

5 LINE 1979

471707



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

19 ES	11 NUMERO	10 A1
	21	
	22 FECHA DE PRESENTACION	
	13-7-78	

ESPAÑA

PATENTE DE INVENCION

50 PRIORIDADES:	52 FECHA	53 PAIS
51 NUMERO		
721.021	7-9-76	ESTADOS UNIDOS

47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL	62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	G01N	461-917 de 26-8-77

54 TITULO DE LA INVENCION
UN METODO PARA IDENTIFICAR SUSPENSIONES DE PRUEBAS BACTERIANAS DESCONOCIDAS.

71 SOLICITANTE (S)
WARNER-LAMBERT COMPANY

DOMICILIO DEL SOLICITANTE
Webster Road-Milford, Connecticut 06460 ESTADOS UNIDOS.

72 INVENTOR (ES)
Walter Earl Jacobson; Donald Paul Kronish; Doris Barbara Taylor y William Donald Young, todos ellos de nacionalidad estadounidense.

73 TITULAR (ES)

74 REPRESENTANTE
D. BERNARDO UNGRIA GOIBURU

POOR
QUALITY

1

RESUMEN DE LA DESCRIPCION

Un dispositivo para diagnósticos para medir las características bioquímicas de microorganismos. Se facilita una primera cámara en la que se inocula una suspensión de prueba que contiene un organismo desconocido. Los primeros medios de paso facilitan selectivamente la comunicación del líquido entre la primera cámara y una segunda cámara. La segunda cámara preve el contacto de la suspensión líquida con un reactivo de sustrato que se coloca en la misma. Los segundos medios de paso conectan la segunda cámara con una tercera y permiten selectivamente la comunicación del líquido entre las mismas. La tercera cámara puede contener unos medios de detección adecuados para identificar las características bioquímicas de la suspensión de prueba reaccionada cuando se pone en contacto con los mismos.

5

10

15

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a la recogida e identificación de microorganismos y, aunque se describe con mucha propiedad en dicho contexto, debe observarse que su estructura puede aplicarse a otros usos sin apartarse de la idea de la invención.

20

Las enfermedades bacterianas se diagnostican y tratan aislando e identificando los microorganismos que las causan. Convencionalmente, la terapia médica debería iniciarse solamente después de la determinación del agente etiológico. Dicha determinación se basa primariamente en la información clínica, pero los datos confirmatorios del laboratorio siempre deben investigarse para que sirvan de ayuda y permitan el tratamiento apropiado de la enfermedad infecciosa. Las pruebas clínicas para identificar las bacterias dependen de la comparación de un número de reacciones fisiológicas, morfológicas, y bioquí-

25

30

1 micas positivas y/o negativas del agente etiológico sospechoso
y^o de la comparación de éstas con las reacciones de especies
conocidas. Para realizar esta labor, es necesario obtener cul-
tivos de muestra del organismo a partir de fuentes como el
5 esputo, la sangre, la orina, etc, y someter dichas muestras a
procedimientos de identificación.

Dichos medios de identificación son complejos, lle-
van mucho tiempo y al mismo tiempo se prestan a posibles erro-
res e identificación defectuosa. Además, la naturaleza prolon-
10 gada de las muchas pruebas que deben realizarse supone un lastre
en el coste de la operación de laboratorio y el empleo excesivo
de personal especializado durante largos periodos de tiempo.

Se han empleado varios métodos y aparatos en una ten-
tativa de facilitar la identificación de los microorganismos.
15 Estos se dirigen primariamente a acelerar el proceso pesado y
a hacer más positiva la identificación. Uno de dichos disposi-
tivos se describe en la Patente estadounidense 3.784.448, que
describe un tubo con compartimientos separados que contiene
medios de cultivo pre-preparados para la identificación dife-
20 rencial de microorganismos, particularmente de la familia ente-
robacteriácea. Al usar dicho dispositivo, un miembro rígido en
forma de varilla que contiene un cultivo del organismo se saca
por el tubo inoculando por ello cada una de las cámaras. Este
dispositivo de la técnica anterior se limita por el número de
25 pruebas disponibles que pueden realizarse en la unidad y por
su coste así como por los problemas de almacenamiento y esta-
bilidad.

Hasta la fecha, los mejores avances en esta área de
pruebas clínicas de laboratorio implican el uso de papel secan-
30 te u otro sustrato absorbente impregnado con reactivos que de-

1 tectan la presencia de enzimas específicos o productos finales
metabólicos característicos de algunos microorganismos. Dichos
reactivos incluyen un sustrato sobre el que actúa un enzima
5 bacteriano específico y un sistema de detección que reacciona
con el producto final metabólico para producir un cambio de
color fácilmente indentificable. Las Patentes estadounidenses
números 3.122.480, 3.341.427, 3.359.180, 3.378.346, 3.597.321,
3.616.258, 3.645.853 y 3.649.461, que se incorporan en la pre-
10 sente solicitud por referencia, y las modificaciones de las
mismas describen la preparación y formulación de los diversos
reactivos de sustrato y detección así como su aplicación a la
identificación de determinados organismos.

Una aplicación típica de estas técnicas implica los
siguientes materiales y fases del proceso:

15 1. Las cintas de papel que contienen adecuados reac-
tivos de sustrato y detección se preparan para un número de
pruebas bioquímicas específicas, por ejemplo, Voges-Proskauer,
reducción de nitrato, deaminasa de fenilalanina, ureasa, indol,
descarboxilasa de lisina, etc.

20 2. Los tubos de ensayo que corresponden al número y
orden de las pruebas a realizarse se colocan en un soporte.

3. Las colonias de bacterias cultivadas en o en un
nutriente adecuado, por ejemplo, un medio de agar, se transfieren
a y se dejan en un tubo que contenga 0,3 ml de purgante salino
25 por cada prueba a realizarse. La suspensión resultante tendrá
una turbidez aproximadamente igual a Kirby Baver Standard.

4. Aproximadamente 0,3 ml de la suspensión se pipeta
a cada uno de los tubos de ensayo.

5. Las cintas de ensayo que corresponden a la prueba
30 específica se añaden a cada uno de los tubos de ensayo y se

1 incuban en los mismos durante aproximadamente cuatro horas a
una temperatura de 35-37°C.

5 6. La indicación positiva o negativa de la prueba se
lee entonces por el color de la zona de sustrato cuando conven-
ga, por ejemplo, en la prueba de descarboxilasa de lisina, o
el tubo se vuelca de forma que la suspensión incubada humedezca
la zona de detección en la que de nuevo el cambio de color o
la ausencia del mismo produce una indicación positiva o nega-
tiva, como en la Prueba de Indol, por ejemplo.

10 Dicho procedimiento de prueba ha tenido mucho éxito,
al dar resultados exactos tan buenos como los procedimientos
standard de laboratorio en un tiempo mucho más corto. Para
contribuir a la determinación del organismo exacto implicado
basándose en las probabilidades determinadas por cada una de
15 las pruebas específicas, la Patente estadounidense número
3.957.586 describe un tipo de un sistema de identificación que
preve la determinación rápida y exacta del agente causante.
Dicho sistema emplea un número de tarjetas de datos de pruebas
con código de perforación que, cuando se colocan en correspon-
20 dencia, dan una indicación relativa a la identificación del
organismo implicado según los principios conocidos de la lógica
de Boole. Otro método es usar un diccionario de programa de
computadora, basado en sistemas de números reales, para facili-
tar la probabilidad de la identificación.

25 La presente invención se dirige a mejorar y facili-
tar más el procedimiento de pruebas anterior. Aunque el proce-
dimiento rápido de identificación de pruebas con cinta impreg-
nada de reactivo ha abreviado mucho el tiempo implicado y ha
aumentado la exactitud de la identificación de organismos, se
30 considera que dicha prueba puede mejorarse más utilizando un

1 dispositivo que evitaría la necesidad de una pluralidad de tubos
de ensayo así como el tiempo y cuidado proporcionados que son
necesarios para su manejo, limpieza y preparación. La invención
contempla un dispositivo diseñado para manejarse fácilmente y
5 que permite no obstante la identificación rápida y exacta.

Por consiguiente, un objeto de la presente invención
es facilitar un dispositivo para diagnósticos mejorado para la
identificación rápida y exacta de microorganismos. Otro objeto
de la invención es facilitar un dispositivo unitario desechable
10 para realizar una serie de pruebas bioquímicas. Otro objeto
más de la presente invención es ofrecer un dispositivo que fa-
cilite la inoculación rápida y fácil con un espécimen de ensa-
yo y la valoración visual de los resultados de la prueba. Otro
objeto más de la presente invención es facilitar un dispositi-
15 vo de pruebas que contiene en el mismo reactivos de sustrato
y/o detección para la identificación de microorganismos.

RESUMEN DE LA INVENCION

Para resolver los problemas asociados con los dispo-
sitivos de la técnica anterior y para conseguir los objetos
20 indicados, la presente invención contempla un dispositivo para
diagnósticos que utiliza una primera cámara para contener una
suspensión de pruebas. La primera cámara se conecta mediante
primeros medios de paso a una segunda cámara para poner en con-
tacto la suspensión de pruebas con un reactivo de sustrato ade-
25 cuado durante el período de incubación. Los primeros medios de
paso facilitan selectivamente la comunicación del líquido entre
las cámaras primera y segunda. Una tercera cámara para poner
en contacto la suspensión de pruebas reaccionada con un detec-
tor adecuado se conecta a la segunda cámara por segundos medios
30 de paso que igualmente previenen selectivamente la comunicación

1 de líquido entre las mismas.

La invención contempla también una estructura de soporte desechable en la que se montan o forman integralmente las cámaras y los medios de paso de interconexión. Dicha estructura
5 facilita una primera cámara en forma de una cavidad abierta por la parte superior a la que se inocular una suspensión de pruebas de un cultivo bacteriano. La segunda cámara, que también es una cavidad abierta por la parte superior, se conecta a la primera cavidad por primeros medios de paso que comprenden un canal.

10 En la base del canal se forma una estructura de rampa, cuya inclinación impide el paso del líquido desde la primera cavidad a la segunda cavidad cuando la estructura de pruebas está en un plano normal. Dentro de la segunda cavidad puede colocarse un reactivo de sustrato que reacciona con el cultivo durante
15 la fase de inoculación para producir productos finales metabólicos típicos para la prueba que se considere. Después de la incubación del cultivo en la segunda cavidad, la suspensión se comunica mediante segundos medios de paso o canal a una tercera cámara o cavidad abierta por la parte superior en la
20 que la suspensión produce una reacción de color específico en un reactivo de detección. La posición de la tercera cavidad con respecto a la segunda se selecciona de forma que facilite la comunicación del líquido en el segundo canal solamente cuando el dispositivo asuma una orientación espacial específica. La tercera cavidad puede conectarse a una cuarta cámara
25 para recoger la suspensión de pruebas excesiva, y se facilitan medios de ventilación para el escape de aire mientras el inóculo se transfiere desde la primera cavidad a la segunda cavidad.

En una realización particular, las bases de la cavidad y los canales de interconexión están en planos paralelos y
30

1 los ejes de las cavidades son sustancialmente ortogonales al
plano de la estructura de soporte. Tanto las cavidades como
los canales están abiertos para inspección visual, siendo las
aberturas coplanares con la superficie superior de la estructura
5 de soporte. Un miembro claro y visualmente transparente se usa
para cerrar el primer canal y las cámaras segunda, tercera y
cuarta así como sus canales de interconexión y evitar la pérdi-
da de los contenidos. La primera cavidad o cámara se mantiene
en una condición abierta para permitir la inoculación con la
10 suspensión de pruebas. Un miembro de tapa articulado se monta
a lo largo de un margen de la estructura de soporte y resulta
en el cierre de la cámara de inoculación abierta cuando se pone
en contacto complementario con la superficie superior de la es-
tructura de soporte. La superficie interior del miembro de tapa
15 puede estar dotada de un material secante o absorbente para
evitar la fuga de la suspensión de pruebas cuando está en una
posición cerrada. Varios dispositivos para diagnósticos pueden
incorporarse en una única estructura de soporte para poder rea-
lizar varias pruebas bioquímicas específicas.

20 Otro aspecto de la presente invención se dirige a un
método para determinar la identificación de microorganismos
específicos. En dicho método, una suspensión de pruebas formada
a partir de un cultivo bacteriano derivado de determinados flui-
dos o especímenes corporales se inocula a una primera cámara.
25 Se hace que la cámara de pruebas asuma una orientación espacial
particular que resulte en el paso de la suspensión líquida por
un canal o primeros medios de paso a una segunda cámara en la
que reacciona con un sustrato seleccionado elegido para dar
una reacción conocida con el organismo implicado. Después de
30 que la suspensión se incuba con el reactivo durante un período

1 predeterminado, la segunda cámara se coloca nuevamente en otra
orientación espacial que hace que el líquido en dicha cámara
comunique con una tercera cámara que contiene un reactivo de
5 detección. La reacción cromática del reactivo de detección in-
dica una prueba positiva o negativa y facilita por consiguiente
información relativa a la identidad del organismo.

Los objetos y características de la presente invención
serán evidentes después de estudiar la memoria descriptiva de-
tallada expuesta a continuación tomada en unión con los dibujos.
10 Se pretende que los dibujos ejemplifiquen la invención y utili-
cen símbolos de diseño standard y numeración consistente del
principio al fin de las diferentes vistas para su fácil compren-
sión.

BREVE DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS.

15 La figura 1 es una vista en perspectiva parcial del
dispositivo para diagnósticos de esta invención.

La figura 2 es una vista en sección transversal par-
cial de una porción del dispositivo para diagnósticos de la
figura 1 tomada a lo largo de la línea 2-2.

20 La figura 3 es una vista en sección transversal par-
cial del dispositivo para diagnósticos de la figura 1 tomada
a lo largo de la línea 3-3.

La figura 4 es una vista esquemática en perspectiva
parcial del dispositivo para diagnósticos de la figura 1 mos-
25 trado en una orientación específica; y

La figura 5 es una vista esquemática en perspectiva
parcial del dispositivo para diagnósticos de la figura 1 mos-
trado en otra orientación espacial.

DESCRIPCION DE LA REALIZACION PREFERIDA

30 Con referencia a la figura 1, se muestra el disposi-

1 tivo para diagnósticos 10 que tiene una pluralidad de cámaras
y^o cavidades interconectadas múltiples dispuestas transversal-
mente para usarse en la identificación de microorganismos. For-
mada en la superficie superior de la estructura de soporte 42
5 del dispositivo 10 está la primera cámara o cavidad 11 a la
que puede pipetarse una suspensión de pruebas que contenga un
cultivo bacteriano. La primera cavidad 11 se interconecta con
la segunda cámara o cavidad 13 mediante primeros medios de paso
12. La segunda cavidad se conecta a la tercera cámara o cavidad
10 15 mediante segundos medios de paso o canal 14 y la tercera ca-
vidad se conecta a la cuarta cámara 17 mediante terceros medios
de paso o canal 16. Un canal de ventilación 18 conecta con la
cuarta cámara 17 para facilitar la ventilación durante el uso
del dispositivo.

15 Con referencia a las figuras 2 y 3 además de a la
figura 1, la cavidad 11 comprende una cámara abierta en la par-
te superior rebajada en la superficie 42. La cavidad 11 se forma
de manera sustancialmente cilíndrica por la pared lateral 21
y termina en la base 23 que está en un plano paralelo a la su-
20 perficie 42. El hombro 22 es un miembro anular formado conti-
guo con la base 23 de la cavidad 11 lo que resulta en una por-
ción cilíndrica de menor diámetro. Un segmento de pared 21
se abre hacia arriba a y conecta con el canal 12. El segmento
abarca un arco de aproximadamente 30° y las paredes 25 del canal
25 12 forman una transición suave a la pared 21. La base 26 del
canal 12 es sustancialmente paralela con la base 23 pero está
en un plano diferente, que conecta con el plano de la base 26
mediante la rampa que sube verticalmente 24, que impide el paso
de la suspensión de pruebas desde la cavidad 11 a la cavidad 13.

30 El canal 12 se extiende radialmente desde el eje de

1 la cavidad 11 y paralelo al margen o lado 44. En su extremo dis-
tante, gira transversalmente para unirse con la cavidad 13,
cuyo eje se desplaza transversalmente y es excéntrico al eje
de la cavidad 11. La cavidad 13 se forma por la pared cilíndrica
5 29 que es perpendicular a la base 28 que es sustancialmente pa-
ralela a la base 26 y sustancialmente coplanar con la base 23.
El plano de la base 26 pasa al nivel o plano de la base 28 me-
diante una estructura de pared cilíndrica bien definida 27, que
forma una porción de pared 29. Los salientes que se extienden
10 axialmente 30 dispuestos en el interior de las paredes 29 y 27
actúan como miembros de interferencia para la contención de un
disco de sustrato cuando se coloca en los mismos.

Los segundos medios de paso 14 intersectan excéntri-
camente la pared 29 de la cavidad 13 y se extienden sustancial-
15 mente paralelos con el canal 12. La base 32 de los medios de
paso o canal 14 es coplanar con la base 28 e intersecta con las
paredes laterales verticales 31a y 31b. La tercera cámara o
cavidad 15 se forma por la pared cilíndrica 33 que es vertical
a la base 34, cuya base es coplanar con la base 28. El radio
20 de la pared 33 es sustancialmente igual al de la pared 29 y
contiene sobre la misma salientes que se extienden vertical-
mente 35. Los salientes 35 no se extienden por toda la altura
de la pared 33 sino que terminan en hombros 35a en un nivel in-
termedio. Los hombros 35a, tres de los cuales se espacian igual-
25 mente alrededor de la pared 33, facilitan un asiento o base
sobre el que se coloca el reactivo de detección, facilitando
la posición elevada mejor visualización de un cambio de color
al terminarse el periodo de incubación. Los salientes 33a ac-
túan para sujetar el disco de sustrato en una posición deseada.
30 El eje de la cavidad 15 está en un plano que contiene el eje

1 de la cavidad 13 y es paralelo al margen 44. La pared 31b del canal 14 es tangencial con las paredes 29 y 33 y la pared 31a interseca las paredes cilíndricas 29 y 33 en el plano que contiene los ejes de las cavidades.

5 Los terceros medios de paso 16 tienen paredes que descienden perpendicularmente 36a y 36b que intersecan con su base 37. El plano que contiene la base 37 está por encima de la base 34 y es sustancialmente coplanar con los hombros 35a de los salientes 35. Por eso la profundidad de la suspensión
10 de pruebas debe superar el nivel de la base 37 y debe pasar por el disco de reactivo de detección antes de permitir el paso del líquido por el canal 16. Las paredes 36a y 36b son sustancialmente paralelas a las paredes 25 del canal 12, y la pared 36b está en el mismo plano que la pared 31a. La pared 36a interseca
15 ta la pared cilíndrica 33 en un radio que se extiende perpendicular a la misma y por ello es tangencial al radio de la pared 33 en dicho punto.

El canal 16 interconecta con la cámara 17, cuya cámara comprende la pared cilíndrica 38 que interseca verticalmente
20 con la base 39, que es coplanar con la base 34. Los medios de ventilación 18 comprenden un canal que tiene paredes que se extienden verticalmente 40 que intersecan con la base 41. La base 41 es paralela al plano de la superficie 42 e interseca con la pared 38 de la cámara 17. El canal 18 permite el escape
25 de las sustancias volátiles producidas por los reactivos y del aire atrapado que resulte de la introducción de la suspensión de pruebas.

Todas las cavidades y canales del dispositivo están abiertos con respecto a la superficie 42. Los canales 12, 14
30 y 16 y las cavidades 13, 15 y 17 se tapan con una película adhe-

1 siva transparente 43, que es impermeable al aire y la humedad
pero permite la clara inspección visual del interior. El miem-
bro transparente 43 cubre solamente una porción de los medios
de ventilación 18 por lo que preve el escape de sustancias vo-
5 látiles por la porción no cerrada de los mismos. La cámara 11
no está cerrada sino abierta al ambiente para permitir la ino-
culación de la cámara con el cultivo o suspensión de pruebas.
En la realización preferida de esta invención, una pluralidad
de cámaras de pruebas y canales se disponen en paralelo de for-
10 ma que pueda realizarse una pluralidad de pruebas diferentes
al mismo tiempo utilizando no obstante un único dispositivo
para diagnósticos. La estructura de soporte y las cámaras de
pruebas pueden moldearse integralmente de poliestireno de ele-
vado impacto así como de otros plásticos adecuados. Una placa
15 de tapa articulada 19 se facilita a lo largo de un margen tra-
sero de la estructura de pruebas y se articula sobre el eje 20
para cerrar las cavidades 11 cuando la tapa 19 se gira a la
condición de acoplamiento con la superficie 42. La superficie
interior de la tapa 19 puede cubrirse con un material secante
20 u otro material absorbente para recoger la suspensión de prue-
bas excesiva cuando está en una posición cerrada; también la
tapa interior puede contener indicaciones adecuadas para iden-
tificar las pruebas a realizarse en cada cámara sucesiva.

La unidad 10 se diseña generalmente de forma que ten-
25 ga esquinas redondeadas y carezca de aristas vivas. Dicha ca-
racterística permite almacenar el dispositivo en bolsas hermé-
ticamente cerradas sin peligro de que se perforen lo que resul-
taría en la degradación del funcionamiento debido a la presencia
de aire y humedad. El dispositivo también puede empaquetarse
30 con desecantes para evitar el daño producido por la humedad.

1 Con referencia ahora a las figuras 4 y 5, puede consi-
derarse un uso típico del dispositivo para diagnósticos. Con el
dispositivo 10 en un plano sustancialmente horizontal como se
ilustra en la figura 1, la cavidad 17 puede inocularse con una
5 suspensión de pruebas del cultivo formado a partir del espécimen
sospechoso. Después de la inoculación, el dispositivo 10 se gira
alrededor de un eje paralelo al margen 45 de forma que asuma
una posición sustancialmente vertical de 90° . En dicha posición
se hace que el inoculante 44 avance por la rampa 24 y por el
10 canal 12 y llegue a la cavidad 13. En la cavidad 13 un disco
46 formado a partir de papel secante que contenga un reactivo
de sustrato se coloca y sujeta en posición por los salientes 30.
Por ejemplo, como se expone en la Patente estadounidense
3.645.853, una cinta de papel impregnado puede prepararse según
15 la misma y un disco hecho a partir de la misma puede usarse
para realizar una prueba de reducción de nitrato. Con el sus-
trato de disco en contacto con el inoculante líquido 44, el dis-
positivo 10 en la orientación espacial indicada se incuba du-
rante un periodo de aproximadamente cuatro horas a una tempera-
20 tura de $35-37^{\circ}\text{C}$. En una prueba positiva, el enzima, reductasa
de nitrato, producido en casi 100% de los cultivos que pertene-
cen a la familia enterobacteriácea y por algunas otras bacte-
rias, actúa para reducir el nitrato contenido en el disco de
zona de sustrato. Después del periodo de incubación, el dispositi-
25 vo 10 se gira alrededor de un eje perpendicular al plano de la
superficie 42 aproximadamente 90° como se indica en la figura 5.
El dispositivo 10 se manipula alrededor de dicha posición para
hacer que la suspensión de pruebas reaccionada entre en con-
tacto con el disco indicador 47 colocado en la tercera cámara
30 15. Si el nitrato se ha reducido a nitrito el nitrito se detecta

1 por una reacción con ácido sulfanílico y un derivado de alfa-
náftilamina sobre el disco de detección, se produce un producto
final de color rojo y se da una indicación positiva. La suspen-
sión de pruebas excesiva puede escapar a la cámara 17 y las
5 sustancias volátiles pueden escapar por el canal de ventilación
18.

En un uso propuesto del dispositivo 10, se realizan
varias pruebas diferentes, a saber: Voges-Proskauer, reductasa
de nitrato, deaminasa de fenilalanina, ácido sulfhídrico, indol,
10 descarboxilasa de ornitina, descarboxilasa de lisina, utiliza-
ción de malonato, ureasa, hidrólisis de esculina, ONPG, y fer-
mentaciones de arabinosa, adonitol, inositol, y sorbitol. Usando
dichas pruebas, puede hacerse un número sustancial de diferen-
tes identificaciones de enterobacteriáceas con un elevado gra-
15 do de precisión, por ejemplo, diferenciación de especies dentro
de los géneros Escherichia, Shigella, Edwardsiella, Salmonella,
Arizona, Citrobacter, Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Pro-
teus, Providencia y Yersinia. Naturalmente, dicho dispositivo
puede usarse con otras combinaciones de pruebas bioquímicas
20 para identificar los mismos así como otros organismos.

Las tablas siguientes exponen la identidad de culti-
vos conocidos y la precisión porcentual de su identificación
usando el nuevo dispositivo de la invención de los solicitantes:

25

30

1

TABLA I

Identidad de 440 cultivos usados en este estudio

<u>Organismo</u>	<u>Número</u>	<u>Organismo</u>	<u>Número</u>
<u>Escherichia</u>	115	<u>Serratia marcescens</u>	11
		<u>S. liquefaciens</u>	6
5 <u>Shigella spp.</u>	5	<u>S. rubicaea</u>	4
<u>S. sonnei</u>	3		
		<u>Proteus vulgaris</u>	12
<u>Edwardsiella tarda</u>	1	<u>P. mirabilis</u>	51
		<u>P. morganii</u>	14
10 <u>Salmonella typhi</u>	1	<u>P. rettgeri</u>	8
<u>S. enteritidis</u>	12		
<u>S. cholerae-suis</u>	0	<u>Providencia alcalifaciens</u>	5
		<u>P. stuartii</u>	7
15 <u>Arizona hinshawii</u>	3		
		<u>Yersinia enterocolitica</u>	4
<u>Citrobacter freundii</u>	10	<u>Y. pseudotuberculosis</u>	0
<u>C. diversus</u>	5	<u>Y. pestis</u>	0
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	77		
20 <u>K. rhinoscleromatis</u>	3		
<u>K. ozaenae</u>	10		
<u>Enterobacter cloacae</u>	30		
<u>E. aerogenes</u>	29		
<u>E. hafniae</u>	7		
25 <u>E. agglomerans</u>	7		

1

TABLA II

Exactitud de las pruebas separadas bioquímicas
Micro-ID comparadas con pruebas convencionales
que usan aislados clínicos frescos

5	Prueba	Nº correcto/ <u>Nº comprobado</u>	Exactitud <u>Porcentual</u>
	<u>Bioquímica</u>		
	Voges-Proskauer	427/440	97,0%
	Reductasa de nitrato	434/440	98,6%
	Deaminasa de fenilalanina	436/440	99,1%
10	H ₂ S	427/440	97,1%
	Indol	434/440	98,6%
	Descarboxilasa de ornitina	431/440	98,0%
	Descarboxilasa de lisina	425/440	96,6%
	Malonato	434/440	98,6%
15	Ureasa	421/440	95,7%
	Esculina	438/440	99,6%
	ONPG	433/440	98,4%
	Arabinosa	435/440	98,9%
	Adonitol	433/440	98,4%
20	Inositol	430/440	97,7%
	Sorbitol	432/440	98,2%

Por lo anterior es evidente que los solicitantes han inventado un dispositivo para diagnósticos que permite la identificación rápida y exacta de grandes cantidades de micro-organismos. El dispositivo es una unidad desechable muy eficiente que hace más fácil el procedimiento de prueba y reduce la probabilidad de error. Supera las desventajas de la técnica anterior y mejora los métodos y aparatos existentes. En resumen, los solicitantes han producido un dispositivo unitario desechable en el que una primera cámara puede inocularse con

25

30

1 una suspensión de pruebas desconocidas. La suspensión de
pruebas se conduce por un canal a una segunda cámara que
contiene un reactivo de identificación orientando el dis-
positivo a una posición espacial particular. Después de la
5 incubación durante un periodo y temperatura predetermina-
dos, el fluido reaccionado se pasa después por otro canal
orientando el dispositivo a otra posición más. La acción
del reactivo y el indicador con la suspensión de pruebas
permite la rápida recogida de datos de identificación exac-
10 tos.

Se pretende que la descripción precedente y los
dibujos ilustren la invención de los solicitantes y se
considera que todas las modificaciones evidentes a los ex-
pertos en la materia caen dentro de su ámbito.

15 En resumen, la patente de invención que se solici-
ta deberá recaer sobre las siguientes:

REIVINDICACIONES

1. Un método para identificar suspensiones de prue-
bas bacterianas desconocidas, caracterizado porque compren-
20 de inocular una primera cámara con la suspensión de prueba;
pasar la suspensión de prueba por un primer canal y una
segunda cámara que contiene un reactivo adecuado, orientan-
do dicho primer canal en una posición predeterminada; in-
cubar el espécimen de prueba en la segunda cámara durante
25 un periodo de tiempo pre-determinado; pasar después el espécimen
de prueba incubado por un segundo canal y una tercera cá-
mara que contiene un indicador adecuado, colocando el se-
gundo canal en una segunda posición espacial predetermina-
da; y caracterizar el espécimen de prueba por su reacción

30

1 y el cambio de color del reactivo de detección.

2. Un método según la reivindicación 1, caracterizado porque las cámaras y los canales están conectados a un elemento de bastidor, extendiéndose el primer canal lateralmente al primer elemento, el segundo canal sustancialmente paralelo al primer canal y estando situada la tercera cámara entre la primera y segunda cámara; y porque un elemento de bastidor plano se gira alrededor de un eje transversal al primer canal a fin de que la suspensión de prueba circule desde la primera cámara a la segunda cámara y posteriormente a la incubación, el bastidor se gira alrededor de un eje perpendicular al plano del elemento de bastidor.

3. Un método según la reivindicación 2, caracterizado porque los canales y la segunda y tercera cámaras están cubiertos de forma hermética por un elemento transparente a través del cual la segunda y tercera cámaras pueden ser vistas.

4. Un método según la reivindicación 1, caracterizado porque se emplea para realizar una pluralidad de las siguientes pruebas bioquímicas;
Voges-Proskauer, reductasa de nitrato, deaminasa de fenilalanina, ácido sulfhídrico, indol, descarboxilasa de orintina, descarboxilasa de lisina, utilización de malonato, ureasa, hidrólisis de esculina, ONPG, y fermentaciones de arabinosa, adonitol, inositol y sorbitol e identificar una pluralidad de los siguientes cultivos: *Escherichia*, *Shigella* Spp., *S. sonnei*, *Edwardsiella tarda*, *Salmonella typhi*, *S. enteritidis*, *S. cholerae-suis*, *Arizona hinshawii*, *Citrobacter Freun*

10⁴ dii, C.diversus, Klebsiella pneumoniae, K. rhinoscleromatis,
K. ozaenae, Enterobacter cloacae, E.aerogenes, E.hafniae,
E.agglomerans, Serratia marcescens, S. liquefaciens, S.ru-
bicaea, Proteus vulgaris, P.mirabilis, P.morganii, P.rettgeri,
5 Providencia alcalifaciens, P.stuartii, Yersinia enterocoli-
tica, Y.pseudotuberculosis y Y.pestis.

5. Se reivindica por último como objeto sobre el
que ha de recaer la patente de invención que se solicita
UN METODO PARA IDENTIFICAR SUSPENSIONES DE PRUEBAS BACTERIA-
10 NAS DESCONOCIDAS.

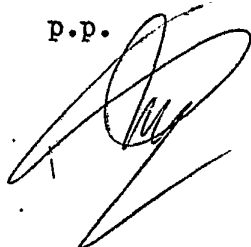
Todo conforme queda descrito y reivindicado en la
presente memoria descriptiva, que consta de veinte páginas
mecanografiadas y dibujos adjuntos.

15

Madrid, 13 de julio 1.978

BERNARDO UNGRIA

P.P.



20

25

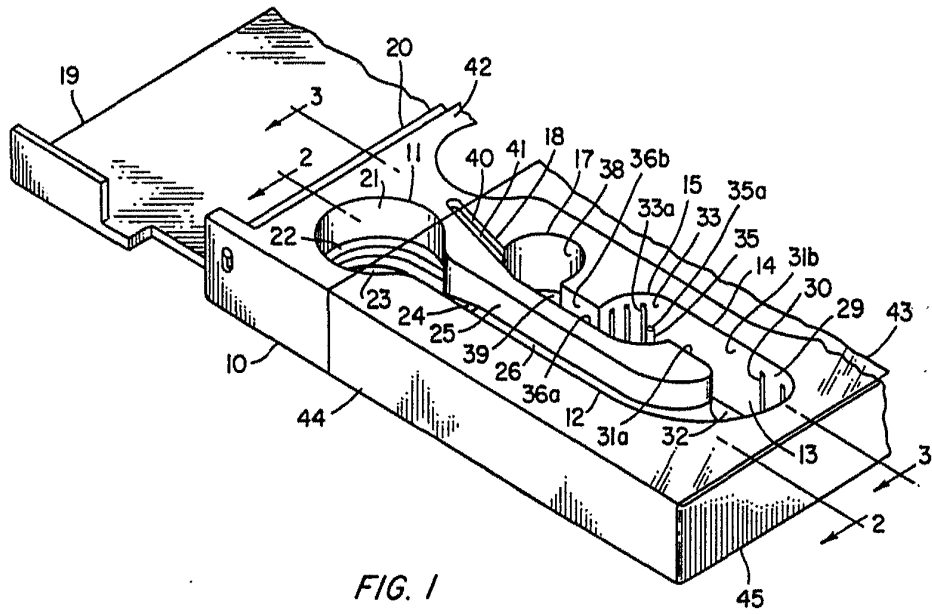


FIG. 1

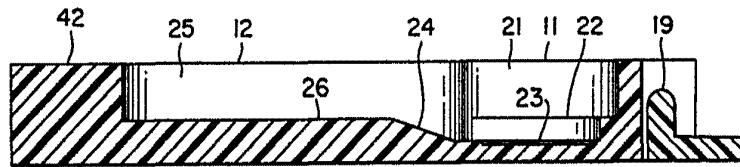


FIG. 2

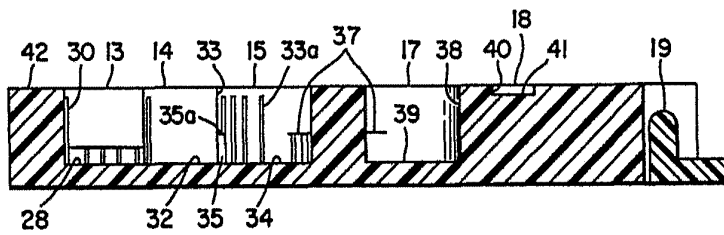


FIG. 3

ESCALA VARIABLE
Madrid, 13 de Julio de 1972
BERNARDO UNGRIA
P.P.

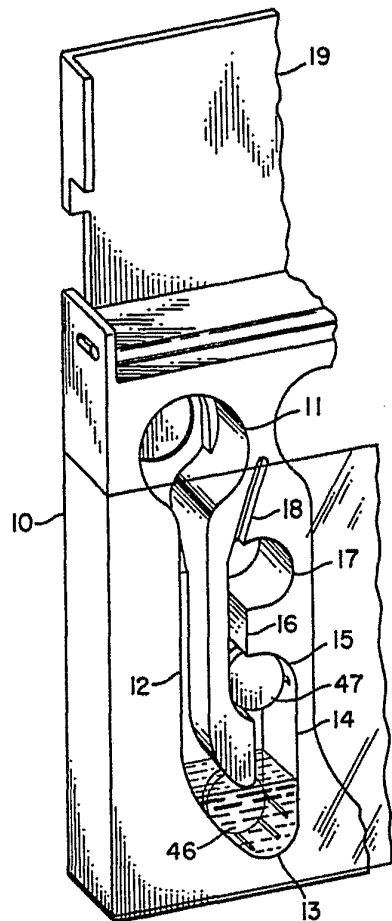


FIG. 4

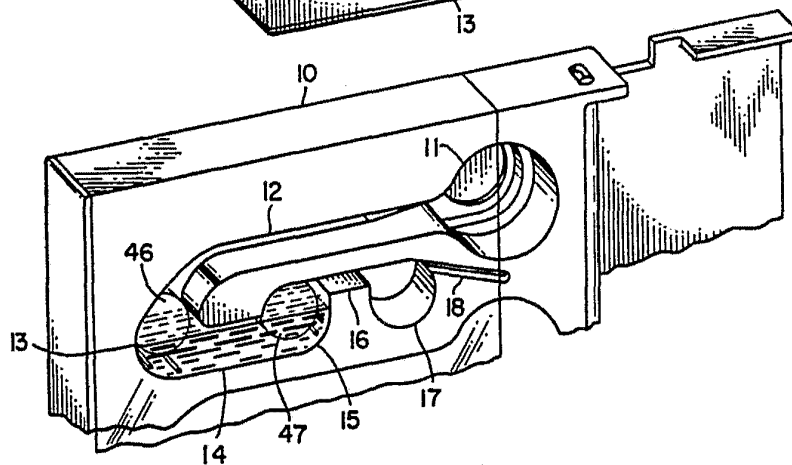


FIG. 5

ESCALA VARIABLE
Madrid, 17 de Julio de 1.978
BERNARDO JENYIA
D.F.