

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad Intelectual  
Oficina internacional



(10) Número de Publicación Internacional  
**WO 2015/173443 A1**

(43) Fecha de publicación internacional  
19 de noviembre de 2015 (19.11.2015) **WIPO | PCT**

(51) Clasificación Internacional de Patentes:  
**G01R 27/08** (2006.01)

Electrónica, Avda. reina Mercedes s/n, E-41012 Sevilla (ES).

(21) Número de la solicitud internacional:  
PCT/ES2015/000064

(81) Estados designados (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección nacional admisible): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(22) Fecha de presentación internacional:  
12 de mayo de 2015 (12.05.2015)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(30) Datos relativos a la prioridad:  
P201400401 13 de mayo de 2014 (13.05.2014) ES

(84) Estados designados (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección regional admisible): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), europea (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

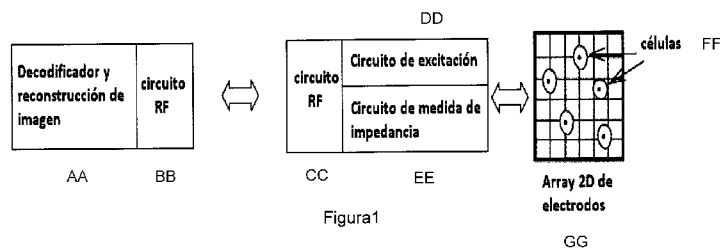
(71) Solicitante: **UNIVERSIDAD DE SEVILLA** [ES/ES]; Secretariado de Transferencia de Conocimiento, y Emprendimiento, Paseo de las Delicias s/n, Pabellón de Brasil, E-41013 Sevilla (ES).

(72) Inventores: **OLMO FERNÁNDEZ, Alberto**; Dpto. Tecnología Electrónica, E.T.S. Ingeniería Informática, Avda. Reina Mercedes s/n, E-41012 Sevilla (ES). **HUERTAS SÁNCHEZ, Gloria**; Dpto. Electrónica y Electromagnetismo, Facultad de Física, Avda. Reina Mercedes s/n, E-41012 Sevilla (ES). **YÚFERA GARCÍA, Alberto**; Dpto. Tecnología Electrónica, E.T.S. Ingeniería

[Continúa en la página siguiente]

(54) Title: BIOIMPEDANCE MEASURING SYSTEM FOR WIRELESSLY MONITORING CELL CULTURES IN REAL TIME, BASED ON CMOS CIRCUITS AND ELECTRICAL MODELLING

(54) Título : SISTEMA DE MEDIDA DE BIOIMPEDANCIA PARA LA MONITORIZACIÓN EN TIEMPO REAL E INALÁMBRICA DE CULTIVOS CELULARES BASADO EN CIRCUITOS CMOS Y MODELADO ELÉCTRICO



AA Decoder and reconstruction of image  
BB RF circuit  
CC RF circuit  
DD Excitation circuit  
EE Impedance measuring circuit  
FF Cells  
GG 2D array of electrodes

(57) Abstract: The invention relates to a novel bioimpedance measuring system for wirelessly monitoring cell cultures in real time. The system uses a two-dimensional (2D) array of electrodes as bioimpedance sensors and implements the measuring circuit with CMOS technology, using electrical modelling for image reconstruction.

(57) Resumen: El objeto de la presente invención se refiere a un nuevo sistema de medida de bioimpedancia para la monitorización en tiempo real y de forma inalámbrica de cultivos celulares. El sistema utiliza un array bidimensional (2D) de electrodos como sensores de bioimpedancia e implementa el circuito de medida con tecnología CMOS, utilizando modelado eléctrico para la reconstrucción de imagen.



**WO 2015/173443 A1**

**Publicada:**

— *con informe de búsqueda internacional (Art. 21(3))*

**Título**

Sistema de medida de bioimpedancia para la monitorización en tiempo real e inalámbrica de cultivos celulares basado en circuitos CMOS y modelado eléctrico

**Objeto de la invención**

La patente de invención se refiere a un nuevo sistema de medida de bioimpedancia para la monitorización en tiempo real y de forma inalámbrica de cultivos celulares. El sistema utiliza un array bidimensional (2D) de electrodos como sensores de bioimpedancia e implementa el circuito de medida con tecnología CMOS, utilizando modelado eléctrico para la reconstrucción de imagen.

La invención se enmarca dentro de la medida de impedancia eléctrica de material biológico. También se refiere a un dispositivo microelectrónico sensor para llevar a cabo dicha medida.

**Estado de la técnica**

Muchos parámetros biológicos y procesos pueden ser detectados y controlados mediante la medida de su bioimpedancia, con la ventaja de ser una técnica no invasiva y relativamente barata. El crecimiento de la célula, los cambios en la composición celular o los cambios en la ubicación de la célula son sólo algunos ejemplos de procesos que pueden ser detectados por microelectrodos mediante cambios de impedancia [1-4].

Esta técnica fue inventada por Ivar Giaever y Charles Keese en 1993 [5], registrando en una patente un aparato para la monitorización de cultivos celulares, basado en una serie de pocillos donde se realiza el cultivo celular, cada uno de ellos con un array de microelectrodos por los que se introduce una corriente alterna, midiéndose la impedancia eléctrica resultante. Esta patente inicial fue completada con una serie de patentes relacionadas, aplicadas al tema del estudio de la movilidad celular [6] o de la actividad metastásica de células cancerígenas [7].

Otro sistema de medida de bioimpedancia fue registrado en 2005 por B. Rubinsky et al. [8]. Este sistema utiliza dos electrodos entre los que se aplica una diferencia de potencial y una membrana dieléctrica con microagujeros por los que se fuerza el paso de la corriente eléctrica. En España también se han registrado métodos

para la determinación y visualización simultánea de señales de bioimpedancia eléctrica en material biológico a varias frecuencias [9], utilizando un tratamiento de la señal de excitación y de respuesta como dos funciones independientes en el dominio del tiempo, y aplicando técnicas de procesamiento de señal (correlación cruzada y transformación de Fourier) para obtener mejores resultados.

En general, para el problema de medir una impedancia  $Z_x$  dada, de magnitud  $Z_{x0}$  y fase  $\phi$ , se han descrito varios métodos, los cuales requieren circuitos de excitación y de procesamiento. La excitación se suele implementar con corriente alterna (AC), mientras que el procesamiento se basa en el principio de demodulación coherente [10] o muestreo síncrono [11], [12]. En ambos, el procesamiento de circuitos debe estar sincronizado con las señales de excitación, como un requisito para que la técnica funcione, obteniendo el mejor ruido el rendimiento cuando se incorporan las funciones de filtro adecuado (High-Pass (HP) o Low-Pass (LP)).

Este trabajo presenta un nuevo sistema de medida de impedancia para muestras biológicas útil para obtener imágenes 2D de un cultivo celular en tiempo real y de forma inalámbrica, a diferencia de otros sistemas encontrados en la bibliografía. Se basa en el uso de un array bidimensional de electrodos como sensores de bioimpedancia, tecnología CMOS para la implementación del circuito de medida y en la novedosa utilización de modelado eléctrico para la reconstrucción de imágenes, otra de las características que dota al sistema de una mayor precisión en la tarea de reconstrucción basada en bioimpedancia.

## DOCUMENTOS RELEVANTES

[1] I. Giaever et al., "Use of Electric Fields to Monitor the Dynamical Aspect of Cell Behaviour in Tissue Culture," IEEE Transaction on Biomedical Engineering, vol BME-33, nº 2, pp: 242-247, Feb. 1986.

[2] S. M. Radke and E. C. Alocilja, "Design and Fabrication of a Microimpedance Biosensor for Bacterial Detection," IEEE Sensor Journal, vol 4, nº 4, pp: 434-440, Aug. 2004.

[3] D. A. Borkholder: "Cell-Based Biosensors Using Microelectrodes," PhD Thesis, Stanford University. Nov. 1998.

- [4] A. Yúfera et al., "A Tissue Impedance Measurement Chip for Myocardial Ischemia Detection". IEEE transaction on Circuits and Systems: Part I. vol.52, nº:12, pp: 2620-2628. Dec. 2005.
- [5] I. Giaever, C. R. Keese, Cell substrate electrical impedance sensor with multiple electrode array, , US 5,187,096, Feb. 16, 1993.
- [6] I. Giaever, C. R. Keese, Electrical wounding assay for cells in vitro, US 7,332,313 Feb. 19, 2008.
- [7] I. Giaever, C. R. Keese, Real-time impedance assay to follow the invasive activities of metastatic cells in culture, US 7,399,631, July 15, 2008.
- [8] B. Rubinsky, Y. Huang, Cell viability detection using electrical measurements, US 6,927,049 B2, Aug. 9, 2005.
- [9] P. Owen Whitters, Método y aparato para mostrar bio-impedancia en múltiples frecuencias, ES 2 118 133 T3.
- [10] J.J. Ackmann, Complex bioelectric impedance measurement system for the frequency range from 5–1 MHz, Annals of Biomedical Engineering 21 (1993) 135–146.
- [11] R.Pallzs, J.G.Webster, Bioelectric impedance measurements using synchronous sampling, IEEE Transactions on Biomedical Engineering 40 (8) (1993) 824–829.
- [12] M. Min, A. Kink, R. Land and T. Parve, Method and device for measurement of electrical bioimpedance, US 7,706,872 B2, Apr 27, 2010.
- [13] X.Huang et al., "Simulation of Microelectrode Impedance Changes Due to Cell Growth," IEEE Sensors Journal, vol.4, nº5, pp: 576-583. 2004.
- [14] N. Joye, et al., "An Electrical Model of the Cell-Electrode Interface for High-density Microelectrode Arrays," IEEE EMBS pp: 559-562. 2008.

**Descripción del contenido de las figuras**

**Figura 1.** Esquema de la arquitectura del sistema completo. El sistema se compone de una matriz 2D de electrodos, sobre la cual se realiza el cultivo celular, un circuito de excitación y de medida de impedancia, un circuito transmisor de radiofrecuencia para el envío inalámbrico de datos, y un software para la decodificación y reconstrucción de la imagen, basado en modelado eléctrico.

**Figura 2.** Diagrama de bloques del circuito de excitación y medida de impedancia. Los componentes principales del circuito son: un amplificador de instrumentación (AI), el convertidor AC - DC o rectificador, el amplificador de error (AE) y el oscilador de corriente con la salida de corriente programable

**Figura 3.** Evolución temporal de un cultivo de MCF-7, en el que se observa el crecimiento inicial, introducción de una dosis tóxica (inhibidor de proteasa) y un último proceso (a partir del minuto 4369) de lavado, a partir del cual el cultivo celular vuelve a crecer.

**Figura 4.** a) Selección de matriz 8x8 en cultivo celular MCF-7 b) Fill factor obtenido mediante modelado eléctrico para la matriz 8x8, definiéndose el fill factor como el porcentaje de área ocupada en cada píxel por células del cultivo, variando desde  $ff=0$ , si no se detecta la presencia de ninguna célula, hasta  $ff=1$ , con la totalidad del área ocupada por células.

**Descripción de la invención**

El sistema objeto de la presente invención se compone de una matriz 2D de electrodos, sobre la cual se realiza el cultivo celular, un circuito de excitación y de medida de impedancia, un circuito transmisor de radiofrecuencia para el envío inalámbrico de datos, y un software para la decodificación y reconstrucción de la imagen, basado en modelado eléctrico. El esquema de la arquitectura del sistema se muestra en la figura 1.

Cada celda de la matriz de electrodos estará compuesto por dos electrodos, un electrodo central ( $e_1$ ) y uno de mayor área llamado electrodo de referencia ( $e_2$ ),

entre los cuales se establece una corriente AC a una frecuencia dada, y se mide una impedancia  $Z_x$ . El modelado eléctrico, posteriormente descrito, permite corresponder la impedancia medida,  $Z_x$ , con el área cubierta por el cultivo celular en los electrodos AC. Los electrodos podrán ser fabricados con tecnología CMOS.

El diagrama de bloques del circuito propuesto para la excitación y medida de impedancia es en bucle cerrado y se muestra en la figura 2. Para la medida de la magnitud de impedancia,  $Z_x$ , se considera que la señal de excitación es corriente AC, a una frecuencia  $\omega$  dada. Los circuitos están diseñados para trabajar a una amplitud constante en el sensor  $V_x$ , lo cual es conocido como condición  $P_{stat}$ .

Los componentes principales del circuito son: un amplificador de instrumentación (AI), el convertidor AC - DC o rectificador, el amplificador de error (AE) y el oscilador de corriente con la salida de corriente programable. La ganancia de voltaje del amplificador de instrumentación en su paso de banda es  $\alpha_{ia}$ . El rectificador funciona como un detector de pico de onda completo, para medir la mayor (y la menor) amplitud de voltaje de  $V_o$ . Su salida es un voltaje DC, directamente proporcional a la amplitud del voltaje de salida del amplificador de instrumentación, con una ganancia  $\alpha_{dc}$ . El amplificador de error, con una ganancia  $\alpha_{ea}$ , compara la señal DC con una referencia  $V_{ref}$ , para amplificar la diferencia. El generador de corriente genera la corriente AC para excitar el sensor. Se compone de una fuente externa de voltaje AC ( $V_s$ ), un amplificador de transconductancia (OTA) con transconductancia  $g_m$  y un multiplicador de voltaje cuatro cuadrantes de constante  $K$ . El voltaje generado por  $V_s$  se multiplica por  $V_m$  y es convertido a corriente por el OTA. Un simple análisis del sistema completo da la expresión aproximada para la amplitud de voltaje en  $V_x$ :

$$V_x \approx \frac{V_{ref}}{\alpha_{ia} \cdot \alpha_{dc}} \quad (1)$$

cuando se satisface la condición de que

$$Z_x \cdot G_m \cdot \alpha_{ea} \cdot \alpha_{ia} \cdot \alpha_{dc} \gg 1 \quad (2)$$

permaneciendo constante el voltaje  $V_x$  en la ecuación 1 e independiente de la carga  $Z_x$ . Considerando la relación entre la corriente  $i_x$  y el voltaje  $V_m$  ( $i_x = G_m V_m$ ), la magnitud de la impedancia puede ser expresada como:

$$Z_x = \frac{V_x}{G_m} \cdot \frac{1}{V_m} \quad (3)$$

La ecuación 3 permite el cálculo de la magnitud de impedancia  $Z_x$  a partir del voltaje  $V_m$ , ya que  $V_x$  y  $G_m$  son conocidos de la ecuación 1 y de los parámetros de diseño. La fase de la impedancia puede ser también medida a partir de  $V_\phi$ , como se muestra en la figura 2. En particular, se propone la utilización de tecnología CMOS 0.35 $\mu$ m para la implementación del circuito, con un voltaje de alimentación de 3V.

El circuito transmisor y receptor de señales de radiofrecuencia emitirá, en forma digital o analógica, la señal de bioimpedancia. Esto permite la monitorización de forma inalámbrica del cultivo celular, sin necesidad de extraer las muestras de la incubadora o de interferir en los procesos propios del cultivo celular. De igual forma, este circuito transmisor y receptor de señales de radiofrecuencia permite la programación inalámbrica del circuito de excitación y de medida de bioimpedancia, pudiendo ser establecidos remotamente parámetros tales como la frecuencia de muestreo, amplitud de la de corriente de excitación y demás parámetros descritos anteriormente.

Este circuito transmisor y receptor de señales de radiofrecuencia podrá ser implementado de forma que los datos se transmitan a una frecuencia de 2.4 Ghz u otras bandas disponibles, y de forma que sea compatible con los estándares 802.11, 802.15 o similares.

El software de monitorización obtiene varias gráficas que permiten monitorizar el comportamiento del cultivo celular, entre las que se encuentran la evolución temporal del valor absoluto de la impedancia y de la fase, para distintas frecuencias y para cada uno de los electrodos de la matriz. Asimismo, el software integrará un modelado eléctrico para la caracterización de la interfaz electrodo – célula en cada electrodo, que permitirá avanzadas funcionalidades en la reconstrucción de la imagen basada en bioimpedancia.



Los modelos eléctricos célula-electrodo son claves para la correspondencia entre simulaciones y comportamiento real de los sistemas, y por lo tanto, para la decodificación correcta de los resultados obtenidos experimentalmente, lo que se conoce en general como el problema de reconstrucción. [3, 13, 14].

La impedancia de los electrodos en líquidos iónicos ha sido ampliamente estudiada. Cuando un sólido (incluyendo metales, semiconductores y aislantes) se sumerge en una solución iónica o electrolito, los iones en la solución pueden reaccionar con el electrodo y los iones sólidos del electrodo pueden añadirse a la solución. El resultado es una interfaz compleja, electrificada o doble capa. Este complejo sistema puede ser modelado usando elementos circuitales pasivos, como ha sido descrito en numerosos textos de biomedicina y electroquímica. El modelo Helmholtz-Gouy-Chapman-Stern es el modelo comúnmente aceptado para describir eléctricamente la distribución de cargas en la interfaz del electrodo, pudiendo aproximarse por la siguiente expresión para la doble capa:

$$\sigma_{dl} + j2\pi f \epsilon_{dl} = t \cdot \left[ \frac{(2\pi f)^{1/2}}{K} + \frac{j(2\pi f)^{1/2}}{K} + jC_l 2\pi f \right] \quad (4)$$

donde  $\sigma_{dl}$  y  $\epsilon_{dl}$  son la conductividad y la permitividad dieléctrica,  $t$  es el espesor de la región,  $C_l$  es la capacidad de la interfase por unidad de superficie, que consiste en la combinación en serie de la capa de Helmholtz y la doble capa difusa, y  $K$  es una constante relacionada con la impedancia de Warburg (asociada a procesos de difusión de masa en la interfaz).

Modelamos el espacio electrodo - célula ( $t_{\text{cell-electrodo}}$ ) mediante una región de espesor  $t$  con valor de conductividad  $\sigma_{\text{gap}}$ , con el siguiente valor:

$$\sigma_{\text{gap}} = \frac{t_{\text{cell-electrode}}}{t} \cdot \sigma_{\text{medium}} \quad (5)$$

Modelamos la región de carga (también llamado de la doble capa eléctrica) que se

forma en el electrolito en la interfase con la célula con una capacidad  $C_{hd}$ , definida como la serie de tres capacidades [14]:

$$\begin{aligned} C_{h1} &= \frac{\varepsilon_0 \varepsilon_{IHP}}{d_{IHP}} A_{ce} \\ C_{h2} &= \frac{\varepsilon_0 \varepsilon_{OHP}}{d_{OHP} - d_{IHP}} A_{ce} \\ Cd &= \frac{q \sqrt{2 \varepsilon_0 \varepsilon_d K T z^2 n^0 N}}{K T} A_{ce} \end{aligned} \quad (6)$$

donde  $A_{ce}$  es la superficie de la membrana adjunta,  $\varepsilon_0$  es la permitividad dieléctrica del espacio libre;  $\varepsilon_{IHP}$  y  $\varepsilon_{OHP}$  son, respectivamente, interior y exterior de Helmholtz plano relativo constante dieléctrica;  $d_{IHP}$  es la distancia del plano interior de Helmholtz a la membrana;  $d_{OHP}$  es el distancia del plano exterior de Helmholtz a la membrana;  $\varepsilon_d$  es la capa difusa constante dieléctrica relativa;  $K$  es la constante de Boltzmann;  $T$  es la temperatura absoluta;  $q$  es la carga del electrón;  $z$  es la valencia de los iones en disolución;  $N_0$  es la concentración masiva de iones en disolución, y  $N$  es el número de Avogadro.

Por último, el circuito equivalente de la membrana la modelamos como una resistencia  $R_m$  en paralelo con una capacidad de  $C_m$ , en una forma similar a la reportada por Joye et al. [14].

$$\begin{aligned} R_m &= \frac{1}{g_{mem} \cdot A} \\ C_m &= c_{mem} \cdot A \end{aligned} \quad (7)$$

Donde  $A$  es el área de la membrana,  $g_{mem}$  es la conductividad de la membrana y  $C_{mem}$  la capacidad de la membrana por unidad de área.

Por tanto, integrando el modelado eléctrico descrito en un software de análisis de elementos finitos, en el que describimos la geometría de los electrodos, podemos estudiar la correspondencia entre simulaciones y comportamiento real de los sistemas, y por lo tanto, decodificar correctamente los resultados obtenidos experimentalmente.

De igual forma, como se ha comentado anteriormente, el software de control permite seleccionar de forma remota parámetros tales como la frecuencia de muestreo o el nivel de corriente de salida, programando de forma inalámbrica el circuito de excitación y medida de bioimpedancia.

### **Modo de realización de la invención**

*Ejemplo. Análisis de cultivo celular de MCF-7 a partir de una matriz de electrodos 8x8.*

En este ejemplo se presenta la particularización del sistema para la medida de impedancia en un cultivo celular de células epiteliales cancerígenas MCF-7, a través de una matriz de electrodos 8x8. El tamaño del píxel seleccionado es de 50  $\mu\text{m}$  x 50  $\mu\text{m}$ , similar a las dimensiones de la célula. La frecuencia de excitación de los electrodos varía desde 10 kHz a 100 kHz, obteniéndose para cada frecuencia una medida de impedancia en cada píxel de la matriz de electrodos.

El software de monitorización permite obtener de forma inalámbrica señales que muestran la evolución del cultivo celular en el tiempo, para distintas frecuencias de muestreo. La figura 3 muestra un ejemplo del histórico registrado para un cultivo de células MCF-7.

Mediante el modelado eléctrico podemos obtener una estimación del área ocupada en cada píxel por células del cultivo. Podemos utilizar el parámetro fill factor (ff), como el porcentaje de área ocupada en cada píxel por células del cultivo, variando desde  $\text{ff}=0$ , si no se detecta la presencia de ninguna célula, hasta  $\text{ff}=1$ , con la totalidad del área ocupada por células. En la figura 4 se muestra el fill factor obtenido para cada píxel de la matriz 8x8.

Con el envío inalámbrico de los datos de impedancia para cada píxel se puede monitorizar el crecimiento del cultivo celular en tiempo real, sin necesidad de realizar una inspección visual del cultivo, con el consiguiente ahorro de tiempo y con la posibilidad de implementar señales de alarma automáticas ante cambios inesperados. De igual forma, la automatización en la obtención de la información en forma digital mediante una matriz 2D permite un posterior procesado de los datos de cada píxel para un estudio más avanzado de la evolución del cultivo.

## Reivindicaciones

1 - Sistema de medida de bioimpedancia para la monitorización en tiempo real e inalámbrica de cultivos celulares basado en circuitos CMOS y modelado eléctrico, caracterizado por comprender;

a) una matriz o vector 2D de electrodos; un electrodo central ( $e_1$ ) y uno de mayor área llamado electrodo de referencia ( $e_2$ ),

b) un circuito de excitación y medida de bioimpedancia en bucle cerrado,

c) un circuito de transmisión y recepción de señales de radiofrecuencia compatible con los estándares 802.11, 802.15 o similares

d) y un software de monitorización y programación basado en modelado eléctrico.

2 - Sistema de medida de bioimpedancia para la monitorización en tiempo real e inalámbrica de cultivos celulares basado en circuitos CMOS y modelado eléctrico, según reivindicación 1, caracterizado por la utilización de tecnología basada en procesos CMOS para la implementación de la matriz o vector de microelectrodos.

3 - Sistema de medida de bioimpedancia para la monitorización en tiempo real e inalámbrica de cultivos celulares basado en circuitos CMOS y modelado eléctrico, según reivindicaciones anteriores, caracterizado por la utilización de tecnología basada en procesos CMOS para la implementación de los circuitos integrados.

4 - Sistema de medida de bioimpedancia para la monitorización en tiempo real e inalámbrica de cultivos celulares basado en circuitos CMOS y modelado eléctrico, según reivindicaciones anteriores, caracterizado por la utilización de un amplificador de instrumentación, un convertidor AC - DC o rectificador, un amplificador de error y un oscilador de corriente con la salida de corriente programable para el circuito de excitación y medida de bioimpedancia.

5 - Sistema de medida de bioimpedancia para la monitorización en tiempo real e inalámbrica de cultivos celulares basado en circuitos CMOS y modelado eléctrico, según reivindicaciones anteriores, caracterizado por la utilización del parámetro fill factor (ff, porcentaje de área ocupada en cada píxel por células del cultivo) para la decodificación de los resultados experimentales y la reconstrucción de imagen.

Figuras

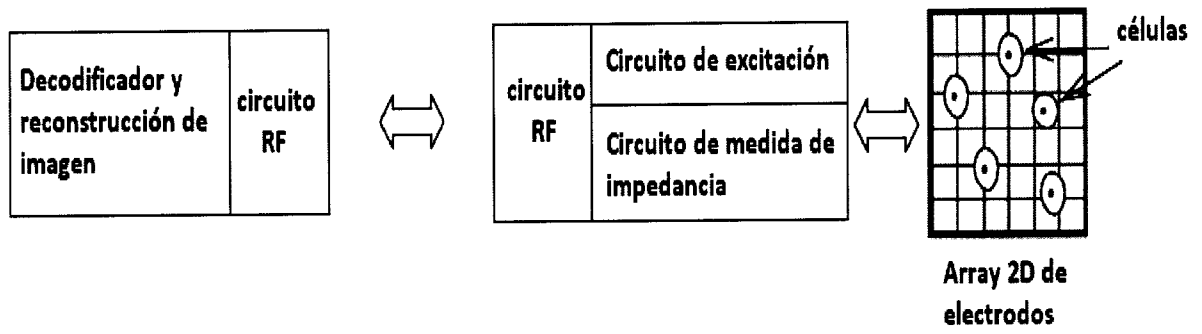


Figura1

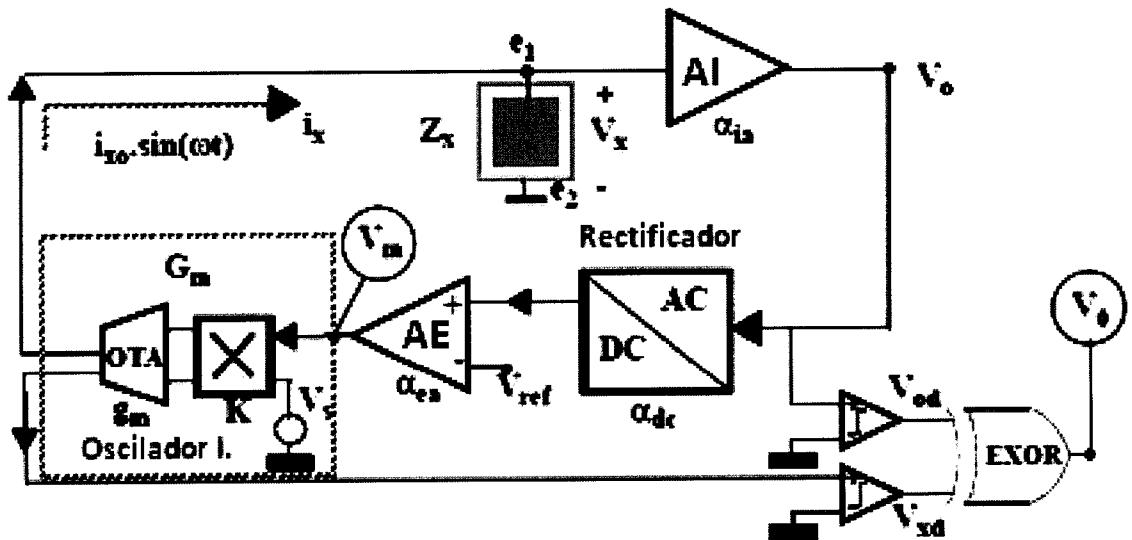


Figura 2

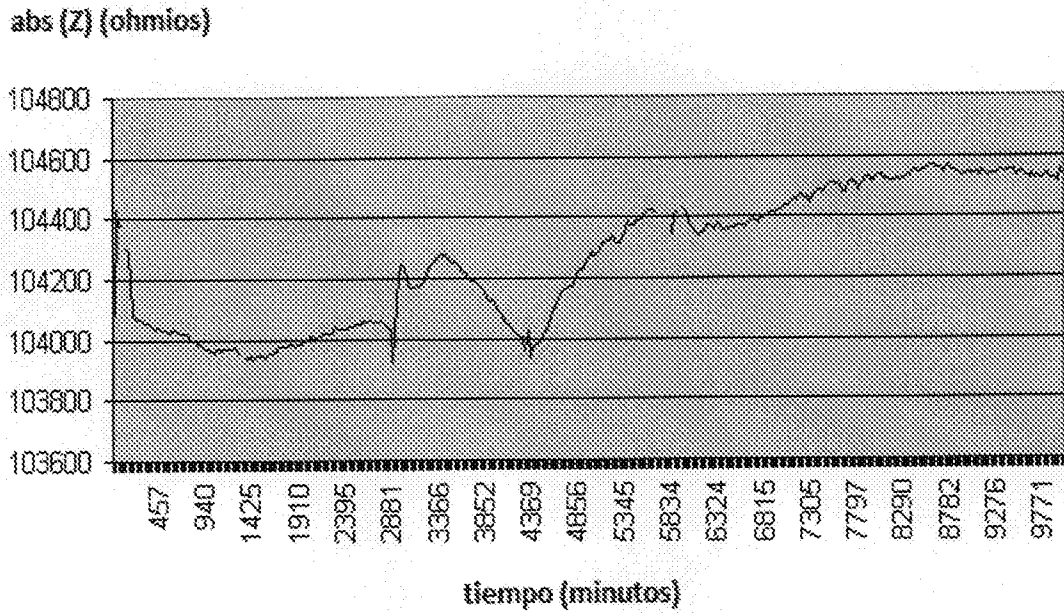


Figura 3

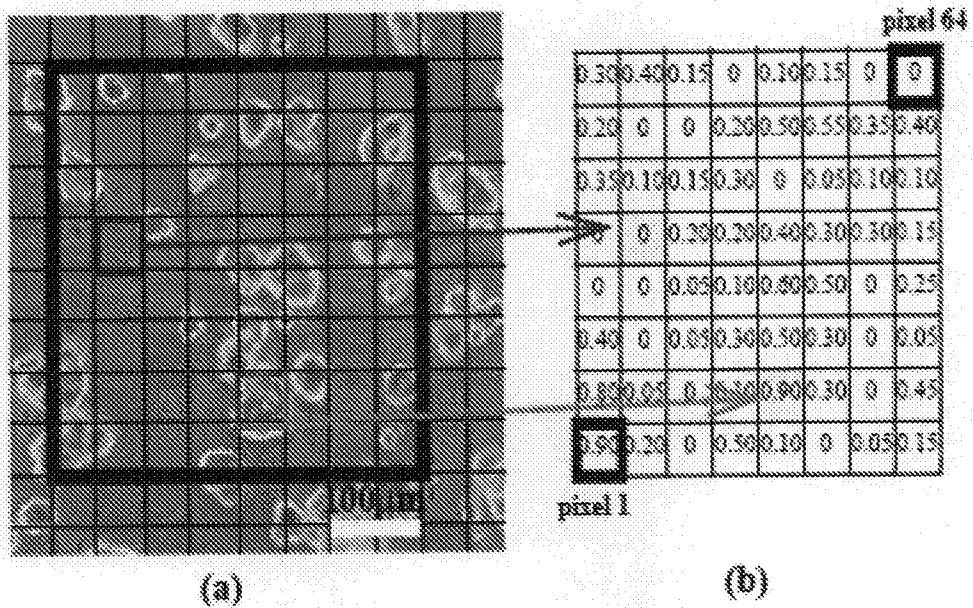


Figura 4

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/ES2015/000064

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

**G01R27/08** (2006.01)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

**G01R**

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

**EPODOC, INVENES, WPI,NPL, XPIEE, XPI3E**

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	15/04/2009, YUFERA A et al. A CMOS bio-impedance measurement system.Design and Diagnostics of Electronic Circuits&Systems, 2009. DDECS '09. 12th International Symposium on, 20090415 IEEE, Piscataway, NJ, USA 15/04/2009 VOL: Pags: 252 - 257 ISBN 978-1-4244-3341-4 ; ISBN 1-4244-3341-X. the whole document.	1-5
Y	01/06/2011, WISSENWASSER J et al. Signal Generator for Wireless Impedance Monitoring of Microbiological Systems.IEEE TRANSACTIONS ON INSTRUMENTATION AND MEASUREMENT, 20110601 IEEE SERVICE CENTER, PISCATAWAY, NJ, US 01/06/2011 VOL: 60 No: 6 Pags: 2039 - 2046 ISSN 0018-9456 Doi: doi:10.1109/TIM.2011.2113127.The whole the document.	1-5

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance.</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure use, exhibition, or other means.</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other documents , such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&amp;" document member of the same patent family</p>
--	---

Date of the actual completion of the international search  
**03/08/2015**

Date of mailing of the international search report  
**(03/08/2015)**

Name and mailing address of the ISA/

OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS  
Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)  
Facsimile No.: 91 349 53 04

Authorized officer  
M. Muñoz Sanchez

Telephone No. 91 3495349

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/ES2015/000064

C (continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of documents, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	01/02/2014, MORRISON TIM et al. A 0.5 cm <sup>3</sup> Four-Channel 1.1 mW Wireless Biosignal Interface With 20 m Range. IEEE Transactions on Biomedical Circuits and Systems, 20140201 IEEE, US 01/02/2014 VOL: 8 No: 1 Pags: 138 - 147 ISSN 1932-4545 Doi: doi:10.1109/TBCAS.2013.2260337 the whole document.	1



# INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº

PCT/ES2015/000064

## A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

**G01R27/08** (2006.01)

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y CIP.

## B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

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

G01R

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

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

EPODOC, INVENES, WPI,NPL, XPIEE, XPI3E

## C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
Y	15/04/2009, YUFERA A et al. A CMOS bio-impedance measurement system.Design and Diagnostics of Electronic Circuits&Systems, 2009. DDECS '09. 12th International Symposium on, 20090415 IEEE, Piscataway, NJ, USA 15/04/2009 VOL: Pags: 252 - 257 ISBN 978-1-4244-3341-4 ; ISBN 1-4244-3341-X. Todo el documento.	1-5
Y	01/06/2011, WISSENWASSER J et al. Signal Generator for Wireless Impedance Monitoring of Microbiological Systems.IEEE TRANSACTIONS ON INSTRUMENTATION AND MEASUREMENT, 20110601 IEEE SERVICE CENTER, PISCATAWAY, NJ, US 01/06/2011 VOL: 60 No: 6 Pags: 2039 - 2046 ISSN 0018-9456 Doi: doi:10.1109/TIM.2011.2113127.Todo el documento.	1-5

En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos

Los documentos de familias de patentes se indican en el anexo

\* Categorías especiales de documentos citados:

"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.

"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.

"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).

"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.

"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.

"T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.

"X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.

"Y" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.

"&" documento que forma parte de la misma familia de patentes.

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional.  
03/08/2015

Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional.  
**03 de agosto de 2015 (03/08/2015)**

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional  
OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS  
Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)  
Nº de fax: 91 349 53 04

Funcionario autorizado  
M. Muñoz Sanchez  
Nº de teléfono 91 3495349

# INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº

PCT/ES2015/000064

C (Continuación).		DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES
Categoría *	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
A	<p>01/02/2014, MORRISON TIM et al. A 0.5 cm<sup>3</sup> Four-Channel 1.1 mW Wireless Biosignal Interface With 20 m Range. IEEE Transactions on Biomedical Circuits and Systems, 20140201 IEEE, US 01/02/2014 VOL: 8 No: 1 Pags: 138 - 147 ISSN 1932-4545 Doi: doi:10.1109/TBCAS.2013.2260337 Todo el documento.</p>	1