



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 360 335**

51 Int. Cl.:
A61B 17/435 (2006.01)
A61B 10/02 (2006.01)
A61M 5/32 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08701924 .6**
96 Fecha de presentación : **24.01.2008**
97 Número de publicación de la solicitud: **2114270**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **11.11.2009**

54 Título: **Aguja de muestreo.**

30 Prioridad: **28.09.2007 GB 0719037**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
03.06.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
03.06.2011

73 Titular/es: **VITROLIFE SWEDEN AB.**
Box 9080
400 92 Göteborg, SE

72 Inventor/es: **Hagby, Urban**

74 Agente: **Sugrañes Moliné, Pedro**

ES 2 360 335 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Aguja de muestreo.

5 Campo de la invención

La invención se refiere a una aguja de muestreo, en particular a una aguja adecuada para la recuperación de ovocitos vaginales de un sujeto humano o animal.

10 Antecedentes de la invención

La fecundación *in vitro* (FIV) es una intervención común para ayudar a parejas que no pueden tener hijos. La primera etapa en un ciclo de FIV, después de cualquier estimulación hormonal requerida de un sujeto hembra, es la recuperación o aspiración de ovocitos. La estimulación de hormonas conduce a un aumento del número de folículos que maduran en la hembra. En un ciclo menstrual normal se producen de uno a dos ovocitos. Por el contrario, en un ciclo de FIV satisfactorio maduran generalmente aproximadamente 5 a 15 ovocitos. Hoy en día hay un interés creciente por no usar estimulación de hormonas o una estimulación de hormonas mínima y en su lugar madurar los ovocitos después de la recuperación o usar un ciclo natural en el que los normalmente uno o dos ovocitos madurados se consideran suficientes para el procedimiento de FIV.

Independientemente del procedimiento de estimulación de hormonas, cada ovocito reside en un folículo. Durante un procedimiento de FIV, los folículos se vacían mientras todavía están en los ovarios. Esto se hace normalmente transvaginalmente, que significa que se usa una aguja de recuperación de ovocitos para penetrar la pared vaginal y los ovarios. Tras la localización de los folículos por ultrasonidos se usa una aguja de recuperación de ovocitos para puncionar y entrar en cada folículo y entonces el fluido folicular que contiene el ovocito se recupera por aspiración. La recuperación se logra mediante una presión negativa inducida. En los casos en los que los ovocitos no son liberados del folículo sólo mediante aspiración puede usarse una disolución de lavado precalentada junto con la aspiración para liberar los ovocitos y para aumentar el volumen de fluido aspirado.

Las agujas de recuperación de ovocitos usadas para vaciar los folículos *in vivo* con el fin de un ciclo de FIV pueden comprender una única luz o ser de doble luz. Las agujas de doble luz tienen una primera luz para recuperar los ovocitos de un folículo y una segunda luz para lavar simultáneamente medios en el folículo. Algunos creen en esto para liberar ovocitos del folículo mejor que la recuperación con una aguja de una única luz sin lavar. Sin embargo, es más común usar una aguja de una única luz sin lavar. Aunque podría usarse una aguja de una única luz para tanto recuperar como lavar, no es posible usar una aguja de una única luz para lavar y aspirar al mismo tiempo. Por tanto, cuando se usa una aguja de una única luz con lavado existe el riesgo de que los ovocitos sean lavados en lugar de recuperados.

Las agujas de recuperación de ovocitos comercializadas hoy en día son de diámetro externo (DE) y diámetro interno (DI) uniforme a lo largo de toda la longitud de la aguja. Las agujas más comunes tienen tanto 16 como 17 de calibre que se corresponden con un DE de 1,65 mm y 1,47 mm, respectivamente. Estas agujas están disponibles de, por ejemplo, Cook Medical Inc. (Bloomington, IN, EE.UU.), Smiths Medical International (Watford, RU) y Gynetics Medical Products N.V. (Achel, Bélgica). Las agujas de 18 de calibre (DE de 1,27 mm) están disponibles de Smiths Medical International.

La longitud de una aguja de recuperación de ovocitos varía, por ejemplo, dependiendo del tipo de guía de aguja usada, que a su vez depende del tipo de transductor de ultrasonidos usado. Longitudes de aguja total típicas están entre 200 mm y 400 mm.

El diámetro interno (DI), es decir, el diámetro luminal de la aguja de recuperación de ovocitos, debe ser mayor que el diámetro del ovocito, que para un ser humano es aproximadamente 0,1 a 0,2 mm. El DI de la aguja también debe permitir el movimiento de la masa de células acumulada que cubre los ovocitos. Las limitaciones de producción y de material afectan cuánto de pequeño puede ser el DI, al igual que el estrés y la fricción inducida a los ovocitos dentro de una aguja fina.

El procedimiento de recuperación dura normalmente aproximadamente 10 a 30 minutos, principalmente dependiendo de cuántos folículos hay para penetrar y vaciar. Sin anestesia y sedación es un procedimiento bastante difícil y en algunos casos muy doloroso para la hembra. Por tanto, en algunos países es norma usar anestesia general durante el procedimiento. Sin embargo, el uso de anestesia general está asociado a riesgos médicos y el requisito de que tenga que estar presente un anestesista aumenta los costes. Por consiguiente, algunos países, tales como los de Escandinavia, realizan la recuperación de ovocitos bajo una sedación suave y/o anestesia local. La tendencia actual es que cada vez más clínicas están avanzando hacia el uso de sedación suave y/o anestesia local ya que es menos costoso y más seguro, aunque crea una mayor molestia o dolor para la hembra.

Los fabricantes de agujas han respondido a este cambio en el procedimiento produciendo agujas de recuperación de ovocitos más finas con el fin de producir menos dolor al paciente. Se ha encontrado una relación entre el espesor de la aguja y el dolor sentido por un sujeto (Aziz et al. (1993) *Human Reproduction* 8(7): 1098 - 1100). Este estudio comparó el uso de dos diámetros de aguja: 16 y 18 de calibre. Una aguja de 16 de calibre se usó en un ovario y una aguja de 18 de calibre se usó en el otro ovario. El uso de una aguja diferente en cada ovario permitió que el sujeto fuera usado como su propio control. Se usó sedación suave en los sujetos y el dolor se autoevaluó en una escala de 0 a 5. Se encontró que la aguja más fina estaba significativamente asociada a menos dolor percibido.

El dolor y los calambres percibidos también son problemas tras el procedimiento de recuperación de ovocitos. En un estudio por Miller et al. (2004) (*Fertility and Sterility* 81(1): 191 - 193), el dolor y los calambres autoevaluados se

puntuaron 30 minutos y 24 horas después de la recuperación de ovocitos. Esto mostró que había dolor y calambres a los 30 minutos y durante las 24 horas siguientes a la aspiración de ovocitos. No hay datos en este tiempo para confirmar que el dolor y los calambres después del procedimiento de aspiración se redujeran en realidad con una aguja más fina, pero cabría esperar que se produjera menos lesión de tejido con una aguja más fina.

5 Como se ha mencionado anteriormente, agujas más finas producen menos traumatismo y hemorragia que agujas más gruesas. Esto es ventajoso porque el traumatismo y la hemorragia pueden afectar a la implantación del embrión. La implantación se lleva a cabo generalmente sólo dos a seis días después de la recuperación del ovocito, por tanto, cualquier traumatismo producido durante el procedimiento de recuperación podría evitar la implantación apropiada.

10 Sin embargo, el uso de agujas más finas también tiene varias desventajas, ya que una aguja más fina también tiene una luz más estrecha. Por ejemplo, la muestra, por ejemplo un ovocito, podría quedarse pegada y/o dañarse dentro de la luz de la aguja fina. El diámetro aproximado de un ovocito humano es 0,1 a 0,2 mm y, con las células acumuladas que rodean el ovocito la masa de células total puede tener un diámetro de hasta 10 mm (Aziz et al. 1993). Por tanto, cuanto más fina sea la aguja, mayor es el riesgo de dañar un ovocito cuando se desplaza por la aguja. Por consiguiente, el uso de una aguja más fina aumenta el riesgo de dañar los ovocitos, que podría reducir la probabilidad de que un procedimiento de FIV produjera un embarazo satisfactorio.

15 Otra desventaja de agujas más finas es que, para la aplicación de una presión negativa dada, la aspiración por una aguja más fina necesita un tiempo más largo que por una aguja más gruesa. Cuanto más tiempo esté la muestra (por ejemplo, ovocito y fluido folicular) en la aguja, más tiempo está sometida a temperatura ambiente y, por tanto, la muestra se enfría más. Una luz de aguja más fina también aumenta el área de contacto entre la pared de la aguja y la muestra, que adicionalmente enfría la muestra. Algunas muestras, por ejemplo ovocitos, son muy sensibles a temperaturas por debajo de la temperatura fisiológica y pierden viabilidad a medida que cae la temperatura.

20 Una alternativa al tiempo de aspiración más largo requerido para una aguja más fina sería aumentar la presión negativa aplicada para acelerar el movimiento del fluido folicular por la aguja. Sin embargo, esto tiene la desventaja de que la aplicación de una mayor presión puede estresar y producir otra lesión física a la muestra. La aplicación de una presión negativa demasiado alta es un asunto común durante la aspiración de ovocitos ya que puede dañar la zona pelúcida del ovocito. Por tanto, una presión negativa aplicada nunca puede superar 1 atm (101,3 kPa) cuando se trabaja en un entorno de presión normal. Además, una aguja fina también tiene la desventaja de ser más difícil de manipular por un usuario, ya que es más probable que se doble que una aguja más gruesa.

30 Las agujas de recuperación de ovocitos actuales se tratarán en relación con los siguientes dibujos

Las Figuras 1 a 5 en las que, para facilitar la referencia, partes iguales se han referido mediante números de referencia iguales. En las Figuras 6 a 10 se facilitan datos que proporcionan resultados de comparaciones de agujas según la presente invención y otras agujas.

35 La Figura 1 es una sección transversal longitudinal esquemática de un útero y aparato para la aspiración transvaginal guiada por ultrasonidos de folículos de un ovario (técnica anterior);

40 la Figura 2 es una sección transversal longitudinal esquemática de una aguja de una única luz adecuada para uso con el aparato mostrado en la Figura 1 (técnica anterior);

la Figura 3 es una sección transversal longitudinal de una aguja de doble luz adecuada para uso con el aparato mostrado en la Figura 1 (técnica anterior);

45 la Figura 4 es una sección transversal longitudinal de una aguja de una única luz conectada a una jeringuilla, siendo la aguja de una única luz adecuada para la aspiración transvaginal de folículos de un ovario (técnica anterior); y

50 la Figura 5 es una sección transversal longitudinal de una aguja de una única luz conectada a una jeringuilla mediante un tubo, siendo la aguja de una única luz adecuada para la aspiración transvaginal de folículos de un ovario (técnica anterior).

55 La Figura 1 muestra un útero (150) que comprende el fondo uterino (152), miometrio (154), vagina (156), trompas de Falopio (160), ovarios (158) y folículos ováricos (104). El aparato (100) conocido típico para la aspiración transvaginal guiada por ultrasonidos de un folículo ovárico (104) se muestra *in situ*. Una aguja de una única luz de recuperación de ovocitos (102) se introduce transvaginalmente en un folículo ovárico (104) que contiene el ovocito y se mantiene sobre una guía de aguja (106) que a su vez se mantiene sobre un transductor de ultrasonidos (108). El transductor de ultrasonidos produce un campo visual de ultrasonidos de los folículos (109). El extremo trasero de la aguja de una única luz está conectado a un tubo de aspiración (110) que a su vez está conectado a un tubo de ensayo (112) para la recogida del fluido folicular que contiene los ovocitos. Se induce una presión negativa en el tubo de ensayo (112) mediante la aplicación de una bomba de vacío (no mostrada). El tubo de ensayo (112) está cerrado con un tapón de silicona (114) con conectores (no mostrados).

60 La aguja de recuperación de ovocitos (102) puede ser una aguja de una única luz o una aguja de doble luz. En la Figura 2 se muestra una aguja de una única luz. En la Figura 3 se muestra una aguja de doble luz. En las Figuras 4 y 5 se muestran otras configuraciones de aguja de aspiración, cada una con un conector Luer y una jeringuilla para inducir presión negativa.

65 La Figura 2 muestra un aparato de aguja de una única luz (200) conocido que comprende una aguja de recuperación

de ovocitos (202). El extremo trasero de la aguja (202) comprende un agarre de alas de sujeción (222). El extremo trasero de la aguja (202) está conectado al tubo de aspiración (210) que a su vez está conectado a un tubo de ensayo (212) mediante un tapón de silicona (214). El tubo de ensayo (212) está conectado a una bomba de vacío (no mostrada) mediante el tapón de silicona (214), una conexión Luer (216) y un tubo de vacío (218). La aplicación de un vacío al tubo de vacío (218) hace que entre fluido en la aguja (202) y, por consiguiente, en el tubo de ensayo (212) en la dirección de la flecha A.

La Figura 3 muestra un aparato de aguja de doble luz (300) conocido. El extremo trasero de la aguja de recuperación de ovocitos (302) comprende un agarre de alas de sujeción (322). El extremo trasero de la aguja (302) está conectado a un tubo de lavado (324). El extremo distal del tubo de lavado (324) comprende una conexión Luer (325) para la conexión a una fuente de medio de lavado. El extremo trasero de la aguja (302) también está conectado a un tubo de aspiración (310) que a su vez está conectado a un tubo de ensayo (312) para la recogida del fluido folicular que contiene los ovocitos. Se induce una presión negativa en el tubo de ensayo (312) mediante la aplicación de la bomba de vacío (no mostrada). El tubo de ensayo (312) está conectado a la bomba de vacío (no mostrada) mediante un tapón de silicona (314), una conexión Luer (316) y un tubo de vacío (318). La aplicación de un vacío al tubo de aspiración (318) hace que entre fluido en la aguja (302) y, por consiguiente, en el tubo de ensayo (312) en la dirección de la flecha A. Los medios de lavado pueden lavarse por el tubo de lavado (324) en la aguja (302) en la dirección de la flecha B.

La Figura 4 muestra otro aparato de aguja de una única luz (400) conocido que comprende en el extremo trasero de la aguja de recuperación de ovocitos (402) un agarre de alas de sujeción (422). El extremo trasero de la aguja (402) está conectado a una jeringuilla (426) mediante una conexión Luer (no mostrada). La extracción del émbolo de la jeringuilla (428) del cilindro de la jeringuilla (430) induce una presión negativa dentro de la aguja (402) y hace que entre fluido en la aguja (402) y, por consiguiente, en la jeringuilla (426) en la dirección de la flecha A.

La Figura 5 muestra una alternativa conocida al aparato de aguja de la Figura 4. Un aparato de aguja de una única luz (500) comprende una aguja de recuperación de ovocitos de una única luz (502) en cuyo extremo trasero hay un agarre de alas de sujeción (522). El extremo trasero de la aguja (502) está conectado a una jeringuilla (526) mediante un tubo de aspiración (524) y una conexión Luer (no mostrada). La extracción del émbolo de la jeringuilla (528) del cilindro de la jeringuilla (530) induce una presión negativa dentro de la aguja (502) y hace que entre fluido en la aguja (502) y, por consiguiente, en la jeringuilla (526) en la dirección de la flecha A.

Las invenciones previas referentes a agujas incluyen aquellas descritas en los documentos WO2005/025434, US2005/0143619, US5.843.023, US10/233.431, US6.461.302 y US6.929.623. Las agujas descritas en los documentos WO2005/025434, US2005/0143619, US5.843.023, US10/233.431, US2006/0205073 y US6.461.302 están todas construidas con diámetros uniformes. Como tales tanto producen dolor y/o traumatismo de tejido a la hembra como pueden inducir estrés y/o traumatismo al ovocito. El uso de una aguja con un diámetro interno grande tiene como ventaja que minimiza el estrés y/o el traumatismo inducido a la muestra, por ejemplo, los ovocitos que se recuperan y funciona rápido. El uso de una aguja con un diámetro interno pequeño tiene como desventaja que produce una larga recuperación, es decir, tiempo de aspiración. Un tiempo de recuperación largo es poco práctico para el doctor que lleva a cabo la aspiración, poco práctico e incómodo para el sujeto del que se recupera la muestra y aumenta el punto al que se enfría la muestra y/o se estresa o traumatiza de otro modo durante el procedimiento de recuperación.

El documento WO2005/025434 desvela una aguja anestésica para el bloqueo periovárico interno conjuntamente con la recuperación de óvulos. El documento US 6.033.358 desvela un sistema de fecundación *in vitro* para la recepción y tratamiento de un óvulo que comprende un alojamiento que tiene una cámara receptora alargada para la recepción de un óvulo.

El documento US2005/0143619 desvela un dispositivo de recogida de óvulos que comprende un mango, una aguja de recogida que se extiende por el mango y una disposición de calentamiento para mantener la aguja de recogida a una temperatura seleccionada para prevenir el daño del óvulo que se recoge. Aunque esta invención podría resolver el asunto de la temperatura durante la aspiración de ovocitos, desvela una aguja de diámetro uniforme y como tal tiene tanto las desventajas de una aguja con un DI pequeño como de una aguja con un DE grande, como se ha tratado anteriormente.

Los documentos US5.843.023 y US5.979.339 desvelan ambas construcciones de agujas de aspiración con puertos laterales. Los documentos US5.843.023 y US5.979.339 desvelan agujas de igual tamaño que tienen tanto las desventajas de una aguja con un DI pequeño como de una aguja con un DE grande, como se ha tratado anteriormente.

El documento US6.461.302 desvela un dispositivo de recuperación de óvulos para recuperar un óvulo y fluido folicular de un folículo. El dispositivo comprende una aguja conectada a un medio para inducir succión en la aguja y, por tanto, permitir que una muestra entre en la aguja.

El documento US6.929.623 desvela una jeringuilla que comprende una aguja que tiene una primera región con un diámetro ancho conectado a una segunda región con un diámetro estrecho. La aguja se usa para la administración de, en vez de para la recuperación de, líquidos viscosos robustos a conductos tales como la uretra, el esófago y los vasos sanguíneos de un paciente. No se sugiere el uso de la aguja para recoger muestras tales como ovocitos. Similarmente, los documentos US 6.306.132 y EP 1.323.483 desvelan dispositivos que no son agujas de recuperación de ovocitos. No se sugiere que aquellos dispositivos puedan usarse para recoger ovocitos.

Resumen de la invención

La presente invención proporciona una aguja de recuperación de ovocitos vaginales según la reivindicación 1 que

conserva las ventajas de una aguja fina a la vez que reduce y/o elimina las desventajas asociadas a una aguja gruesa. Por tanto, la invención proporciona una aguja adecuada para la recuperación de una muestra biológica de un sujeto, en particular una muestra que se localiza en una posición que es de difícil acceso tal como una localización que requiere que se atraviese una cavidad del cuerpo antes de que se pueda acceder y penetrar un tejido. La muestra biológica es un ovocito. La muestra biológica puede estar presente en un líquido viscoso. Para la recuperación de un ovocito con una aguja, la aguja debe atravesar la vagina antes de que puedan penetrarse los ovarios y el folículo ovárico. La aguja de muestreo puede ser una aguja quirúrgica o médica.

Por consiguiente, se proporciona una aguja de recuperación de ovocitos vaginales que comprende una primera región tubular (delantera) en comunicación fluida con una segunda región tubular (trasera), comprendiendo la primera región tubular un extremo delantero para penetrar el tejido de un sujeto y comprendiendo la segunda región tubular un extremo trasero para la comunicación fluida con un medio para recibir un fluido en el que la primera región tubular tiene un diámetro externo y un diámetro interno que es inferior al diámetro externo e interno de la segunda región tubular y la primera región tubular tiene un diámetro interno que es inferior al diámetro interno de la segunda región tubular.

Una ventaja de la aguja de muestreo según la presente invención es que sólo la primera región tubular relativamente fina invade el tejido del que se está recuperando la muestra, mientras que la segunda región tubular relativamente ancha no invade el tejido.

La primera y la segunda región tubular pueden disponerse a lo largo de un eje central común que pasa por la luz de tanto la primera como la segunda región tubular. Alternativamente, la primera y la segunda región tubular pueden disponerse descentradas la una con respecto a la otra, es decir, la aguja es asimétrica alrededor de un eje central que pasa por la luz de tanto la primera como la segunda región tubular.

La primera región tubular puede conectarse a la segunda región tubular mediante una región de grosor decreciente. La región de grosor decreciente puede proporcionar un cambio gradual en el diámetro entre la primera región tubular y la segunda región tubular. La región de grosor decreciente puede ser brusca o superficial. Alternativamente, una región de grosor decreciente puede no estar presente y la conexión entre la primera y la segunda región tubular puede ser de ángulo sustancialmente recto.

La primera región tubular puede ser por sí misma de grosor decreciente. Preferentemente, el estrechamiento es de un extremo delantero relativamente estrecho a una región más ancha que conecta la primera región tubular con la segunda región tubular.

Preferentemente, el medio para recibir un fluido es adecuado para recibir una muestra biológica. El medio para recibir un fluido puede estar preferentemente cerrado. Preferentemente, el medio para recibir un fluido es estéril. El medio para recibir un fluido puede ser cualquier recipiente adecuado que incluye un tubo de ensayo.

Para un procedimiento de recuperación de ovocitos humanos, el diámetro externo de la primera región tubular es preferentemente de 0,6 mm a 1,2 mm, más preferentemente de 0,8 mm a 1,0 mm, lo más preferentemente aproximadamente 0,9 mm.

Para un procedimiento de recuperación de ovocitos humanos, el diámetro externo de la segunda región tubular es preferentemente mayor que o igual a 1,1 mm, más preferentemente mayor que o igual a 1,2 mm, lo más preferentemente mayor que o igual a 1,4 mm.

Para un procedimiento de recuperación de ovocitos humanos, el diámetro interno de la primera región tubular es preferentemente mayor que o igual a aproximadamente 0,2 mm, más preferentemente mayor que o igual a aproximadamente 0,4 mm, lo más preferentemente mayor que o igual a aproximadamente 0,6 mm. El diámetro interno de la primera región tubular de una aguja de recuperación de ovocitos siempre debe ser al menos tan grande como el diámetro del ovocito de la especie específica de la que se recupera.

Para un procedimiento de recuperación de ovocitos humanos, el diámetro interno de la segunda región tubular es preferentemente mayor que o igual a aproximadamente 0,9 mm, más preferentemente mayor que o igual a aproximadamente 1,1 mm, lo más preferentemente mayor que o igual a aproximadamente 1,2 mm.

En uso, el extremo delantero de la aguja penetra en el tejido del sujeto, mientras que el extremo trasero no penetra en el tejido del sujeto. En uso, el extremo delantero de la aguja puede penetrar en uno o más de la pared vaginal, un ovario y un folículo de un sujeto, tal como un paciente. Una ventaja de la aguja de muestreo de la invención es que la región delantera de la aguja, que tiene un diámetro externo relativamente pequeño, puede producir menos dolor y/o menos traumatismo y/o menos lesión de tejido en un sujeto que una aguja que tiene una región delantera que tiene un diámetro externo mayor. Una ventaja de la región trasera que tiene un diámetro interno mayor que la región delantera es que permite el flujo más rápido de material, bajo la misma presión negativa, dentro de la región trasera y, por tanto, funciona más rápido y puede conferir menos estrés a un ovocito que se recupera. Por tanto, el diámetro interno grande de la segunda región tubular significa que sirve de buen canal de transporte.

La primera región tubular es preferentemente al menos tan larga como la distancia anatómica que debe penetrarse con el fin de alcanzar el sitio de la muestra que va a recuperarse. El sitio de la muestra puede ser un tejido. Por ejemplo, para la recuperación de ovocitos, la primera región tubular es preferentemente suficientemente larga para alcanzar los folículos en los ovarios por la pared vaginal. Para uso en un sujeto humano, la primera región tubular tiene al menos 30 mm de longitud, más preferentemente al menos 40 mm de longitud. La primera región tubular puede tener de 30 a 80 mm de longitud, por ejemplo 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 u 80 mm de longitud. La primera región tubular de la aguja puede ser más larga de lo requerido para alcanzar el sitio de la muestra; sin embargo, como la longitud de la primera región tubular aumenta, las ventajas asociadas al mayor diámetro de la segunda región tubular disminuyen. Cuanto más larga sea la parte fina de la aguja, más tiempo pasan los ovocitos en la aguja y más se enfriarán durante el procedimiento, y más fricción y, posiblemente estrés, se inducirá en los ovocitos.

La longitud total de la primera y la segunda región tubular de la aguja debe ser suficientemente larga para alcanzar el ovocito. La longitud total requerida depende del tamaño anatómico y la construcción del sujeto hembra. Es decir, la segunda región tubular (trasera) deber ser suficientemente larga para atravesar la vagina. La primera región tubular (delantera) debe ser suficientemente larga para penetrar en el sitio, por ejemplo el tejido, en el que la muestra se localiza, por ejemplo un ovario, particularmente un folículo de un ovario, y ponerse en contacto con la muestra sin que la segunda región tubular (trasera) penetre en el sitio, por ejemplo el tejido. La puesta en contacto con la muestra permite la recuperación de la muestra del sitio. Para un sujeto humano se prefiere que la primera y la segunda región tubular tengan una longitud combinada de 150 mm a 500 mm. Por ejemplo, la primera y la segunda región tubular pueden tener una longitud combinada de 200 mm a 400 mm, por ejemplo 300 mm.

Es particularmente preferido que la longitud de la primera región tubular sea suficientemente larga para ponerse en contacto con la muestra sin que la segunda región tubular penetre en el sitio de la muestra, por ejemplo el tejido. Preferentemente, la primera región tubular no es excesivamente larga para garantizar que la muestra no se exponga a estrés innecesario. Para una aguja de recuperación de ovocitos humanos, la primera región tubular deberá ser preferentemente mayor que o igual a aproximadamente 30 mm, más preferentemente mayor que o igual a aproximadamente 40 mm y preferentemente no más larga de 100 mm, más preferentemente no más larga de 80 mm, y lo más preferentemente no más larga de 60 mm.

La longitud de la segunda región tubular depende de la anatomía del sujeto, es decir, la longitud es suficientemente larga para alcanzar la muestra y del equipo requerido para estabilizar la aguja y/o para visualizar la muestra. Las dimensiones adecuadas de la aguja de muestreo varían dependiendo de la muestra que va a recuperarse y del sujeto del que se va a recuperar la muestra. Por ejemplo, los ovocitos de algunos animales son mayores que los ovocitos humanos. Los ovocitos de otros animales son más pequeños que los ovocitos humanos. Por tanto, la muestra y el sujeto determinan las dimensiones adecuadas para el diámetro interno y externo de la primera y la segunda región tubular. Asimismo, diferentes animales tienen diferentes construcciones anatómicas. Por ejemplo, un animal puede tener una cavidad del cuerpo tal como una vagina que es más larga o más corta de atravesar que la de un ser humano. Asimismo, la muestra, un ovocito, puede localizarse a una profundidad más superficial o más profunda dentro del sitio, tal como un ovario o folículo ovárico, en comparación con un ser humano. Además, las dimensiones anatómicas muestran variación natural dentro de una especie, por ejemplo, debido a variaciones en la altura, masa y el índice de masa corporal. El sujeto puede ser un ser humano o un animal tal como una vaca, una cerda, un perro, un caballo, un ratón, un elefante o una jirafa. Usando conocimientos de anatomía el experto puede seleccionar dimensiones adecuadas para la aguja de muestreo.

Preferentemente, la configuración de la aguja es tal que el tiempo de recuperación de la muestra sea suficientemente corto para mantener un tiempo de aspiración aceptable, que significa un tiempo de aspiración que para fines prácticos es comparable con el tiempo de aspiración requerido cuando se usa una aguja estándar, por ejemplo, una aguja con un diámetro externo uniforme de 1,4 mm, un diámetro interno uniforme de 1,0 mm y una longitud de 355 mm. El tiempo de aspiración de una muestra depende de la presión negativa aplicada, la viscosidad de la muestra que se aspira y el volumen de la muestra que se aspira. Un tiempo de aspiración comparable es uno que es tan bajo como el tiempo de aspiración con una aguja estándar, inferior al tiempo de aspiración con una aguja estándar o hasta el 30% más, preferentemente no más del 20% más que el tiempo de aspiración con una aguja estándar. Una aguja estándar es, por ejemplo, una aguja que tiene un diámetro interno uniforme de 1,0 mm y un diámetro externo uniforme de 1,4 mm y, por ejemplo, que tiene una longitud de 355 mm. Un tiempo de aspiración aceptablemente corto es uno que minimiza el enfriamiento de la muestra durante la recuperación, minimiza el tiempo durante el cual necesita estar presente un médico, minimiza el tiempo durante el cual el sujeto experimenta molestia durante la recuperación y minimiza la lesión y/o el traumatismo a la muestra que se recupera. El tiempo de aspiración puede ser inferior a dos minutos, por ejemplo inferior a un minuto. La muestra que se recupera puede tener un volumen de 3 ml a 8 ml, por ejemplo 4 ó 5 ml. Puede aplicarse una presión negativa de hasta 1 atmósfera (es decir, de 0 a 101,3 kPa) al extremo trasero de la aguja.

La aguja de muestreo puede formarse a partir de uno o más materiales seleccionados de acero inoxidable, fibra de carbono, plásticos duros, cerámica y vidrio. Los materiales particularmente preferidos incluyen un acero inoxidable seleccionado de AISI 304, AISI 316, SIS 2346 y SIS 2543. El material más preferido es el acero inoxidable AISI 304. La primera y la segunda región tubular pueden hacerse del mismo material o de materiales diferentes.

Preferentemente, la aguja comprende una punta afilada. La punta puede adaptarse para mejorar la visibilidad bajo ultrasonidos. La punta puede ser ecogénica. Por ejemplo, la superficie externa de la punta de la aguja puede proporcionarse con una o más ranuras.

La aguja de muestreo puede formarse a partir de un único trozo de material o puede formarse a partir de dos o más trozos de material unidos juntos para formar un único tubo.

La aguja de muestreo de la presente invención puede adecuarse a o equiparse con uno o más de un transductor de ultrasonidos, una bomba de vacío, tubo de aspiración, tubo de lavado, un tubo de recogida, un tapón para el tubo de recogida, una bomba de vacío, una jeringuilla, una guía de aguja, un agarre de alas de sujeción y conectores para conectar el tubo con uno o más de el tubo de recogida, la bomba de vacío y la jeringuilla tales como aquellos descritos en relación con las Figuras 1 a 5. El tubo puede comprender Teflon[®]. Además, la aguja de muestreo de la presente invención puede usarse en un aparato de aguja de una única luz o de aguja de doble luz tal como aquellos descritos en relación con las Figuras 1 a 5. Por ejemplo, el aparato puede comprender uno o más de los componentes descritos en relación con las Figuras 1 a 5.

Una aguja de recuperación de ovocitos vaginales según la invención puede usarse en un procedimiento de recogida de una muestra de un sujeto que comprende insertar la aguja en el sujeto, como se ha descrito anteriormente, y extraer la muestra del sujeto. La muestra es un ovocito. Preferentemente, el sujeto es un ser humano.

Alternativamente, el sujeto puede ser un animal tal como una vaca, una cerda, un perro, un caballo, un ratón, un elefante o una jirafa.

Preferentemente sólo la primera región tubular (delantera) de la aguja de muestreo penetra en el tejido del sujeto. Es decir, preferentemente la segunda región (trasera) de la aguja de muestreo no penetra en el tejido del sujeto. Esto tiene la ventaja de que sólo la parte estrecha, es decir, la primera región tubular de la aguja penetra en el tejido del sujeto y esto puede minimizar el dolor, la molestia y el traumatismo experimentado por el sujeto. Por ejemplo, aproximadamente 30 mm o aproximadamente 40 mm de la primera región tubular pueden insertarse en el sujeto durante un procedimiento de recuperación de ovocitos humanos.

5

10 Breve descripción de los dibujos

Las agujas y procedimientos según la invención se describirán, sólo a modo de ejemplo, con referencia a los dibujos adicionales. Las Figuras 6 a 15 en las que:

15 la Figura 6 es una sección transversal longitudinal de una aguja de muestreo de una única luz según la invención;

la Figura 7 es una sección transversal longitudinal de una aguja de una única luz según la invención con una región de grosor decreciente que conecta la primera región tubular y la segunda región tubular;

20 la Figura 8 es una sección transversal longitudinal de una aguja de una única luz según la invención con la primera región tubular y la segunda región tubular dispuestas descentradas;

25 la Figura 9 es una sección transversal longitudinal de una aguja de una única luz según la invención con una región de grosor decreciente que conecta la primera región tubular y la segunda región tubular y la primera región tubular y la segunda región tubular dispuestas descentradas;

la Figura 10 es una sección transversal longitudinal de una aguja de una única luz según la invención con una primera región tubular de grosor decreciente;

30 la Figura 11 es un diagrama de barras que muestra la diferencia en el tiempo de aspiración a temperatura ambiente para muestras de 20 ml de agua adecuada para inyección *in vivo* por las agujas (a), (b), (c) y (d) cuyas dimensiones se facilitan en la Tabla 1;

35 la Figura 12 es un diagrama de barras que muestra la diferencia en el tiempo de aspiración a temperatura ambiente para muestras de 10 ml de hialuronato de sodio ($0,2 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$) por las agujas (a), (b), (c) y (d) cuyas dimensiones se facilitan en la Tabla 1;

40 la Figura 13 es un diagrama de barras que muestra la diferencia en el tiempo de aspiración a temperatura ambiente para muestras de 10 ml de hialuronato de sodio ($0,4 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$) por las agujas (a), (b), (c) y (d) cuyas dimensiones se facilitan en la Tabla 1;

45 la Figura 14 es un diagrama de barras que muestra la reducción en la temperatura de muestras de agua adecuada para inyección *in vivo* cuando se aspira por las agujas (a), (b), (c) y (d) cuyas dimensiones se facilitan en la Tabla 1; y

la Figura 15 es un diagrama de barras que muestra la reducción en la temperatura de muestras de agua adecuada para inyección *in vivo* cuando se aspira por las agujas (a), (b), (c) y (d) cuyas dimensiones se facilitan en la Tabla 1. Los parámetros de temperatura para el muestreo mostrado en la Figura 15 son diferentes de aquellos para el muestreo mostrado en la Figura 14.

50

Los datos sin procesar para las Figuras 11 a 15 se proporcionan en el apéndice.

Descripción de realizaciones preferidas

55

La Figura 6 muestra una aguja de muestreo de una única luz (632) según la presente invención. La aguja comprende una primera región tubular (delantera) (634) en comunicación fluida con una segunda región tubular (trasera) (636), la primera región tubular (634) comprende un extremo delantero (638) que es un punto afilado para la inserción en un sujeto y la segunda región tubular (636) comprende un extremo trasero (640) para la comunicación fluida con una cámara que contiene fluido (no mostrada). La aplicación de un vacío al extremo trasero (640) de la aguja (632) hace que se saque fluido en la dirección de la flecha A. La longitud total (Z) de la aguja es aproximadamente 350 mm. La segunda región tubular (636) de la aguja (632) tiene una longitud (X) de 310 mm, un DE de 1,4 mm y un diámetro interno de 1,2 mm. La primera región tubular (634) de la aguja (632) tiene una longitud (Y) de 40 mm, un diámetro externo de 0,9 mm y un diámetro interno de 0,6 mm.

65

Son posibles diferentes disposiciones de la primera región tubular y la segunda región tubular. Algunos ejemplos se

facilitan en las Figuras 7 a 10.

En la aguja de muestreo (732) de la Figura 7, una primera región tubular (delantera) (734) y una segunda región tubular (trasera) (736) están conectadas mediante una región de grosor decreciente (735).

En la aguja de muestreo (832) de la Figura 8, una primera región tubular (delantera) (834) y una segunda región tubular (trasera) (836) están descentradas la una con respecto a la otra.

En la aguja de muestreo (932) de la Figura 9, una primera región tubular (delantera) (934) y una segunda región tubular (trasera) (936) están descentradas la una con respecto a la otra. La primera región tubular (delantera) (934) y la segunda región tubular (trasera) (936) están conectadas mediante una región de grosor decreciente (935).

En la aguja de muestreo (1032) de la Figura 10, una primera región tubular (delantera) (1034) está conectada con una segunda región tubular (trasera) (1036) y la primera región tubular (delantera) se estrecha desde un extremo delantero (1038), que proporciona un punto afilado para la inserción en un sujeto, hasta la región (1035) en la que la primera región tubular (delantera) (1034) conecta con la segunda región tubular (trasera) (1036).

Las agujas de muestreo de las Figuras 6 a 10 pueden conectarse a un aparato de recuperación de muestras convencional que incluye uno o más de un transductor de ultrasonidos, una bomba de vacío, tubo de aspiración, tubo de lavado, un tubo de recogida, un tapón para el tubo de recogida, una bomba de vacío, una jeringuilla, una guía de aguja, un agarre de alas de sujeción y conectores para conectar el tubo con uno o más de el tubo de recogida, bomba de vacío y jeringuilla tal como aquellos descritos en relación con las Figuras 1 a 5. Las agujas de muestreo de las Figuras 6 a 10 también pueden comprender una disposición de calentamiento para reducir la reducción de temperatura de la muestra durante y/o tras la recuperación.

Un procedimiento a modo de ejemplo de recuperación de una muestra de un sujeto, tal como la recuperación de un ovocito de un sujeto, comprende la inserción de la aguja de muestreo (632) según la Figura 6 en un sujeto. El extremo trasero de la aguja (640) está conectado a un vacío mediante un recipiente de recogida. El extremo delantero de la aguja (638) se inserta en el sitio de la muestra que va a recuperarse del sujeto en el que para la recuperación de ovocitos el sitio es un folículo ovárico. Sólo una parte o toda de la primera región tubular (634) de la aguja de muestreo (632) penetra en el sitio de la muestra. La segunda región tubular (636) no penetra en el sitio de la muestra, por ejemplo el tejido del sujeto. Usando un aparato de vacío convencional se aplica un vacío al extremo trasero (640) de la aguja de muestreo (632) y esto hace que la muestra entre en la aguja en la dirección de la flecha A. La muestra entra en el recipiente de recogida (no mostrado) por el extremo trasero (640) de la aguja de muestreo (632).

Las agujas de muestreo según las Figuras 7 a 10 también pueden usarse en un procedimiento de recuperación de una muestra de un sujeto como se describe en este documento.

Análisis de agujas según la presente invención

Las agujas según la invención se analizaron en un entorno de laboratorio y en un entorno clínico.

Análisis de laboratorio

Se analizaron el tiempo de aspiración y el cambio de temperatura de una muestra que se recupera usando (a) una aguja fina, (b) una aguja según la presente invención, (c) una aguja estándar y (d) una aguja estándar ajustada. Las dimensiones de las agujas se proporcionan en la Tabla 1.

Tabla 1:

	Dimensiones	Aguja			
		(a) Aguja fina	(b) Aguja según la invención	(c) Aguja estándar	(d) Aguja estándar ajustada
Primera región tubular (que comprende el extremo delantero)	Longitud (mm)	n/a	40	n/a	n/a
	Diámetro externo (mm)	n/a	0,9	n/a	n/a
	Diámetro interno (mm)	n/a	0,6	n/a	n/a
Segunda región tubular (que comprende el extremo trasero)	Longitud (mm)	n/a	300	n/a	n/a
	Diámetro externo (mm)	n/a	1,4	n/a	n/a
	Diámetro interno (mm)	n/a	1,2	n/a	n/a
Longitud completa de la aguja	Longitud (mm)	350	n/a	355	350
	Diámetro externo (mm)	0,8	n/a	1,4	1,4
	Diámetro interno (mm)	0,6	n/a	1,0	1,2
n/a: no aplicable					

Se estudió el efecto de las dimensiones de la aguja sobre el tiempo de aspiración de muestras de diferentes

viscosidades. Las muestras usadas fueron agua adecuada para inyección *in vivo* ('agua para inyección' (API)), disolución de hialuronato de sodio ($0,2 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$) y disolución de hialuronato de sodio ($0,4 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$). La disolución de hialuronato de sodio se preparó disolviendo hialuronato de sodio en API.

5 Una bomba de vacío (Rocket de Londres, 240 V, 30 W, 50 Hz) se ajustó a -102 mm de Hg ($-13,6 \text{ kPa}$) y se comprobó con un medidor de presión calibrado antes de cada prueba. Una aguja se conectó a la bomba de vacío con 400 mm de tubo (DI $1,35 \text{ mm}$) y a un tubo de ensayo de 50 ml usando un trozo de 180 cm de longitud de tubo de PVC con un DI de $1,35 \text{ mm}$. El tubo de ensayo (conectado a la aguja) se colocó en un bloque térmico sobre una mesa con el fin de mantener una distancia constante entre el tubo de ensayo y el suelo para todas las pruebas. El bloque térmico se ajustó a una temperatura deseada o se apagó. La aguja se mantuvo verticalmente durante toda la prueba. Se puso en marcha un temporizador cuando la aguja se insertó en un recipiente que contenía la muestra a temperatura ambiente.

15 Para la prueba del efecto de la dimensión de la aguja sobre el tiempo de aspiración de API, el temporizador se detuvo cuando 20 ml de la muestra se habían transferido al tubo de ensayo y la prueba se repitió 5 veces para cada aguja en una secuencia al azar. Se usaron tres agujas de cada tipo. La temperatura de la muestra se mantuvo a $20 \pm 2^\circ\text{C}$.

20 Para la prueba del efecto de la dimensión de la aguja sobre el tiempo de aspiración de disoluciones de hialuronato de sodio, el temporizador se detuvo cuando 10 ml de la muestra se habían transferido al tubo de ensayo. La prueba se repitió 5 veces para cada aguja en una secuencia al azar. Se usaron dos agujas de cada tipo. La temperatura de la muestra se mantuvo a $21 \pm 1^\circ\text{C}$.

25 Como se muestra en la Figura 11 y la Tabla 2, el tiempo de aspiración de muestras de API aspirada usando la aguja de la invención (aguja (b)) es mucho más corto que el tiempo de aspiración usando una aguja fina (aguja (a)). La aguja estándar (aguja (c)) fue ligeramente mejor porque el tiempo de aspiración para 20 ml de API fue 35 segundos en comparación con 43 segundos para la aguja según la presente invención (aguja (b)). La aguja ajustada (aguja (d)) tuvo el tiempo de aspiración más rápido (se aspiraron 20 ml en 24 segundos) como era de esperar ya que tiene el mayor diámetro interno ($1,2 \text{ mm}$) en toda la aguja completa.

30 Tabla 2: Tiempos de aspiración medios de muestras de API usando las agujas (a), (b), (c) y (d). Las dimensiones de las agujas (a), (b), (c) y (d) se facilitan en la Tabla 1, los datos sin procesar se facilitan en el Apéndice 1.

	Aguja			
	(a) Aguja fina	(b) Aguja según la invención	(c) Aguja estándar	(d) Aguja estándar ajustada
Tiempo de aspiración medio de 20 ml de API	189 s	43 s	35 s	24 s

35 La disolución de hialuronato de sodio es más viscosa que el API. Una mayor concentración de disolución de hialuronato de sodio es más viscosa que una menor concentración de disolución de hialuronato de sodio. Como se muestra en las Figuras 12 y 13, el tiempo de aspiración de $0,2 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ de disolución de hialuronato de sodio y $0,4 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ de disolución de hialuronato de sodio usando la aguja de la invención (aguja (b)) es mucho más corto que el tiempo de aspiración usando una aguja fina (aguja (a)) (Tabla 3) y (Tabla 4). La diferencia más marcada en el tiempo de aspiración fue entre la aguja fina (agujas (a)) y las otras agujas (agujas (b), (c) y (d)). A la mayor concentración de hialuronato de sodio (es decir, la disolución más viscosa) no hubo diferencia significativa entre el tiempo de aspiración para la aguja de la invención (aguja (b)) y el tiempo de aspiración para la aguja estándar (aguja (d)). Hubo una diferencia significativa (prueba de la *t* de Student (Apéndice 1)) entre el tiempo necesario para aspirar hialuronato de sodio ($0,2 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$) usando las agujas (a), (c) y (d) cuando se comparó con la aguja según la invención (aguja (b)). Aún así, la diferencia entre la aguja de la invención (aguja (b)) y la aguja estándar (aguja (c)) no tiene repercusión práctica cuando se aspiran $0,2 \text{ g/l}$ de disolución de hialuronato de sodio, ya que la diferencia sólo implica un aumento de 40 segundos a 42 segundos. El tamaño de muestra clínica normal es, para el caso de una aspiración de ovocitos, aproximadamente 3 a 8 ml y más comúnmente aproximadamente 3 a 5 ml . La aspiración en este experimento se hizo con 10 ml , que significa que la aspiración de la mitad del volumen que es el caso clínico de una aspiración de ovocitos generaría en este entorno experimental una diferencia en el tiempo de sólo aproximadamente 1 segundo.

45 Tabla 3: Tiempos de aspiración medios de muestras de hialuronato de sodio ($0,2 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$) usando las agujas (a), (b), (c) y (d). Las dimensiones de las agujas (a), (b), (c) y (d) se facilitan en la Tabla 1.

	Aguja			
	(a) Aguja fina	(b) Aguja según la invención	(c) Aguja estándar	(d) Aguja estándar ajustada
Tiempo de aspiración medio de 10 ml de $0,2 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ de hialuronato de Na	267 s	42 s	40 s	26 s

Tabla 4: Tiempos de aspiración medios de muestras de hialuronato de sodio ($0,4 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$) usando las agujas (a), (b), (c) y (d). Las dimensiones de las agujas (a), (b), (c) y (d) se facilitan en la Tabla 1.

	Aguja			
	(a) Aguja fina	(b) Aguja según la invención	(c) Aguja estándar	(d) Aguja estándar ajustada
Tiempo de aspiración medio de 10 ml de $0,4 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ de hialuronato de Na	635 s	82 s	81 s	50 s

5 Con el fin de probar el efecto de la dimensión de la aguja sobre la temperatura de la muestra que se aspira, un baño de agua se calentó a una temperatura de recuperación de la muestra de $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ y un bloque térmico se calentó a una temperatura de descarga de la muestra de tanto $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$ como $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Un tubo de ensayo de 50 ml que contenía 20 ml de agua se colocó en el bloque térmico con el fin de normalizar la temperatura. La temperatura se comprobó con un termómetro calibrado (Vi No 017-69) antes de cada prueba. El temporizador se puso en marcha al mismo tiempo que la aguja se colocó en el baño de agua con agua calentada ($37 \pm 0,5^\circ\text{C}$). Cuando se habían aspirado 20 ml de agua calentada en el tubo de ensayo, el temporizador se detuvo, la aguja se sacó del agua y 20 segundos después de sacarse la aguja se determinó la temperatura del agua dentro del tubo de ensayo. Se determinó la diferencia de temperatura antes y después de la aspiración.

15 La prueba se repitió 5 veces para cada aguja en una secuencia al azar. Después de cada prueba, las agujas se lavaron con agua a temperatura ambiente. Se usaron cuatro tubos Falcon de 50 ml como tubo de ensayo para el experimento para asegurar que cada prueba se empezara con un tubo a temperatura ambiente. Se usaron dos agujas de cada tipo. La Figura 14 muestra que la reducción en la temperatura de muestras de 20 ml de API cuando se aspiraron a una temperatura de recuperación de 37°C y se descargaron a un tubo de ensayo incubado a 25°C no se diferenció de cuando se aspiraron con una aguja según la invención (aguja (b)) y con una aguja estándar (aguja (c)). Para las dos agujas (b) y (c), la temperatura de la muestra se redujo $2,6^\circ\text{C}$ (entre el punto de recuperación y el punto de descarga) para ambas agujas a pesar de que la aguja estándar (aguja (c)) aspiraba a un tiempo de aspiración más rápido que la aguja de la invención (aguja (b)). La aguja fina (aguja (a)) indujo la mayor pérdida de temperatura como era de esperar debido al mayor tiempo de aspiración. Hubo una diferencia significativa (prueba de la t de Student entre la reducción de temperatura de muestras de API cuando se aspiraron de una temperatura de recuperación de 37°C a una temperatura de recuperación de 25°C con la aguja de la invención (aguja (b)) en comparación con la aguja fina (aguja (a)) y la aguja estándar ajustada (aguja (d)). No hubo diferencia significativa entre la reducción de temperatura de muestras aspiradas con una aguja de la invención (aguja (b)) y la aguja estándar (aguja (c)).

30 La Figura 15 muestra que la reducción en la temperatura de muestras de 20 ml de API cuando se aspiraron de una temperatura de recuperación de 37°C y se descargaron a un tubo de ensayo incubado a 37°C fue inferior a la reducción en la temperatura cuando la temperatura de recuperación fue 37°C y el tubo de ensayo se incubó a 25°C . Estos datos muestran que las muestras recuperadas usando la aguja de la invención (aguja (b)) mostraron una menor reducción de temperatura que las muestras recuperadas usando la aguja fina (aguja (a)). Parece que las muestras recuperadas con la aguja de la invención (aguja (b)) y la aguja estándar (aguja (a)) muestran la misma reducción en la temperatura a pesar de que la aguja estándar (aguja (a)) aspira más rápido.

40 Los datos muestran que las muestras recuperadas con la aguja de la invención tienen tiempos de aspiración más rápidos y muestran una menor reducción en la temperatura en comparación con agujas finas (DE: 0,8 mm, DI: 0,6 mm). En combinación con el menor nivel de dolor asociado a agujas de diámetro externo pequeño, la aguja de la invención es beneficiosa para uso clínico. Como los ovocitos son recuperados en la práctica en un líquido que tiene una mayor viscosidad que el API, es probable que la recuperación de un ovocito usando una aguja según la invención muestre un tiempo de aspiración tan corto, o casi tan corto, como el de la recuperación usando una aguja estándar.

45 La vagina está a la temperatura corporal (37°C). Por tanto, el uso de una aguja de muestreo mediante la vagina incubará la muestra que se recupera a 37°C durante el paso por la vagina y, por tanto, se reduce la pérdida de temperatura.

50 Análisis clínico

Se comparó clínicamente una aguja de muestreo según la presente invención (aguja (b) de Tabla 1) con una aguja estándar (aguja (c) de la Tabla 1). Las agujas se usaron para recuperar ovocitos de sujetos hembra.

55 En este ensayo clínico participaron dos clínicas de FIV en Suecia. Para cada paciente que participó en la evaluación se usaron dos tipos diferentes de agujas de aspiración. Un ginecólogo usó las agujas por turnos en diferentes lados del útero. Se comparó una aguja según la presente invención (aguja (b)) con una aguja estándar (aguja (c)). Debido al diferente aspecto de las agujas no fue posible el cegado para el ginecólogo. La población en estudio consistió en un número seleccionado de pacientes que recibió tratamiento en las clínicas durante el periodo de tiempo del estudio. Se excluyeron pacientes con operaciones abdominales previas y pacientes con endometriosis conocida. El

procedimiento de aspiración y el procedimiento anestésico se hicieron según procedimientos estándar clínicos y fueron los mismos para ambos grupos.

5 Para asegurar que la aguja no estaba afectando la calidad de los ovocitos también se recogieron los siguientes datos: número de ovocitos maduros recogidos, número de ovocitos con fecundación normal (2PN) y desarrollo embrionario temprano.

Se informó que las agujas de la invención eran tan utilizables o al menos tan utilizables como la aguja estándar en parámetros que reflejaban una fácil manipulación.

10 Sólo una de las clínicas analizó el desarrollo embrionario de los ovocitos recuperados con cada aguja. Los resultados del análisis se muestran en la Tabla 5 y comprenden 10 pacientes con ovocitos recuperados según el protocolo descrito anteriormente. La tasa de fecundación y el desarrollo embrionario hasta el día 2 para los ovocitos aspirados con una aguja de la invención (aguja (b)) fue normal en comparación con los ovocitos aspirados con la aguja de control (aguja (c)).

Tabla 5:

	Aguja de prueba (aguja (b))	Control (aguja (c))
Tasa de fecundación	57%	54%
Embriones escindidos en el día 2	89%	95%
Embriones de >3 células en el día 2	74%	55%

Este estudio sugiere que la aspiración, es decir, la recuperación, de ovocitos con la aguja según la invención (aguja (b)) no tiene efecto adverso sobre el éxito de la fecundación o el desarrollo embrionario en comparación con la aspiración de ovocitos con una aguja estándar (aguja (c)).

20

Apéndice: Datos sin procesar para las Figuras 11 a 15 y Tablas 2 a 5

Figura 11: Datos sin procesar; tiempo de aspiración (segundos), agua para inyección *in vivo* (API)

Aguja (c): Aguja 1,4/1,0 estándar			
	Aguja 1	Aguja 2	Aguja 3
Prueba 1	35	35	34
Prueba 2	34	35	35
Prueba 3	35	34	35
Prueba 4	35	34	34
Prueba 5	35	35	35
Media:	35	35	35
Media total:	35		

Prueba de la *t* de Student
 1,4/1,2 frente a la invención P<0,001
 0,8/0,6 frente a la invención P<0,001
 1,4/1,0 frente a la invención P<0,001
 1,4/1,0 frente a 1,4/1,2 P<0,001
 1,4/1,0 frente a 0,8/0,6 P<0,001

Aguja (a): Aguja 0,8/0,6 fina			
	Aguja 1	Aguja 2	Aguja 3
Prueba 1	190	188	187
Prueba 2	190	187	189
Prueba 3	191	189	187
Prueba 4	192	190	189
Prueba 5	193	189	188
Media:	191	189	188
Media total:	189		

Aguja (b): Aguja de la invención			
	Aguja 1	Aguja 2	Aguja 3
Prueba 1	43	43	42
Prueba 2	43	43	43
Prueba 3	44	44	42
Prueba 4	43	44	42
Prueba 5	43	43	42
Media:	43	43	42
Media total:	43		

Aguja (d): Aguja 1,4/1,2 ajustada			
	Aguja 1	Aguja 2	Aguja 3
Prueba 1	24	24	23
Prueba 2	24	23	24
Prueba 3	23	23	24

Prueba 4	23	24	23
Prueba 5	24	23	24
Media:	24	23	24
Media total:	24		

Figura 12: Datos sin procesar; tiempo de aspiración (segundos), hialuronato de sodio (0,2 g/l)

Aguja (c): Aguja 1,4/1,0 estándar		
	Aguja 1	Aguja 2
Prueba 1	40	41
Prueba 2	40	40
Prueba 3	40	39
Prueba 4	40	39
Prueba 5	41	39
Media:	40	40
Media total:	40	

Prueba de la *t* de Student
 1,4/1,2 frente a la invención P<0,001
 0,8/0,6 frente a la invención P<0,001
 1,4/1,0 frente a la invención P<0,001
 1,4/1,0 frente a 1,4/1,2 P<0,001
 1,4/1,0 frente a 0,8/0,6 P<0,001

Aguja (a): Aguja 0,8/0,6 fina		
	Aguja 1	Aguja 2
Prueba 1	268	267
Prueba 2	267	260
Prueba 3	269	264
Prueba 4	270	265
Prueba 5	269	269
Media:	269	265
Media total:	267	

Aguja (b): Aguja según la invención		
	Aguja 1	Aguja 2
Prueba 1	43	42
Prueba 2	43	41
Prueba 3	43	41
Prueba 4	42	41
Prueba 5	42	41
Media:	43	41
Media total:	42	

Aguja (d): Aguja 1,4/1,2 ajustada		
	Aguja 1	Aguja 2
Prueba 1	27	25
Prueba 2	27	25
Prueba 3	26	25
Prueba 4	26	25
Prueba 5	26	25
Media:	26	25
Media total:	26	

5 Figura 13: Datos sin procesar; tiempo de aspiración (segundos), hialuronato de sodio (0,4 g/l)

Aguja (c): Aguja 1,4/1,0 estándar		
	Aguja 1	Aguja 2
Prueba 1	80	82
Prueba 2	79	81
Prueba 3	80	81
Prueba 4	80	82
Prueba 5	81	81
Media:	80	81
Media total:	81	

Prueba de la *t* de Student
 1,4/1,2 frente a la invención P<0,001
 0,8/0,6 frente a la invención P<0,001
 1,4/1,0 frente a la invención P=0,213
 1,4/1,0 frente a 1,4/1,2 P<0,001
 1,4/1,0 frente a 0,8/0,6 P<0,001

Aguja (a): Aguja 0,8/0,6 fina		
-------------------------------	--	--

	Aguja 1	Aguja 2
Prueba 1	647	636
Prueba 2	655	622
Prueba 3	660	621
Prueba 4	639	617
Prueba 5	637	618
Media:	648	623
Media total:	635	

Aguja (b): Aguja según la invención		
	Aguja 1	Aguja 2
Prueba 1	80	82
Prueba 2	79	83
Prueba 3	80	84
Prueba 4	81	83
Prueba 5	80	83
Media:	80	83
Media total:	82	

Aguja (d): Aguja 1,4/1,2 ajustada		
	Aguja 1	Aguja 2
Prueba 1	50	49
Prueba 2	50	50
Prueba 3	50	49
Prueba 4	50	50
Prueba 5	50	50
Media:	50	50
Media total:	50	

Figura 14: Datos sin procesar; prueba de cambio de la temperatura de aspiración; 20 ml de API a 37°C a 25°C

Aguja (c): Aguja 1,4/1,0 estándar		
	Aguja 1	Aguja 2
Prueba 1	2,6	2,6
Prueba 2	2,4	2,8
Prueba 3	2,6	2,7
Prueba 4	2,5	2,7
Prueba 5	2,5	2,6
Media:	2,5	2,7
Media total:	2,6	

Prueba de la *t* de Student
 1,4/1,2 frente a la invención P<0,001
 0,8/0,6 frente a la invención P<0,001
 1,4/1,0 frente a la invención P=0,412
 1,4/1,0 frente a 1,4/1,2 P<0,001
 1,4/1,0 frente a 0,8/0,6 P<0,001

Aguja (a): Aguja 0,8/0,6 fina		
	Aguja 1	Aguja 2
Prueba 1	4,3	3,9
Prueba 2	4,1	4,1
Prueba 3	4,2	4,0
Prueba 4	4,0	3,9
Prueba 5	4,1	4,0
Media:	4,1	4,0
Media total:	4,1	

Aguja (b): Aguja según la invención		
	Aguja 1	Aguja 2
Prueba 1	2,7	2,6
Prueba 2	2,8	2,5
Prueba 3	2,7	2,5
Prueba 4	2,7	2,6
Prueba 5	2,7	2,6

Media:	2,7	2,6
Media total:	2,6	

Aguja (d): Aguja 1,4/1,2 ajustada		
	Aguja 1	Aguja 2
Prueba 1	1,4	1,5
Prueba 2	1,8	1,5
Prueba 3	1,5	1,4
Prueba 4	1,9	1,3
Prueba 5	1,4	1,3
Media:	1,6	1,4
Media total:	1,5	

Figura 15: Datos sin procesar; prueba de cambio de la temperatura de aspiración; 20 ml de API a 37°C a 37°C

Aguja (c): Aguja 1,4/1,0 estándar		
	Aguja 1	Aguja 2
Prueba 1	1,5	1,6
Prueba 2	1,6	1,5
Prueba 3	1,5	1,5
Prueba 4	1,4	1,3
Prueba 5	1,3	1,3
Media:	1,5	1,4
Media total:	1,5	

Prueba de la *t* de Student
 1,4/1,2 frente a la invención P<0,001
 0,8/0,6 frente a la invención P<0,001
 1,4/1,0 frente a la invención P=0,274
 1,4/1,0 frente a 1,4/1,2 P<0,001
 1,4/1,0 frente a 0,8/0,6 P<0,001

Aguja (a): Aguja 0,8/0,6 fina		
	Aguja 1	Aguja 2
Prueba 1	2,5	2,9
Prueba 2	2,6	2,6
Prueba 3	2,3	2,6
Prueba 4	2,7	2,6
Prueba 5	2,5	2,6
Media:	2,5	2,7
Media total:	2,6	

Aguja (b): Aguja de la presente invención		
	Aguja 1	Aguja 2
Prueba 1	1,4	1,7
Prueba 2	1,3	1,4
Prueba 3	1,3	1,4
Prueba 4	1,3	1,4
Prueba 5	1,3	1,4
Media:	1,3	1,5
Media total:	1,4	

Aguja (d): Aguja 1,4/1,2 ajustada		
	Aguja 1	Aguja 2
Prueba 1	1,2	0,9
Prueba 2	1,2	0,8
Prueba 3	1,2	0,8
Prueba 4	1,2	0,9
Prueba 5	1,2	0,8
Media:	1,2	0,8
Media total:	1,0	

- 5 Comparación del efecto de las dimensiones de las agujas sobre la fecundación y el desarrollo embrionario de ovocitos recogidos usando una aguja de control (aguja (c): diámetro externo 1,4 mm, diámetro interno 1,0 mm) y una aguja de prueba según la invención (aguja (b)).

Tratamiento nº	Aguja (ensayo o control = una única luz)	Procedimiento de fecundación (ICSI o FIV)	Fecundación					Día de desarrollo 2					
			Nº de ovocitos recogidos	Nº de ovocitos maduros (MII) (en el caso de ICSI)	Nº de ovocitos fecundados (suma de 1, 2 y 3 PN)	Nº de 2 PN	Nº de embriones escindidos	Nº de embriones de 2 células	Nº de embriones de 3 células	Nº de embriones de 4 células	embriones de > 4 células		
1b	c	FIV	2		2	1	1	1					
2a	c	FIV	4		3	2	2	2	1	1			
3b	c	FIV	3		3	3	3	3	1			2	
4a	c	FIV	1		1	1	1	1	1			1	
5a	c	FIV	7		4	4	4	4	4				
6b	c	FIV	3		2	2	2	1				1	
7a	c	ICSI (TESA)	3	2	1	1	1	1	1				
8a	c	ICSI	6	3	2	2	2	2				2	
9b	c	FIV	11	5	5	5	5					4	1
10a	c	ICSI (TESA)	6	5	1	1	1	1				1	
			46	41		22	22	21	8	1		11	1
1a	t	FIV	1		1	1	1	1	1				
2b	t	FIV	6		5	5	5	5	1			3	1
3a	t	FIV	3		2	2	2	2				2	
4b	t	FIV	3		3	3	3	3				2	1
5b	t	FIV	4		3	3	3	3	2			1	
6a	t	FIV	5		2	2	2	1				1	
7b	t	ICSI (TESA)	3	3	0	0	0	0					
8b	t	ICSI	8	6	4	4	4	4				3	1
9a	t	FIV	10		6	6	6	4				4	
10b	t	ICSI (TESA)	7	6	1	1	1	1				1	
				50	47			27	24	4		0	17

REIVINDICACIONES

1. Una aguja de recuperación de ovocitos vaginales (632) que comprende una primera región tubular (634) en comunicación fluida con una segunda región tubular (636), comprendiendo la primera región tubular (634) un extremo delantero (638) para la inserción en un sujeto y comprendiendo la segunda región tubular (636) un extremo trasero (640) para la comunicación fluida con un medio para recibir un fluido, en la que la primera región tubular (634) tiene un diámetro externo que es inferior al diámetro externo de la segunda región tubular (636) y la primera región tubular (634) tiene un diámetro interno que es inferior al diámetro interno de la segunda región tubular (636), en la que la segunda región tubular (636) tiene una longitud adaptada para atravesar en uso una vagina para ponerse en contacto con un tejido en el que está localizado un ovocito y la primera región tubular (634) tiene una longitud adaptada para penetrar en uso en el tejido con el fin de ponerse en contacto con el ovocito sin que la segunda región tubular (636) penetre en el tejido.
2. Una aguja de recuperación de ovocitos vaginales (632) según la reivindicación 1, en la que la aguja (632) está formada por un único trozo de material.
3. Una aguja de recuperación de ovocitos vaginales (632) según la reivindicación 1 ó 2 que es una aguja de recuperación de ovocitos humanos.
4. Una aguja de recuperación de ovocitos vaginales (632) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que el diámetro interno de la primera región tubular (634) es mayor que o igual a aproximadamente 0,2 mm, preferentemente mayor que o igual a aproximadamente 0,4 mm, lo más preferentemente mayor que o igual a aproximadamente 0,6 mm.
5. Una aguja de ovocitos vaginales (632) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que el diámetro interno de la segunda región tubular (636) es mayor que o igual a aproximadamente 0,9 mm, preferentemente mayor que o igual a aproximadamente 1,1 mm, lo más preferentemente mayor que o igual a aproximadamente 1,2 mm.
6. Una aguja de recuperación de ovocitos vaginales (632) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que el diámetro externo de la primera región tubular (634) es de 0,6 mm a 1,2 mm, preferentemente de 0,8 mm a 1,0 mm, lo más preferentemente aproximadamente 0,9 mm.
7. Una aguja de recuperación de ovocitos vaginales (632) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que el diámetro externo de la segunda región tubular (636) es mayor que o igual a aproximadamente 1,1 mm, preferentemente mayor que o igual a aproximadamente 1,2 mm, lo más preferentemente mayor que o igual a aproximadamente 1,4 mm.
8. Una aguja de recuperación de ovocitos vaginales (632) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la que la primera región tubular (634) y la segunda región tubular (636) están conectadas mediante una región de grosor decreciente.
9. Una aguja de recuperación de ovocitos vaginales (632) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en la que la primera y la segunda región tubular (634, 636) tienen una longitud combinada de 150 mm a 500 mm, preferentemente de 200 mm a 400 mm.
10. Una aguja de recuperación de ovocitos vaginales (632) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en la que la longitud de la primera región tubular (634) es mayor que o igual a aproximadamente 30 mm, preferentemente mayor que o igual a aproximadamente 40 mm, y en la que la longitud de la primera región tubular (634) es inferior a o igual a aproximadamente 100 mm, preferentemente inferior a o igual a aproximadamente 60 mm.
11. Una aguja de recuperación de ovocitos vaginales (632) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en la que la primera región tubular (634) está formada por uno o más materiales seleccionados de acero inoxidable, fibra de carbono, plásticos duros, cerámica y vidrio, y está preferentemente formada por uno o más aceros inoxidables seleccionados de AISI 304, AISI 316, SIS 2346 y SIS 2543.
12. Una aguja de recuperación de ovocitos vaginales (632) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en la que la segunda región tubular (636) comprende un material seleccionado de acero inoxidable, fibra de carbono, plásticos duros, cerámica y vidrio, y preferentemente comprende acero inoxidable seleccionado de AISI 304, AISI 316, SIS 2346 y SIS 2543.

13. Una aguja de recuperación de ovocitos vaginales (632) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en la que la aguja (632) es una aguja de una única luz.

14. Una aguja de recuperación de ovocitos vaginales (632) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en 5 que la aguja (632) es una aguja de doble luz.

Figura 1

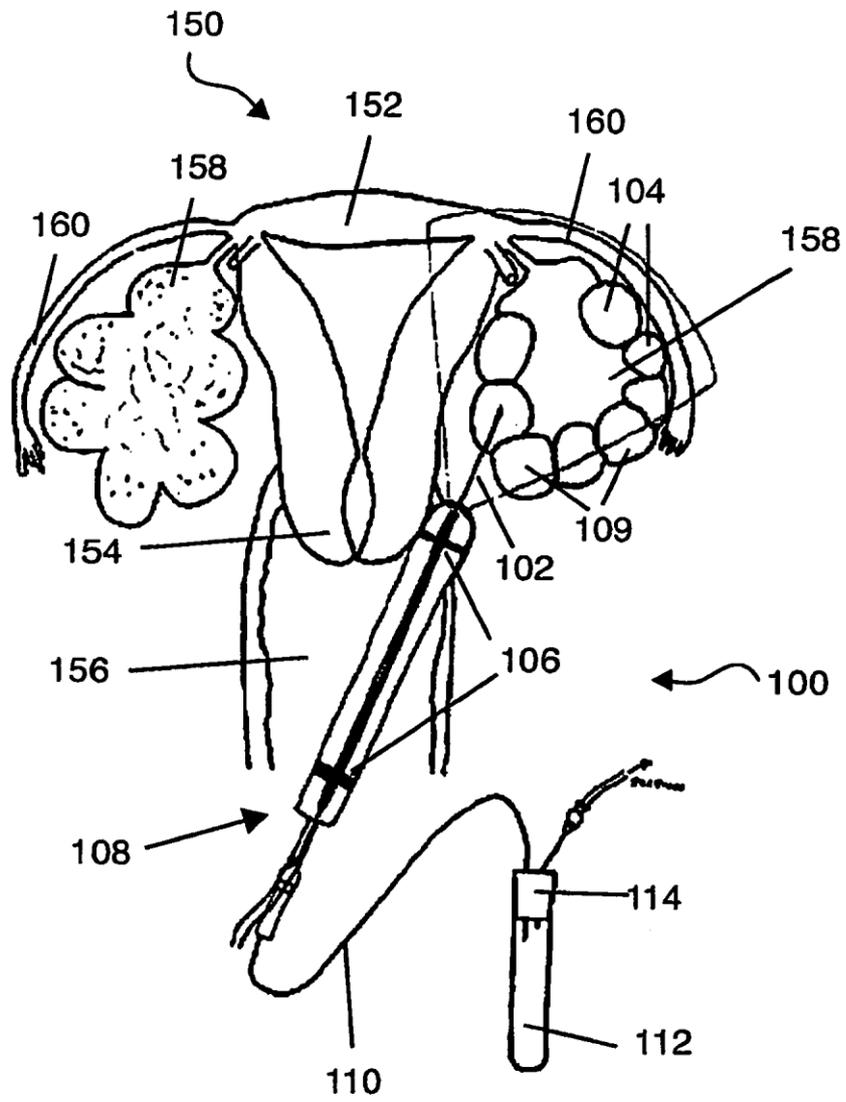


Figura 2

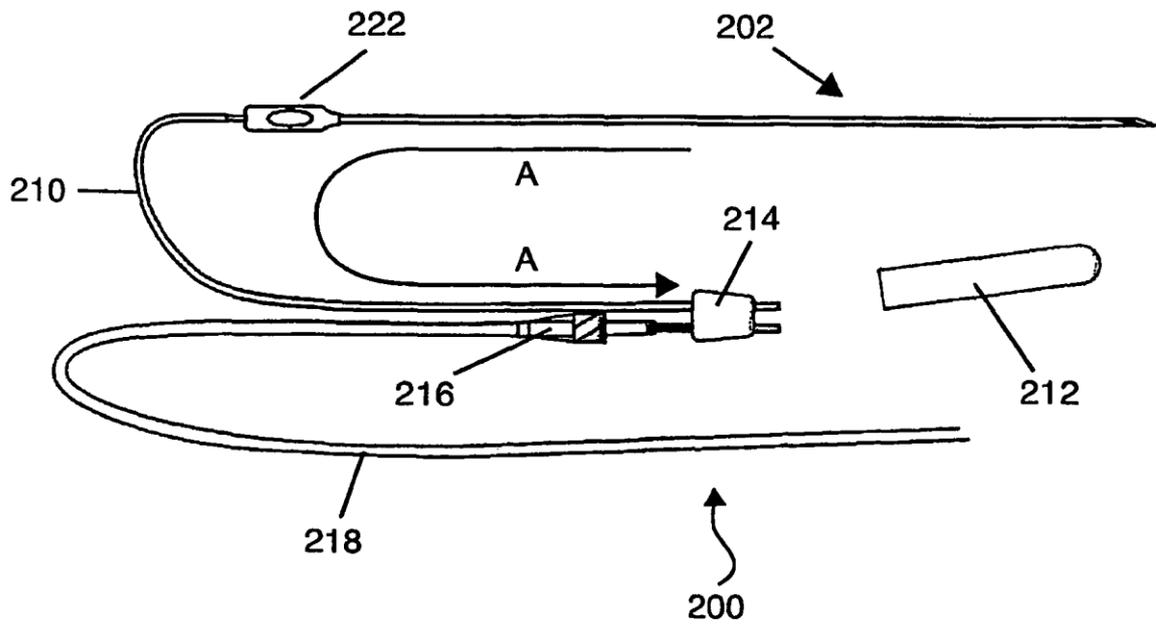


Figura 3

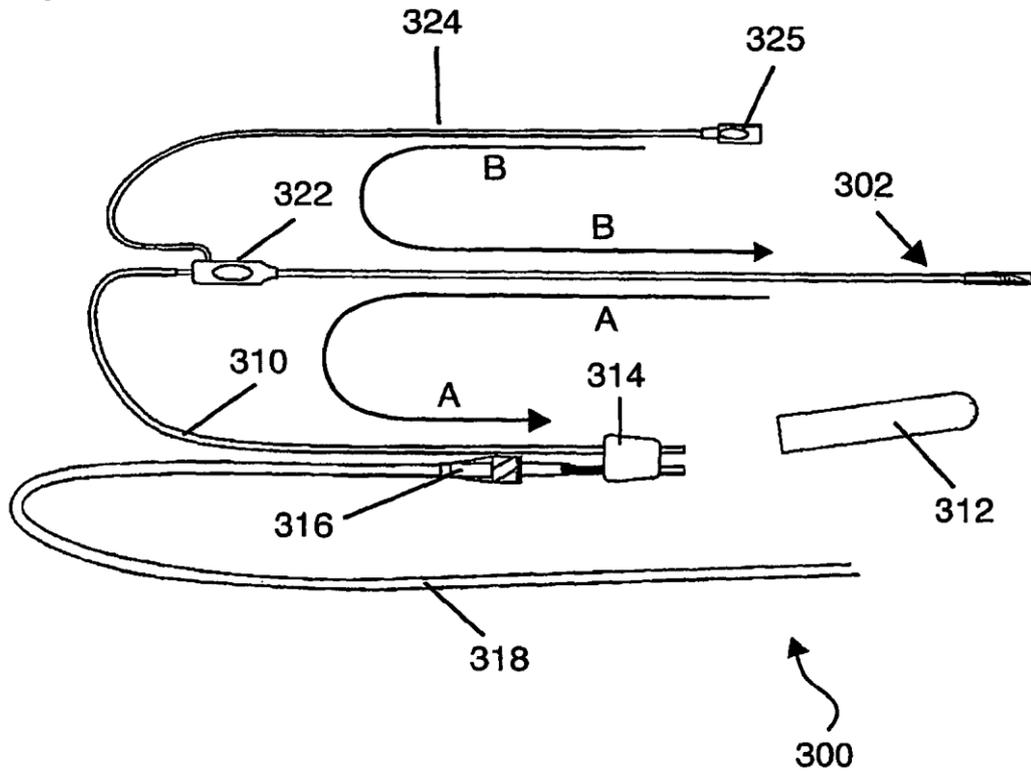


Figura 4

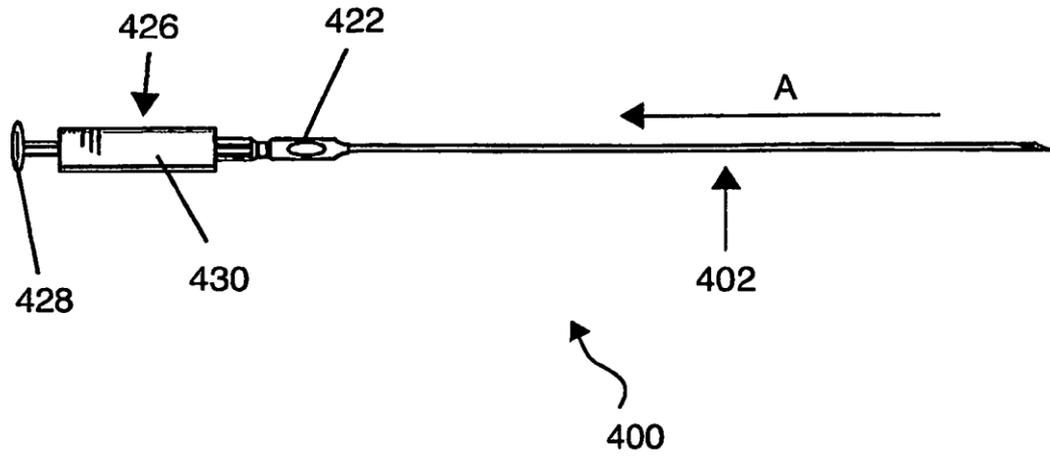


Figura 5

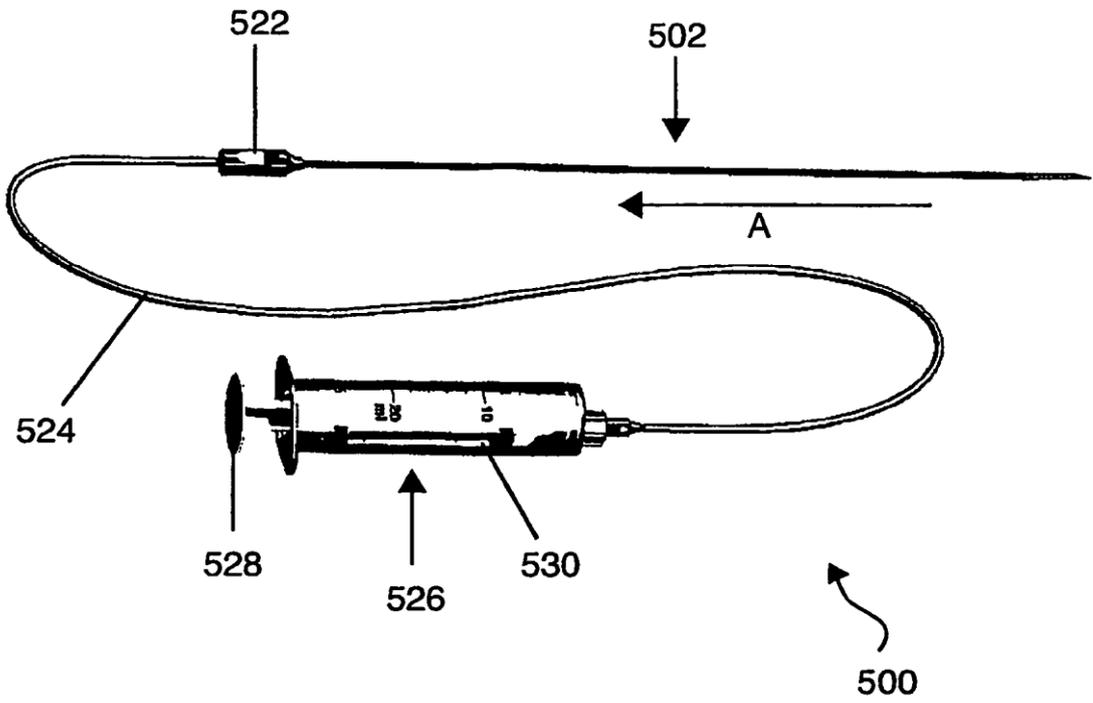


Figura 6

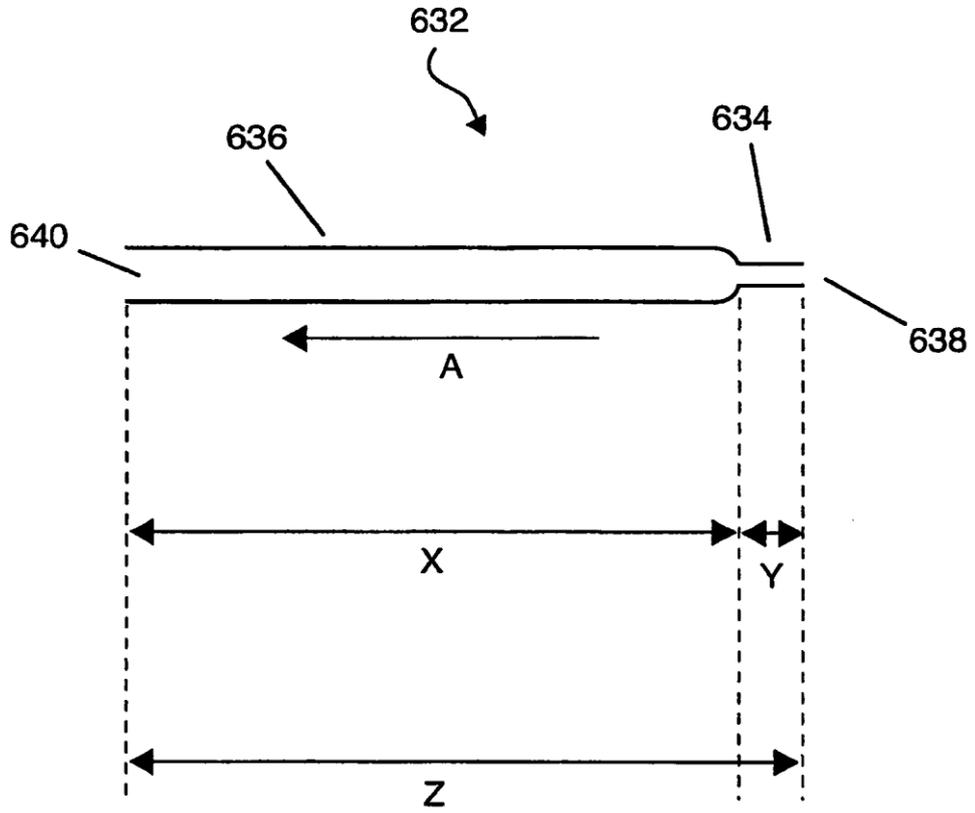


Figura 7

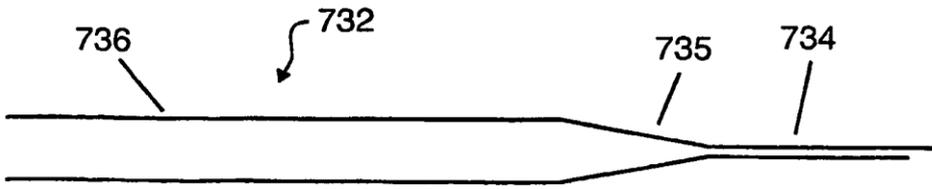


Figura 8

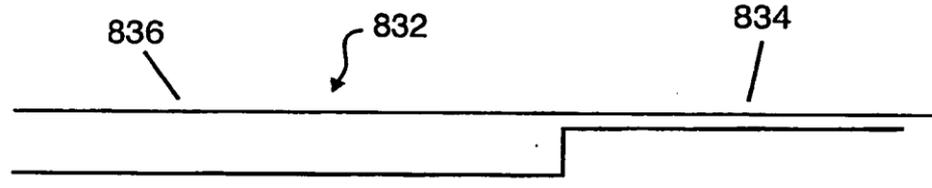


Figura 9

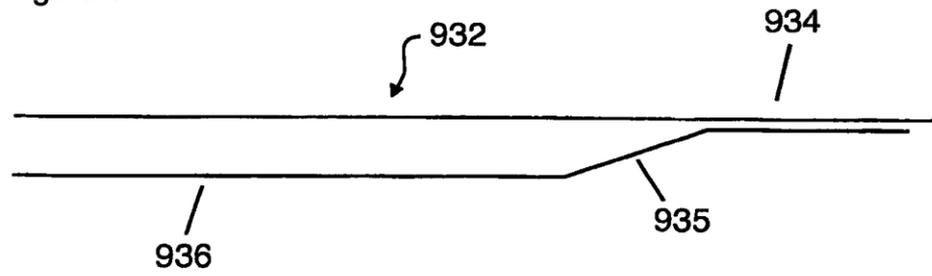


Figura 10

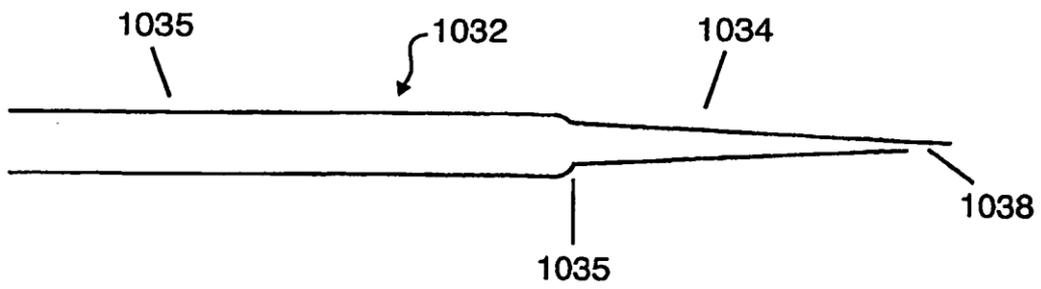


Figura 11

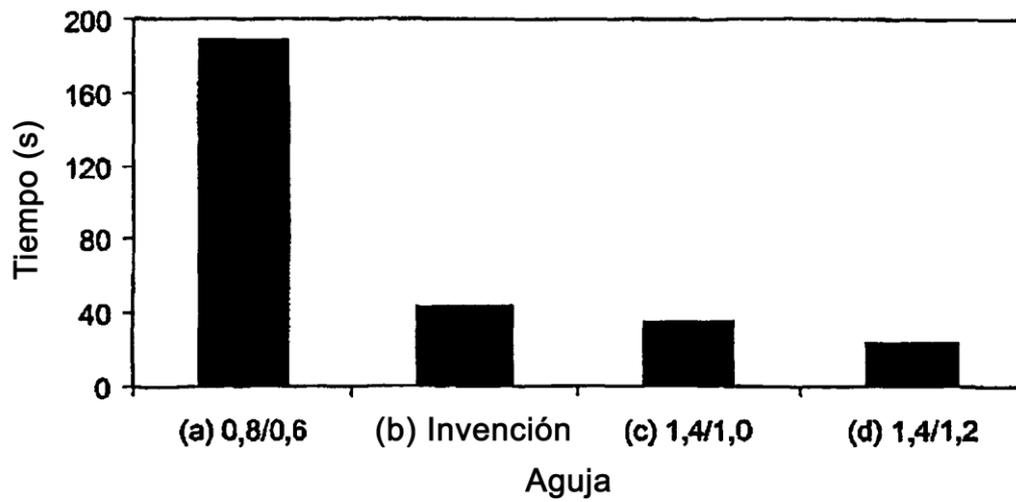


Figura 12

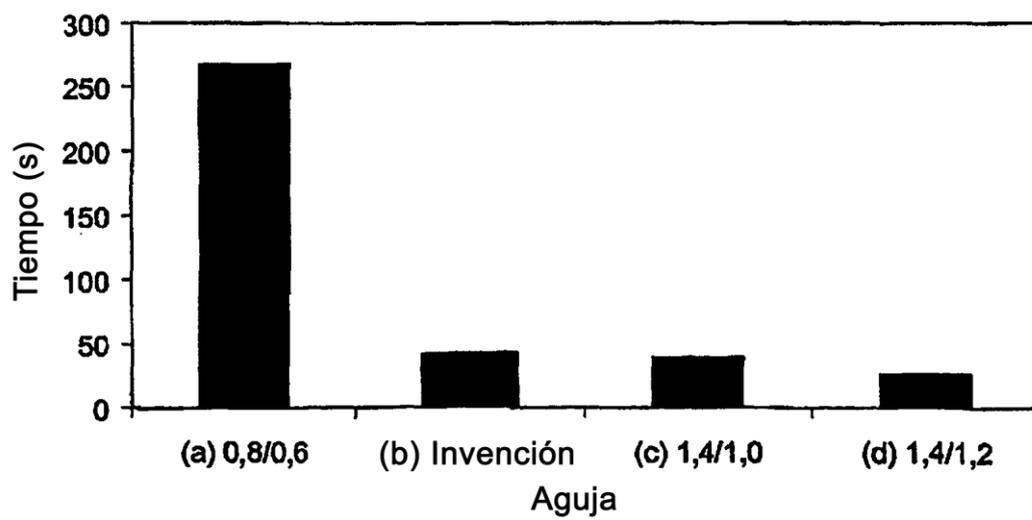


Figura 13

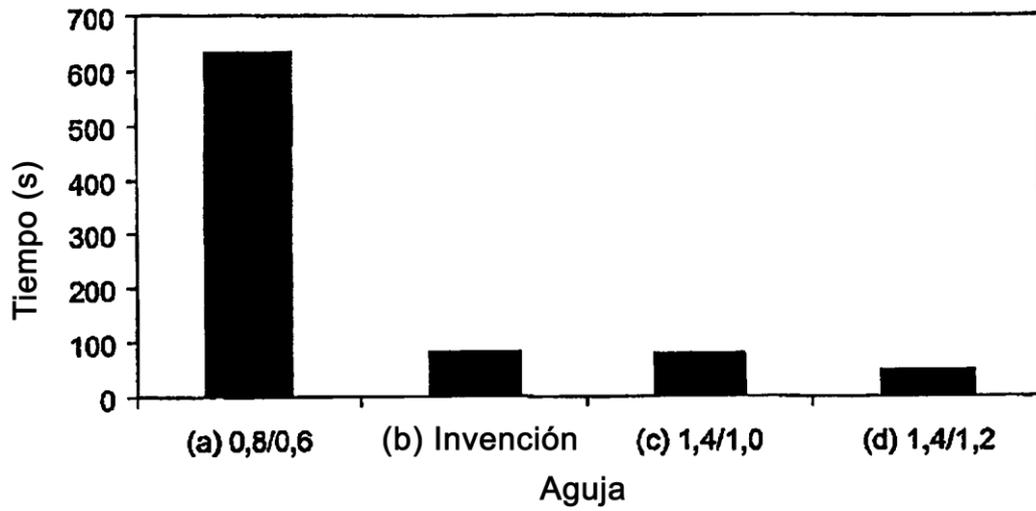


Figura 14

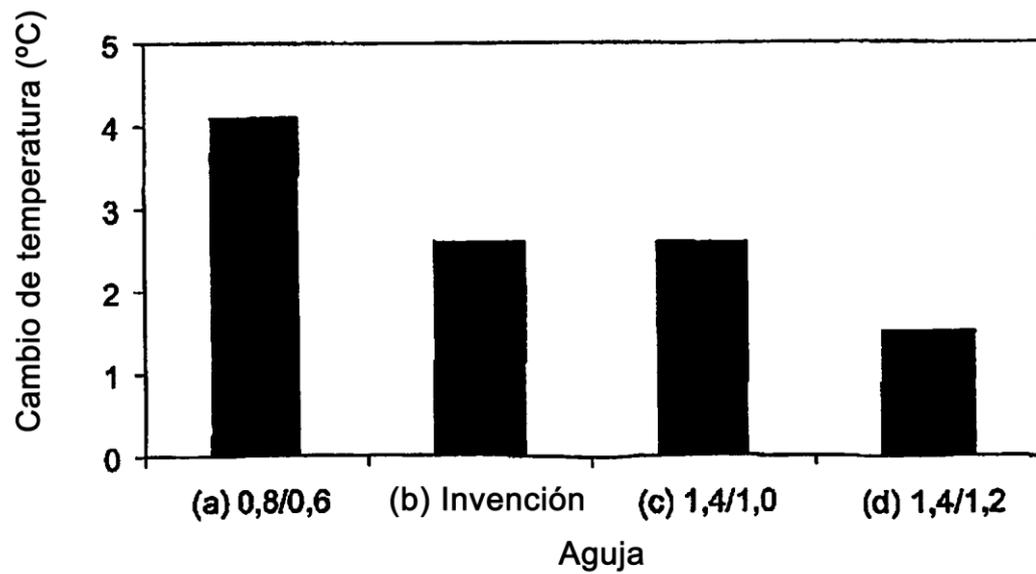


Figura 15

