

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 406 157**

51 Int. Cl.:

C12M 1/34 (2006.01)

G01N 21/51 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.02.2010 E 10712485 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.02.2013 EP 2401354**

54 Título: **Aparato para analizar una muestra biológica**

30 Prioridad:

25.02.2009 IT UD20090047

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

05.06.2013

73 Titular/es:

ALIFAX HOLDING S.P.A. (100.0%)

Via Petrarca 2/1

35020 Polverara (PD), IT

72 Inventor/es:

GALIANO, PAOLO y

MANSUTTI, ALESSANDRO

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 406 157 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

Aparato para analizar una muestra biológica

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a un aparato para analizar una muestra biológica líquida o sólida, en particular para medir el crecimiento bacteriano en cultivo en un medio de cultivo líquido, con el propósito de realizar una búsqueda bacteriológica y de diagnóstico en general, o para medir la turbidez para los fines de una estandarización de McFarland para un ensayo de sensibilidad, para realizar un análisis de la sensibilidad a antibióticos, o antibiograma, de tipo clínico o normal.

10 La muestra biológica a analizar puede ser por ejemplo orina, aspirado bronquial, sangre, sangre diluida o lisada u otra.

Antecedentes de la invención

Un aparato de análisis se conoce del documento WO-A-2006/021519 a nombre del Solicitante de la presente invención, para detectar la presencia y, posiblemente, identificar las bacterias en una muestra biológica, tal como sangre u orina.

15 En el aparato conocido, basándose en la dispersión de la luz, se proporciona un emisor de luz láser que hace impactar a un haz láser sobre un tubo de ensayo o matraz hecho de vidrio o plástico transparente que contiene un líquido de cultivo inoculado con la muestra biológica. La luz difundida por las bacterias en suspensión durante el crecimiento es detectada por sensores adecuados que transmiten las señales relativas a una unidad de procesamiento que determina la presencia de bacterias y, posiblemente, clasifica o identifica las bacterias posiblemente presentes.

20 En este tipo de aparato, que ha demostrado, por su parte, ser eficaz y ventajoso, ha surgido la necesidad de hacer todo más compacto y seguro para el trabajador y para el entorno del trabajador. Esto debido a que el aparato conocido, debido al uso de recipientes o matraces de análisis, conlleva un gran volumen total.

25 Esto también conduce a una alta producción de material potencialmente infectado, que representa un riesgo para el trabajador y requiere un complejo procedimiento de desechado.

Además, dado el cada vez mayor número de análisis requerido, el problema de la productividad de dichos aparatos de análisis es un problema muy urgente.

El objetivo de la presente invención es conseguir un aparato de análisis que permita reducir el volumen operativo y la producción de material potencialmente infectado.

30 El Solicitante ha diseñado, testado y realizado la presente invención para superar las deficiencias del estado de la técnica y para obtener estos y otros objetivos y ventajas.

Sumario de la invención

35 La presente invención se describe y caracteriza en las reivindicaciones independientes, mientras que las reivindicaciones dependientes describen otras características de la invención o variantes de la idea principal de la invención.

De acuerdo con el objetivo anterior, un aparato de análisis de acuerdo con la presente invención se usa para analizar una muestra biológica contenida en un recipiente, en particular pero no solamente para realizar una búsqueda bacteriológica para medir el crecimiento bacteriano para verificar la presencia de bacterias y, posiblemente, para clasificarlas e identificarlas.

40 El aparato de análisis de acuerdo con la presente invención comprende un dispositivo de examen capaz de realizar una medición óptica en la muestra biológica, basándose en la tecnología de dispersión de luz, al menos del crecimiento bacteriano en la muestra biológica. El dispositivo de examen está provisto de medios emisores capaces de emitir un primer haz de luz hacia el recipiente de la muestra biológica y medios sensores capaces de detectar al menos un haz de luz difundido desde el recipiente de la muestra biológica y de transmitir una señal relativa, correlacionada con dicho haz de luz difundido, a una unidad de control que es capaz de procesar dicha señal, directa o indirectamente, para verificar al menos el crecimiento bacteriano, si hubiera alguno, en la muestra biológica.

45 De acuerdo con la presente invención, el recipiente se dispone a lo largo de un plano horizontal determinado y comprende al menos un microelemento de contención capaz de contener al menos una parte de la muestra biológica y dentro del cual se proporciona un medio de cultivo líquido para permitir el crecimiento bacteriano en la muestra biológica.

- 5 Por microelemento de contención, en este caso y en lo sucesivo en la descripción, se entiende un pocillo o micropocillo de una placa o microplaca usada habitualmente en microbiología, una celda o microcelda de lectura, también conocida como cubeta o microcubeta, o en cualquier caso un recipiente con tamaños muy limitados con respecto a los matraces o tubos de ensayo que se usan tradicionalmente, por ejemplo entre 3 mm y 20 mm de altura y entre 3 mm y 20 mm de diámetro nominal.
- De acuerdo con la presente invención, los medios emisores y los medios sensores pueden estar ubicados en cada ocasión de forma correspondiente con el microelemento de contención.
- 10 Los medios sensores comprenden primeros medios sensores dispuestos en el mismo lado que los medios emisores con respecto a dicho plano horizontal y segundos medios sensores dispuestos en el lado opuesto a los medios emisores, siempre con respecto al plano horizontal del recipiente.
- Los primeros medios sensores son capaces de detectar una radiación de retrodispersión procedente del microelemento de contención determinado analizado en cada ocasión, mientras que los segundos medios sensores son capaces de detectar una radiación de dispersión frontal, procedente siempre del microelemento de contención.
- 15 De acuerdo con la presente invención, a partir de dichas radiaciones de retrodispersión y de dispersión frontal se derivan primera y segunda señales respectivas, y se transmiten a la unidad de control. Las señales se usan para verificar el crecimiento bacteriano y todos los análisis necesarios. De acuerdo con una realización, los medios emisores están ubicados de modo que el primer haz de luz golpea el microelemento de contención determinado desde arriba o desde abajo.
- 20 De acuerdo con una variante, los medios emisores están ubicados en vertical con respecto al plano horizontal del recipiente, de modo que el primer haz de luz relativo golpea al microelemento de contención de forma sustancialmente perpendicular.
- Ventajosamente, la combinación particular de las características innovadoras de la presente invención permite un análisis preciso de la muestra usando tecnología de dispersión de luz, independientemente de los tamaños o la forma del recipiente de la muestra, dado que los medios emisores y sensores operan usando un haz de luz que está dirigido verticalmente.
- 25 De acuerdo con otra variante, los medios emisores están ubicados inclinado con respecto al plano horizontal del recipiente, de modo que el primer haz de luz relativo golpea al microelemento de contención con una inclinación deseada con un ángulo diferente de 90° con respecto a una dirección de referencia vertical.
- 30 De acuerdo con una realización ventajosa, el recipiente es una microplaca del tipo usado habitualmente en microbiología (por ejemplo de 96 ó 384 pocillos) que se desarrolla a lo largo del plano horizontal, y dichos microelementos de contención son pocillos relativos dispuestos en filas y columnas a lo largo del plano horizontal.
- Normalmente, cada uno de los microelementos o pocillos tiene una abertura superior para el paso del primer haz de luz y la radiación de retrodispersión, y una pared inferior hecha de material adecuado para permitir el paso de la radiación de dispersión frontal.
- 35 Ventajosamente, cada uno de los pocillos tiene una pared lateral que está oscurecida para impedir la difusión lateral de la luz para no interferir con los otros pocillos adyacentes.
- De acuerdo con una realización, las placas o microplacas están hechas de poliestireno o metacrilato.
- Ventajosamente, los primeros sensores y los segundos sensores están situados, con respecto a una dirección vertical determinada, cada uno a un ángulo definido comprendido entre aproximadamente -90° y +90°.
- 40 Entra dentro del campo de la presente invención usar un dispositivo de examen basado en tecnología de dispersión de luz para detectar una radiación de retrodispersión procedente de un lado de un microelemento de contención que contiene una muestra biológica en suspensión en un medio de cultivo líquido y una radiación de dispersión frontal desde un lado opuesto de dicho microelemento de contención, para medir al menos el crecimiento bacteriano de la muestra biológica contenida en el microelemento de contención.
- 45 Ventajosamente, mediante dicho dispositivo de examen del tipo de dispersión de luz, las curvas de crecimiento de las bacterias posiblemente presentes en la muestra analizada son detectadas en uno o más pocillos de la placa.
- Esta detección, dependiendo de la etapa del análisis en la que se realiza, puede usarse para determinar la presencia de bacterias (ensayo de cultivo rápido), para identificar las bacterias, o para el ensayo de *Raa* (actividad antibiótica residual), para el ensayo de antibiograma clínico u otros ensayos y análisis que requieren este tipo de detección.
- 50 Si la presente invención se aplica para analizar sangre lisada, el aparato opera con haces de luz perpendiculares al micropocillo transparente, para impedir la posible interferencia de los glóbulos lisados.
- Por el contrario, en aplicaciones a líquidos transparentes, donde el desplazamiento óptico mediante lectura paralela

o vertical asume una mayor precisión, es ventajoso usar micropocillos o microcubetas con una pared lateral oscurecida.

5 Una ventaja del uso de microplacas u otros microelementos de contención combinados con detección por dispersión de luz, comparado con recipientes de tipo usado normalmente para dispersión de luz, es que la microplaca puede llenarse adecuadamente con los volúmenes de muestras necesarios, incluyendo reactivos y diversos líquidos para la detección, incluyendo componentes fluorescentes, impidiendo cualquier desperdicio de material.

Además, usando microplacas u otros recipientes similares de tamaño limitado, tales como micromatrices, microcubetas u otro de acuerdo con la presente invención, el volumen del aparato de análisis y la producción de material potencialmente infectado se reducen.

10 Además, la productividad de un único aparato de análisis del tipo descrito anteriormente aumenta considerablemente, dado que puede operar en rápida sucesión sobre una pluralidad de microelementos de contención adyacentes, cada uno con una cantidad de muestra y líquido de cultivo precisa y suficiente, no excesiva, limitando de este modo el desperdicio de material y de tiempo de análisis.

15 La presente invención también comprende un procedimiento para analizar una muestra biológica contenida en un recipiente dispuesto a lo largo de un plano horizontal determinado y que comprende al menos un microelemento de contención capaz de contener al menos parte de la muestra biológica y dentro del cual está provisto un medio de cultivo líquido para permitir el crecimiento bacteriano en la muestra biológica. El procedimiento proporciona una etapa de examen en la que se lleva a cabo una medición óptica, basándose en la tecnología de dispersión de luz, al menos del crecimiento bacteriano en la muestra biológica, emitiendo un primer haz de luz hacia la muestra biológica, detectando al menos un haz de luz difundido desde el recipiente de la muestra biológica y procesando, directa o indirectamente, señales correlacionadas con dicho haz de luz difundido. De acuerdo con la presente invención, el procedimiento permite detectar, en el mismo lado con respecto al plano horizontal asociado con el microelemento de contención a partir del cual se emite dicho primer haz de luz, una radiación de retrodispersión procedente del microelemento de contención determinado y, en el lado opuesto al plano horizontal asociado con el microelemento de contención, una radiación de dispersión frontal procedente del microelemento de contención determinado. El procedimiento también permite derivar dichas señales a partir de las radiaciones de retrodispersión y de dispersión frontal.

Breve descripción de los dibujos

30 Éstas y otras características de la presente invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción de una realización preferente, proporcionada como ejemplo no restrictivo con referencia a los dibujos adjuntos en los que:

- la figura 1 es una representación esquemática de un recipiente usado con la presente invención;
- la figura 2 es una representación esquemática de parte del aparato de acuerdo con la presente invención;
- la figura 3 es un detalle aumentado de la figura 2;
- la figura 4 es una variante de una parte del aparato en la figura 2;
- 35 - la figura 5 es una representación esquemática de una realización del aparato de acuerdo con la presente invención.

Descripción detallada de una realización preferente

40 Con referencia a los dibujos adjuntos, un aparato 10 de acuerdo con la invención se usa para analizar una muestra biológica 11, en particular para medir el crecimiento bacteriano y para identificar la presencia de bacterias contenidas en la muestra biológica. El aparato 10 aplica la técnica de dispersión de luz a recipientes de pequeño tamaño, tales como por ejemplo microplacas (96 pocillos) o micromatrices (384 pocillos), microcubetas o microceldas de vidrio, microcubetas con la pared lateral oscurecida (para impedir la difusión del haz de luz).

45 El mismo aparato 10 puede usarse para medir la turbidez con fines de estandarización de McFarland para un ensayo de sensibilidad, para llevar a cabo un análisis de sensibilidad a antibióticos, o antibiograma, de tipo clínico o normal.

En este caso, el aparato 10 comprende una microplaca 12, formada por 96 microelementos de contención o pocillos 14 (figura 1), dispuestos a lo largo de un plano horizontal P sustancialmente horizontal (figura 2).

50 Los pocillos 14 funcionan como recipientes para crecimiento bacteriano en un medio de cultivo líquido adecuado, por ejemplo medio eugenésico, y para las posibles reacciones bioquímicas usadas para reconocer la presencia y/o identificar el tipo de bacterias en la muestra biológica 11 a analizar.

Las placas 12 puede estar estabilizada térmicamente de forma adecuada, por ejemplo a una temperatura comprendida entre aproximadamente 35 °C y 37 °C, para promover el crecimiento bacteriano, y sometida preferentemente a agitación.

Para su uso con tecnología de dispersión de luz, según lo requerido por la presente invención, las placas 12 y los

pocillos 14 son compatibles con la radiación electromagnética deseada, preferentemente transparentes o permeables a la luz visible.

5 Las placas 12 empleadas, por lo tanto, preferentemente tienen buenas cualidades ópticas, normalmente con gran claridad y uniformidad, de modo que tengan una alta capacidad de dejar pasar a la luz a través de los pocillos 14 en el análisis. Por ejemplo, las placas 12 están hechas de poliestireno o metacrilato, que poseen las propiedades ópticas óptimas anteriores.

Cada pocillo 14 tiene una abertura superior 14a, para que se inserte la muestra y para que pase la luz, y una pared inferior 14c, también permeable a la luz.

10 En la solución específica, donde hay pocillos 14 adyacentes en grandes cantidades, sus paredes 14b laterales están ennegrecidas, o en cualquier caso se han hecho no transparentes a la luz, para eliminar posibles interferencias ópticas de un pocillo 14 con los pocillos adyacentes. Normalmente, antes de la inoculación, la muestra biológica se conserva en un tubo de ensayo y una parte de ésta se toma, ventajosamente por medio de una unidad de movimiento y selección, no mostrada en los dibujos, y se deposita en uno o más de los pocillos 14 de la placa 12, para realizar los análisis deseados.

15 El aparato 10 también comprende un dispositivo de examen 16 basado en tecnología de dispersión de luz, por medio del cual se lleva a cabo una etapa de detección en uno o más de los pocillos 14, en los que se generan señales adecuadas por medio de las cuales se evalúan el crecimiento bacteriano o la cinética de inhibición en cada pocillo 14, tal como se ilustra en lo sucesivo en la descripción (figuras 2, 3 y 5).

20 El aparato 10 también comprende una unidad de control 18, por ejemplo una calculadora electrónica, en cuya memoria está cargado un programa informático para manejar el dispositivo de examen 16. La unidad de control 18 se muestra por conveniencia solamente en la figura 5. La unidad de control 18 está asociada, por medio de una conexión C de hardware, a una tarjeta de interfaz 19 que es capaz de controlar la activación/desactivación del dispositivo de examen 16 (figura 5), tal como se muestra esquemáticamente mediante la señal de comando y control S0.

25 Los datos recogidos por el dispositivo de examen 16 son enviados a la unidad de control 18 por la tarjeta de interfaz 19, que amplifica, filtra y procesa los datos recogidos.

De esta manera, la unidad de control 18 es capaz de evaluar el crecimiento bacteriano o la cinética de inhibición en cada pocillo 14 (ensayo de crecimiento bacteriano).

La unidad de control 18 también puede activar la unidad de movimiento y selección de la muestra, si hay una.

30 De acuerdo con la realización mostrada en las figuras 2 y 3, el dispositivo de examen 16 comprende un emisor de luz 20, dispuesto verticalmente por encima o por debajo de la microplaca 12 con respecto a dicho plano P, en correspondencia con los diversos pocillos 14 que componen la microplaca 12; el emisor 20 es capaz de emitir un haz de luz láser, polarizada y colimada, indicado mediante B0, hacia el pocillo 14 a analizar, con una inclinación de 90° con respecto al plano horizontal P de la microplaca 12, que es una solución ventajosa en el análisis de sangre
35 lisada para impedir posibles interferencias de los glóbulos lisados. El haz de luz B0 es difundido desde el pocillo 14 relativo de la microplaca 12, en particular por la muestra biológica que crece en el medio de cultivo líquido dentro del pocillo 14 de la microplaca 12.

Una pluralidad de sensores 22, 24 están asociados con el emisor 20, y están ubicados verticalmente por encima y por debajo del plano horizontal P de la microplaca 12.

40 En particular, de acuerdo con la realización mostrada en la figura 2, se proporcionan dos primeros sensores 22, ubicados en el mismo lado que el emisor 20 con respecto a la microplaca 12, y tres segundos sensores 24, ubicados en el lado opuesto al emisor con respecto al plano horizontal P de la microplaca 12. Se entiende que el número de sensores puede ser diferente de éste.

45 Tanto los primeros 22 como los segundos 24 sensores están ubicados en ángulos diferentes con respecto a la dirección vertical, indicada mediante Y, y coincidente con la trayectoria del haz de luz B0. Los ángulos se indican mediante α y β en la figura 3 y están normalmente comprendidos entre -90° y +90° con respecto a la vertical Y. En la solución que se da como ejemplo en la figura 2, hay dos sensores superiores 22 dispuestos respectivamente a aproximadamente +45° y -45° y tres sensores inferiores, de los cuales dos externos dispuestos respectivamente a aproximadamente +45° y -45°, y uno central dispuesto a 0°, es decir, alineados con la vertical Y.

50 En una realización diferente, no mostrada, los primeros y segundos sensores 22, 24 pueden estar situados a diferentes ángulos, por ejemplo a aproximadamente 0°, 30° y 90°.

Además, los sensores 22, 24 están situados a una distancia variable del pocillo relativo 14, de acuerdo con los requisitos del análisis. De hecho, una vez alcanzado por el haz de luz B0 emitido, la muestra biológica 11 en el pocillo 14, con la presencia de bacterias que se duplican, emite haces de luz difundida B2, B4, que la unidad de

control 18 procesa para proporcionar curvas específicas que expresan el desarrollo del crecimiento bacteriano a lo largo del tiempo.

Los sensores 22 y 24 detectan periódicamente los haces de luz difundida B2, B4 emitidos por la muestra biológica 11 contenida en el pocillo 14 y los transmite como señales S2, S4 a la unidad de control 18.

- 5 En particular, los primeros sensores 22 detectan periódicamente la retrodispersión, indicada por el haz de luz B2, de la luz que incide sobre el pocillo 14, mientras que los segundos sensores 24 detectan la dispersión frontal, indicada mediante el haz de luz B4, de la luz a través del pocillo 14.

La figura 3 es un detalle que se refiere a un único pocillo 14, en el que se usan un único primer sensor 22 y un único segundo sensor 24, dispuestos en lados opuestos con respecto al plano horizontal P de la microplaca 12.

- 10 Los sensores 22 y 24 transmiten las señales relativas S2, S4, correlacionadas con los haces de luz B2, B4 detectados, a la tarjeta de interfaz 19, que las convierte de analógicas a digitales, transmitiendo el valor relativo de dispersión frontal y retrodispersión a la unidad de control 18 que procesa las señales para los análisis y evaluaciones requeridas.

- 15 Una vez convertidas, las señales S2, S4 permiten determinar una primera y segunda curva, asociadas respectivamente con cada uno de los sensores 22, 24, del desarrollo a lo largo del tiempo de la turbidez de la suspensión bacteriana, es decir, del crecimiento bacteriano. La unidad de control 18 procesa las señales S2, S4 para determinar, a partir de dichas curvas, dos curvas diferenciales correspondientes.

- 20 Cada curva diferencias viene dada por la diferencia, respectivamente, entre la primera curva y un primer valor instantáneo de turbidez obtenido al comienzo de la detección, detectado por el primer sensor 22, y entre la segunda curva y un segundo valor instantáneo de turbidez al comienzo de la detección, detectado en correspondencia con el segundo sensor 24.

La unidad de control 18 ventajosamente comprende medios de memorización en los que se memorizan datos de clasificación, por medio de los cuales, a partir del desarrollo de las dos curvas diferenciales, se descubre el tipo de bacteria presente en la muestra biológica donde tiene lugar el crecimiento bacteriano, o la familia a la que pertenece.

- 25 La primera curva derivada de la señal obtenida por el primer sensor 22 se refiere a la presencia de bacterias y la consecuente medición de la carga bacteriana a lo largo del tiempo. La segunda curva derivada de la señal obtenida por el segundo sensor 24 por el contrario es caracterizada más por la morfología de las bacterias.

- 30 Partiendo de las curvas diferenciales, se extrapolan parámetros matemáticos específicos para cada curva, basándose en modelos de regresión no lineal. También es posible combinar los parámetros homólogos de las dos curvas (por ejemplo calculando relaciones, o diferencias o sumas) para obtener parámetros derivados adicionales.

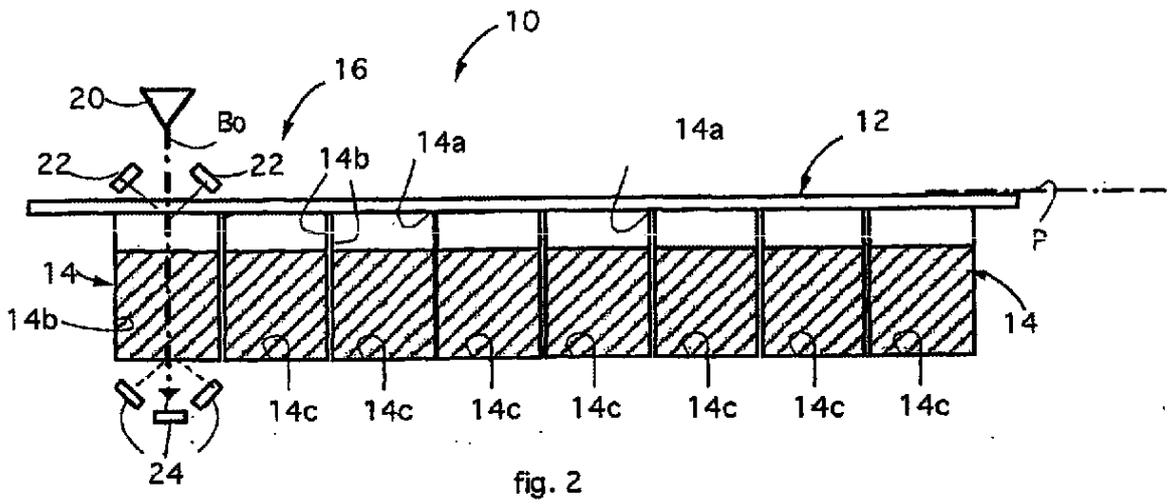
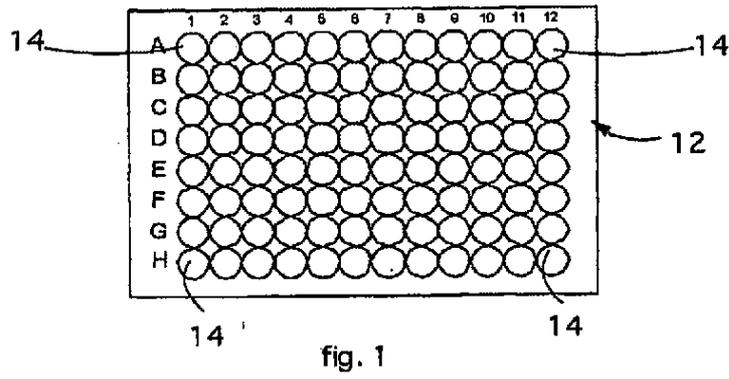
La totalidad de estos parámetros proporciona una descripción sintética de las características de las curvas de la bacteria presente en la muestra examinada.

- 35 La figura 4 muestra una variante de realización del dispositivo de examen 16, indicado por conveniencia mediante el número de referencia 116, donde partes idénticas a aquellas mostradas en la realización en las figuras 1-3 se identifican mediante los mismos números de referencia. El dispositivo de examen 16 proporciona un emisor 120 que no está ubicado perpendicular con respecto a la microplaca sino que está inclinado en un ángulo θ determinado con respecto a la vertical Y. Las posiciones de los sensores 22 y 24 se mantienen tal como se ha descrito en las diversas posibilidades en las figuras 1-3. De esta manera, al menos parte de los componentes de dispersión de la luz generados por un segmento final del volumen de muestra iluminada, y orientados a 90° con respecto a la dirección de la radiación B1 emitida, pasa a través de la pared inferior 14c del pocillo 14 a detectar por los sensores 24, en lugar de ser absorbida por las paredes laterales 14b, como en el caso de un emisor 120 ubicado perpendicular con respecto a la microplaca.
- 40

REIVINDICACIONES

1. Aparato para analizar una muestra biológica(11) contenida en un recipiente (12), que comprende un dispositivo de examen (16) capaz de realizar una medición óptica en la muestra biológica (11), basándose en la tecnología de dispersión de la luz, al menos del crecimiento bacteriano en la muestra biológica (11) y provisto de medios emisores (20) capaces de emitir un primer haz de luz (B0) hacia el recipiente (12) de la muestra biológica(11) y de medios (22, 24) sensores capaces de detectar al menos un haz de luz difundido desde el recipiente (12) de la muestra biológica y de transmitir una señal relativa (S2, S4), correlacionada con dicho haz de luz difundido, a una unidad de control (18) que es capaz de procesar, directa o indirectamente, dicha señal (S2, S4), para verificar al menos el posible crecimiento bacteriano en la muestra biológica (11), **caracterizado porque** dicho recipiente (12) se dispone a lo largo de un plano horizontal (P) determinado y comprende al menos un microelemento de contención (14) capaz de contener al menos una parte de la muestra biológica (11) y dentro del cual se proporciona un medio de cultivo líquido para permitir el crecimiento bacteriano en la muestra biológica (11), siendo dichos medios emisores (20) y medios sensores (22, 24) capaces de estar ubicados en cada ocasión en correspondencia con el microelemento de contención (14), comprendiendo dichos medios sensores (22, 24) primeros medios sensores (22) dispuestos en el mismo lado que los medios emisores (20) con respecto a dicho plano horizontal (P), y segundos medios sensores (24) dispuestos en el lado opuesto de los medios emisores (20) con respecto a dicho plano horizontal (P), siendo dichos primeros medios sensores (22) capaces de detectar una radiación de retrodispersión (B2) procedente del microelemento de contención (14) determinado y siendo dichos segundos medios sensores (24) capaces de detectar una radiación de dispersión frontal (B4) procedente del microelemento de contención (14) determinado, radiación de retrodispersión (B2) y radiación de dispersión frontal (B4) a partir de las cuales se derivan primera (S2) y segunda (S4) señales respectivas transmitidas a la unidad de control (18).
2. Aparato de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado porque** dichos medios emisores (20) están colocados de modo que el primer haz de luz (B0) incida, desde arriba o desde abajo, sobre el microelemento de contención (14) determinado.
3. Aparato de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, **caracterizado porque** dichos medios emisores (20) están colocados verticalmente con respecto al plano horizontal (P) de dicho recipiente (12), de modo que el primer haz de luz relativo (B0) incida, de forma sustancialmente perpendicular, sobre dicho microelemento de contención (14).
4. Aparato de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, **caracterizado porque** dichos medios emisores (20) están colocados inclinados con respecto al plano horizontal (P) de dicho recipiente (12) de modo que el primer haz de luz relativo (B0) incida sobre dicho microelemento de contención (14) con una inclinación deseada de un ángulo (θ) diferente de 90° con respecto a una dirección (Y) vertical.
5. Aparato de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, **caracterizado porque** dicho recipiente es una microplaca (12) que se desarrolla a lo largo de dicho plano horizontal (P) y dichos microelementos de contención son pocillos relativos (14) dispuestos en filas y columnas a lo largo de dicho plano horizontal (P).
6. Aparato de acuerdo con la reivindicación 5, **caracterizado porque** cada uno de los pocillos (14) tiene una abertura superior (14a) para el paso del primer haz de luz (B0) y de la radiación de retrodispersión (B2) y una pared inferior (14c) hecha de material adecuado para permitir el paso de la radiación de dispersión frontal (B4).
7. Aparato de acuerdo con la reivindicación 5 ó 6, **caracterizado porque** cada uno de los pocillos (14) tiene una pared lateral (14b), que está oscurecida para impedir la difusión lateral de luz para no interferir con los otros pocillos (14) adyacentes.
8. Aparato de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, **caracterizado porque** las placas o microplacas (12) están hechas de poliestireno o metacrilato.
9. Aparato de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, **caracterizado porque** los primeros medios sensores (22) y los segundos medios sensores (24) están situados, con respecto a una dirección vertical (Y) determinada, cada uno a un ángulo definido (α , β) comprendido entre aproximadamente -90° y $+90^\circ$.
10. Procedimiento para analizar una muestra biológica (11) contenida en un recipiente (12), dispuesto a lo largo de un plano horizontal (P) determinado y que comprende al menos un microelemento de contención (14) capaz de contener al menos una parte de la muestra biológica (11) y dentro del cual se proporciona un medio de cultivo líquido para permitir el crecimiento bacteriano en la muestra biológica (11), proporcionando dicho procedimiento una etapa de examen en la que se realiza una medición óptica, basándose en la tecnología de dispersión de luz, al menos del crecimiento bacteriano en la muestra biológica (11) emitiendo un primer haz de luz (B0) hacia el recipiente (12) de la muestra biológica (11), detectando al menos un haz de luz difundido a partir del recipiente (12) de la muestra biológica (11) y procesando, directa o indirectamente, señales (S2, S4) correlacionadas con dicho haz de luz difundido, **caracterizado porque** permite detectar, en el mismo lado con respecto al plano horizontal (P) asociado con el microelemento de contención (14) a partir del cual se emite dicho primer haz de luz (B0), una radiación de retrodispersión (B2) procedente del microelemento de contención (14) determinado y, desde el lado opuesto con respecto al plano horizontal (P) asociado con el microelemento de contención (14), una radiación de dispersión frontal (B4) procedente del microelemento de contención (14) determinado, derivando dichas señales (S2,

S4) de dichas radiaciones de retrodispersión (B2) y radiaciones de dispersión frontal (B4).



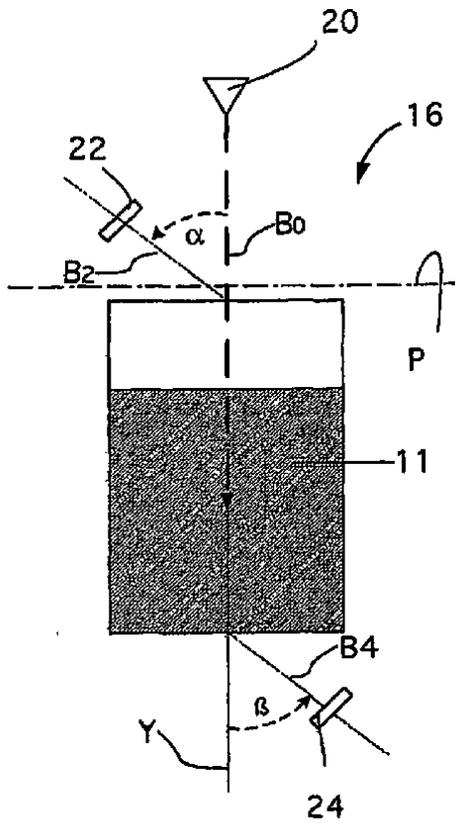


fig. 3

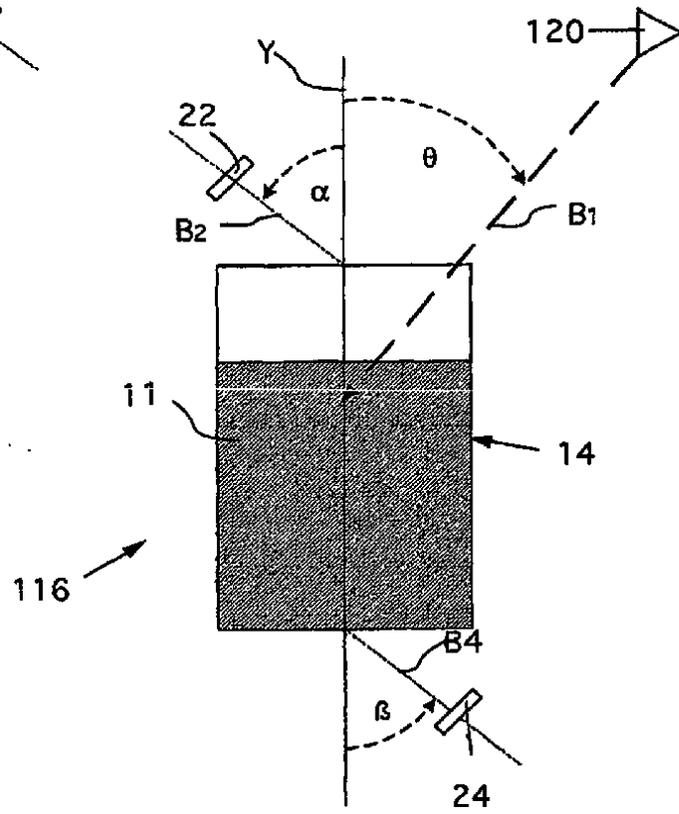


fig. 4

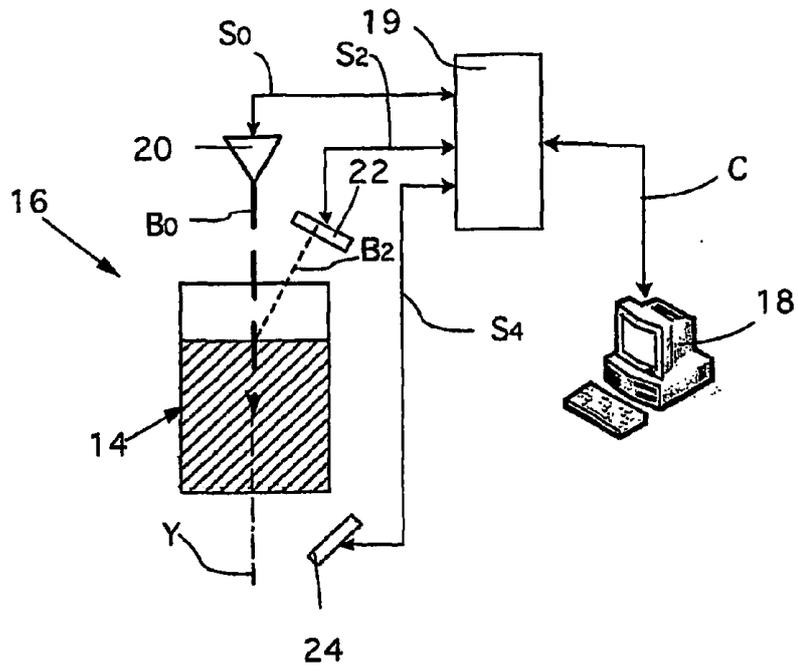


fig. 5