

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 621 524**

51 Int. Cl.:

C12M 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.11.2013 PCT/IB2013/060097**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.05.2014 WO14076640**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.11.2013 E 13815578 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.01.2017 EP 2920295**

54 Título: **Dispositivo listo para usar y método para eliminar factores interferentes de muestras que se van a someter a examen microbiológico**

30 Prioridad:

15.11.2012 IT VR20120229

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

04.07.2017

73 Titular/es:

**AL.CHI.MI.A. S.R.L. (100.0%)
Viale Austria 14
35020 Ponte San Nicolò (PD), IT**

72 Inventor/es:

**BECCARO, MAURO;
GATTO, CLAUDIO;
D'AMATO TÓTHOVÁ, JANA;
BETTINI, ENRICO y
SIGNORI, PAOLO**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 621 524 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

Dispositivo listo para usar y método para eliminar factores interferentes de muestras que se van a someter a examen microbiológico

5 Esta invención está relacionada con un dispositivo listo para usar y un método para eliminar factores interferentes de muestras que se van a someter a examen microbiológico.

En el contexto de esta invención, examen microbiológico significa cualquier examen/ensayo pensados ya sea para verificar la negatividad microbiológica de una muestra o para medir su grado y tipo de contaminación microbiológica. La negatividad microbiológica usualmente se necesita para órganos, tejidos o células pensados para trasplante, cuya implantabilidad efectiva se deba comprobar, y para una medicina que se va a poner a la venta, o para una sustancia derivada de humanos que también está pensada para ser administrada en un paciente.. De hecho, en todos estos casos, la ausencia de negatividad microbiológica podría tener como resultado consecuencias graves para el paciente.

10 En contraste, la comprobación del grado y tipo de contaminación microbiológica usualmente se realiza en el caso de exámenes en laboratorio de fluidos corporales tomados de una persona, dónde la intención no es comprobar la existencia de un estado estéril, sino en cambio comprobar si hay presente o no una infección.

15 Los métodos usados actualmente para exámenes microbiológicos generalmente se basan en reproducción bacteriana. De hecho, la muestra a examinar se coloca en un ambiente de cultivo que puede promover la reproducción bacteriana que provoca la formación de sustancias que entonces se detectan mediante equipos adecuados (por ejemplo, en muchas aplicaciones lo que se detecta es un grado creciente de turbiedad del cultivo líquido o la producción de gas, en la mayoría de casos dióxido de carbono, por medio de detección de un cambio de color/luminiscencia debido a agentes cromogénicos que son sensibles al gas).

20 Es fácil inferir cómo se pueden distorsionar los resultados de dichos análisis si, a pesar de la presencia de contaminaciones microbianas, surgen condiciones que impiden una reproducción bacteriana normal. En particular, se sabe que una contaminación bacteriana presente puede no ser detectada si la muestra que se está examinando también está contaminada por una o más sustancias que actúan como factores interferentes. De hecho, el término "factor interferente" identifica a cualquier sustancia que pueda inhibir o ralentizar la reproducción bacteriana y se usará con ese significado en adelante en esta descripción. Por lo tanto, esa definición incluye tanto agentes bactericidas tales como antibióticos como agentes bacteriostáticos tales como los desinfectantes.

25 Sin embargo, en el contexto de las aplicaciones principales de esta invención, el factor interferente más común son los antibióticos. Tales sustancias, por un lado, pueden estar presentes en un organismo del que se toma un órgano, un tejido, células o fluidos (por ejemplo debido a un tratamiento antibiótico al que estaba sometido previamente el sujeto), y por otro lado siempre están presentes en los líquidos usados para la descontaminación y conservación de tejidos, órganos y células pensados para trasplante.

30 El problema de los factores interferentes es más evidente en el caso de comprobaciones de la esterilidad de medicinas, dado que la propia medicina actúa usualmente como factor interferente.

35 Por consiguiente, con el fin de poder considerar fiable el resultado de un examen microbiológico, se debe estar seguro de que la muestra examinada no está contaminada por factores interferentes, es decir, la muestra examinada se debe someter a un proceso para purificarla eliminando factores interferentes de ella.

40 Comprobaciones microbiológicas de fluidos corporales (incluidos sangre y orina) usualmente se llevan a cabo usando equipos automatizados en los que la muestra a examinar se inserta en un vial que contiene un caldo de cultivo adecuado. Los diversos equipos automatizados conocidos incluyen el BacT/ALERT® producido y comercializado por BioMérieux SA con oficina registrada en Marcy l'Etoile, Francia, y el BACTEC™ producido y comercializado por BD con oficina registrada en Franklin Lakes, NJ, EE. UU. Con el fin de tratar de vencer el problema de los factores interferentes, estos dos equipos requieren que la muestra a analizar sea insertada en un vial que al mismo tiempo contiene un líquido de cultivo para los microorganismos y resinas poliméricas para inhibir la acción de factores interferentes presentes. Cuando la muestra ha estado en el vial durante un periodo de tiempo predeterminado, el examen microbiológico se realiza comprobando cualquier aumento en la cantidad de gas (dióxido de carbono) presente comparada con el inicio del examen. Ejemplos del uso de resinas para eliminar factores interferentes también se describen en las patentes US 4632902, US 5624814, EP 73089, US 4174277, US 4145304, US 5162229, US 2009/123960, US 2011/312021 y US 5314855. El problema principal con este tipo de examen/equipo es la baja sensibilidad. De hecho, se sabe que con el fin de poder comprobar la presencia efectiva de contaminación, el número de bacterias (o en cambio de unidades formadoras de colonias - CFU) presente en el vial debe ser al menos igual a un valor mínimo predeterminado. Por debajo de ese umbral la detección es imposible y el resultado del ensayo es un falso negativo. Además, como ya se ha indicado, ensayos realizados en sangre y orina no pretenden comprobar la negatividad microbiológica, sino en cambio comprobar que el nivel de contaminación no sea superior a un valor de umbral que se reconoce científicamente como discriminatorio con el fin

de poder diagnosticar la existencia de una infección. Por consiguiente, en realidad, los equipos conocidos pueden proporcionar buenos resultados clínicos siempre que la muestra de sangre/orina disponible sea suficientemente grande.

5 Sin embargo, en relación a los ensayos en sangre, cabe señalar que la cantidad de sangre necesaria por el equipo puede ser insignificante si se toma de un adulto, pero puede ser significativa si se toma de un bebé recién nacido o en cualquier caso un niño (especialmente si se necesitan varias muestras para varios ensayos).

10 El asunto de comprobar la negatividad microbiológica es diferente y más crítico, especialmente con referencia al sector de trasplantes, al que se dedica especialmente esta invención (dado que esta invención está pensada preferiblemente para el sector de trasplantes, en adelante en esta memoria se hará referencia preferiblemente a ese sector, aunque, si son aplicables, todas las valoraciones expresadas también se considerarán válidas para cualquier otra posible aplicación de esta invención). En el sector de trasplantes, asegurar que un órgano, un tejido o células que se van a trasplantar a un paciente están libres de contaminación es esencial con el fin de reducir los riesgos vinculados a este tipo de cirugía. Además de los posibles riesgos inmediatamente obvios, tales como el comienzo de infecciones en la zona de trasplante (con el riesgo de fenómenos de rechazo), una contaminación de hecho también podría generar riesgos de desarrollo de infecciones en otros lugares no directamente vinculados con la cirugía. Una vez están en el sistema circulatorio las bacterias se dispersan por todo el cuerpo y por lo tanto pueden llegar a cualquier lugar adecuado para su proliferación (este fenómeno no se puede descartar como la base de muchas infecciones aparentemente no relacionadas con la cirugía que afectan a receptores de trasplantes).

20 Los responsables de garantizar la negatividad microbiológica de órganos, tejidos y células son en primer lugar los centros de trasplantes para órganos, y, para tejidos y células, los bancos relativos. Por lo tanto, tienen exámenes microbiológicos precisos para cada órgano, tejido o grupo de células a implantar. En particular, actualmente se pueden llevar a cabo exámenes microbiológicos en tejidos, órganos y células pensados para trasplante ya sea en una muestra de lo que se va a implantar (o que ha sido implantado en el caso de comprobaciones posoperativas) o en una muestra del líquido de conservación/descontaminación en el que se conserva el órgano, tejido o células antes de ser implantados (la mayoría de tejidos y células pensados para implantación se someten a un proceso de descontaminación por inmersión en un líquido de descontaminación que incluye una pluralidad de antibióticos de amplio espectro).

30 El problema principal de este sector es que actualmente no hay métodos o equipos conocidos pensados específicamente para este tipo de examen microbiológico (es decir, para exámenes para comprobar la negatividad microbiológica). Bancos de tejidos y células actualmente incluso no tienen un único procedimiento para comprobar la negatividad microbiológica.

35 Por lo tanto, actualmente, exámenes para comprobar la negatividad microbiológica usualmente se llevan a cabo usando el equipo creado para ensayos en sangre y orina (tales como el BacT/ALERT® y el BACTEC™ descritos anteriormente), insertando los viales con las muestras a analizar en lugar de sangre u orina. Sin embargo, como ya se ha indicado, tales sistemas no se diseñaron para comprobar la negatividad microbiológica, y tienen una sensibilidad limitada que les impide detectar contaminaciones bacterianas cuando la relación entre el número de bacterias (CFU) y la cantidad de factores interferentes presentes cae por debajo de un umbral mínimo predeterminado. De hecho, con los caldos de cultivo y los tiempos usados actualmente para exámenes usando los equipos conocidos, la contaminación únicamente es evidente cuando la relación de CFU a factores interferentes supera ese umbral mínimo.

40 Por debajo de dicho umbral, cualquier multiplicación bacteriana que pueda ocurrir es de hecho insuficiente para que sea detectada en los tiempos establecidos. Por consiguiente, un resultado negativo para un examen realizado usando tales equipos no necesariamente significa negatividad microbiológica. Es posible que el nivel de contaminación de la muestra sea de manera que no puede ser detectado y por tanto de un falso negativo. Aunque limitado, el riesgo relacionado incluso con ligera contaminación no se debe ignorar en el caso de trasplantes.

45 Un problema adicional relacionado con el uso de equipos diseñados para sangre y orina, para comprobar la contaminación bacteriana en el sector de trasplantes, está vinculado con el hecho de que, como ya se ha indicado, tejidos y células pensados para trasplante están sometidos a procesos de descontaminación importante con líquidos que tienen un alto contenido de factores interferentes. Como resultado, la muestra examinada (incluso si no es el mismo líquido de descontaminación) contiene una gran cantidad de factores interferentes, en muchos casos mucho más alta que la que incluso podría haber presente en un fluido biológico tal como la sangre o la orina.

50 El problema principal vinculado con esta situación es el hecho de que los métodos y equipos conocidos no pueden eliminar/inhibir suficientemente dichas grandes cantidades de factores interferentes, por consiguiente pueden manifestar libremente su efecto en contaminación bacteriana presente, creando de nuevo falsos negativos, cuando la relación entre CFU y la cantidad de factores interferentes es inferior a dicho umbral mínimo.

55 En particular, los equipos conocidos no pueden eliminar/inhibir suficientemente los factores interferentes al menos con las cantidades de resinas y los tiempos de cultivo utilizables actualmente con dichos equipos.

Por lo tanto, como se ve, la técnica anterior en el campo de exámenes microbiológicos tiene significativas desventajas.

5 En este contexto, la finalidad técnica que forma la base de esta invención es proporcionar un dispositivo listo para usar y un método para eliminar factores interferentes de muestras que se van a someter a examen microbiológico que vengán las desventajas mencionadas anteriormente.

En particular, la finalidad técnica de esta invención es proporcionar un dispositivo listo para usar y un método para eliminar factores interferentes de muestras que se van a someter a examen microbiológico que permitan minimizar, y preferiblemente eliminar, el riesgo de falsos negativos en comprobaciones de la negatividad microbiológica relacionada con muestras pensadas para trasplante.

10 Una finalidad técnica adicional de esta invención es proporcionar un dispositivo listo para usar y un método para eliminar factores interferentes de muestras que se van a someter a examen microbiológico que permita un aumento en la sensibilidad de detección del equipo y los métodos actualmente conocidos.

15 La finalidad técnica especificada y los objetivos indicados se logran sustancialmente mediante un dispositivo listo para usar y un método para eliminar factores interferentes de muestras que se van a someter a examen microbiológico como se describe en las reivindicaciones adjuntas.

La invención proporciona un dispositivo para eliminar factores interferentes de muestras que se van a someter a examen microbiológico, dichos factores interferentes son cualquier sustancia que pueda inhibir o ralentizar la reproducción bacteriana en la que se basa el examen microbiológico de las muestras, caracterizado por que el dispositivo está listo para usar,

20 el dispositivo comprende una envoltura protectora sellada (2) y un elemento de contención (3),

el elemento de contención (3) se posiciona dentro de la envoltura (2) y contiene al menos un producto (4) para eliminar factores interferentes, el producto (4) es en forma de gránulos, el tamaño de partícula del producto (4) tiene un tamaño nominal y un cierto intervalo de variación,

25 el elemento de contención (3) está cerrado y comprende al menos una parte porosa que es permeable a líquidos y a los factores interferentes, dicha al menos una parte porosa tiene una porosidad con dimensión menor que el tamaño nominal, de manera que dicha al menos una parte porosa permite el paso de partículas de producto (4) que tienen dimensiones menores que un tamaño mínimo que se indica como porcentaje del tamaño nominal, y de manera que dicha al menos una parte porosa retiene los otros gránulos de producto (4),

30 todo lo contenido en la envoltura (2) está estéril y la envoltura (2) es de manera que impide el paso de contaminantes a través de ella con el fin de conservar el estado estéril de todo lo contenido en la envoltura (2), en donde el elemento de contención (3) se extrae o se elimina de manera estéril de la envoltura (2) en el momento de uso.

35 En un segundo aspecto, la invención proporciona un método para eliminar factores interferentes de una muestra que se va a someter a examen microbiológico, dichos factores interferentes son cualquier sustancia que pueda inhibir o ralentizar la reproducción bacteriana en la que se basa el examen de la muestra, caracterizado por que usa al menos un dispositivo de la invención, el método incluye las etapas de:

- extraer o eliminar de manera esterilizada el elemento de contención (3) de la envoltura (2);
- si la muestra es líquida, poner la muestra en comunicación de fluidos con el producto (4) a través de la parte porosa del elemento de contención (3) durante un primer periodo de tiempo; o respectivamente
- 40 - si la muestra es sólida, sumergir la muestra en un líquido operativo y poner el líquido operativo en comunicación de fluidos con el producto (4) a través de la parte porosa del elemento de contención (3) durante un segundo periodo de tiempo.

45 Características adicionales y las ventajas de esta invención son más evidentes en la descripción detallada de varias realizaciones preferidas, no limitativas, de un dispositivo listo para usar y un método para eliminar factores interferentes de muestras que se van a someter a examen microbiológico, con referencia a los dibujos adjuntos, en los que:

La figura 1 es una vista esquemática de una primera realización de un dispositivo listo para usar para eliminar factores interferentes según esta invención;

50 La figura 2 es una vista esquemática de una segunda realización de un dispositivo listo para usar para eliminar factores interferentes según esta invención;

La figura 3 es una sección axial vertical del dispositivo de la figura 2;

La figura 4 es una vista esquemática de una tercera realización de un dispositivo listo para usar para eliminar factores interferentes según esta invención;

5 La figura 5 es una sección axial vertical del dispositivo de la figura 4 con la adición esquemática de un elemento opcional.

Con referencia a los dibujos adjuntos, el numeral 1 denota en su totalidad un dispositivo listo para usar para eliminar factores interferentes de muestras que se van a someter a examen microbiológico, hecho según esta invención.

10 Según esta invención, el dispositivo 1 generalmente comprende una envoltura protectora sellada 2 y un elemento de contención cerrado 3 posicionado dentro de la envoltura 2. El elemento de contención 3 contiene al menos un producto 4 para eliminar factores interferentes, el producto es en forma de gránulos. Todo lo contenido en la envoltura 2 es estéril y la propia envoltura 2 es de manera que conserva el estado estéril, impidiendo el paso de contaminantes.

15 Para permitir en uso un libre intercambio de líquidos y factores interferentes entre el interior y el exterior del elemento de contención 3, el elemento de contención 3 comprende al menos una parte porosa, hecha con una porosidad de manera que sustancialmente retiene los gránulos del producto 4 para eliminar factores interferentes, pero al mismo tiempo también es permeable a líquidos y a los factores interferentes.

20 Como cualquier sustancia en forma de gránulos, el tamaño de partícula del producto 4 para eliminar factores interferentes siempre tendrá un cierto intervalo de variación, para lo que siempre será posible identificar valores medios (aritméticos o harmónicos) y cantidades máximas de producto 4 con un tamaño inferior a un valor de referencia predeterminado.

25 Por consiguiente, en el contexto de esta invención, la indicación de que la parte porosa puede retener sustancialmente los gránulos significa que tiene una porosidad con dimensiones menores que el tamaño nominal de los gránulos (entendido como que es el tamaño medio), y de manera que únicamente permite el paso de partículas de producto 4 para eliminar factores interferentes que tienen dimensiones menores que el tamaño mínimo (usualmente indicado como porcentaje del tamaño nominal). Al mismo tiempo no más de una cantidad de referencia predeterminada (% del peso) del producto 4 puede tener dimensiones menores que el tamaño mínimo. En las realizaciones preferidas, el tamaño mínimo está entre un 50 % y un 85 % del tamaño nominal, mientras que la cantidad de referencia no es superior al 10 % del peso del producto 4.

30 Considerando que para garantizar el paso libre del líquidos y contaminantes y factores interferentes es suficiente que la parte porosa tenga una porosidad de no menor de 70 μm y que se pueden lograr resultados óptimos con una porosidad de entre 110 y 190 μm , los gránulos de producto 4 deben tener un tamaño nominal no menor de 250 μm . Sin embargo, en las realizaciones preferidas, los gránulos de producto 4 tienen un tamaño nominal (y en particular un tamaño medio harmónico) no menor de 350 μm , y un contenido de partículas con tamaño menor de 300 μm que no superan un 10 %.

35 El producto 4 para eliminar factores interferentes puede variar dependiendo de requisitos y el uso pretendido del producto 4.

40 A pesar de esto, en la realización preferida (en la que el dispositivo 1 es particularmente idóneo para uso relacionado con el sector de trasplantes), el producto 4 es una composición que comprende una mezcla de una primera sustancia y una segunda sustancia, ambas en forma de gránulos. La primera sustancia a su vez comprende una primera resina que pertenece a la familia de resinas de intercambio iónico, mientras que la segunda sustancia comprende una segunda resina que pertenece a la familia de resinas hidrófobas no iónicas.

La primera sustancia y la segunda sustancia están presentes en una relación en peso entre 0,5 y 2, y preferiblemente entre 0,8 y 1,25 (en una realización particularmente preferida las dos sustancias están presentes en una relación de 1:1).

45 Además, ventajosamente, al menos la segunda sustancia está hidratada y comprende una cantidad de agua igual a al menos un 30 % de su propio peso, preferiblemente igual a al menos un 50 %. De nuevo preferiblemente, la segunda sustancia comprende una cantidad de agua no superior a un 67 % de su propio peso. Sin embargo, en las realizaciones preferidas, incluso la segunda sustancia está hidratada y comprende una cantidad de agua igual a al menos un 46 % de su propio peso, y ventajosamente no superior a un 63 % de su propio peso. Concerniente a las resinas presentes en las sustancias primera y segunda, en las realizaciones preferidas la primera resina se basa en metacrilato-divinilbenceno mientras que la segunda resina se basa en poliestireno-divinilbenceno. Entre las pertenecientes a estas familias, se han obtenido buenos resultados en particular con resinas Amberlite™ CG50 y Amberlite™ FPC3500 producidas por Rohm and Haas del grupo de EE. UU. The Dow Chemical Company, como primera resina, y con las resinas C18 producidas y comercializadas por MACHEREY NAGEL, y Amberlite™ XAD™4,

Amberlite™ XAD™16 y Amberlite™ XAD™18 de nuevo producidas por Rohm and Haas, como segundas resinas. Se han obtenido resultados particularmente buenos con una combinación de Amberlite™ FPC3500 y Amberlite™ XAD™18.

5 La figura 1 ilustra una primera realización del dispositivo 1 según esta invención, la más simple de las descritas en esta memoria. En esta realización el elemento de contención 3 es una bolsa 5 hecha parcial o completamente (pero con ventaja completamente) de material poroso. Además, preferiblemente, la bolsa 5 también es flexible.

En la figura 1 no se muestra la envoltura de contención 2.

En una realización alternativa, la bolsa flexible 5 puede ser substituida por un objeto diferente, de nuevo poroso, que sea rígido o semirrígido (por ejemplo una carcasa de contención).

10 El uso del dispositivo 1 según la primera realización comprende extraer la bolsa 5 (o la carcasa, o el otro objeto usado) de la envoltura protectora 2, y sumergirla en el líquido en el que se debe llevar a cabo la purificación eliminando los factores interferentes, o en el que se sumerge la muestra a purificar.

15 En las realizaciones segunda y tercera (figuras 2 a 5), el dispositivo 1 también comprende al menos un recipiente 6 insertado en la envoltura 2, diseñada para contener la muestra de la que se deben eliminar los factores interferentes y en la que se aloja el producto 4 para eliminar los factores interferentes.

Las figuras 2 y 3 muestran la segunda realización del dispositivo 1 que usa el elemento de contención 3 de la primera realización en un dispositivo más completo 1.

20 De hecho, en este caso, dentro de la envoltura 2 no está únicamente el recipiente 6 (en forma de frasco) sino también una tapa 7 acoplable de manera retirable al recipiente 6 para sellarlo cerrado y junto con el recipiente que forma una cámara de contención 8. En contraste, el elemento de contención 3 se inserta a su vez en la cámara 8.

En este caso, en el momento de uso, el recipiente 6 y la tapa 7 se extraen de la envoltura protectora 2, la tapa 7 se desacopla del recipiente 6 y el último se llena con el líquido a purificar hasta que cubre el elemento de contención 3. Luego se acopla la tapa 7 de nuevo al recipiente 6.

25 Cabe señalar que la primera realización y la segunda realización de esta invención son adecuadas para la purificación tanto de muestras en estado líquido como de muestras en estado sólido.

Mientras en el primer caso la muestra es el mismo líquido en el que se sumerge el elemento de contención 3, en el último caso se debe usar un líquido operativo, en el que se debe sumergir tanto la muestra como el elemento de contención 3.

30 La tercera realización, ilustrada en las figuras 4 y 5, es diferente. Esta está pensada exclusivamente para uso en la purificación de líquidos eliminando factores interferentes.

De hecho, en este caso, dentro de la envoltura 2 el dispositivo 1 comprende una jeringa 9 que forma tanto el recipiente 6 como el elemento de contención 3.

35 Más en detalle, la jeringa 9 comprende una funda externa 10 que tiene un primer extremo abierto 11 y un segundo extremo abierto 12. El segundo extremo abierto 12 forma una tobera para succionar y dispensar líquidos, mientras que se inserta un émbolo 13 en la funda 10 a través del primer extremo abierto 11. El émbolo 13 comprende un cabezal 14 acoplado de manera deslizante de una manera sellada al interior de la funda 10, y entre el cabezal 14 del émbolo 13 y la funda 10 hay un compartimento de contención de volumen variable 15 (su volumen varía dependiendo de la posición del cabezal 14 del émbolo 13). Este compartimento de contención 15 también está en comunicación de fluidos con el segundo extremo abierto 12 pero únicamente a través de un filtro 16 que forma la parte porosa del elemento de contención 3. De hecho, según esta realización, el elemento de contención 3 está formado por la funda 10 (o con más precisión por la parte de funda 10 entre la posición del cabezal 14 del émbolo 13 y el filtro 16), el cabezal 14 del émbolo 13 y el filtro 16. Por consiguiente, el producto 4 para eliminar factores interferentes se inserta en el compartimento de contención 15.

45 Por lo tanto, con esta realización la muestra líquida a purificar, al eliminar factores interferentes, se succiona adentro del compartimento de contención 15 y se expulsa una vez se completa el tratamiento.

50 Como se muestra en los dibujos adjuntos, según la tercera realización de la invención, el dispositivo 1 también puede comprender una aguja/cánula 17 de succión y/o entrega acoplada de manera retirable al segundo extremo 12 (por ejemplo mediante un conector Luer 18 como se muestra en los dibujos adjuntos). Además, ventajosamente, el segundo extremo 12, antes del uso se puede cerrar con un capuchón desmontable 19 (por ejemplo fijado al conector Luer 18).

5 En una realización alternativa adicional, el dispositivo 1 también puede comprender una válvula de tres vías 20 también acoplable de manera retirable, con una de sus vías (conectores), al segundo extremo 12 (por ejemplo por medio del conector Luer 18). Las otras dos vías de la válvula 20 se pueden usar una para succión del fluido (si es necesario someterla a conexión de una aguja/una cánula 17) y la otra para dispensar el fluido que ha sido descontaminado por eliminación de los factores interferentes, para evitar los riesgos de recontaminación durante la dispensación tras el uso de una única conexión para succión y dispensación.

10 Como ya se ha indicado, esta invención también está relacionada con un método para eliminar factores interferentes de una muestra que se va a someter a examen microbiológico, en la que se usa un dispositivo 1 según cualquiera de las reivindicaciones precedentes. Ventajosamente, la muestra puede ser un líquido de procesamiento para un órgano, tejido o células pensadas para trasplante, o una muestra de un órgano, tejido o células pensados para trasplante, o un fluido corporal tomado de una persona, o una medicina, o una sustancia derivada de humanos. La expresión líquido de procesamiento significa un fluido previamente usado para tratar un órgano, un tejido o células, tales como un fluido de conservación o un fluido de descontaminación.

15 En general, el método requiere que si la muestra es líquida, se debe poner en comunicación de fluidos con el producto 4 a través de la parte porosa (por ejemplo ya sea sumergiendo el elemento de contención 3 en la muestra, o succionando la muestra adentro de la jeringa 9 como se ha descrito anteriormente respecto al uso de las tres realizaciones ilustradas en los dibujos adjuntos), y mantenerse ahí durante un primer periodo de tiempo. Si, en contraste, la muestra es sólida, el método requiere que sea sumergida en un líquido operativo que a su vez se pone en comunicación de fluidos con dicho producto 4 a través de la parte porosa (en este caso el elemento de contención 3 se sumerge ventajosamente en el líquido operativo), y se mantiene ahí durante un segundo periodo de tiempo predeterminado (usualmente más largo que el primer periodo de tiempo, siendo iguales las otras condiciones, dado que se debe permitir que los factores interferentes salgan de la muestra).

20 Dependiendo de requisitos, el método puede requerir el uso de un único dispositivo 1 para el tratamiento, con un tiempo de tratamiento predeterminado relativamente largo, o el uso de varios dispositivos uno tras otro, cada uno durante un tiempo más corto. Además, en el último caso, en general el tiempo de tratamiento total es menor o igual al del primer caso, siendo iguales los resultados.

30 Como ya se ha indicado, el método para eliminar factores interferentes según esta invención está pensado para uso como proceso preliminar antes de un examen microbiológico, por ejemplo realizado usando los equipos conocidos mencionados anteriormente. De hecho, gracias a esta invención, lo que se somete al examen microbiológico no es la muestra (líquida o sólida) como tal, como era el caso hasta ahora, sino la muestra purificada eliminando los factores interferentes de ella. Considerando esto, la muestra en el momento de ser insertada también puede estar en viales sin resinas que por lo tanto tiene un líquido de cultivo mucho más límpido (las resinas usadas en los viales actuales de hecho tienden a provocar turbiedad). Gracias a esta invención por lo tanto es posible aumentar significativamente la sensibilidad incluso de equipos de la técnica anterior.

35 Con referencia al sector de trasplantes, también se han proporcionado varios métodos preferidos para eliminar factores interferentes.

Un primer ejemplo está relacionado con córneas pensadas para trasplante. En este caso el método comprende llevar a cabo las siguientes etapas en asepsia (un método particularmente idóneo para un dispositivo 1 tal como la Jeringa Resep descrita más adelante):

- 40
- retirada estéril de la jeringa 9 y la aguja 17 de la envoltura 2;
 - retirada del capuchón 19 de la jeringa 9 y enroscado estéril de la aguja 17 sobre el segundo extremo 12;
 - succión entre 2 y 4 ml de líquido para ser analizado por cada gramo de producto 4 para eliminar factores interferentes presentes en el dispositivo 1;
 - agitación de la jeringa 9 (preferiblemente invirtiéndolo varias veces);
- 45
- dejar a temperatura ambiente durante 15/20 minutos para promover la eliminación del interferentes factores;
 - expulsión del líquido directamente adentro del vial para análisis microbiológico (tal como una botella d BACTEC).

50 Un segundo ejemplo está relacionado con el sector de tejidos pensados para trasplante. En este caso el método comprende llevar a cabo las siguientes etapas en asepsia (un método particularmente idóneo para un dispositivo 1 tal como la Jeringa Resep descrita más adelante):

- retirada estéril de la jeringa 9 y la aguja 17 de la envoltura 2;
- retirada del capuchón 19 de la jeringa 9 y enroscado estéril de la aguja 17 sobre el segundo extremo 12;

- succión entre 3 y 5 ml de líquido para ser analizado por cada gramo de producto 4 para eliminar factores interferentes presentes en el dispositivo 1;
 - agitación de la jeringa 9 (preferiblemente invirtiéndolo varias veces);
 - dejar a temperatura ambiente durante 15/20 minutos para promover la eliminación del interferentes factores;
- 5 - expulsión del líquido directamente adentro del vial para análisis microbiológico (tal como una botella de BACTALERT, frasco con caldo de cultivo).

En ambos de estos ejemplos el líquido a examinar puede ser el líquido de transporte, el líquido de descontaminación, el líquido de lavado, un líquido de conservación o de crioconservación.

10 Finalmente, cabe señalar que el contexto de esta invención también abarca casos en los que la eliminación se aplica a la mayoría pero no a todos los interferentes factores.

Resultados experimentales

A continuación hay una descripción de los resultados de eliminación de los factores interferentes obtenida usando dos dispositivos diferentes hechos según esta invención.

A. Dispositivo según la tercera realización (más adelante en esta memoria llamado Jeringa Resep)

15 El dispositivo ensayado comprendía una jeringa de polipropileno de 10 ml 9 con un filtro de polipropileno 16 que tenía una porosidad de 120 µm, en la que había 0,5 g de una primera resina que consistía en Amberlite™ FPC3500, y 0,5 g de una segunda resina que consistía en Amberlite™ XAD™18. Ambas resinas habían sido previamente activadas y contenían respectivamente un 53 % y un 47 % de agua, en peso.

Se llevaron a cabo una serie de ensayos de validación en dicho dispositivo.

20 A.1. Valoración de prestaciones de dispositivo jeringa reseep en líquidos para la descontaminación de tejidos

El dispositivo de Jeringa Resep se sometió a una serie de ensayos para comprobar su fiabilidad efectiva en la eliminación de factores interferentes del líquido de procesamiento para tejidos llamados BASE. 128™.

25 El líquido BASE 128™ es una solución para la descontaminación de tejidos humanos pensados para trasplante, producidos y comercializados por Al.Chi.Mi.A. S.r.l. con oficina registrada en Ponte S.Nicolo (provincia de Padua), Italia.

En términos de su composición, BASE 128™ comprende agua purificada, RPMI 1640 en peso L-glutamina sin NaHCO, bicarbonato sódico, tampón HEPES (polvo), sal sódica de cefotaxima, sulfato de gentamicina, hidrocloreuro de vancomicina, desoxicolato de amfotericina b y piruvato sódico.

30 A.1.1 Dinámica de eliminación del contenido antibiótico de 5 ml de BASE.128™ por tratamiento con un dispositivo de Jeringa Resep

Se valoró la dinámica de reducción del residuo antibiótico en 5 ml de BASE.128™ por dispositivo de Jeringa Resep. El resultado fue que 20 minutos de incubación de muestra en el dispositivo de Jeringa Resep permitieron la eliminación casi completa del contenido antibiótico presente en 5 ml de BASE.128™.

35 A continuación se muestran los resultados del análisis cromatográfico llevado a cabo usando la técnica HPLC. Cada condición se sometió a triple ensayo (es decir, con tres prototipos diferentes del dispositivo de Jeringa Resep) y cada muestra se ensayó dos veces usando HPLC.

Tiempo de tratamiento con ResEP (min.)	5	10	20	30	60
% de eliminación de HCl de vancomicina	100	100	100	100	100
% de eliminación de sal sódica cefotaxima	100	100	100	100	100
% de eliminación de sulfato de gentamicina	88	94	96	97	100
% de eliminación de desoxicolato de amfotericina b	100	100	100	100	100

Tabla 1 Eliminación de residuos antibióticos de muestras de BASE.128™ (5 ml).

A.1.2 Ensayos preliminares en la dinámica de la eliminación del contenido antibiótico de 10 ml de BASE.128™ por tratamiento con un dispositivo de Jeringa Resep.

Se valoró la dinámica de reducción del residuo antibiótico en 10 ml de BASE.128™ por dispositivo de Jeringa Resep. El resultado fue que en este caso 20 minutos de incubación de muestra todavía permitieron una buena eliminación de los antibióticos, pero se necesitan tiempos más largos para lograr mejor eliminación (más del 90 % del contenido inicial). Todos los análisis se llevaron a cabo usando HPLC.

- 5 A continuación se muestran los resultados del análisis llevado a cabo usando HPLC. Cada condición se sometió a un único ensayo (únicamente con un prototipo del dispositivo) mientras que cada muestra se ensayó dos veces usando HPLC.

Tiempo de tratamiento con ResEP (min.)	5	15	20	30	45	60	90	1380
% de eliminación de HCl de vancomicina	72	88	92	94	98	97	98	100
% de eliminación de sal sódica cefotaxima	73	90	94	96	98	99	99	100
% de eliminación de sulfato de gentamicina	79	93	96	96	97	100	100	100
% de eliminación de desoxicolato de amfotericina b	64	89	91	93	93	94	97	100

Tabla 2 Eliminación de residuos antibióticos de muestras de BASE.128™ (10 ml).

- 10 A la luz de los resultados logrados, el dispositivo de Jeringa Resep ensayado se considera por lo tanto adecuado para tratar volúmenes de líquido entre 1,5 ml y 5 ml para garantizar un buen resultado en tiempos más cortos.

A.1.3 Validación de las prestaciones del dispositivo de Jeringa Resep en colaboración con bancos de tejido cardiovascular de Emilia Romagna (BTCER) y Lombardía (BTCL)

- 15 Este estudio se llevó a cabo con el solicitante colaborando con los bancos de tejido indicados, e implicó los bancos de tejido cardiovascular de Emilia Romagna (Italia) y de Lombardía (Italia) que procesaron y descontaminaron diez tejidos (adecuados y no adecuados para trasplante) usando el líquido BASE.128™, los sometieron a ensayos para comprobar la negatividad microbiológica de tres líquidos separados que entraron en contacto con la tejidos: el líquido de transporte usado antes de la descontaminación, el líquido de descontaminación y el líquido de crioconservación usado tras la descontaminación.

En particular, el tratamiento necesitó que las muestras se sometieran al siguiente protocolo:

- 20 - Descontaminación: incubación de tejido en la solución BASE. 128™ usando 25 ml de BASE. 128™ por cada gramo de tejido, en las siguientes condiciones de tiempo y temperatura:
- 72 h a 4 °C para vasos
 - 24 h a 4 °C para válvulas cardiacas
- 25 - Lavado: tras la descontaminación, el tejido se sumergió en 25 ml de solución de lavado por cada gramo de tejido (BTCL: Los tejidos pensados para trasplante se lavaron con agitación "manual" bajo un capó durante 2-3 minutos a temperatura ambiente; BTCER: Los tejidos se lavaron mediante breve enjuague con un cambio de líquido de lavado bajo un capó a temperatura ambiente).
- Crioconservación: el tejido se sumergió en aproximadamente 100 ml de solución de crioconservación fría. La bolsa se selló y colocó en un criocongelador automatizado con una velocidad de enfriamiento de -1 °C/min.

- 30 Además, se llevaron a cabo ensayos para comprobar la negatividad microbiológica en ambas muestras de líquidos tratados según el método estándar de banco de tejido y en muestras de líquido tratadas con el dispositivo de Jeringa Resep. El protocolo para usar el dispositivo de Jeringa Resep necesitó que la muestra líquida fuera succionada por medio del dispositivo hasta la marca de "6 ml" (correspondiente a un volumen de 5 ml succionados), que se agitara brevemente y se dejara actuar durante aproximadamente 20 minutos. Cuando había transcurrido ese tiempo, la muestra tratada se insertó en el equipo de análisis microbiológico.

Los ensayos llevados a cabo para comprobar la negatividad microbiológica revelaron diversas contaminaciones para los líquidos de transporte, y la negatividad microbiológica para los líquidos de lavado y crioconservación.

Entonces, tanto el líquido de lavado como el líquido de crioconservación se sometieron a valoración HPLC de los residuos antibióticos.

- 40 Los resultados en los dos bancos de tejido se muestran en las tablas siguientes:

Antibiótico	Muestra tratada	Residuo antibiótico final presente (µg/ml)	% de eliminación de residuo antibiótico
HCl de vancomicina	Líquido de descontaminación	6,2	89
	Líquido de lavado	<0,51*	100
Sal sódica de cefotaxima	Líquido de descontaminación	0,8	97
	Líquido de lavado	<0,16*	100
Sulfato de gentamicina	Líquido de descontaminación	21,6	79
	Líquido de lavado	< 1,71*	100
Desoxicolato amfotericina B	Líquido de descontaminación	0,6	96
	Líquido de lavado	< 0,44*	100

*límite de capacidad de cuantificación del instrumento

Tabla 3 Eliminación de contenido antibiótico por medio de Jeringa Resep en muestras de líquidos de procesamiento de BTCL

Antibiótico	Muestra tratada	Residuo antibiótico final presente (µg/ml)	% de eliminación de residuo antibiótico
HCl de vancomicina	Líquido de descontaminación	8,8	79
	Líquido de crioconservación	1,6	73
Sal sódica de cefotaxima	Líquido de descontaminación	1,3	85
	Líquido de crioconservación	<0,16*	100
Sulfato de gentamicina	Líquido de descontaminación	28,9	77
	Líquido de crioconservación	< 1,71*	100
Desoxicolato amfotericina B	Líquido de descontaminación	< 0,44*	100
	Líquido de crioconservación	< 0,44*	100

*límite de capacidad de cuantificación del instrumento

- 5 Tabla 4 Eliminación de contenido antibiótico por medio de Jeringa Resep en muestras de líquidos de procesamiento de BTCER (límite de capacidad de cuantificación del instrumento).

En las muestras tratadas con el dispositivo de Jeringa Resep, se observó por lo tanto una reducción de residuos antibióticos entre un 76 % y un 100 %.

- 10 También cabe señalar que las reducidas prestaciones del dispositivo, en los casos de vancomicina y gentamicina se debieron a la presencia de líquidos muy "sucios" (llenos de eritrocitos y otro material derivado del tratamiento de los tejidos). En contraste, ensayos adicionales no mostrados demostraron que, cuando la muestra era difícil de tratar, el uso de dos pasadas en una Jeringa Resep (o el uso de dos dispositivos, uno tras otro, con los métodos indicados anteriormente) permitió que el problema fuera superado.

- 15 En cualquier caso, ensayos llevados a cabo han mostrado que la cantidad de residuos encontrados tras tratamiento con el dispositivo de Jeringa Resep, entonces diluidos en el dispositivo para EL ensayo para comprobar la negatividad microbiológica, no interfieren con el crecimiento bacteriano y que por lo tanto la muestra puede ser considerada purificada desde el punto de vista de eliminación de interferentes factores.

A.1.4 Validación del dispositivo de Jeringa Resep en muestras de un estudio en colaboración con el banco de piel de Verona

Este es un estudio llevado en colaboración con el banco de piel de Verona, Italia. La intención de este estudio era preparar un protocolo adecuado de tiempo/temperatura de descontaminación para tejidos de piel.

5 Para esta finalidad, se descontaminaron cinco tejidos con BASE.128™ según dos protocolos (100 ml a 37 °C durante 6 h; 100 ml a 22 °C durante 24 h). Las muestras de líquido y tejido se ensayaron en cuanto a negatividad microbiológica tanto por el Verona banco de piel usando su propio método estándar (que usa medios de cultivo) como por el solicitante. Únicamente las muestras líquidas ensayadas por el solicitante se trataron con la Jeringa Resep para eliminar factores interferentes. Algunas de estas muestras también se valoraron usando HPLC para detectar residuos antibióticos.

10 Doble análisis HPLC llevado a cabo en 24 muestras tras tratamiento con el dispositivo de Jeringa Resep, mostraron eliminación completa de residuos antibióticos presentes en las muestras descontaminadas con ambos protocolos (de nuevo en este caso, los ensayos fueron realizados para Vancomicina, Cefotaxima, Gentamicina y Amfotericina B desoxicolato).

15 La comparación de los resultados obtenidos con el uso de los dispositivos de Jeringa Reseps por un lado, y con el procedimiento estándar del banco de piel por otro, también mostraron aproximadamente un 50 % de falsos negativos en los resultados obtenidos usando el procedimiento estándar.

Se obtuvieron datos interesantes al someter varias muestras de líquidos de transporte para los tejidos todavía no procesados (por lo tanto en teoría libres de residuos antibióticos) para la acción del dispositivo de Jeringa Resep.

Algunos de estos ensayos dieron positivo en contaminación microbiológica únicamente tras tratamiento con los dispositivos, indicando así la presencia de factores interferentes ya en los tejidos.

20 A.2. Valoración de las prestaciones del dispositivo de jeringa resepe en líquidos de conservación de córnea

La eficacia del dispositivo de Jeringa Resep también se ensayó con relación a dos líquidos para la conservación de córneas llamados CARRY-C™ y TISSUE-C™, también producidos y comercializados por Al.Chi.Mi.A. S.r.l. con oficina registrada en Ponte S.Nicolo (provincia de Padua), Italia.

25 En términos de composición, TISSUE-C™ comprende agua purificada, penicilina, estreptomicina, amfotericina B, MEM (polvo), NEW BORN CALF SERUM, piruvato sódico y bicarbonato sódico, mientras que CARRY-C™ tiene los mismos ingredientes más dextran T500.

Las valoraciones todavía están en curso.

A.2.1 Dinámica de la eliminación de estreptomicina y penicilina G

30 Se llevaron a cabo ensayos preliminares en muestras de 5 ml de CARRY-C™ y Tissue-C™ y se valoró la eliminación de penicilina G y estreptomicina usando HPLC.

También se hizo una valoración de cómo variaban las prestaciones dependiendo de los gramos totales de producto para eliminar factores interferentes usados en el dispositivo (las resinas usadas y las relaciones de ellas en peso fueron iguales), dando las siguientes indicaciones:

Tratamiento (gramos * minutos)	Tissue-C™		CARRY-C™	
	% de eliminación de estreptomicina	% de eliminación de penicilina G	% de eliminación de estreptomicina	% de eliminación de penicilina G
1 g*20'	64,86	100	67,96	95,74
1 g*30'	73,28	100	72,66	95,67
1 g*45'	79,25	100	79,60	95,26
1 g*60'	79,34	100	/	/
1,2 g*20'	64,47	100	/	/
1,4g *20'	66,86	100	/	/
1,4 g*30'	77,82	100	/	/

Tratamiento (gramos * minutos)	Tissue-C™		CARRY-C™	
	% de eliminación de estreptomicina	% de eliminación de penicilina G	% de eliminación de estreptomicina	% de eliminación de penicilina G
1,4 g*45'	79,64	100	/	/
2 g*20	73,59	100	/	/

Tabla 5 Eliminación de contenido antibiótico por medio de Jeringa Resep en muestras de líquidos de conservación de córnea

5 Como se muestra mediante los resultados, hubo una eliminación casi total de penicilina G, mientras que la eliminación únicamente fue parcial en el caso de estreptomicina.

Sin embargo, ensayos preliminares indicaron que, al pasar dos veces los líquidos, una vez tras otra, en dispositivos de Jeringa Resep, se pudo eliminar incluso completamente la estreptomicina. En particular, se pudo eliminar el 99 % de la estreptomicina usando dos dispositivos de Jeringa Resep, uno tras otro, manteniendo el líquido durante diez minutos en cada dispositivo.

10 Todos estos análisis se realizaron en muestras individuales que se ensayaron dos veces usando HPLC.

A.2.2 Validación de prototipos con el Banco de Ojos de Monza (BOM)

La validación está en curso del dispositivo de Jeringa Resep en los líquidos usados para la conservación y descontaminación de tejidos de córnea en BOM (líquidos de conservación usados: Tissue-C, CARRY-C™ y Eusol-C también producidos y comercializados por Al.Chi.Mi.A. S.r.l.).

15 Estos ensayos implican una comparación del resultado del ensayo para comprobar la negatividad microbiológica para muestras sometidas a tratamiento con la Jeringa Resep, con las que son para muestras sometidas al procedimiento estándar del BOM.

Los ensayos todavía están en curso. Sin embargo, hasta ahora, usando el dispositivo según la invención, se han identificado un 20 % de falsos negativos.

20 A3. Valoración de interacciones entre componentes de dispositivo de jeringa resepe y cepas de bacterias

25 Para evaluar las interacciones entre los componentes del dispositivo y potenciales contaminantes presentes en las muestras a tratar, se llevaron a cabo ensayos con las cepas de las bacterias indicadas por la farmacopea (S. aureus ATCC6538, P. aeruginosa ATCC9027, C. albicans ATCC10231, B. subtilis ATCC6633, A. brasiliensis ATCC16404, C. sporogenes ATCC19404) para comprobar la posibilidad de recuperar completamente lo que se inoculó previamente.

Para cada cepa de bacterias se inocularon entre 1 y 10 CFU en muestras de líquido que consistían entre 1,5 y 3 ml. En todos los casos tras tratamiento con el dispositivo de Jeringa Resep fue posible recuperar todas las CFU inoculadas.

30 Cada condición se ensayó tres veces y se comparó con controles correspondientes de ensayo doble (inoculación de jeringas sin resinas y filtro 16 e inoculación en tubo de ensayo).

Por lo tanto se podría decir que no hay interacción entre los componentes del dispositivo y las cepas de bacterias ensayadas. El dispositivo de Jeringa Resep por lo tanto no interfiere con la recuperación de contaminantes presentes en la muestras.

35 Un ensayo adicional sobre S. aureus también indica que incluso pasar dos veces en dispositivos de Jeringa Reseps no afecta a la recuperación bacteriana de 1-10 CFU.

B. Dispositivo según la segunda realización de esta invención (más adelante en esta memoria llamado TEJIDO RESEP)

40 El dispositivo ensayado comprende un recipiente de polipropileno de 15 ml 6 en el que se inserta una bolsa de PET 5 que consiste en una malla regular con orificios que tienen una diagonal de 190 µm, que contiene 0,75 g de una primera resina que consiste en Amberlite™ FPC3500, y 0,75 g de una segunda resina que consiste en Amberlite™ XAD™ 18.

Como en el caso anterior, ambas resinas habían sido previamente activadas y contenían respectivamente un 53 % y un 47 % de agua, en peso.

Se llevaron y se están llevando a cabo una serie de ensayos de validación en dicho dispositivo.

5 B.1. Valoración de las prestaciones del dispositivo de tejido resepe en muestras de tejidos descontaminadas con base. 128™

Se llevaron a cabo ensayos iniciales para la eliminación de residuos antibióticos contenidos en tejidos en material homogeneizado que consistían en tejidos cardiovasculares (aproximadamente 0,5 g de tejido) descontaminado durante 72 h a 4 °C en BASE.128™ (con la proporción de 25 ml de líquido por gramo de tejido).

10 Tras colocar el material homogeneizado y el líquido en el Tejido Resep, el último se agitó respectivamente durante 30 o 60 minutos a temperatura ambiente.

Los resultados del ensayo son de la siguiente manera:

Eliminación de residuos	Tejido tratado 30'/T.A. agitado	Tejido tratado 60'/T.A. agitado
HCL de vancomicina (%)	74	89
Sal sódica de cefotaxima (%)	100	100
Sulfato de gentamicina (%)	74	96
Desoxicolato de amfotericina B (%)	100	100

Tabla 6 Eliminación de contenido antibiótico usando tejido ResEP en material homogeneizado que consiste en tejidos cardiovasculares descontaminados durante 72 h/4 °C en BASE.128™.

15 Se eliminó completamente la cefotaxima y la amfotericina. En el caso de vancomicina, se había eliminado aproximadamente el 89 % tras 1 h de tratamiento del tejido con el dispositivo. En contraste, se eliminó el 96 % de la gentamicina en las mismas condiciones. Reducir el tiempo de aplicación a 30' redujo las prestaciones. Estos análisis se realizaron en 3 tejidos que se ensayaron dos veces usando HPLC.

B.2. Valoración de interacciones entre componentes de dispositivo y cepas de bacterias

20 Se llevaron a cabo valoraciones iniciales de las interacciones entre componentes de dispositivo y cepas de bacterias en la cepa de S.aureus. En este caso también, se confirmó la recuperación de 1-10 CFU. Ensayos adicionales están en curso en las cepas indicadas por la farmacopea.

Esta invención supone ventajas importantes.

25 De hecho el dispositivo y el método proporcionados permiten que la muestra que debe ser sometida a exámenes microbiológicos sea tratada de tal manera que los exámenes subsiguientes se puedan llevar a cabo con resultados que son mucho más fiables que actualmente.

En segundo lugar, con referencia al sector de trasplantes, esta invención hace posible también detectar contaminaciones bacterianas que hasta ahora habrían dado falsos negativos.

30 Además, si se aplica a exámenes de fluidos biológicos, además de garantizar mayor sensibilidad esta invención puede permitir una reducción significativa de la cantidad de muestras necesarias con el fin de llevar a cabo el análisis, con beneficios particulares en el campo pediátrico.

Además, en general, todos los demás aspectos son iguales, la aplicación preliminar de esta invención permite una reducción en las veces necesarias por los equipos de la técnica anterior para detectar una contaminación microbiológica.

35 Finalmente, cabe señalar que esta invención es relativamente fácil de producir y que incluso el coste vinculado a la implementación de la invención no es muy alto.

Además, todos los detalles de la invención pueden ser sustituidos por otros elementos técnicamente equivalentes y los materiales utilizados, así como las formas y las dimensiones de los diversos componentes, pueden variar según los requisitos.

REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo para eliminar factores interferentes de muestras que se van a someter a examen microbiológico, dichos factores interferentes son cualquier sustancia que pueda inhibir o ralentizar la reproducción bacteriana en la que se basa el examen microbiológico de las muestras,
- 5 caracterizado por que
- el dispositivo está listo para usar,
- el dispositivo comprende una envoltura protectora sellada (2) y un elemento de contención (3),
- 10 el elemento de contención (3) se posiciona dentro de la envoltura (2) y contiene al menos un producto (4) para eliminar factores interferentes, el producto (4) es en forma de gránulos, el tamaño de partícula del producto (4) tiene un tamaño nominal y un cierto intervalo de variación,
- 15 el elemento de contención (3) está cerrado y comprende al menos una parte porosa que es permeable a líquidos y a los factores interferentes, dicha al menos una parte porosa tiene una porosidad con dimensiones menores que el tamaño nominal, de manera que dicha al menos una parte porosa permite el paso de partículas de producto (4) que tienen dimensiones menores que un tamaño mínimo que se indica como porcentaje del tamaño nominal, y de manera que dicha al menos una parte porosa retiene los otros gránulos de producto (4),
- 20 todo lo contenido en la envoltura (2) está estéril y la envoltura (2) es de manera que impide el paso de contaminantes a través de ella con el fin de conservar el estado estéril de todo lo contenido en la envoltura (2),
- en donde el elemento de contención (3) se extrae o se elimina de manera estéril de la envoltura (2) en el momento de uso.
2. El dispositivo según la reivindicación 1, el dispositivo está pensado para llevar a cabo un proceso preliminar antes de un examen microbiológico que está pensado para verificar ya sea la negatividad microbiológica de una muestra o para medir un grado y tipo de contaminación microbiológica de la muestra, dicho proceso preliminar permite proporcionar al examen microbiológico una muestra purificada de factores interferentes.
- 25 3. El dispositivo según la reivindicación 1 o 2, que comprende también un recipiente (6) para contener la muestra desde la que se deben retirar los factores interferentes, el recipiente (6) se inserta en la envoltura (2) y contiene dicho producto (4).
- 30 4. El dispositivo según la reivindicación 1, 2 o 3, en donde el elemento de contención (3) es una bolsa de contención (5) hecha de material poroso.
5. El dispositivo según la reivindicación 3, que comprende también una tapa (7) acoplable de manera retirable al recipiente (6), para sellarlo cerrado y junto con el recipiente que forma una cámara de contención (8), ambos se insertan en la envoltura protectora (2), el elemento de contención (3) se inserta en dicha cámara (8).
- 35 6. El dispositivo según la reivindicación 5, en donde el elemento de contención (3) es una bolsa de contención (5) hecha de material poroso.
7. El dispositivo según la reivindicación 3, en donde el recipiente (6) es una jeringa (9) que comprende una funda externa (10) que tiene un primer extremo abierto (11) y un segundo extremo abierto (12), el segundo extremo abierto (12) forma una tobera para succionar y dispensar líquidos, y un émbolo (13) insertado en la funda (10) a través del primer extremo abierto (11) y que comprende un cabezal (14) acoplado de manera deslizante de una forma sellada al interior de la funda (10), entre el cabezal (14) del émbolo (13) y la funda (10) hay un compartimento de contención de volumen variable (15) que está en comunicación de fluidos con el segundo extremo abierto (12) a través de un filtro (16) que forma dicha parte porosa, el producto (4) para eliminar factores interferentes se inserta en el compartimento de contención (15), y el elemento de contención (3) está formado por la funda (10), el cabezal (14) del émbolo (13) y el filtro (16).
- 40 45 8. El dispositivo según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que el producto (4) es una composición que comprende una mezcla de una primera sustancia y una segunda sustancia, ambas en forma de gránulos, la primera sustancia a su vez comprende una primera resina que pertenece a la familia de resinas de intercambio iónico, y la segunda sustancia a su vez comprende una segunda resina que pertenece a la familia de resinas hidrófobas no iónicas, la primera sustancia y la segunda sustancia están presentes en una
- 50 relación en peso entre 0,5 y 2.

9. El dispositivo según la reivindicación 8, caracterizado por que al menos la segunda sustancia está hidratada y comprende una cantidad de agua igual a al menos un 30 % de su propio peso.
10. El dispositivo según la reivindicación 8 o 9, caracterizado por que la primera sustancia y la segunda sustancia están presentes en una relación en peso entre 0,8 y 1,25.
- 5 11. El dispositivo según la reivindicación 8, 9 o 10, caracterizado por que la primera sustancia está hidratada y comprende una cantidad de agua igual a al menos el 50 % de su propio peso y/o la segunda sustancia está hidratada y comprende una cantidad de agua igual a al menos el 46 % de su propio peso.
- 10 12. El dispositivo según la reivindicación 11, caracterizado por que la primera sustancia comprende una cantidad de agua no superior al 67 % de su propio peso y/o la segunda sustancia comprende una cantidad de agua no superior al 63 % de su propio peso.
13. El dispositivo según una de las reivindicaciones 8 a 12, caracterizado por que la primera resina es a base de metacrilato-divinilbenceno y/o la segunda resina es a base de poliestireno-divinilbenceno.
14. Un método para eliminar factores interferentes de una muestra que se va a someter a examen microbiológico, dichos factores interferentes son cualquier sustancia que pueda inhibir o ralentizar la reproducción bacteriana en la que se basa el examen microbiológico de la muestra,
- 15
- caracterizado por que usa al menos un dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, el método incluye las etapas de:
 - extraer o eliminar de manera esterilizada el elemento de contención (3) de la envoltura (2);
 - si la muestra es líquida, poner la muestra en comunicación de fluidos con el producto (4) a través de la parte porosa del elemento de contención (3) durante un primer periodo de tiempo; o respectivamente
 - si la muestra es sólida, sumergir la muestra en un líquido operativo y poner el líquido operativo en comunicación de fluidos con el producto (4) a través de la parte porosa del elemento de contención (3) durante un segundo periodo de tiempo.
- 20
15. El método según la reivindicación 14, en donde una pluralidad de dichos dispositivos se usan uno tras otro para eliminar los factores interferentes en dos o más etapas una tras otra.
- 25
16. El método según la reivindicación 14 o 15, en donde la muestra es un líquido de procesamiento para un órgano, tejido o células pensadas para trasplante, o una muestra de un órgano, tejido o células pensadas para trasplante, o un fluido corporal tomado de un sujeto vivo, o una medicina, o una sustancia derivada de humanos.
- 30 17. El método según cualquiera de las reivindicaciones 14 a 16, en donde el dispositivo es según la reivindicación 4 o 6 y la etapa de poner la muestra o respectivamente el líquido operativo en comunicación de fluidos con el producto (4) se lleva a cabo sumergiendo la bolsa de contención (5) en la muestra o respectivamente en el líquido operativo.
- 35 18. El método según cualquiera de las reivindicaciones 14 a 16, en donde el dispositivo es según la reivindicación 5 o 6 y la etapa de poner la muestra o respectivamente el líquido operativo en comunicación de fluidos con el producto (4) se lleva a cabo mediante las subetapas de:
- desacoplar la tapa (7) del recipiente (6);
 - llenar el recipiente (6) con la muestra o respectivamente con el líquido operativo hasta que cubra el elemento de contención (3); y
 - acoplar la tapa (7) de nuevo al recipiente (6).
- 40 19. El método según cualquiera de las reivindicaciones 14 a 16, en donde el dispositivo es según la reivindicación 7 y la etapa de poner la muestra en comunicación de fluidos con el producto (4) se lleva a cabo succionando la muestra en la jeringa (9).

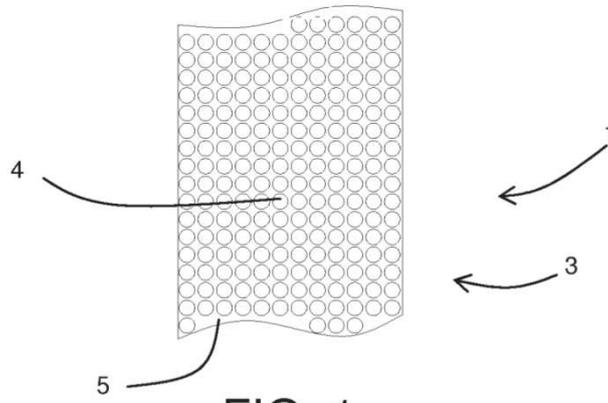


FIG. 1

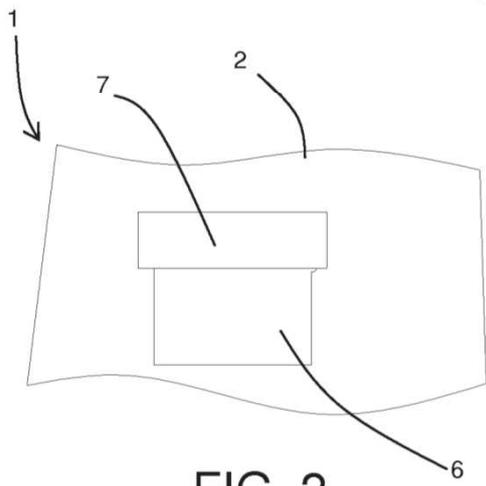


FIG. 2

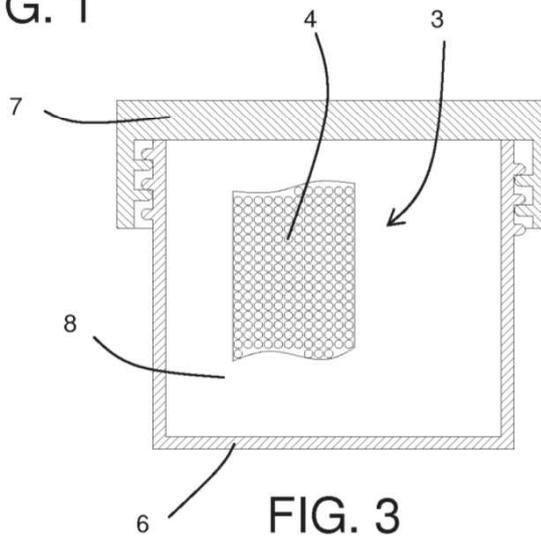


FIG. 3

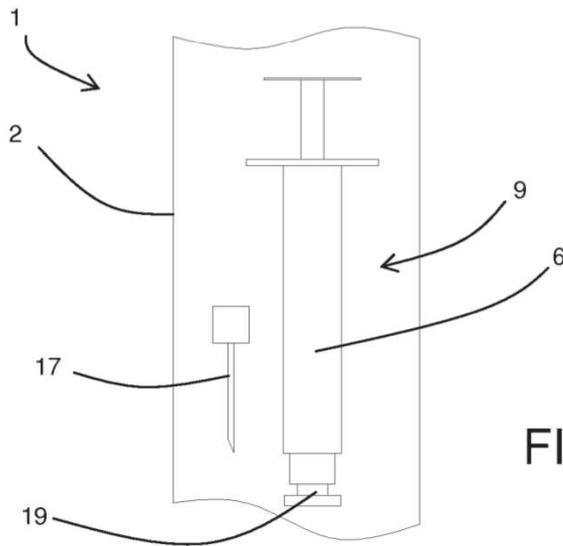


FIG. 4

