

MINISTERIO DE INDUSTRIA  
REGISTRO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL



10	ES	11	451171	10	A1
		21			
		22	FECHA DE PRESENTACION		
			2-9-76		

P.- 63.723  
U.S Ser. No.  
643.258

PATENTE DE INVENCION

30	PRIORIDADES:	32	FECHA	33	PAIS
31	NUMERO				
	643.258		22-12-75		EE.UU.

47	FECHA DE PUBLICIDAD	51	CLASIFICACION INTERNACIONAL	62	PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
			G12K		

54	TITULO DE LA INVENCION
	"UN ENVASE PARA ALMACENAR Y TRANSPORTAR UN CULTIVO ANAERO B10"

71	SOLICITANTE (S)
	MARION LABORATORIES, INC.

	DOMICILIO DEL SOLICITANTE
	10236 Bunker Ridge Road, Kansas City, Missouri, 64137, Estados Unidos de América.

72	INVENTOR (ES)
	Lowell Donald Miller, Melvin Wayne Hounsell y Ernest Elliott Spinner.

73	TITULAR (ES)

74	REPRESENTANTE
	DON ALBERTO DE ELZABURU MARQUEZ

Este invento se refiere a aparatos útiles en -  
relación con cultivos bacterianos. Más particularmente, es-  
te invento se refiere a nuevos envases para almacenar, trans-  
portar y ensayar cultivos bacterianos anaerobios, es decir  
5 los del tipo que son capaces de vivir solamente en un medio  
gaseoso o atmósfera pobre en oxígeno o desprovista de oxíge-  
no.

Muchas enfermedades del hombre y de los anima-  
les inferiores son de origen bacteriano. El tratamiento de  
10 muchas enfermedades bacterianas requiere que sea identifica-  
do el organismo infeccioso. Puede entonces prescribirse un  
medicamento conocido que sea eficaz contra el organismo in-  
feccioso.

La identificación de un organismo infeccioso se  
15 hace generalmente por medio de un cultivo obtenido del pa-  
ciente o animal enfermo. El cultivo se transporta luego a -  
un laboratorio para la determinación de la identidad del or-  
ganismo infeccioso. Dichos laboratorios requieren microbió-  
logos muy adiestrados y un equipo complicado y caro. Los la-  
20 boratorios de ensayo adecuados, por consiguiente, no están  
siempre fácilmente disponibles. Por lo tanto se hace necesá-  
rio que el paciente visite el laboratorio, o si se trata de  
un animal llevarlo al laboratorio, donde puede obtenerse el  
cultivo y someterlo inmediatamente a los procedimientos de  
25 ensayo o que el cultivo sea recogido en un lugar lejos del  
laboratorio y luego sea transportado al laboratorio para --  
los ensayos.

Si bien la recogida de un cultivo no presenta -  
generalmente dificultades, el almacenamiento y/o el transpor-  
30 te del cultivo hasta el laboratorio de ensayo en condiciones

que garanticen que el cultivo sea capaz de vivir y esté libre de contaminación a la llegada, presenta serios problemas. Aunque la contaminación por otros organismos puede evitarse generalmente por medios adecuados, el mantenimiento -  
5 de un cultivo capaz de vivir requiere a menudo, además de - un medio nutriente adecuado, el almacenamiento y transporte del cultivo en un medio circundante gaseoso particular que favorezca su capacidad de vivir.

Puesto que se sabe que las bacterias del tipo -  
10 anaerobio requieren un medio gaseoso deficiente en oxígeno o exento de él, es evidente que el transporte de un cultivo de bacterias anaerobias debe efectuarse en un medio circundante que no tenga o tenga poco oxígeno. Los organismos que son anaerobios obligados, tal como los bacilos del tétano,  
15 la gangrena gaseosa, el botulino y los bacteroides, requieren la ausencia de oxígeno para el desarrollo apropiado. Aunque esto es conocido generalmente por los bacteriólogos, está descrito en la patente de EE.UU. de Brewer 3.246.959.

La patente de EE.UU. de Brewer 3.246.959 describe  
20 un dispositivo productor de gases para generar una atmósfera conductora para mantener y aumentar la capacidad de vivir de los organismos que requieren una atmósfera no tóxica especial. La patente muestra la generación química de hidrógeno, dióxido de carbono y acetileno con el fin de suministrar  
25 una atmósfera no tóxica a un cultivo en un recipiente. Una tela metálica platinada en el recipiente se calienta por electricidad con el fin de hacer reaccionar completamente - el oxígeno contenido en el recipiente.

La patente de EE.UU. de Anandam 3.616.263 describe  
30 un tubo de cultivo para cultivos anaerobios. El oxígeno -

se separa del tubo mediante el empleo de una cápsula dividida que contiene hidróxido de potasio acuoso y ácido pirogálico acuoso que cuando se combinan forman un agente reductor fuerte para el oxígeno.

5 Aunque la técnica anterior reconoce la necesidad de mantener diversos cultivos en condiciones anaerobias, se necesita un envase de bajo coste, seguro y desechable para el almacenar, transportar y/o ensayar un cultivo anaerobio.

10 De acuerdo con un aspecto del presente invento se proporciona un envase para almacenamiento, incubación o -- transporte de un cultivo anaerobio que comprende una bolsa abierta o cerrada de material en lámina transparente y flexi-  
15 bles de baja permeabilidad a los gases, un aparato generador de gas independiente en la bolsa para generar al menos un gas reductor, un recipiente que retiene el cultivo en la bolsa y un catalizador en la bolsa que favorece la reacción entre el gas reductor, cuando se produce por el aparato generador de gas, y el oxígeno en la bolsa. Es además conve-  
20 niente incluir en la bolsa un aparato indicador de color -- que cuando se activa indica la presencia o ausencia de oxígeno en la bolsa por cambio de color.

De acuerdo con un aspecto adicional del invento se incluyen un aparato generador de gas independiente y un  
25 aparato indicador de color en una bolsa abierta o cerrada -- de material en lámina transparente y flexible de baja permeabilidad a los gases, pero no se incluye un recipiente que -- retiene el cultivo en la bolsa puesto que preferiblemente -- puede obtenerse tal recipiente a partir de otras fuentes --  
30 disponibles.

El gas reductor producido por el generador de gases será generalmente hidrógeno, aunque puede ser algún otro gas reductor fácilmente producido de modo químico, tal como acetileno. Además, junto con la producción de un gas reductor el generador de gas puede producir simultáneamente dióxido de carbono puesto que al menos algunas bacterias -- anaerobias se mantienen más capaces de vivir en presencia de grandes cantidades de dióxido de carbono que las que normalmente están presentes en el aire.

Cuando se incluye un recipiente que retiene el cultivo en la bolsa puede tomar cualquier forma adecuada para mantener y soportar el cultivo. Además, el recipiente -- puede estar exento de medios nutrientes adecuados o pueden estar incluidos en el recipiente medios nutrientes. Los tipos adecuados de recipientes para el cultivo son las placas de medios convencionales o discos Petri, un tubo de medios tal como el tipo de tubo de ensayo con o sin tapa o una tira de medios que tiene una serie de microtubos que contienen diferentes medios de modo que la identificación del cultivo puede determinarse por comparación con patrones de color previamente determinados para cada uno de los microtubos. Una tira de medios comercialmente disponible se identifica como el sistema anaerobio API 20 (Analytab Products, Inc., Plainview, Nueva York).

Puesto que es deseable activar el generador de gases después de que se ha colocado un cultivo en la bolsa y la bolsa ha sido cerrada herméticamente después, el generador de gases independiente debe ser uno que se active fácilmente desde fuera de la bolsa. Dicho generador de gases puede incluir una ampolla que contiene un líquido que sea --

reactivo con un material sólido que produce gas. Al romper la ampolla por aplicación de una fuerza a través de la bolsa, el líquido puede liberarse para producir la reacción química deseada y generar el gas reductor deseado en un volumen que es adecuado para combinarse con todo el oxígeno presente en el aire de la bolsa cerrada, pero menos gas que el que causaría la rotura de la bolsa por la presión del gas.

El indicador de color empleado en los diversos envases proporcionados por este invento es asimismo, convenientemente independiente y comprende un recipiente que permite el flujo del gas en él, una ampolla en el recipiente que contiene un líquido redox indicador de color y un material absorbente colocado para absorber el líquido cuando se libera desde la ampolla. El indicador de color es convenientemente uno que puede activarse cuando la bolsa está cerrada por aplicación de presión a través de la bolsa contra las paredes de la ampolla. Dicha activación se alcanza fácilmente empleando un recipiente para el indicador de color en forma de un tubo polímero flexible o una bolsa. Cuando el recipiente es un tubo, la ampolla puede estar colocada ajustadamente en el tubo, pero cuando se rompe y el líquido redox se libera para ser absorbido en un tapón fibroso colocado en él, el espacio exterior del tubo está abierto de modo que se permita fluir al gas a través del tubo. La ampolla puede también estar cubierta por una lámina no tejida de material fibroso de poliéster rodeada por un recubrimiento similar a una bolsa de material sintético de tejido de punto.

Los envases de cultivo anaerobio descritos se producen fácilmente a bajo coste. Todos los componentes empleados en los envases se intenta que sean del tipo desecha

ble que se emplean una vez y luego se desechan. Todos los componentes empleados en los envases se esterilizan fácilmente tal como por óxido de etileno gaseoso. El aparato generador del gas y el aparato indicador del color pueden colocarse en la bolsa, con o sin un recipiente que retiene el cultivo, y esterilizarse con la boca de la bolsa abierta. La boca de la bolsa puede luego dejarse abierta o puede cerrarse, tal como por un cierre con calor. Cada forma tiene sus usos comerciales.

La presencia del generador de gases en el envase hace innecesario emplear otros medios para crear la atmósfera anaerobia deseada. Además, la presencia del indicador de color permite al técnico determinar en un corto tiempo después de que se ha activado el generador del gas, si se produce la atmósfera anaerobia deseada. También, puesto que el indicador de color está pensado para permanecer en el envase mientras se transporta, e incluso durante los procedimientos de ensayo que pueden realizarse sin abrir la bolsa, es capaz de determinar en cualquier momento si se mantiene y está presente la atmósfera anaerobia en el momento de la observación.

El invento se describirá además junto con los dibujos que se acompañan, en los cuales:

La Figura 1 es una vista en perspectiva de un envase para transportar un cultivo bacteriano anaerobio y contiene un aparato generador de gas y un recipiente que retiene el cultivo en una bolsa flexible.

La Figura 2 es una vista en corte axial, longitudinal del aparato generador del gas mostrado en el envase de la Figura 1.

La Figura 3 es una vista de un envase tal como el que se muestra en la Figura 1 pero con un aparato indicador de color incluido en dicho envase.

5 La Figura 4 es una vista en corte axial longitudinal del aparato indicador de color mostrado en el envase de la Figura 3.

La Figura 5 es una vista en perspectiva de un envase creado de acuerdo con el invento, que contiene un -- aparato generador de gas, un aparato indicador de color y - una placa de medios en una bolsa flexible.

10

La Figura 6 es una vista en perspectiva de - - otra forma del envase proporcionado por el invento que contiene un aparato generador de gas, un aparato indicador de color y una tira de medios colocada en una bolsa flexible; y

15 La Figura 7 es una vista en corte de una segunda realización del aparato indicador de color que puede emplearse en el invento.

En tanto que sea práctico los mismos elementos o partes que aparecen en las diversas vistas de los dibujos se identificarán por los mismos números.

20

Con referencia a la Figura 1, el envase 10 para almacenamiento y transporte del cultivo bacteriano está constituido por un aparato generador de gases 11 y un tubo de medios 12 ambos colocados dentro de una bolsa transparente y flexible 13.

25

El aparato generador de gases 11 comprende un recipiente en forma de un tubo de plástico alargado 15 (Figuras 1 y 2) que está cerrado por el extremo 16 y está abierto por el extremo 17. El tubo 15 puede estar hecho de un material polímero flexible pero autoportante tal como polietileno

30

leno, polipropileno o un copolímero de polietileno-polipropileno tal como el vendido como Avisun 6011.

Se colocan una o más tabletas o gránulos sólidos 18, generadores de gases en el tubo 15, encima de la ampolla 19. La tableta 18 tiene una composición que es adecuada para generar un gas reductor tal como hidrógeno o acetileno, o tanto un gas reductor como dióxido de carbono.

La ampolla 19 está colocada en el tubo 15 más o menos ajustadamente de modo que mantenga su posición. Un líquido 20 está contenido en la ampolla 19. La composición del líquido 20 se selecciona de modo que cuando se libere desde la ampolla 19, reaccionará con la tableta 18, que cae en el líquido, generando uno o más gases. La ampolla 19 puede estar hecha de vidrio o algún otro material que no sea reactivo con el líquido 20 o los componentes de la tableta generadora, de gases 18. La ampolla 19 está hecha convenientemente de modo que se romperá con la aplicación de la presión de los dedos a la parte exterior del tubo 15 adyacente a la pared en la ampolla. De este modo la ampolla puede abrirse y el líquido 20 liberarse para reaccionar con la tableta 18.

Un tapón absorbente de líquido 21, tal como fibras de poliéster, se coloca en el tubo 15 después que se han colocado en el tubo la ampolla 19 y la tableta 18. El tapón absorbente 21 está situado por tanto entre la ampolla 19 y el extremo abierto del tubo 17 de modo que el líquido no puede fluir desde el tubo.

Se colocan convenientemente uno o más gránulos desecantes 22 entre el tapón absorbente de líquido 21 y el extremo abierto 17 del tubo 15 como se muestra en la Figura

2. Puede emplearse cualquier desecante o cualquier material deshidratante de agua adecuado con este fin, aunque se prefiera emplear tamices moleculares. Sin embargo, son representativos de otros materiales desecantes el sulfato de magnesio o el cloruro de calcio que pueden emplearse de modo satisfactorio.

También se coloca entre el tapón absorbente de líquido 21 y el extremo abierto 17 del tubo 15 al menos un gránulo de catalizador 23. El gránulo de catalizador 23 se coloca para inducir la reacción catalítica entre el gas reductor que se forma por la reacción del líquido 20 con la tableta 18 y el oxígeno que pueda estar en el tubo 15 y la bolsa 13. Puede emplearse un catalizador de paladio sobre aluminio al 5% cuando el gas reductor es hidrógeno, aunque pueden emplearse otros catalizadores que induzcan la reacción a la temperatura ambiente.

Una tapa de polímero 24 que tiene un agujero central 25 y un filtro biológico fibroso 26 se comprime firmemente sobre el extremo abierto del tubo 15. El filtro 26 está hecho de un material que permitirá fluir fácilmente el gas generado en el tubo 15 desde el tubo, pero que eliminará cualquier bacteria que posiblemente pueda estar presente en el tubo 15 y que podría escapar de otro modo durante el flujo del gas desde el tubo.

La tableta generadora de gases 18 puede tener la composición siguiente cuando se desea producir simultáneamente tanto dióxido de carbono como hidrógeno como gas reductor:

Borohidruro de potasio	78 mg
Zinc	78 mg

	Cloruro de sodio	90 mg
	Bicarbonato de sodio	84 mg
	Lactosa DT	164 mg
	Celulosa microporosa-Avicel PH 102	150 mg
5	Lubricante en tabletas-estearato de calcio	6 mg

Si se desea producir sólo hidrógeno y no dióxido de carbono puede omitirse el bicarbonato de sodio de la composición antes citada para la tableta 18.

La ampolla 19 puede contener como líquido 20, -  
10 1,1 ml de ácido clorhídrico 1,8 N en una ampolla de vidrio -  
de 46,17 mm de longitud. Sin embargo, ha de entenderse que -  
el tamaño de la ampolla 19 y la concentración y cantidad de -  
líquido 20 en la ampolla se coordinan con los ingredientes -  
de la tableta 18 de modo que de como resultado la generación  
15 de un volumen previamente determinado de uno o más gases que  
llenarán la bolsa 13 cuando esté cerrada sin desarrollar una  
presión de gas que la haga romperse.

El agente deshidratante o desecante 22 se inclu  
ye convenientemente en el aparato generador de gas para sepa  
20 rar el agua y el vapor de agua que pueda entrar en el tubo a  
través de la abertura 17 durante la esterilización, tal como  
esterilización por óxido de etileno gaseoso, en el proceso -  
de fabricación, o para separar el vapor de agua que pueda pe  
netrar en el tubo de un modo u otro. La separación de agua -  
25 de este modo es deseable para conservar la estabilidad de la  
tableta generadora de gases 18, aunque se entenderá que en -  
algunas condiciones puede no emplearse necesariamente el - -  
desecante.

El aparato generador de gases 11 descrito cons  
30 tituye una unidad fácilmente desechable que tiene por objeto

emplearse una sola vez para la producción de un gas reductor solo o con dióxido de carbono. Es particularmente útil en -- los sistemas de recogida y transporte del cultivo, en donde se considera conveniente que para que un organismo permanezca vivo, esté rodeado por una atmósfera exenta de oxígeno o de bajo contenido de oxígeno. El aparato generador de gases es también muy útil para generar una atmósfera de dióxido de carbono para empleo en el almacenamiento o transporte de cultivos bacterianos que requieren, o es más probable que sean capaces de vivir más tiempo, cuando se colocan en una atmósfera que contiene una cantidad sustancial mayor de dióxido de carbono que la que se encuentra en la atmósfera. Puesto que ciertos microorganismos requieren una atmósfera tanto enriquecida con dióxido de carbono como sustancialmente exenta de oxígeno, el aparato generador de gas proporcionado en el presente invento es particularmente útil en el transporte de un cultivo de estos organismos.

La bolsa 13 mostrada en la Figura 1 puede estar hecha de una película o material laminar flexible polímero y transparente de baja permeabilidad a los gases. La bolsa 13 puede estar hecha de dos láminas de película plástica soldadas por calor 32 alrededor de tres bordes laterales, dejando con ello una boca abierta 33 a través de la cual están insertados el tubo de los medios 12 y el aparato generador de gases 11. Específicamente, un estratificado de poliéster (Mylar) identificado como N° CL5040 (Clear Lam Products) o -- Scotch Pak N° 48 puede emplearse para la bolsa. La boca 33 puede dejarse abierta o estar cerrada herméticamente de cualquier modo adecuado, tal como por medio de un cierre hermético 34 por calor.

El tubo de los medios 12 se muestra en la Figura 1 conteniendo un cultivo en pico de flauta 30 de agar; - sin embargo, también se considera que el tubo de los medios puede estar incluido vacío y añadirse cualesquiera medios -  
5 nutrientes adecuados por el usuario del envase. Además, en lugar del tubo de los medios 12, una placa de medios con o sin medios nutrientes o una tira de medios puede reemplazar a dicho tubo en el envase.

El envase para cultivo anaerobio mostrado en -  
10 la Figura 1 puede emplearse abriendo la bolsa 13 por el cierre hermético por calor 34 para retirar el tubo de los medios 12. Luego puede aplicarse un cultivo al pico de flauta 30 de agar. El tubo de los medios inoculado 12 se pone de nuevo luego en la bolsa 13 y se cierra tal como por un cierre  
15 hermético por calor similar al cierre hermético por calor 34. Alternativamente, la boca de abertura o el extremo de la bolsa pueden plegarse o enrollarse apretadamente sobre sí mismo y la parte plegada se asegura en su lugar mediante un clip o sujetador adecuado. El envase resultante -  
20 se pone luego en posición vertical con la tapa 24 del generador de gas 11 en posición de cabeza. La ampolla 19 se rompe luego comprimiendo el tubo 15. El ácido del interior de la ampolla 19 se libera por tanto y la tableta 18 cae en el líquido. La reacción del ácido con el borohidruro de potasio  
25 hace que se genere hidrógeno dentro del tubo, mientras que - la reacción del ácido con el bicarbonato de sodio da como resultado la generación de dióxido de carbono. Tanto uno como otro de estos gases fluyen a través de la longitud total del tubo 15 puesto que el tapón 21 es permeable a los gases. El  
30 tapón 21 absorbe el exceso de ácido y le impide circular en

el tubo. El ácido líquido también se combina con los ingredientes de la tableta 18 para formar un lodo que además sirve para mantener el ácido líquido en su lugar. El hidrógeno se entremezcla con el oxígeno en el tubo 15, y por medio --  
5 del catalizador 23, estos dos gases reaccionan para formar agua, con lo cual barren el oxígeno del espacio interno del tubo 15. El oxígeno procedente de la bolsa 13 también circula en el tubo 15 y se hace reaccionar con el hidrógeno por medio del catalizador 23.

10 A medida que el hidrógeno y el dióxido de carbono son generados en el tubo 15 los gases salen por la abertura 17 a través del filtro 26 y entran en la bolsa 13, que si se desea, puede contener al menos un gránulo de catalizador 40 análogo al gránulo de catalizador 23. Cuando ha de --  
15 usarse el gránulo de catalizador 40, es innecesario, incluso aconsejable incluir el gránulo de catalizador 23 en el tubo 15. Los gases generados hacen que la bolsa 13 se infle o expanda hacia el exterior. El efecto de inflamamiento es --  
20 evidencia de que los gases han sido generados como se esperaba. Sin embargo, inmediatamente después de la generación del hidrógeno uno o ambos de los gránulos de catalizador 23 y 40 inducen la reacción del hidrógeno con el oxígeno para formar agua. La separación catalítica descrita de oxígeno --  
25 de la bolsa 13 no afecta significativamente al inflamamiento de un modo inmediato. Sin embargo, alrededor de 48 horas o --  
30 así después de ser activada la unidad el dióxido de carbono puede haber penetrado a través de las paredes de la bolsa 13 haciendo que se desarrolle un vacío en ella. La presión atmosférica externa puede luego comprimir o aplastar las paredes flexibles de la bolsa conjuntamente. Este estado puede --

resultar incluso sin que el oxígeno entre en la bolsa debido a que la permeabilidad a los gases del material de la pared puede permitir un flujo preferente de dióxido y de carbono y nitrógeno fuera de la bolsa pero no entra oxígeno.

5 Aunque el ejemplo anterior ilustra la producción de hidrógeno como gas reductor mediante el empleo de compuestos químicos específicos, es decir borohidruro de potasio, zinc, cloruro de sodio, y ácido clorhídrico diluido, pueden emplearse otros materiales sólidos en unión con otros  
10 líquidos para producir hidrógeno o algún otro gas reductor que reaccionará catalíticamente con el oxígeno para separarlo del espacio situado alrededor del cultivo. Así, el agua sola puede colocarse en la ampolla 19 y el gránulo sólido -  
15 18 puede formularse para que contenga un material que reaccione con el agua de un modo seguro y razonablemente rápido para producir hidrógeno. Por tanto, pueden emplearse el borohidruro de sodio, el hidruro de litio y aluminio, el hidruro de litio, el hidruro de calcio, el hidruro de alumi-  
20 nio y el borohidruro de litio puesto que reaccionarán con el agua, así como ácido acuoso para formar hidrógeno. Tales hidruros también reaccionan con otros líquidos tales como -  
alcoholes para formar hidrógeno de modo que a veces puede ser deseable reemplazar el agua o ácido por un alcohol, con la condición de que no afecte adversamente al cultivo. El  
25 hidrógeno, naturalmente, puede producirse mediante la reacción de un metal tal como hierro, zinc, aluminio y magnesio con un ácido adecuado tal como ácido sulfúrico y ácido clorhídrico.

30 En lugar de emplear hidrógeno como gas reductor para separar el oxígeno del tubo 15, es factible formar ace-

tileno mediante la reacción de carburo de calcio con el gránulo 18 y agua o ácido diluido en la ampolla 19.

5 Los medios químicos adecuados para generar el dióxido de carbono gaseoso en el aparato de este invento no están limitados a la realización específica expuesta en la presente memoria. Pueden emplearse otros medios químicos -- bien conocidos para la generación de dióxido de carbono gaseoso. En términos amplios, puede emplearse cualquier material sólido que por contacto con un líquido libere dióxido  
10 de carbono en una cantidad adecuada, en un tiempo razonablemente corto. El método menos costoso, naturalmente, es poner en contacto una sal carbonato o bicarbonato con un ácido diluido que no producirá vapores que tienen un efecto adverso sobre el cultivo. En lugar de poner un ácido diluido en la  
15 ampolla, ésta puede llenarse con agua, y en el gránulo 18 - puede ponerse bicarbonato de sodio y ácido cítrico o alguna sal ácida adecuada para generar dióxido de carbono. Otros - sistemas factibles serán fácilmente evidentes a los químicos expertos.

20 La Figura 3 ilustra un envase anaerobio 100 similar al mostrado en la Figura 1 pero con un aparato indicador de color 50, también incluido en la bolsa 13 para determinar la presencia de oxígeno. El aparato indicador de color comprende un recipiente abierto que permite el flujo de gas  
25 a su través, una ampolla situada en el recipiente, conteniendo dicha ampolla un líquido indicador de color redox y un material absorbente en el recipiente. Se pretende que cuando - el líquido se libere de la ampolla sea recogido por el material absorbente en lugar de tener el flujo líquido libremente  
30 en el recipiente. Aunque puede emplearse cualquier forma

adecuada de recipiente para el indicador de color, es aconsejable que esté en forma de un tubo que está abierto por -  
ambos extremos. Dimensionando la ampolla para fijarla ajustadamente en el tubo, la ampolla puede abrirse rompiéndola  
5 por medio de una presión de un dedo aplicada a través de la  
bolsa 13 a la superficie externa del tubo adyacente a la am  
polla. El indicador de color redox líquido así liberado de  
la ampolla puede hacerse fluir sobre un tapón fibroso absor  
bente también fijado ajustadamente en el tubo. El líquido -  
10 es absorbido de este modo y mantenido en su lugar de modo -  
que proporcione una masa fácil y relativamente visible que  
puede observarse a través de la pared transparente del tubo.  
Fabricando el tapón absorbente de un material fibroso blan-  
co, puede observarse fácilmente el color del indicador lí-  
15 quido redox y determinarse por tanto la presencia o ausen-  
cia de oxígeno.

El aparato indicador de color 50 mostrado en -  
las Figuras 3 y 4 tiene un tubo transparente flexible y alar  
20 gado 51 que está abierto en sus extremos 52 y 53. El tubo -  
51 puede estar hecho de cualquier material adecuado aunque  
es particularmente apropiado para dicho tubo un material po  
límero flexible tal como polietileno. La ampolla 54 está si  
tuada ajustadamente dentro del tubo 51. La ampolla 54 puede  
estar hecha de cualquier material adecuado pero deseablemen  
25 te está hecha de un vidrio relativamente delgado de modo que  
puede abrirse fácilmente fracturando las paredes de la ampo  
lla por aplicación de la presión de un dedo a través de la  
bolsa 13 contra la superficie adyacente del tubo 51.

La ampolla 54 contiene un indicador de color -  
30 redox líquido 55 que ocupa la mayor parte, si no la totali-

dad, del espacio en el interior de la ampolla. La ampolla -  
54 mostrada en las Figuras 3 y 4 contiene una cantidad apro-  
piada de líquido y tiene un espacio superior 56 relleno con  
un gas inerte tal como nitrógeno.

5 Un tapón absorbente líquido fibroso 57 está si-  
tuado ajustadamente en el tubo 51 por debajo de la ampolla  
54. El tapón fibroso 57 está hecho de un material que es no  
reactivo con el líquido redox tal como fibras de poliéster  
o algún otro material absorbente de líquido.

10 Se considera aconsejable cubrir cada extremo -  
del tubo 51 con un filtro bacteriológico 58 a través del --  
cual no pasarán los microorganismos. De este modo, se impi-  
de el escape de los organismos del tubo 51 para contaminar  
el medio circundante. Cada filtro 58 es permeable a los ga-  
15 ses, pero también es, deseablemente, uno que es permeable a  
los líquidos, particularmente el agua. El filtro 58 en cada  
extremo del tubo está colocado en su lugar mediante una ta-  
pa 59 que tiene un agujero 60 en la parte superior.

20 El líquido indicador de color redox 55 puede -  
seleccionarse de cualquier material adecuado que cambiará -  
el color cuando la atmósfera que lo rodea cambie, desde una  
que es deficiente en oxígeno a otra en la que existe una --  
cantidad significativa o sustancial de oxígeno en la atmós-  
fera. Así, el indicador puede tener un color en presencia -  
25 de oxígeno y un color diferente en una atmósfera que está -  
exenta de oxígeno. También, el indicador puede ser incoloro  
cuando no existe oxígeno presente y desarrollar un color --  
cuando está presente oxígeno, o el indicador puede ser inco-  
loro cuando está presente oxígeno y desarrollar un color --  
30 cuando no está presente oxígeno o muy poco en la atmósfera

circundante.

Un indicador de color redox particularmente --  
útil es resazurina en agua. Este indicador de color redox es  
inoloro en atmósfera exenta de oxígeno pero en una atmósfe-  
5 ra que contiene oxígeno tiene un color rosa. Cuando se em-  
plea este indicador es aconsejable incluir una cantidad pe-  
queña de clorhidrato de cisteína con él, puesto que este in-  
grediente facilita el cambio de color. Otro indicador de co-  
lor redox específico que puede emplearse es el azul de meti-  
10 leno. Este indicador es inoloro en ausencia de oxígeno pero  
en su presencia, tal como en presencia de aire, tiene un co-  
lor azul. Además es deseable que el indicador de color redox  
utilizado sea uno que es reversible en el color, de modo que  
cualquier cambio desde una atmósfera que contiene oxígeno a  
15 una atmósfera exenta de oxígeno o desde una atmósfera exenta  
de oxígeno a una que contiene oxígeno, será indicado por el  
cambio de color.

El indicador de color redox preferido para em--  
pleo en el aparato es resazurina acuosa que contiene cisteí-  
20 na. Una solución al 0,001% de resazurina en agua es específi-  
camente útil.

El envase para cultivo anaerobio mostrado en la  
Figura 3 puede emplearse abriendo la bolsa cerrada 13. Luego  
se deposita un cultivo en el pico de flauta 30 de agar en el  
25 tubo de los medios 12 y el tubo inoculado se pone de nuevo en  
la bolsa 13. La bolsa 13 se cierra luego por un cierre hermé-  
tico por calor o plegado repetido para hacerla sustancialmen-  
te estanca a los gases. Con la bolsa 13 situada verticalmen-  
te y con el aparato indicador de color 50 también situado --  
30 verticalmente, el tubo 51 se comprime al lado de la ampolla

54 para triturar la ampolla y liberar el líquido indicador -  
de color 55 permitiéndole circular descendientemente para ser  
absorbido sobre el tapón fibroso 57. Puesto que la bolsa 13  
contiene aire, el tapón 57 desarrollará rápidamente un color  
5 rosa cuando el líquido indicador es resazurina. El espacio -  
interior de la bolsa 13 se llena luego por el gas generado,  
activando el aparato generador de gases 11. El hidrógeno que  
se genera reacciona catalíticamente con el oxígeno de la bol  
sa para producir agua y por tanto desarrolla una atmósfera -  
10 anaerobia en la bolsa. La disminución en la concentración de  
oxígeno en la bolsa se pone de manifiesto por el color rosa  
del tapón 57 que cambia a rosa ligero y finalmente a un color  
blanco del tapón cuando está hecho de fibras de poliéster, -  
indicando que ha sido eliminado el oxígeno. Si el oxígeno se  
15 fuga subsiguientemente hacia la bolsa 13 el tapón 57 volverá  
a desarrollar un color rosa puesto que el cambio de color es  
reversible cuando se emplea resazurina como indicador de co-  
lor.

La Figura 5 ilustra una realización adicional -  
20 del invento y muestra un envase para cultivo anaerobio 200 -  
como el de la Figura 3 pero con el tubo de los medios 12 de  
la Figura 3 reemplazado por una placa de medios 70. La placa  
de medios 70 puede estar vacía o previamente llenada con una  
base nutriente, tal como agar. El envase 200 de la Figura 5  
25 está destinado a ser empleado del mismo modo que el envase -  
de la Figura 3.

Una realización adicional del invento se muestra  
en la Figura 6. El envase para cultivo anaerobio 300 de la -  
Figura 6 tiene una tira para medios 80 que contiene una plu-  
30 ralidad de microtubos para empleo en la identificación de --

una muestra de cultivo desconocido, en lugar de la placa de medios 70 del envase 200 de la Figura 5, y del tubo de medios 12 del envase 100 de la Figura 3. La tira de medios 80 puede ser de cualquier tipo adecuado pero de un modo deseable es de un tipo comercializado bajo el nombre de API 20 - Anaerobe System (Analytab Products Inc., Plainview, New York) que permite la realización rápida y simultáneamente fiable de más de veinte ensayos bioquímicos para la identificación de bacterias anaerobias de un modo conveniente y económico. La tira de medios 80 puede estar incluida en el envase 300 al ser fabricado o puede obtenerse separadamente y colocarse en la bolsa 13 después de ser inoculado. En tal caso, el envase 300 comprenderá la bolsa 13 el aparato generador de gases 11 y el aparato indicador de color 50. Independientemente de la fuente de la tira de medios, el envase 300 se emplea colocando una tira de medios inoculada en la bolsa 13 que contiene el aparato generador de gases 11 y el aparato indicador de color 50. La bolsa 13 se cierra luego herméticamente a los gases. Luego se activan el aparato indicador de color y el aparato generador de gases. Se crea una atmósfera anaerobia con o sin dióxido de carbono generado en la bolsa 13 como se ha descrito previamente. La bolsa y el contenido pueden luego incubarse a 37°C. La naturaleza del envase permite el examen del desarrollo bacteriano sin molestar al medio anaerobio. También, el indicador de color muestra de un modo constante si está presente oxígeno o no en la bolsa. Una ventaja adicional del envase descrito es que puede desecharse sin abrir la bolsa con lo cual ayuda a mantener condiciones no contaminadas.

30

La Figura 7 muestra otro aparato indicador de co

lor 70 que puede emplearse en el invento en lugar del aparato indicador de color 50. El aparato indicador de color 70 - tiene una ampolla 54 rodeada por una capa similar a una almohadilla 71, tal como de fibras de poliéster, que a su vez está recubierta o rodeada por una bolsa de tejido de punto - 72 hecha de un tubo de tejido de punto unido conjuntamente - en ambos extremos. La ampolla 54 se fractura fácilmente comprimiendo sobre la bolsa 72. El líquido indicador de color - liberado es absorbido sobre la capa 71 e indica la presencia de oxígeno o su falta, por su color, como se ha indicado previamente en la presente memoria.

Como se ha indicado en lo que antecede, el invento proporciona envases que comprenden una bolsa que tiene un aparato generador de gases y un aparato indicador de color en ella. Tal envase es un artículo altamente útil en el comercio e incluso si ningún medio de cultivo se coloca subsiguientemente en la bolsa, porque la combinación del generador de gases y el indicador de color pueden emplearse con otros dispositivos de la técnica anterior empleados en la manipulación, almacenamiento, transporte y ensayo de cultivos anaerobios.

La descripción detallada anterior se ha dado solamente con fines de claridad y comprensión y no debe entenderse de la misma limitaciones innecesarias, ya que las modificaciones serán obvias para los expertos en la técnica.

REIVINDICACIONES

Los puntos de invención propia y nueva que se presentan para que sean objeto de esta solicitud de Patente de Invención en España, por VEINTE años, son los que se recogen en las reivindicaciones siguientes:

1ª.- Un envase para almacenar y transportar un cultivo anaerobio que comprende: una bolsa de material laminar flexible de baja permeabilidad a los gases; un aparato generador de gases independiente en la bolsa para generar al menos un gas reductor; un recipiente que retiene el cultivo en la bolsa; y un catalizador en la bolsa que favorece la reacción entre el gas reductor, cuando se produce por el aparato generador de gases, y el oxígeno de la bolsa.

2ª.- Un envase de acuerdo con la reivindicación 1ª, en el que el aparato generador de gases produce también dióxido de carbono.

3ª.- Un envase de acuerdo con la reivindicación 1ª, en el que el gas reductor es hidrógeno.

4ª.- Un envase de acuerdo con la reivindicación 1ª, que incluye un aparato indicador de color que, cuando se activa, indica la presencia o ausencia de oxígeno en la bolsa por cambio de color.

5ª.- Un envase de acuerdo con la reivindicación 1ª, en el que el aparato generador de gases comprende un recipiente que tiene una abertura, un material sólido gene

1 rador de gas reductor en el recipiente, una ampolla que  
contiene un líquido que es reactivo con el material sólido  
para producir un gas reductor que reacciona catalíticamente  
5 con oxígeno a temperatura ambiente, siendo dicha ampolla  
capaz de abrirse desde el lado exterior del recipiente  
para liberar el líquido y ponerlo en contacto con el  
material sólido, y medios en el recipiente que evitan que  
el líquido fluya desde el recipiente después de que se abre  
10 la ampolla pero que permiten fluir al gas reductor  
generado en el recipiente fuera de la abertura.

6ª.- Un envase de acuerdo con la reivindicación  
5ª, en el que el recipiente del aparato generador de gases  
tiene un material desecante sólido que absorbe el agua, que  
puede entrar en el recipiente antes de que se abra la ampolla,  
15 con lo que se evita la degradación o reacción prematura  
del material sólido generador de gases.

7ª.- Un envase de acuerdo con la reivindicación  
5ª, en el que el material sólido en el aparato generador  
de gases produce hidrógeno.

8ª.- Un envase de acuerdo con la reivindicación  
7ª, en el que el recipiente del aparato generador de gases  
contiene un catalizador que induce la reacción del hidrógeno  
20 generado con oxígeno en el aire para producir agua.

9ª.- Un envase de acuerdo con la reivindicación  
4ª, en el que el indicador de color comprende un recipiente  
abierto que permite el flujo de gases a su través, una  
25 ampolla en el recipiente, conteniendo dicha ampolla un líquido  
indicador de color redox, y un material absorbente para el  
líquido de la ampolla, en el recipiente  
30

1 te.

10ª.- Un envase de acuerdo con la reivindicación 1ª, en el que el receptáculo que retiene el cultivo es una placa de medios, un tubo de medios o una tira de  
5 medios que tiene una serie de microtubos que contienen medios diferentes.

11ª.- Un envase de acuerdo con la reivindicación 5ª, en el que el líquido de la ampolla es agua o ácido acuoso y el material sólido generador de gases es reactivo con ella para producir un gas reductor.  
10

12ª.- Un envase de acuerdo con la reivindicación 5ª, en el que la abertura del recipiente del aparato generador de gases está cubierta por un filtro microbiológico.

13ª.- Un envase de acuerdo con la reivindicación 5ª, en el que el recipiente del aparato generador de gases es un tubo flexible alargado que tiene una abertura en uno de sus extremos.  
15

14ª.- Un envase de acuerdo con la reivindicación 13ª, en el que la ampolla está fijada ajustadamente en el tubo y el material sólido generador de gases está entre el extremo abierto del tubo y la ampolla.  
20

15ª.- Un envase de acuerdo con la reivindicación 14ª, en el que los medios que evitan el flujo del líquido son un tapón absorbente situado en el tubo entre la ampolla y la abertura del tubo.  
25

16ª.- Un envase de acuerdo con la reivindicación 14ª, en el que está colocado un desecante entre la ampolla y la abertura del tubo.

17ª.- Un envase de acuerdo con la reivindicación  
30

1 ción 9ª, en el que el indicador de color redox es azul de metileno o resazurina.

5 18ª.- Un envase de acuerdo con la reivindicación 9ª, en el que el recipiente del indicador de color es un tubo abierto en ambos extremos.

19ª.- Un envase de acuerdo con la reivindicación 18ª, en el que el tubo está hecho de un material polímero flexible y transparente.

10 20ª.- Un envase de acuerdo con la reivindicación 19ª, en el que la ampolla que contiene el líquido indicador está fijada ajustadamente en el tubo y es capaz de romperse comprimiendo el tubo.

15 21ª.- Un envase de acuerdo con la reivindicación 20ª, en el que el material absorbente es un tapón blanco que está fijado ajustadamente en el tubo.

22ª.- Un envase de acuerdo con la reivindicación 18ª, en el que cada extremo del tubo está cubierto por un filtro permeable a los gases.

20 23ª.- Un envase de acuerdo con la reivindicación 18ª, en el que cada extremo del tubo tiene una tapa con un agujero para el flujo del gas y el agujero está cubierto por un filtro.

24ª.- Un envase de acuerdo con la reivindicación 2ª, en el que el gas reductor es hidrógeno.

25 25ª.- Un envase para almacenar y transportar un cultivo anaerobio.

---

1

Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede, representado en los dibujos que se acompañan y para los fines que se han especificado.

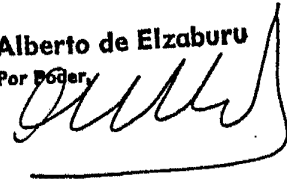
5

Esta Memoria consta de veintisiete hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, 26. AGO. 1977

P.A.

**Alberto de Elzaburu**  
Por Poder



10

15

20

25

30

FIG. 1

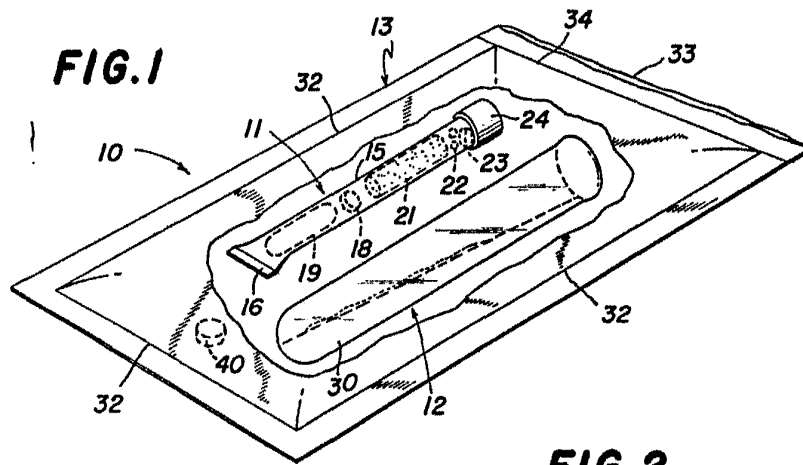


FIG. 2

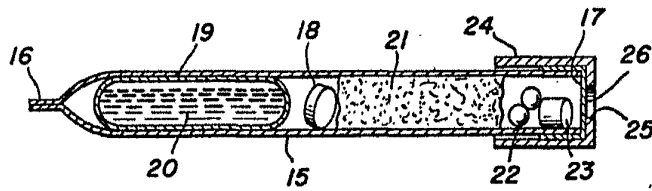


FIG. 3

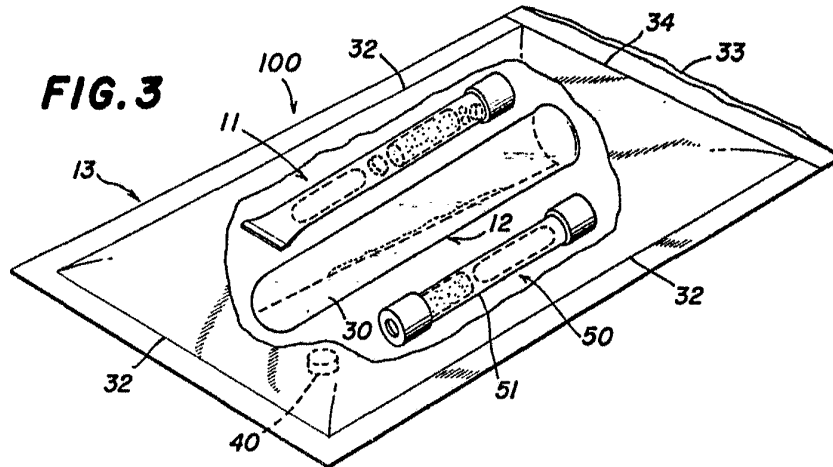
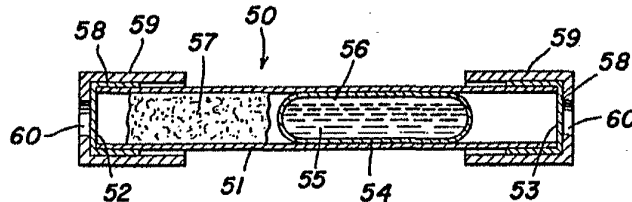


FIG. 4



Alberto de ~~ELMORA~~  
Por Poder,

Alberto de Elvira  
Per Rodon

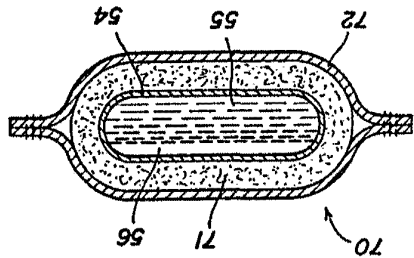


FIG. 7

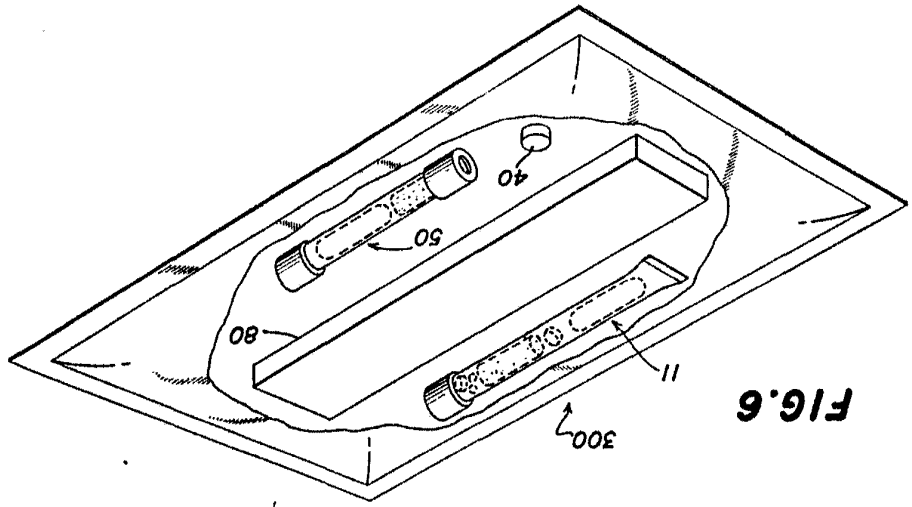


FIG. 6

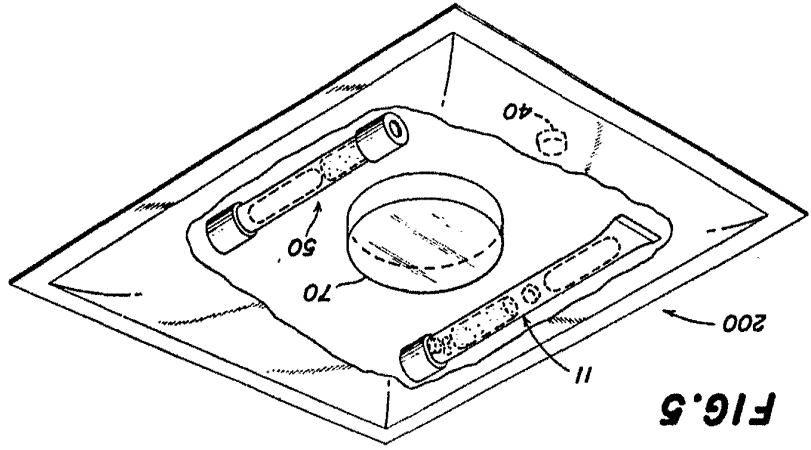


FIG. 5

7-3723