



Concedido el Registro de acuerdo con los datos que figuran en la presente descripción y según el contenido de la Memoria adjunta.

(11) ES	NUMERO	(10) A 1
(21)	467070	
(22)	FECHA DE PRESENTACION	
	17-2-78	

(RAN 4092/2) = 5 OCT. 1978

PATENTE DE INVENCION

(30) PRIORIDADES: (31) NUMERO	(32) FECHA	(33) PAIS
2063/77	18 Febrero 1.977	Suiza

(47) FECHA DE PUBLICIDAD	(51) CLASIFICACION INTERNACIONAL	(62) PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	B01N	

(64) TITULO DE LA INVENCION

"METODO CON SU DISPOSITIVO DE REALIZACION PARA DETECTAR MICROORGANISMOS EN UNA MUESTRA"

(71) SOLICITANTE (S)

F. HOFFMANN-LA ROCHE & CIE., S.A.

DOMICILIO DEL SOLICITANTE

BASILEA (Suiza)

(72) INVENTOR (ES)

D. Hans Forrer - Dr. Hans-Günther Zeller

(73) TITULAR (ES)

F. HOFFMANN-LA ROCHE & CIE., S.A.

(74) REPRESENTANTE

D. JAIME ISERN CUYAS, Agente Oficial de la Propiedad Industrial.

MEMORIA DESCRIPTIVA

El presente invento se refiere a la detección de microorganismos. Mas particularmente el invento se refiere a un método y aparato para la detección de micro-organismo, por ejemplo en fluidos corporales.

5.

Para la detección de microorganismos en fluidos corporales, especialmente de bacterias en la sangre, es necesario inocular un medio nutriente líquido y subsiguientemente continuar el desarrollo en un medio nutriente sólido. Desde hace años existe un sistema en donde ambos medios nutrientes se combinan en el mismo recipiente para evitar las molestias, y bajo ciertas circunstancias, el riesgo de transferencia del pre-cultivo en el medio nutriente líquido sobre un medio nutriente sólido externo al recipiente;

10.

15.

Sin embargo, los aparatos conocidos en los que se combina un medio nutriente sólido y un medio nutriente líquido no son satisfactorios por muchas razones. En particular, debido al peligro de la disolución de los constituyentes del medio sólido en el medio nutriente líquido, solo puede utilizarse, generalmente, un medio nutriente sólido que sea compatible con el medio nutriente líquido. Esto tiene, entre otras, la desventaja considerable de que no es posible la diferenciación del excitante.

20.

25.

Las soluciones propuestas hasta ahora para la separación del medio nutriente sólido y el medio nutriente líquido durante el período de incubación y el transporte consumen tiempo y son costosas y/o solo garantizan una separación de los dos medios durante la incubación, pero no durante el transporte.

30.

De conformidad con el presente invento se evitan las desventajas antes citadas efectuando el transporte del medio nutriente sólido (hacia el usuario antes de la incubación o a una posición para el tratamiento adicional después de la incubación) de forma separada del medio nutriente líquido); sin embargo, la inoculación del medio nutriente sólido puede llevarse a cabo como en los frascos de cultivo doble convencionales en un aparato cerrado mediante simple sacudimiento y anegando la superficie del medio nutriente sólido con el medio nutriente líquido.

Mas particularmente, el presente invento se refiere en un aspecto a un método para la detección de microorganismos en una muestra, cuyo método comprende

- (a) introducir la muestra en un primer recipiente que contiene un medio nutriente líquido;
- (b) poner en comunicación el primer recipiente, si se desea, después de la incubación, con un segundo recipiente que contiene por lo menos un medio nutriente sólido de modo que el interior de los dos recipientes estén en contacto;
- (c) llevar la superficie del medio nutriente sólido del segundo recipiente en contacto con el contenido del primer recipiente;
- (d) efectuar la incubación; y
- (e) investigar la presencia de colonias sobre la superficie del medio nutriente sólido.

Además, otro aspecto, el presente invento se refiere a un aparato para detectar microorganismos, constituido por un primer recipiente que contiene un medio nutriente líquido y un segundo recipiente que contiene, por lo menos, un medio nutriente sólido,

estando el interior de los dos recipientes en contacto y estando estos recipientes conectados de modo que puedan separarse de nuevo.

Además, en otro aspecto, el presente invento se refiere a un aparato para detectar microorganismos que comprende un tubo capilar transparente provisto en ambos extremos con un obturador, fijándose a uno de los dos obturadores un portador que se extiende en el tubo capilar y que esta recubierto con uno o con varios medios nutrientes sólidos.

5. Con el fin de que pueda comprenderse fácilmente el presente invento se describirá ahora, con referencia a los dibujos que se acompañan, una modalidad preferida del aparato requerido para llevar a cabo el método antes citado, en cuyos dibujos:

10. La figura 1 muestra, en sección longitudinal, el primer recipiente que contiene medio nutriente líquido;

La figura 2 muestra, en sección longitudinal, el segundo recipiente que contiene el medio nutriente sólido;

15. La figura 3 muestra, en sección longitudinal, la unidad formada por la conexión de recipiente 1 y 10.

El primer recipiente 1 comprende un frasco 2 que es, de preferencia, de material transparente tal como vidrio o material artificial. El frasco 2

20. está cerrado por un tapón 6, de preferencia un tapón de caucho, que puede ser perforado con una aguja para la introducción de un fluido corporal tal como sangre. El tapón 6 se fija mediante roscado al cuello del frasco de una cápsula 4, de preferencia metálica, de modo que

25. con la apertura de la cápsula 4 queda expuesto automáticamente el tapón 6. Para que una aguja pueda introducirse

sin dificultad a través del tapón 6, la cápsula 4 tiene una parte separable 5. El recipiente 1, que contiene un medio nutriente líquido 7, se situa, de preferencia bajo una atmósfera de dióxido de carbono y un vacío parcial.

5.

El segundo recipiente 10 comprende un tubo capilar transparente 11 de vidrio o material sintético, y presenta un filete de rosca 12 en el interior del límite cilíndrico 14 en el extremo inferior y un filete de rosca 13 en el exterior del extremo superior. El filete de rosca 12 coopera con el filete de rosca presente en el cuello del frasco 2 y hace posible la conexión de dos frascos. El tubo capilar 11 está cerrado por el extremo inferior con un obturador de rosca 16.

10.

15.

Para obtener una conexión estanca de los dos frascos el tubo capilar 11 en el interior del límite cilíndrico inferior 14 está provisto con una junta 17, de preferencia de polietileno. El recipiente 10 está provisto en el extremo superior con un obturador 15 roscado en el filete de rosca 13. Un porta-objetos 18, de preferencia de vidrio o material sintético, revestido en uno o ambos laterales con uno o con varios medios nutrientes, se fija al obturador 15.

20.

25.

Con el empleo la sangre de un paciente se conduce en el recipiente 1 con la ayuda de un instrumento de transferencia provisto con una aguja. Para este fin la aguja del instrumento de transferencia se inserta a través del tapón 6 después de separar la porción 5. El flujo de sangre en el frasco 2 se facilita, de preferencia, mediante un vacío parcial prevaeciente en dicho frasco.

30.

5. Cuando el frasco 2 contiene la cantidad deseada de sangre se extrae la aguja con lo que el orificio producido en el tapón 6 por la aguja se cierra por si mismo. El frasco 2 se incuba a 20°-37°C durante alrededor de 1 hora a alrededor de 10 días.

10. A continuación se desenrosca la cápsula 4 del frasco 2 y, con ello, se extrae simultáneamente el tapón 6. El recipiente 1 se rosca en el recipiente 10, que se ha abierto por su extremo inferior desenroscando el obturador 16.

15. El aparato de este modo formado, que contiene por lo menos un medio nutriente sólido y otro líquido, se hace bascular varias veces para garantizar un óptimo contacto entre los dos medios nutrientes. Después de la incubación a 20°-37°C durante un tiempo comprendido entre 1 hora y 10 días, se observa y evalúa cualquier desarrollo presente en el medio nutriente sólido.

20. En caso de no detectarse desarrollo puede repetirse esta forma de proceder varias veces. En el caso de tiempos de incubación mas prolongados se inclina el aparato por lo menos una vez al día para garantizar un contacto íntimo entre el medio nutriente líquido y sólido.

25. Evidentemente, el presente invento no se limita a la modalidad específica antes descrita.

30. Así pues, por ejemplo, los recipientes 1 y 10 pueden tener una forma arbitraria y puede cerrarse de forma diversa. Por ejemplo, el recipiente 10 no precisa tener un obturador en ambos extremos y el medio nutriente sólido puede disponerse en una de las paredes de este

recipiente en vez de sobre un porta-objetos.

- Además, los cierres roscados no precisan utilizarse exclusivamente para el cierre del recipiente. Los dos recipientes pueden también conectarse en forma distinta a la de roscado tal como, por ejemplo, mediante encaje a presión.
- 5.

- Por otra parte, los obturadores de los dos recipientes pueden disponerse de modo que, con la conexión de los dos recipientes tal como mediante roscado los interiores de estos recipientes se pongan en contacto sin necesidad de una separación previa de los dos cierres y de una apertura de los dos recipientes exteriormente.
- 10.

- La incubación del recipiente que contiene el medio nutriente líquido antes de conectarse con el recipiente que contiene un medio nutriente sólido citado en la etapa (b) del método antes citado es opcional.
- 15.

- Por otra parte, la etapa de incubación (d) del método es esencial y puede llevarse a cabo no solo bajo condiciones aeróbicas sino también bajo condiciones anaeróbicas. En este último caso la tapa del recipiente que contiene el medio nutriente sólido puede proporcionarse con una abertura para la entrada de un gas inerte tal como nitrógeno o dióxido de carbono y para la extracción de aire. El gas inerte (por ejemplo dióxido de carbono) puede producirse también con la ayuda de una fuente de gas presente en el recipiente que contiene el medio nutriente sólido o dispuesta sobre la propia tapa.
- 20.
- 25.

- El presente invento faculta la detección de microorganismos (por ejemplo bacterias, hongos,
- 30.

fermentos; etc.) en una muestra. Esta muestra puede derivarse de cualquier fluido, investigándose de preferencia fluidos corporales tal como, por ejemplo, sangre, licor u orina.

5. Por último, el presente invento no se limita al empleo de un solo medio nutriente sólido. Así pues, por ejemplo, pueden utilizarse simultáneamente diversos tipos de medios nutrientes. Además el medio nutriente puede contener antibióticos y/o quimioterapéuticos, favoreciendo así llevar a cabo una prueba sensitiva de los microorganismos.
- 10.

= * =

N O T A

15. Descrito el objeto del presente invento se declaran nuevas y de propia invención las siguientes reivindicaciones.

1.- Método con su dispositivo de realización para detectar microorganismos en una muestra, caracterizado porque comprende:

20. (a) introducir la muestra en un primer recipiente que contiene un medio nutriente líquido;
- (b) poner en contacto el primer recipiente, si se desea después de incubación, con un segundo recipiente que contiene, por lo menos, un medio nutriente sólido de modo que el interior de los dos recipientes quede en
25. contacto;
- (c) llevar la superficie del medio nutriente sólido del segundo recipiente en contacto con el contenido del primer recipiente;
- (d) efectuar la incubación; y
30. (e) investigar la presencia de colonias sobre la superficie del medio nutriente sólido.

2.- Método, de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el primer recipiente se incubaba antes de conectarse con el segundo recipiente.

5. 3.- Método, de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el primer recipiente no se incubaba antes de conectarse con el segundo recipiente.

10. 4.- Método, de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 inclusivas, caracterizado porque el primer y segundo recipiente se conectan mediante roscado.

5.- Método, de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 inclusivas, caracterizado porque el segundo recipiente contiene un solo medio nutriente.

15. 6.- Método, de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 inclusivas, caracterizado porque el segundo recipiente contiene varios medios nutrientes.

20. 7.- Método, de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 inclusivas, caracterizado porque dicha muestra es sangre.

25. 8.- Método de conformidad con las reivindicaciones precedentes, caracterizado en que el dispositivo para su realización comprende un primer recipiente que contiene un medio líquido nutriente y un segundo recipiente que contiene, por lo menos, un medio nutriente sólido, estando en contacto el interior de los dos recipientes y conectándose estos recipientes de modo que puedan separarse de nuevo.

30. 9.- Método, según las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque el dispositivo para su realización

comprende a su vez un tubo capilar transparente provisto en ambos extremos con un obturador, fijándose en uno de los dos obturadores un portador que se extiende en el tubo capilar y que se recubre con uno o con varios medios nutrientes sólidos.

10.- Método de conformidad con la reivindicación 9, caracterizado porque el portador adopta forma de un porta-objetos.

11.- Método, de conformidad con la reivindicación 9 o 10, caracterizado porque el porta-objetos se recubre por ambas caras con un medio nutriente.

12.- Método con su dispositivo de realización, para detectar microorganismos en una muestra.

Según se describe y reivindica en la presente memoria descriptiva que consta de 10 hojas foliadas y escritas a máquina por una sola de sus caras..

Madrid, a

17 FEB. 1978

p.a.

JAME ISERN

p. p.

~~Elaborado por JOSE F. NIETO~~

RAM 4092/2

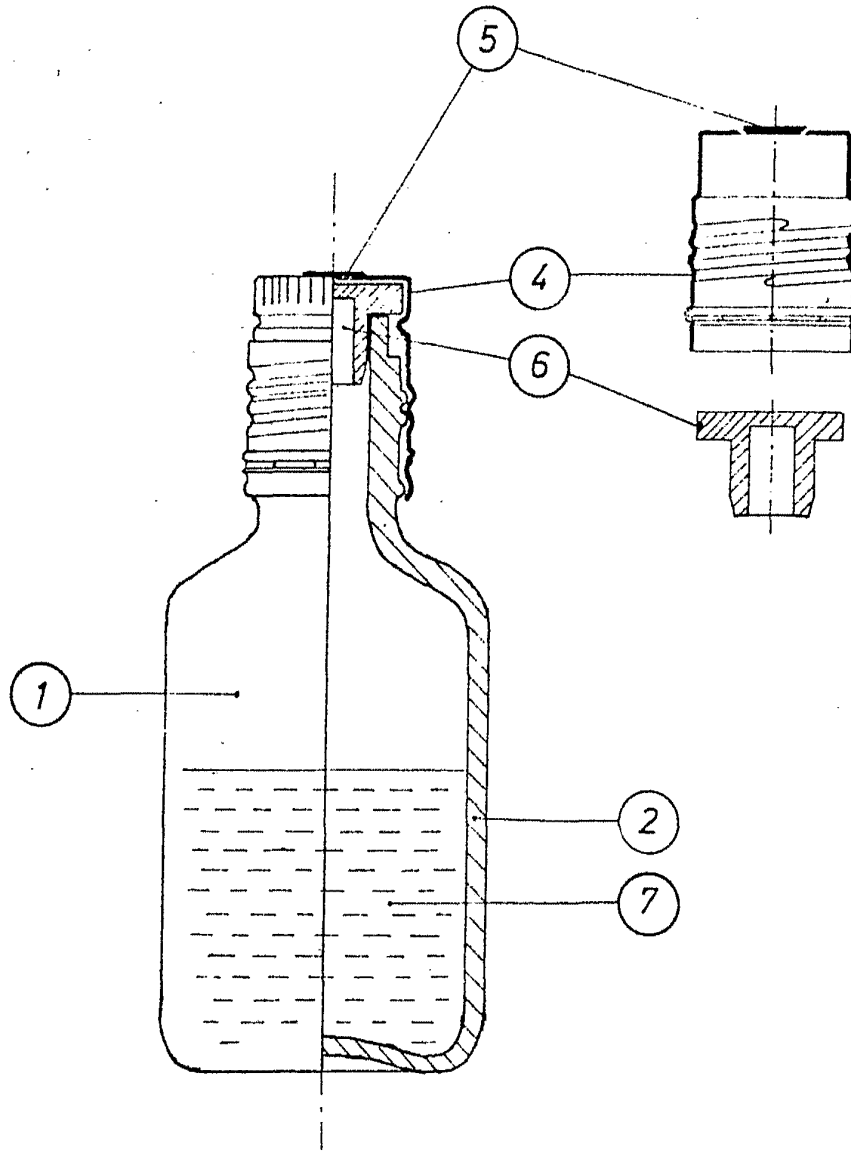


Fig.1

Madrid, a 17 FEB. 1978

p.a.

JAIME ISERN

D. P.

Elaborado: JESUS PICAZO

R/S F. Hoffmann - La Roche & Cie. S.A. 3 Hojes-Hoja 2

RAN 4092/2

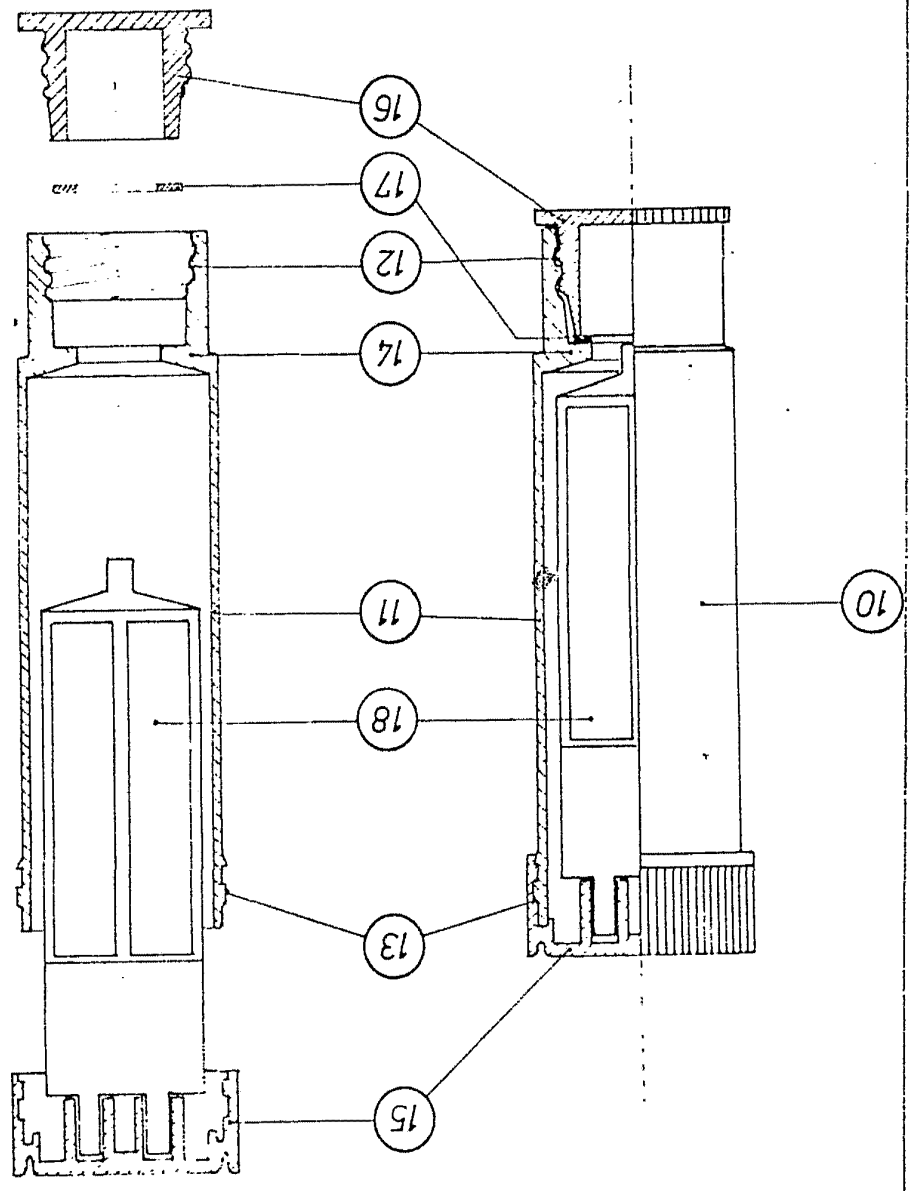


Fig. 2

Madrid, a 17 FEB. 1978
p.o.
JAIME ISERN
p.p.

Firmado: JESUS PICAZ

