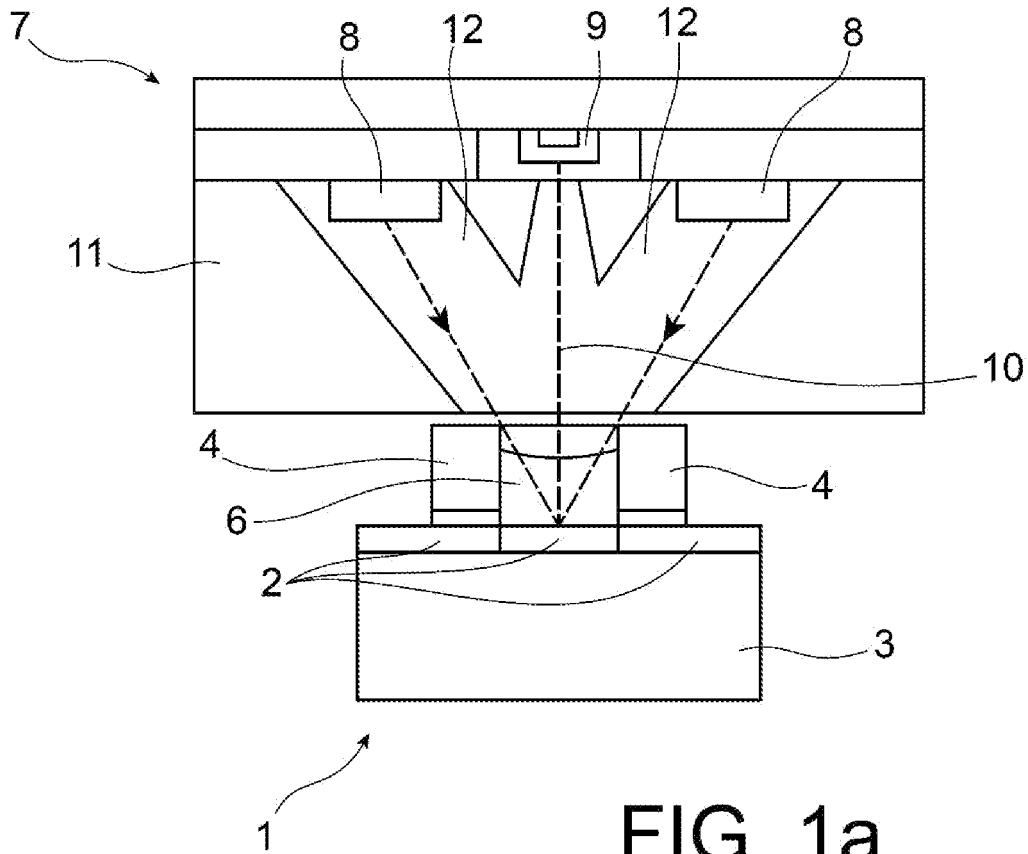


FIG. 1a

[Fig. 1b]

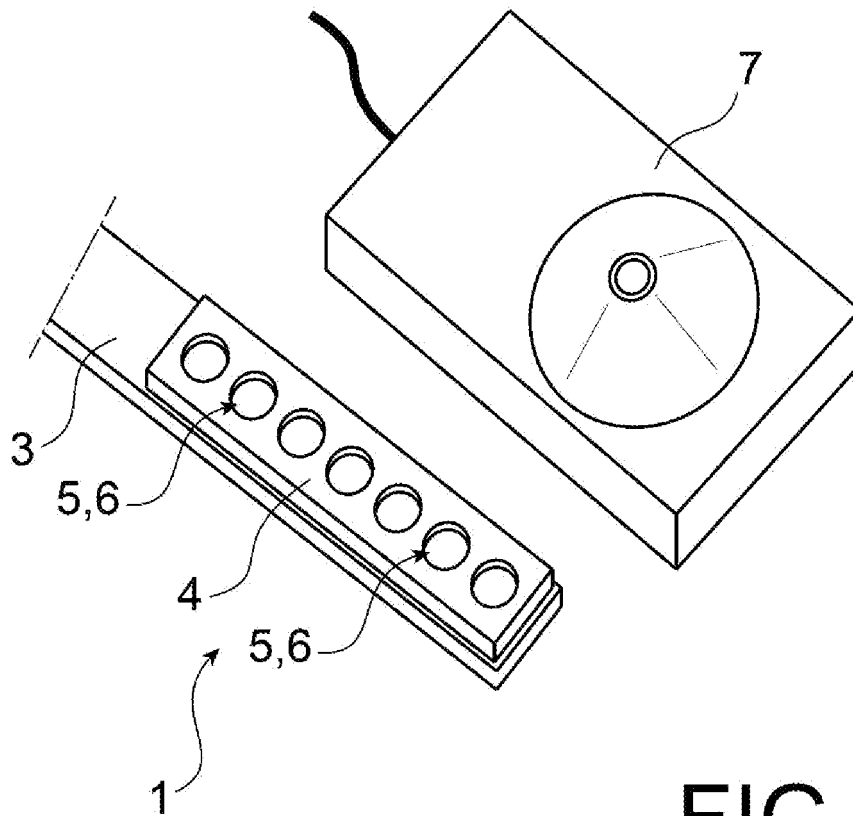


FIG. 1b

[Fig. 2]

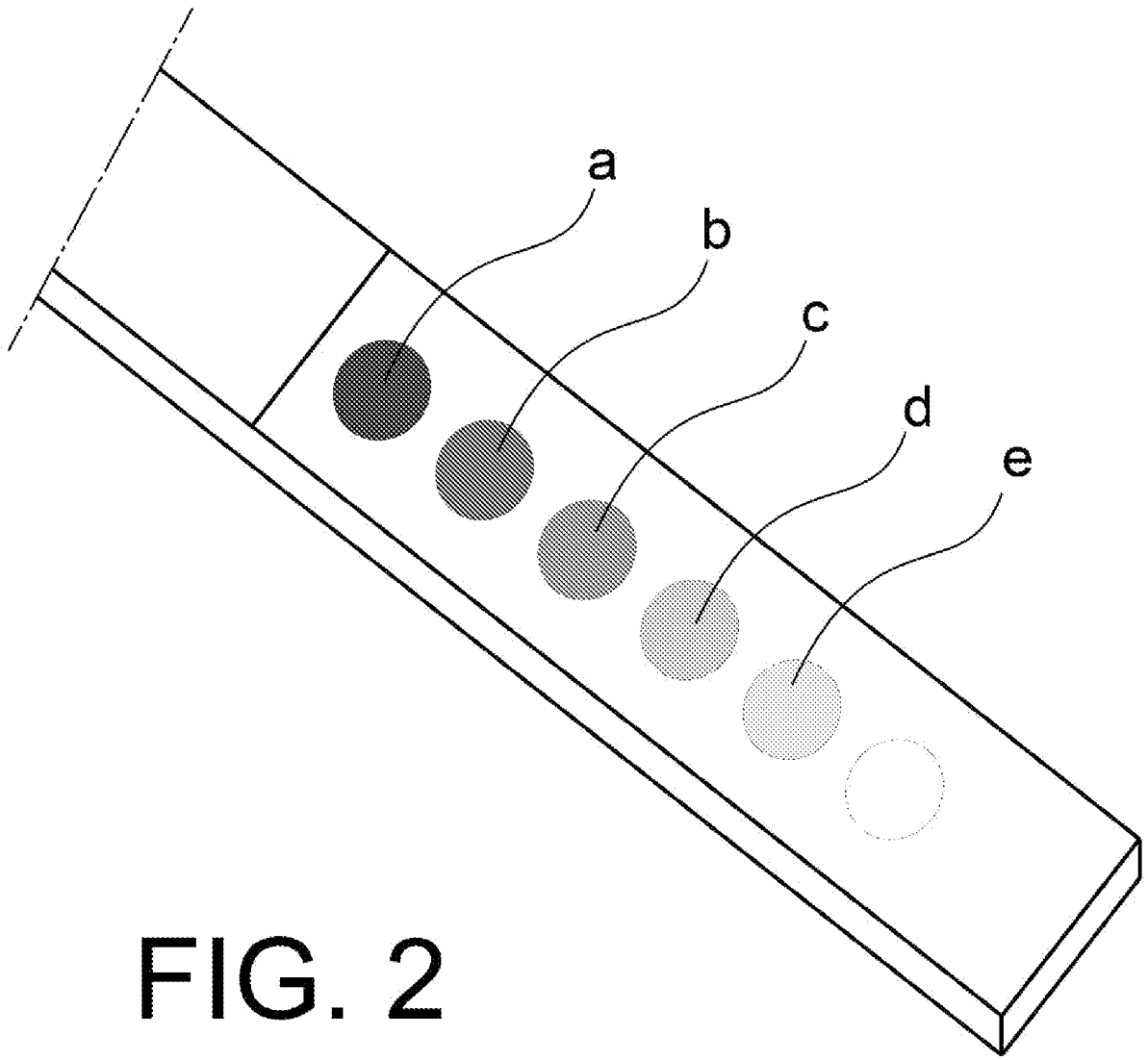


FIG. 2

[Fig. 3b]

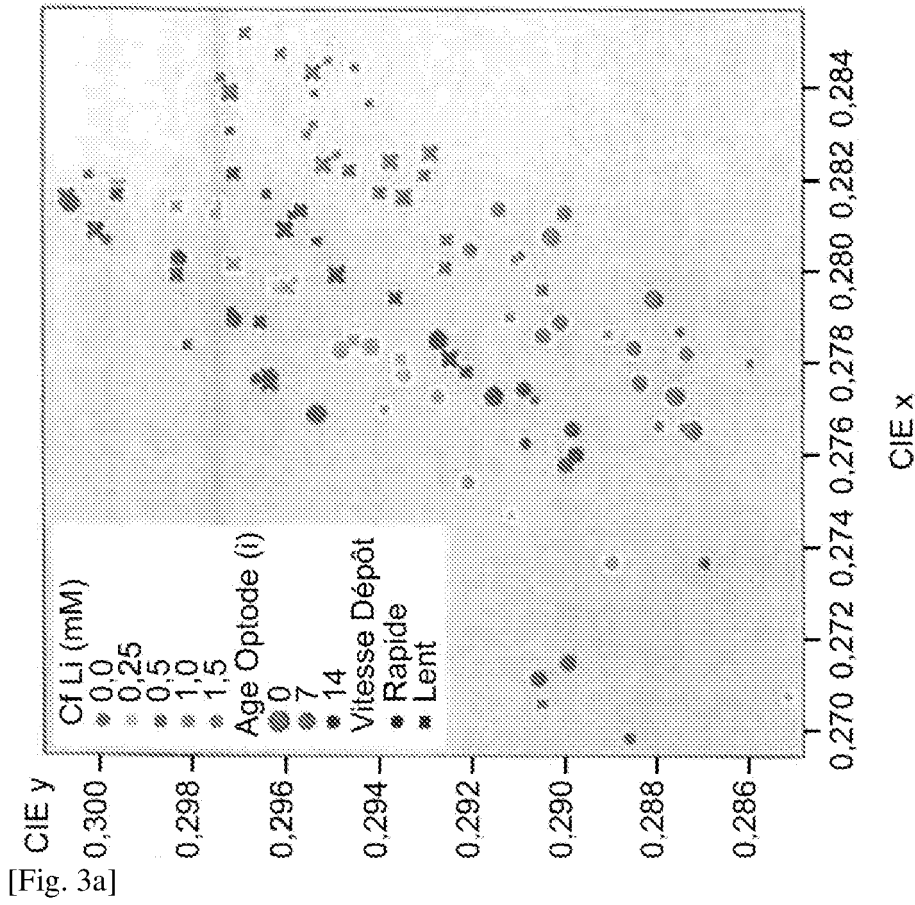


FIG. 3b

[Fig. 3a]

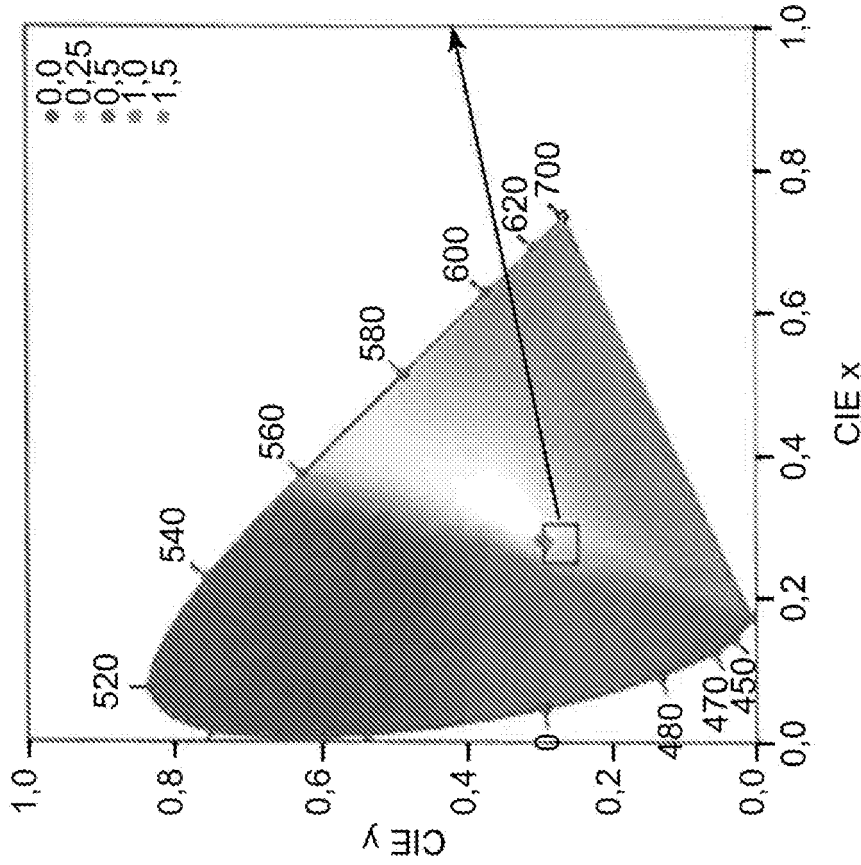


FIG. 3a

[Fig. 4]

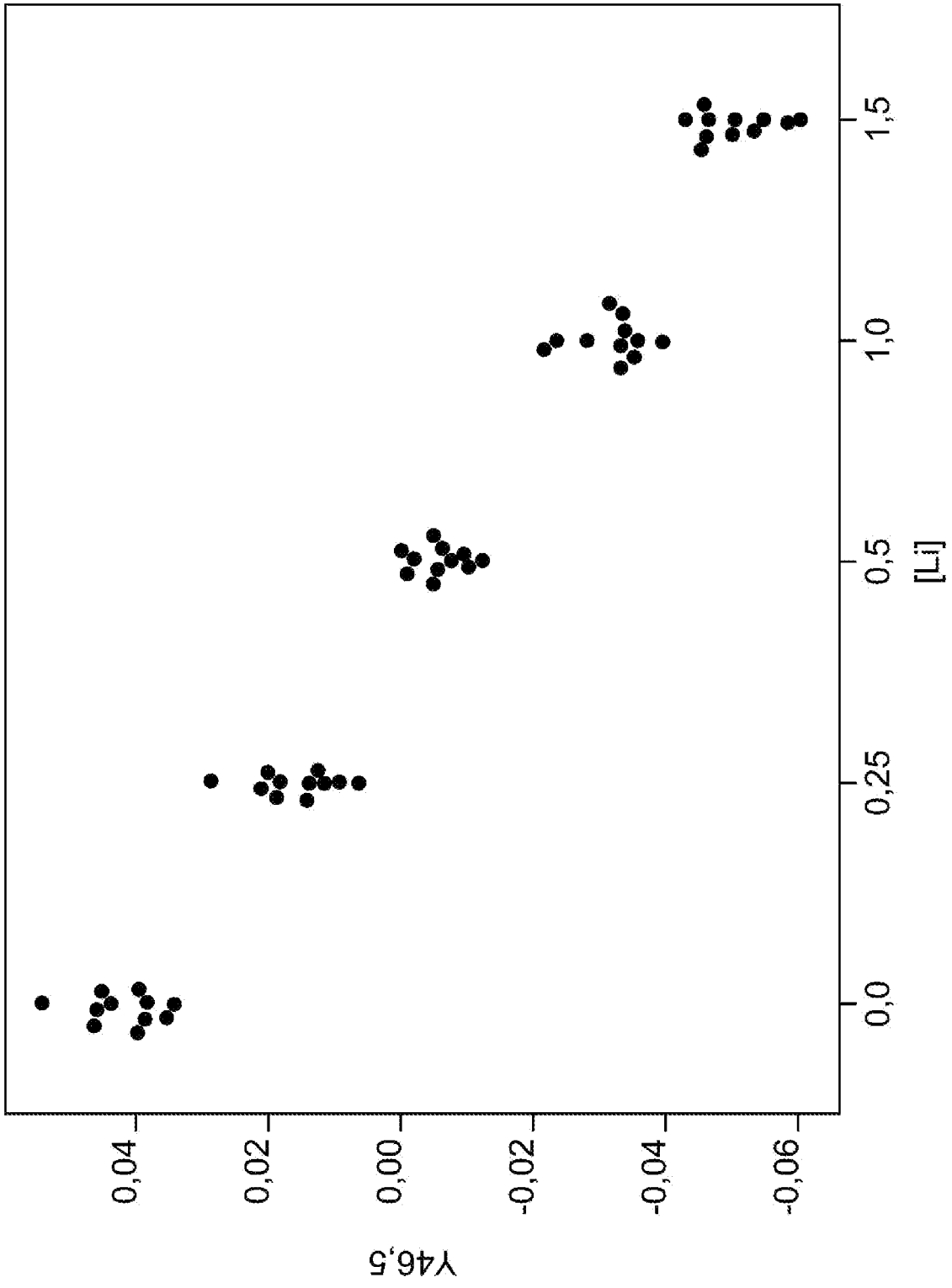


FIG. 4

[Fig. 5]

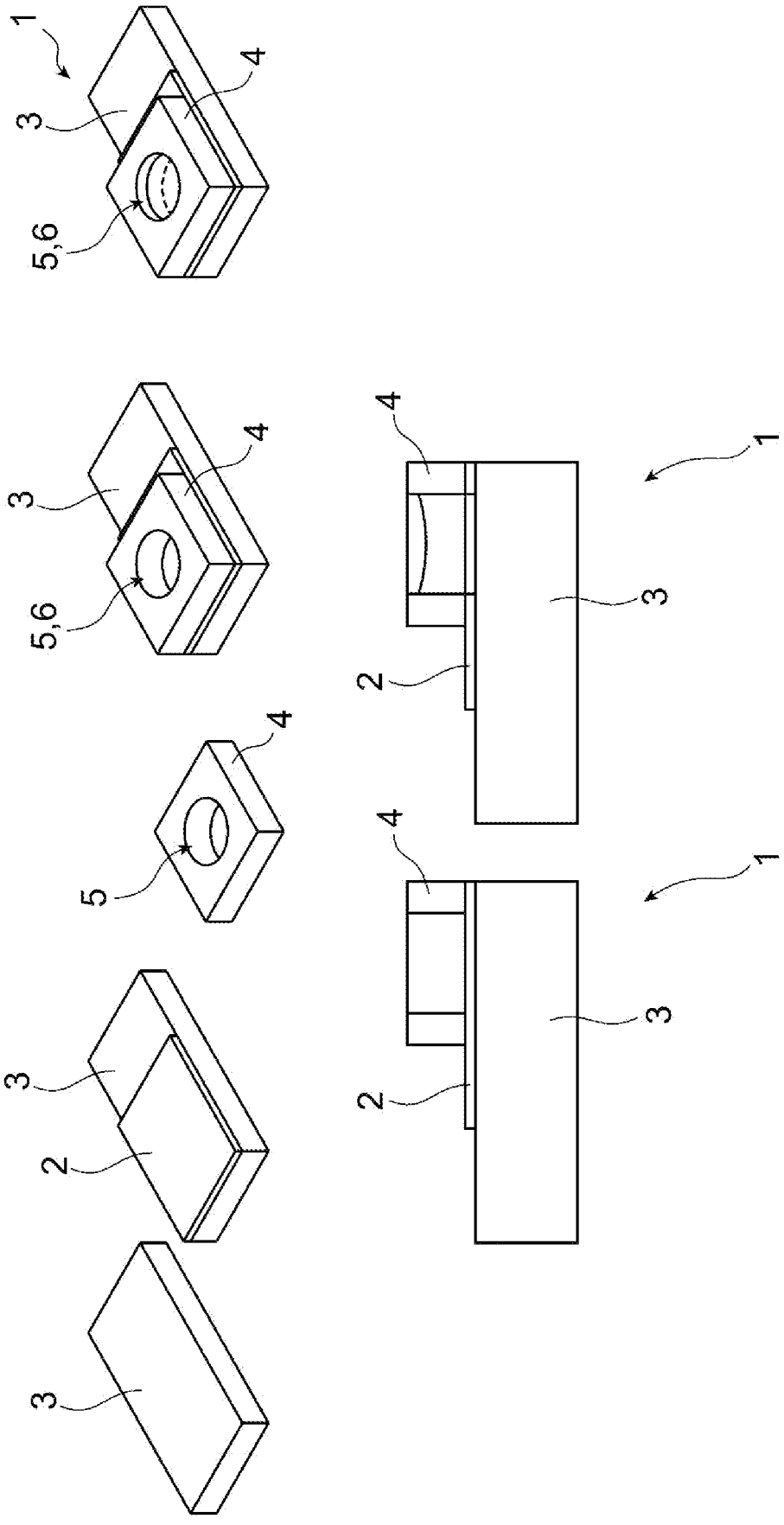


FIG. 5

**RAPPORT DE RECHERCHE
PRÉLIMINAIRE**

N° d'enregistrement
national

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

FA 915401
FR 2210130

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
Y,D	<p>ALBERO M I ET AL: "Novel flow-through bulk optode for spectrophotometric determination of lithium in pharmaceuticals and saliva", SENSORS AND ACTUATORS B: CHEMICAL, ELSEVIER BV, NL, vol. 145, no. 1, 4 mars 2010 (2010-03-04), pages 133-138, XP026920960, ISSN: 0925-4005, DOI: 10.1016/J.SNB.2009.11.053 [extrait le 2009-12-03]</p> <p>* alinéa [002.] - alinéa [003.]; figure 1 *</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-10	G01N 21/17 G01N 21/25 G01N 33/48
Y	<p>US 4 968 630 A (CHARLTON STEVEN C [US] ET AL) 6 novembre 1990 (1990-11-06)</p> <p>* colonne 2, ligne 45 - colonne 6, ligne 53 *</p> <p>* revendication 3 *</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-10	<p>DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)</p> <p>G01N</p>
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
17 juillet 2023		Consalvo, Daniela	
<p>CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant</p>			

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 2210130 FA 915401**

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.
Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du **17-07-2023**
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 4968630 A	06-11-1990	AU 632838 B2	14-01-1993
		CA 2021407 A1	04-02-1991
		EP 0411416 A1	06-02-1991
		JP H0384459 A	10-04-1991
		US 4968630 A	06-11-1990
