(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 596 659**

(21) Número de solicitud: 201530810

(51) Int. CI.:

A61B 10/00 (2006.01)

(12) PATENTE DE INVENCIÓN B1

(22) Fecha de presentación:

10.06.2015

(43) Fecha de publicación de la solicitud:

11.01.2017

Fecha de concesión:

20.10.2017

(45) Fecha de publicación de la concesión:

27.10.2017

(56) Se remite a la solicitud internacional:

PCT/ES2016/070433

(73) Titular/es:

SERVICIO ANDALUZ DE SALUD (100.0%)
Avda. de la Constitución, 18
41071 Sevilla (Sevilla) ES

(72) Inventor/es:

TENORIO ABREU, Alberto y
GÓMEZ FERNÁNDEZ, José Antonio

(74) Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

(54) Título: **Dispositivo para la recogida, preparación y/o cultivo de una muestra**

(57) Resumen:
Dispositivo para la recogida, preparación y/o cultivo de una muestra.
La invención describe un dispositivo (1) para la recogida, preparación y/o cultivo de una muestra, que comprende un tubo (2) dotado de un tapón (3) del que sobresale un hisopo (4) de recogida de muestras, donde la longitud del hisopo (4) es tal que, cuando la tapa (3) está fijada al tubo (2), su extremo libre (5) se aloja en una porción inferior del tubo (2), donde la porción inferior del tubo (2) contiene un primer medio (6) de cultivo, y que además comprende un segundo medio (7) de cultivo adherido a la pared de una porción superior del tubo (2).

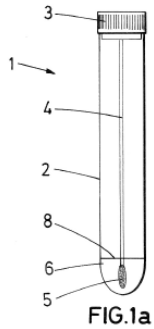

FIG.1a

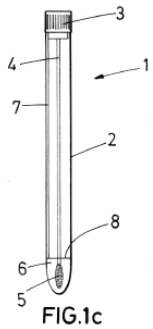

FIG.1c

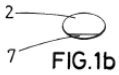

FIG.1b

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP 11/1986.

ES 2 596 659 B1

DESCRIPCIÓN

Dispositivo para la recogida, preparación y/o cultivo de una muestra

OBJETO DE LA INVENCIÓN

La presente invención pertenece al campo de la microbiología, y más particularmente al campo de las técnicas de recogida, preparación y cultivo de muestras microbiológicas.

El objeto de la presente invención es un dispositivo especialmente diseñado para llevar a cabo la recogida, preparación y cultivo de una muestra microbiológica.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

Existen determinados procedimientos microbiológicos que exigen, tras la recogida de una muestra, la realización de un proceso de preparación previo al cultivo. La preparación puede consistir, por ejemplo, en un proceso de enriquecimiento con ayuda de un medio rico en nutrientes para aumentar la población bacteriana que se desea detectar o un proceso de selección de una determinada especie. Posteriormente, se lleva a cabo el cultivo, cuyo propósito es la creación de colonias que permitan identificar la especie bacteriana a estudiar.

En la actualidad, la recogida, preparación y cultivo de muestras microbiológicas se lleva a cabo normalmente empleando diferentes dispositivos. En primer lugar, para la recogida y transporte de la muestra se utiliza una torunda que se conserva en un medio de transporte. Posteriormente, se inocula la torunda en un tubo con un medio de enriquecimiento o un medio selectivo. Y por último, tras la incubación en el medio líquido de enriquecimiento o en el medio selectivo, se siembra la muestra enriquecida o seleccionada en un medio sólido de cultivo para visualizar la especie bacteriana a estudiar.

Por otra parte, existen diversos documentos de patente que describen dispositivos destinados a llevar a cabo de manera más compacta una o varias de estas técnicas. Por ejemplo, el documento US4387725 describe un dispositivo para la recogida y transporte de muestras que está formado por un tubo y una tapa a la que está fijada la base de un hisopo de recogida de muestras. Adicionalmente, el extremo inferior del tubo contiene un medio

líquido separado del resto del volumen del tubo por una membrana. Para utilizar este dispositivo, en primer lugar el usuario coge la tapa con el hisopo y recoge la muestra. A continuación, coloca la tapa cerrando el tubo con el hisopo en su interior. El extremo del hisopo puede atravesar así la membrana y mezclarse con el medio líquido almacenado.

Sin embargo, no existe actualmente ningún dispositivo que permita llevar a cabo de una manera simple y compacta las técnicas tanto de recogida como de preparación y cultivo.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

La presente invención resuelve el problema anterior mediante un dispositivo especialmente diseñado para llevar a cabo las tareas de recogida, preparación y cultivo de una muestra. El dispositivo de la invención está definido por la reivindicación 1, cuyo preámbulo corresponde a las características técnicas descritas en el documento US4387725 mencionado anteriormente.

El dispositivo de la presente invención comprende un tubo dotado de un tapón del que sobresale un hisopo de recogida de muestras, siendo la longitud del hisopo tal que, cuando la tapa está fijada al tubo, su extremo libre se aloja en una porción inferior del tubo. La porción inferior del tubo contiene un primer medio de cultivo, de modo que el extremo libre del hisopo queda dentro del primer medio de cultivo cuanto la tapa está fijada al tubo. Este dispositivo se diferencia de otros dispositivos de la técnica anterior por que adicionalmente comprende un segundo medio de cultivo adherido a la pared de una porción superior del tubo.

En este contexto, un medio de cultivo es en general un medio que contiene los nutrientes necesarios para permitir, en condiciones favorables de pH y temperatura, el crecimiento de virus, microorganismos, células, tejidos vegetales o incluso pequeñas plantas.

Esta novedosa configuración permite llevar a cabo las tareas de recogida, preparación y cultivo de una muestra sin necesidad de cambiar de recipiente. En primer lugar, el usuario recoge la muestra con el hisopo. A continuación, introduce el hisopo en el tubo y fija al tubo la tapa de la que sobresale dicho hisopo. El extremo libre del hisopo, esto es, el extremo en el que se encuentra la almohadilla o algodoncillo donde se impregna la muestra, queda así introducido en el primer medio de cultivo de la porción inferior del tubo. Pasado el tiempo

necesario, el usuario puede quitar la tapa y distribuir cuidadosamente la muestra enriquecida por la superficie del segundo medio de cultivo adherida a la pared del tubo. El cultivo se realiza así directamente en el mismo tubo donde se ha llevado a cabo la preparación.

En principio, el primer medio de cultivo empleado en la presente invención puede ser suficientemente consistente como para no requerir de ningún elemento de contención que impida que escape de la porción inferior del tubo. Por ejemplo, puede estar en forma de gel o similar. Sin embargo, de acuerdo con una realización preferida de la invención la porción inferior del tubo está separada por una membrana de la porción superior del tubo. El uso de esta membrana permite utilizar un primer medio de cultivo en estado líquido.

La membrana deberá tener una resistencia suficiente como para evitar que el primer medio de cultivo se salga de dicha porción inferior del tubo, pero al mismo tiempo ser suficientemente blanda como para que el hisopo la perfore. Por ejemplo, podría tratarse de una membrana hecha de aluminio, un polímero o silicona autosellable. En este último caso, la membrana de silicona autosellable podría tener un esfínter en su zona central que impida el reflujo del primer medio de cultivo. Alternativamente, la membrana podría tener menor grosor en su zona central para facilitar la punción por parte del hisopo.

El primer medio de cultivo es preferiblemente un medio de enriquecimiento. En este contexto, un medio de enriquecimiento es un medio de cultivo que contiene los nutrientes necesarios para apoyar el crecimiento de una amplia variedad de microorganismos. Ciertos organismos no crecen en medios de cultivo ordinarios, sino que requieren ingredientes que promueven el crecimiento, como la sangre, glucosa, suero, huevo, entre otros. Los medios de enriquecimiento contienen ingredientes que aumentan las cualidades estimulantes del medio propiciando un crecimiento elevado. Los medios de enriquecimiento también pueden contener componentes químicos que inhiben ciertos tipos de microorganismos, lo que permite obtener un sub-cultivo de una colonia aislada.

En principio, el medio de enriquecimiento puede ser cualquiera de los habitualmente usados en la técnica, aunque preferentemente se elige de la siguiente lista: caldo Todd Hewitt, tioglicolato, caldo LIM, infusión de cerebro-corazón, caldo selenito, caldo preston, y agua peptona alcalina.

En otra realización preferida, el primer medio de cultivo es un medio selectivo o de

selección. En el contexto de la presente invención, un medio de selectivo o de selección es un medio de cultivo que tiene componentes que inhiben el crecimiento de microorganismos cuyo crecimiento no interesa, permitiendo aislar una o determinadas especies. Un ejemplo, aunque sin limitarnos, de medio selectivo podría ser utilizar un medio rico en un antibiótico para posibilitar el crecimiento de bacterias resistentes a éste.

El medio selectivo puede en principio ser cualquiera, aunque preferentemente comprende al menos un antibiótico.

El segundo medio de cultivo deberá tener una consistencia suficiente como para permanecer adherido a las paredes del tubo, por lo que estará normalmente en estado sólido o en forma de gel. En principio, puede utilizarse cualquier medio de cultivo conocido en la técnica, aunque preferentemente se trata de un agar. Más preferentemente, el agar se elige de la siguiente lista: agar granada, agar sangre, agar chocolate, agar macconkey, agar SS, agar Campy, agar cromogénico para MRSA, agar cromogénico para BLEE, agar cromogénico para carbapenemasa, y agar Sabouraud.

Una realización especialmente preferida de la invención está específicamente dirigida al uso de agar granada para el cribado del Estreptococo del Grupo B (EGB) en mujeres embarazadas. En efecto, ell agar granada es un medio de cultivo selectivo y diferencial específico para estreptococo grupo B (EGB, *Streptococcus agalactiae*). Tras 24-48 horas de incubación en agar granada a 35-37 °C, preferentemente en anaerobiosis, las cepas hemolíticas de EGB se desarrollan como colonias naranjas o rojas. Preferiblemente el agar granada se usa en estado sólido o de gel, aunque también existe forma líquida. La composición del medio agar granada se describe, aunque sin limitarnos, en De la Rosa *et al.*, 1992. *J Clin Microbiol* 30: 1019–1021.

En otra realización preferida del dispositivo de la invención, la zona de la pared del tubo situada frente a aquella donde está adherido el segundo medio de cultivo comprende un elemento de aumento de la superficie de dicho segundo medio de cultivo. Este elemento puede configurarse, por ejemplo, como un aumento selectivo de grosor de la pared del esa zona del tubo para formar una especie de lupa longitudinal. De ese modo, el usuario podrá apreciar con mayor facilidad si se producen colonias en la superficie del segundo medio de cultivo.

En otra realización preferida más, la pared de la porción superior del tubo a la que está adherido el segundo medio de cultivo es extraíble del tubo. Por ejemplo, el tubo puede estar constituido por una única pieza de vidrio o plástico en cuyo interior se fija una pieza adicional dotada de una cara plana sobre la que está adherido el segundo medio de cultivo. La fijación de esta pieza adicional al tubo puede realizarse mediante rebordes y orificios que cooperan para conseguir una fijación a presión. Ello permite extraer esta pieza adicional del interior del propio tubo para llevar a cabo otras intervenciones adicionales.

Por otra parte, en otra realización preferida de la invención la forma de la sección transversal del tubo es alargada. El propósito es también facilitar al usuario una mejor visibilidad del segundo medio de cultivo donde se formarán colonias de la muestra que se ha sembrado con anterioridad. La forma alargada abarca cualquier forma que se aparte de la forma circular convencional para dar lugar a al menos una zona de menor curvatura, o incluso plana, que facilite la visibilidad al disminuir la distorsión. Por ejemplo, puede incluir formas de tipo rectangular, ovaladas, o elípticas, así como combinaciones de las mismas para dar lugar a formas con lados planos y curvos. En este caso, el segundo medio de cultivo preferentemente está adherido a una zona de la pared del tubo situada frente a aquella que tiene menor curvatura.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Las Figs. 1a-1c muestran respectivamente sendas vistas en alzado, planta y perfil del dispositivo de la presente invención.

Las Figs. 2a-2e muestran los pasos de un procedimiento de recogida, enriquecimiento y cultivo de una muestra con el dispositivo de la presente invención.

REALIZACIONES PREFERENTES DE LA INVENCIÓN

Las Figs. 1a-1c muestran el dispositivo (1) de la presente invención. El tubo (2) tiene forma de prisma recto de sección ovalada con un extremo inferior cerrado y un extremo superior abierto. Una tapa (3) está configurada para cerrar el extremo abierto del tubo. La Fig. 1b muestra una imagen esquemática de la planta del dispositivo (1) donde se aprecia su forma ovalada. La forma ovalada de la sección transversal de este tubo (1) impide que el mecanismo de fijación de la tapa (3) funcione a rosca, por lo que se emplea una fijación a

presión.

La cara interior de la tapa (3) tiene fijado en perpendicular un hisopo (4) para la recogida de muestras. El hisopo (4) está formado por un vástago o bastoncillo recto en cuyo extremo libre (5) se encuentra una almohadilla o algodoncillo destinado a impregnarse en la muestra en cuestión. Como se puede apreciar, la longitud del hisopo (4) está calculada para que cuando la tapa (3) está puesta, la almohadilla que contiene la muestra quede alojada en una porción inferior del tubo (2). La porción inferior del tubo (2) está separada de la porción superior mediante una membrana (8) y contiene un medio (6) de enriquecimiento destinado a enriquecer la muestra recogida mediante el hisopo (4). Además, una de las paredes del tubo (2) con menor curvatura tiene adherido un medio (7) de cultivo.

Las Figs. 2a-2e muestran esquemáticamente un procedimiento de recogida, enriquecimiento y cultivo de una muestra microbiológica utilizando el dispositivo (1) de la presente invención. En primer lugar, como se muestra en la Fig. 2a, se maneja el hisopo (4) para impregnar la almohadilla de su extremo libre (5) de la muestra microbiológica en cuestión. A continuación, se introduce el hisopo (4) en el tubo (2) y se fija la tapa (3) al tubo (2). En esta posición, como se muestra en la Fig. 2c, el extremo libre (5) del hisopo queda dentro de la porción inferior del tubo (2) donde se encuentra el medio (6) de enriquecimiento. Para ello, habrá debido atravesar la membrana (8) que separa dichas porciones inferior y superior del tubo (2). Transcurrido el tiempo necesario, la Fig. 2d muestra cómo se quita la tapa (3) del tubo (2) para extraer el extremo libre (5) del hisopo (4) del medio (6) de enriquecimiento y, como se aprecia en la Fig. 2e, se pone en contacto dicho extremo libre (5) con el medio (7) de cultivo adherido a la pared del tubo (2). El proceso continúa con el cultivo de la muestra y el estudio de los resultados obtenidos. Al estar el medio (7) de cultivo adherido a una de las paredes de menor curvatura, el usuario puede observar el crecimiento de los microorganismos en cuestión más claramente y sin las deformaciones que provocaría un tubo de sección circular convencional.

Ejemplo de aplicación

Este nuevo dispositivo (1) es directamente aplicable al cribado del Estreptococo del Grupo B (EGB) en mujeres embarazadas, recomendado internacionalmente por los Centers for Diseases Control and Prevention (CDC), para la prevención de sepsis neonatal por el EGB.

Se realizó una prueba utilizando un dispositivo (1) con caldo Todd-Hewit como medio (6) de enriquecimiento y agar Granada sólido como medio (7) de cultivo. Se realizó un pilotaje con 199 muestras de las cuales 43 fueron positivas. La concordancia con el método tradicional fue del 100%, y además se obtuvieron 3 positivos adicionales que con dicho método tradicional no se habían detectado. El tiempo necesario para el crecimiento de la bacteria coincide con el método tradicional.

REIVINDICACIONES

1. Dispositivo (1) para la recogida, preparación y/o cultivo de una muestra, que comprende:

un tubo (2) dotado de un tapón (3) del que sobresale un hisopo (4) de recogida de muestras,

donde la longitud del hisopo (4) es tal que, cuando la tapa (3) está fijada al tubo (2), su extremo libre (5) se aloja en una porción inferior del tubo (2);

donde la porción inferior del tubo (2) contiene un primer medio (6) de cultivo;

caracterizado por que además comprende un segundo medio (7) de cultivo adherido a la pared de una porción superior del tubo (2).

2. Dispositivo (1) de acuerdo con la reivindicación 1, donde la porción inferior del tubo (2) está separada por una membrana (8) de la porción superior del tubo (2).

3. Dispositivo (1) de acuerdo con la reivindicación 2, donde la membrana (8) está hecha de aluminio, un polímero o silicona autosellable.

4. Dispositivo (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2-3, donde el primer medio (6) de cultivo es líquido.

5. Dispositivo (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el primer medio (6) de cultivo es un medio (6) de enriquecimiento.

6. Dispositivo (1) de acuerdo con la reivindicación 5, donde el medio (6) de enriquecimiento se elige de la siguiente lista: caldo Todd Hewitt, tioglicolato, caldo LIM, infusión de cerebro-corazón, caldo selenito, caldo preston, y agua peptona alcalina.

7. Dispositivo (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, donde el primer medio (6) de cultivo es un medio (6) selectivo.

8. Dispositivo (1) de acuerdo con la reivindicación 7, donde el medio selectivo comprende al menos un antibiótico.

9. Dispositivo (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el segundo medio (7) de cultivo es un agar.

10. Dispositivo (1) de acuerdo con la reivindicación 9, donde el agar se elige de la siguiente lista: agar Granada, agar sangre, agar chocolate, agar macconkey, agar SS, agar Campy, agar cromogénico para MRSA, agar cromogénico para BLEE, agar cromogénico para carbapenemasa, y agar Sabouraud.

11. Dispositivo (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la pared de la porción superior del tubo (2) a la que está adherido el segundo medio (7) de cultivo es extraíble del tubo (2).

12. Dispositivo (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la zona de la pared del tubo (2) situada frente a aquella donde está adherido el segundo medio (7) de cultivo comprende un elemento de aumento de la superficie de dicho segundo medio (7) de cultivo.

13. Dispositivo (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la forma de la sección transversal del tubo (2) es alargada.

14. Dispositivo (1) de acuerdo con la reivindicación 13, donde la forma alargada de la sección transversal del tubo (2) se elige de la siguiente lista: ovalada, elíptica, rectangular, y una combinación de las anteriores.

15. Dispositivo (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 13-14, donde el segundo medio (7) de cultivo está adherido a una zona de la pared del tubo (2) situada frente a aquella que tiene menor curvatura.

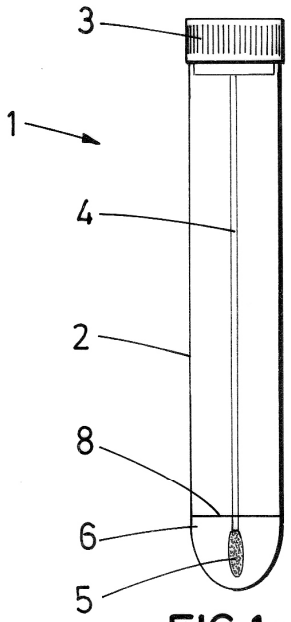

FIG.1a

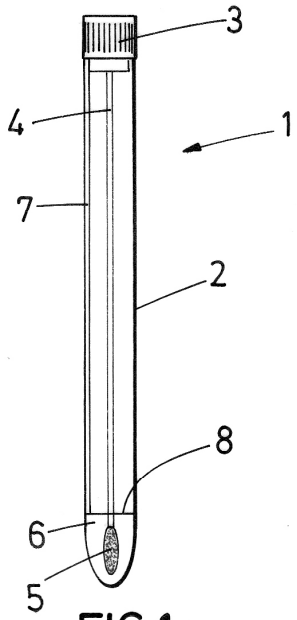

FIG.1c

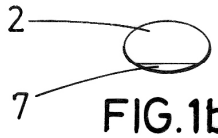

FIG.1b

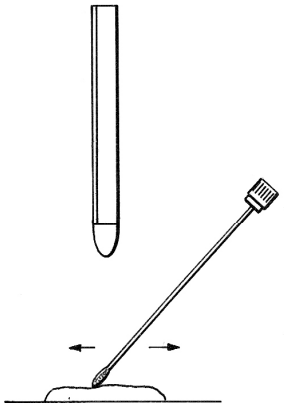

FIG.2a

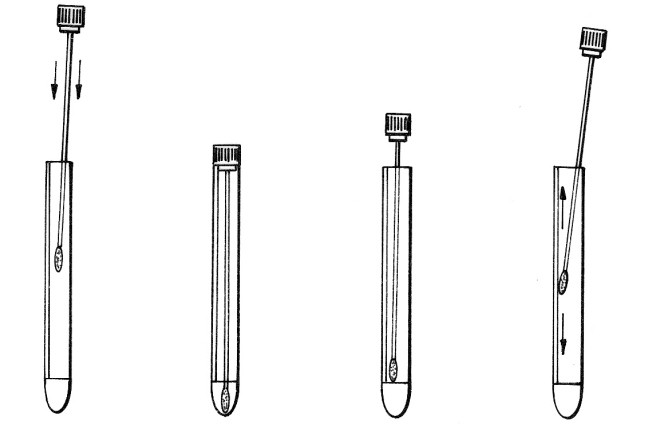

FIG.2b FIG.2c FIG.2d FIG.2e