

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 688 203**

51 Int. Cl.:

A61D 19/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.11.2015 PCT/FR2015/052950**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.05.2016 WO16071618**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.11.2015 E 15798164 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.07.2018 EP 3215051**

54 Título: **Bolsita de acondicionamiento de semen animal diluido conveniente para la inseminación artificial, en particular de las especies porcinas; y sistema que la comprende**

30 Prioridad:

04.11.2014 FR 1460647

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

31.10.2018

73 Titular/es:

**IMV TECHNOLOGIES (100.0%)
ZI no. 1 Est
61300 Saint-Ouen-Sur-Iton, FR**

72 Inventor/es:

**SCHMITT, ERIC y
GORGES, JEAN-CHARLES**

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 688 203 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

Bolsita de acondicionamiento de semen animal diluido conveniente para la inseminación artificial, en particular de las especies porcinas; y sistema que la comprende.

5 La invención se refiere de manera general a la conservación del semen animal diluido conveniente para la inseminación artificial, en particular de las especies porcinas.

10 Se sabe que para estas especies, entre la extracción del semen fresco y la inseminación, se mezcla el semen fresco con un medio de dilución con el fin de obtener semen diluido, y después se acondiciona el semen diluido en dosis individuales que tienen cada una un volumen predeterminado conveniente para efectuar una inseminación artificial, siendo cada dosis acondicionada en un recipiente en el que se conservará hasta la realización de la inseminación artificial.

15 Para acondicionar las dosis individuales de semen diluido, se conocen ya, en particular a partir de la solicitud de patente europea EP 0 605 406, a partir de la solicitud PCT WO 01/13818, a partir de la solicitud de patente francesa 2 813 784 o a partir de la solicitud de patente francesa 2 848 812, unas bolsitas que comprenden dos hojas de material termoplástico flexible fijadas una a la otra por una zona de soldadura que delimita un saquito que tiene un volumen predeterminado cuando se llena la bolsita, estando dicho saquito previsto para contener
20 una dosis de semen animal diluido que tiene este volumen predeterminado.

25 En general, las hojas de material termoplástico flexible son de dos capas, con la capa interna (capa que tiene una superficie enfrentada a la otra hoja y enfrentada al saquito) que es de material termoplástico soldable para permitir la realización de la zona de soldadura, y con la capa externa que es generalmente estanca a los gases y tiene un punto de fusión más elevado que el del material termoplástico soldable que forma la capa interna.

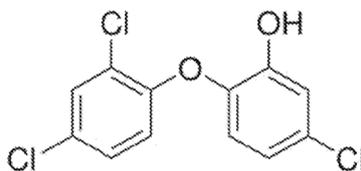
30 La zona de soldadura delimita en general, además del saquito, un conducto por el cual se llena la bolsita con semen animal diluido y un conducto que sirve para unir la bolsita a una sonda de inseminación artificial para transferir al animal la dosis acondicionada en la bolsita.

Para preservar la calidad del semen durante el tiempo de conservación, se conoce proporcionar en el medio de dilución unos elementos nutritivos, así como unos elementos antibacterianos, en particular unos antibióticos.

35 La invención tiene como objetivo suprimir, o en todo caso reducir en gran medida, la utilización de los antibióticos para la conservación del semen animal diluido.

40 La invención propone con este fin, una bolsita de acondicionamiento de semen animal diluido conveniente para la inseminación artificial, en particular de las especies porcinas, que comprende dos hojas flexibles fijadas una a la otra por una zona de soldadura que delimita un saquito que tiene un volumen predeterminado cuando se llena dicha bolsita, estando dicho saquito previsto para contener una dosis de dicho semen animal diluido que tiene dicho volumen predeterminado, teniendo cada hoja flexible su superficie enfrentada a dicho saquito que forma parte de una capa de material termoplástico soldable; caracterizada por que, para una o preferentemente para cada hoja, dicha capa de material termoplástico soldable comprende triclosán; y la relación entre dicho volumen predeterminado de dicho saquito y la suma de las superficies de las áreas de dichas hojas enfrentadas a dicho
45 saquito está comprendida entre 0,3 ml/cm² y 0,5 ml/cm².

Se sabe que el triclosán es C₁₂H₇Cl₃O₂ cuya fórmula es la siguiente:



50 y que se identifica mediante el número CAS 3380-34-5.

55 Se sabe también que el triclosán es una sustancia biocida apta para ser incorporada en los materiales plásticos para que estos últimos presenten a su vez unas propiedades biocidas, y que en principio el triclosán se considera también como un agente espermicida (véase por ejemplo la solicitud PCT WO 00/72839).

60 Aunque sea sorprendente, los trabajos llevados a cabo por la solicitante han permitido constatar que es posible, en particular tal como se expone a continuación, dotar la capa de material termoplástico soldable de una cantidad de triclosán suficientemente elevada para que la dosis de semen diluido contenida en la bolsita permanezca bacteriostática y suficientemente pequeña para no ser desfavorable a la motilidad de los espermatozoides que

contiene la dosis.

La invención se basa en la observación de que, en una bolsita de conservación de semen diluido, la superficie de la zona de contacto entre la dosis de semen diluido y las hojas de la bolsita es particularmente elevada frente al volumen que puede contener el saquito.

A partir de esta observación, se ha planteado la cuestión de saber si el efecto del triclosán de la o de las hojas sobre el semen diluido se podría producir, no por liberación del triclosán de las hojas en el semen, sino esencialmente por efecto de contacto, dada la importancia de la superficie mencionada anteriormente, de lo cual resulta que cada parte del semen diluido contenida en la bolsita está relativamente cerca de las superficies de las hojas enfrentadas al saquito.

En otras palabras, se ha planteado la cuestión de saber si un efecto superficial (y no volúmico) bastaría para obtener el efecto bacteriostático que permite la conservación de la dosis de semen diluido.

Esta cuestión se ha planteado suponiendo que si el triclosán no se libera en el semen diluido (o por lo menos se libera en muy baja cantidad), el efecto del triclosán sobre los espermatozoides sería mínimo, y por lo tanto no desfavorable para su motilidad, y que por lo tanto el semen conservará sus cualidades fertilizantes.

Los trabajos llevados a cabo por la solicitante han permitido verificar que, efectivamente, si se introduce en la capa de material termoplástico soldable de la o de las hojas de la bolsita una cantidad apropiada de triclosán, en particular tal como se describe a continuación, es posible obtener el efecto bacteriostático requerido para la conservación del semen diluido sin liberar (o por lo menos liberando una cantidad muy baja) de triclosán en la dosis contenida en la bolsita; y que efectivamente los espermatozoides tienen una motilidad que sigue siendo eficaz al final de su estancia en la bolsita.

En la bolsita según la invención, el intervalo de valores de la relación entre el volumen del saquito cuando se llena y la superficie de las áreas de la o de las hojas enfrentadas a la bolsita se ha seleccionado para satisfacer de manera particularmente eficaz los efectos técnicos combinados mencionados anteriormente.

Se debe observar que, gracias a la bolsita según la invención, en el sistema formado por el medio de dilución y por las bolsitas de acondicionamiento, el efecto de mantenimiento de la dosis de semen diluido en unas condiciones bacteriostáticas ya no deberá ser proporcionado por el medio de dilución, lo cual permite suprimir, o en cualquier caso reducir en gran medida, los antibióticos previstos clásicamente en el medio de dilución.

Se observará también que la ausencia de liberación de triclosán en la dosis de semen diluido contenida en la bolsita, o en cualquier caso la casi ausencia de liberación de triclosán en el semen diluido, el animal no recibe, o recibe entonces una cantidad ínfima, sustancia biocida durante la inseminación artificial.

Según unas características ventajosas:

- dicho volumen predeterminado de dicha bolsita está comprendido entre 50 ml y 100 ml;
- dicha capa de material termoplástico soldable comprende entre 1 mg/m² y 40 mg/m² de triclosán;
- dicha capa de material termoplástico soldable comprende entre 10 mg/m² y 40 mg/m² de triclosán;
- dicha capa de material termoplástico soldable comprende varias sub-capas realizadas en unos clases diferentes de dicho material termoplástico soldable, teniendo una o preferentemente cada una de dichas hojas flexibles su superficie enfrentada a dicho saquito que forma parte de la sub-capa más interna, comprendiendo sólo la sub-capa más interna el triclosán;
- en la sub-capa más interna, hay entre el 0,0075% y el 0,3% en peso de triclosán;
- dicha sub-capa más interna representa entre el 12% y el 18% en peso de la capa de material termoplástico soldable;
- una o preferentemente cada una de dichas hojas flexibles comprende, además de dicha capa de material termoplástico soldable, por lo menos otra capa de material distinto de dicho material termoplástico soldable, que recubre dicha capa de material termoplástico soldable por el lado opuesto a dicho saquito, comprendiendo sólo dicha capa de material termoplástico soldable el triclosán;
- dicha otra capa de material distinto de dicho material termoplástico soldable es una capa externa realizada en un material termoplástico;
- dicho material termoplástico soldable es polietileno (PE) y dicho material termoplástico de la capa externa

es poliéster (PET); y/o

- dicha capa de material termoplástico soldable tiene un grosor comprendido entre 20 µm y 110 µm.

5 La invención tiene también como objetivo, según un segundo aspecto, un sistema para acondicionar en bolsitas semen animal diluido, conveniente para la inseminación artificial, en particular para las especies porcinas, que comprende un medio de dilución de semen fresco para dar semen diluido y unas bolsitas a llenar con dicho semen diluido; caracterizado por que dichas bolsitas son tales como se han expuesto anteriormente y dicho medio de dilución es sin antibiótico.

10

La descripción de la invención se continuará ahora mediante la descripción detallada de ejemplos de realización, dada a continuación a título ilustrativo y no limitativo, en referencia a los dibujos adjuntos, en los que:

15

- la figura 1 es una vista en planta de una bolsita según la invención en estado plano, es decir no lleno;
- la figura 2 es una vista en sección señalizada por II-II en la figura 1;
- las figuras 3 y 4 son unas vistas parecidas a las figuras 1 y 2, pero con la bolsita llena de una dosis de semen diluido;
- 20 - la figura 5 es una ampliación del detalle V de la figura 4;
- la figura 6 es una vista esquemática que muestra una etapa de fabricación de una hoja de material termoplástico con la cual se hace la bolsita;
- 25 - la figura 7 es una vista en sección de una de las películas mostradas en la figura 6;
- la figura 8 muestra una bolsita de recogida que contiene semen animal fresco;
- 30 - la figura 9 muestra un frasco que contiene un medio de dilución a mezclar con semen animal fresco para dar semen animal diluido; y
- la figura 10 muestra una jarra recubierta de una bolsa de protección que contiene semen animal diluido obtenido por mezcla del semen animal fresco de la bolsita de la figura 8 y del medio de dilución del frasco de la figura 9.

35

La bolsita 10 ilustrada en la figura 1 comprende dos hojas 11 y 12 de material termoplástico flexible fijadas una a la otra por una zona de soldadura 13 que delimita un saquito 14, un conducto de llenado 15 y un conducto de vaciado 16.

40

La zona de soldadura 13 comprende dos tramos laterales 17 y 18, cuatro tramos de extremo 19, 20, 21 y 22, así como un puente 23.

45

Los tramos laterales 17 y 18 se extienden paralelamente y a distancia una de la otra.

El tramo lateral 17 se conecta por uno de sus extremos al tramo de extremo 19 mientras que se conecta por el otro extremo al tramo de extremo 20.

50

El tramo lateral 18 se une por uno de sus extremos al tramo de extremo 21 mientras que se une por el otro extremo al tramo de extremo 22.

El puente 23 se extiende entre el tramo de extremo 20 y el tramo de extremo 22.

55

El conducto de llenado 15 está situado entre el tramo de extremo 19 y el tramo de extremo 21.

El conducto de vaciado 16 está situado entre el tramo de extremo 20 y el tramo de extremo 22 y está cerrado, en la parte opuesta al saquito 14, por el puente 23.

60

En este caso, los tramos laterales 17 y 18 son relativamente estrechos mientras que los tramos de extremo 19, 20, 21 y 22 son relativamente largos.

En este caso, cada tramo lateral 17 y 18 está situado entre el saquito 14 y un borde respectivo de la bolsita 10.

65

En el estado plano de la bolsita 10 mostrado en las figuras 1 y 2, el saquito 14 está vacío, estando las hojas 11 y 12 una contra la otra.

El saquito 14 tiene un contorno globalmente rectangular cuyos lados mayores están delimitados por los tramos laterales 17 y 18 y los lados menores por los tramos de extremo 19, 21 y 20, 22.

5 El conducto de llenado 15 desemboca por un extremo en el saquito 14 y por el otro extremo en el exterior del saquito 14.

El conducto de vaciado 16 desemboca por un extremo en el saquito 14 y está cerrado en el otro extremo por el puente 23.

10 Además de las hojas 11 y 12 fijadas una a la otra por la zona de soldadura 13, la bolsita 10 comprende en este caso una cánula 25 dispuesta en el conducto de vaciado 16.

15 Para llenar la bolsita 10, y más precisamente el saquito 14 de ésta, se introduce el semen diluido por el conducto de llenado 15.

En la práctica, se utiliza una pieza terminal que se inserta en el conducto de llenado 15 para comenzar a poner en volumen la bolsita 10.

20 Una vez que la bolsita 10, y más precisamente el saquito 14, ha sido llenada con la dosis 27 (figuras 3 y 4) de semen diluido que tiene el volumen predeterminado para el cual se ha configurado el saquito 14, se obtura el conducto de llenado 15 gracias a un cordón de soldadura 26 (figura 3).

Se finaliza entonces el acondicionamiento de la dosis 27 de semen diluido.

25 Para efectuar una inseminación artificial con la dosis 27 de semen diluido contenido en la bolsita 10, se libera la cánula 25, por ejemplo golpeando el puente 23 con el extremo de la cánula opuesto al saquito 14, el extremo de la cánula 25 opuesto al saquito 14 se vuelve entonces accesible y se conecta una sonda de inseminación artificial.

30 Para más detalles sobre la bolsita 10, se podrá hacer referencia a la solicitud de patente francesa 2 813 784.

La bolsita 10 ilustrada en las figuras 1 a 4, está prevista para contener una dosis 27 de semen cuyo volumen es de 70 ml.

35 Cuando la bolsita 10 está en estado plano (figuras 1 y 2), la anchura del saquito 14 (distancia entre los tramos laterales 17 y 18) es de 5,5 cm y la distancia entre los tramos de extremo 19, 21 y 20, 22 es de 17,3 cm.

Así, la superficie del área 30 de la hoja 11 enfrentada al saquito 14 es de 95 cm^2 .

40 Asimismo, la superficie del área 31 de la hoja 12 enfrentada al saquito 14 es de 95 cm^2 .

Por supuesto, esta superficie sigue siendo la misma cuando la bolsita está en estado lleno, mostrado en las figuras 3 y 4.

45 Así, la suma de las superficies de las hojas 11 y 12 enfrentadas al saquito 14 es de $95 \text{ cm}^2 + 95 \text{ cm}^2$, es decir 190 cm^2 .

50 La relación entre el volumen que está previsto que contenga el saquito 14 y la suma de las superficies de las hojas 11 y 12 enfrentadas al saquito 14 es por lo tanto de $70 \text{ ml}/190 \text{ cm}^2$, es decir $0,37 \text{ ml}/\text{cm}^2$.

Se describirá ahora, con la ayuda de la figura 5, la disposición de la hoja 11.

Se entiende que esta descripción vale también para la hoja 12, que es idéntica.

55 La hoja 11 es bi-material: comprende una capa interna 35 y una capa externa 36. La capa interna 35 es de un primer material termoplástico y la capa externa 36 es de un segundo material termoplástico distinto del primer material.

60 La superficie 30 enfrentada al saquito 14 forma parte de la capa interna 35.

En este caso, el primer material termoplástico con el que se realiza la capa interna 35 es polietileno (PE) y el material termoplástico con el que se realiza la capa externa 36 es poliéster (PET).

65 Se sabe que el polietileno (PE) es un material plástico soldable de manera relativamente fácil, siendo la temperatura de su punto de fusión relativamente baja y en cualquier caso más baja que la temperatura del punto de fusión del poliéster (PET).

- Así, la zona de soldadura 13 se puede efectuar entre las hojas 11 y 12 con unos electrodos llevados a una temperatura superior al punto de fusión del polietileno (PE) e inferior al punto de fusión del poliéster (PET), de tal manera que no hay fusión de la capa externa 36 de las hojas 11 y 12 cuando se realiza la zona de soldadura 13.
- 5 Las caras externas de las hojas 11 y 12 conservan así su aspecto liso inicial.
- Se sabe también que el poliéster (PET) ofrece una buena estanqueidad a los gases, al contrario que el polietileno (PE), de manera que las hojas 11 y 12 son estancas no sólo a los líquidos sino también a los gases.
- 10 Se describirá ahora con la ayuda de la figura 6 cómo se fabrica la hoja 11.
- Se entiende que la descripción dada a continuación para la fabricación de la hoja 11 vale también para la hoja 12, que es idéntica.
- 15 La hoja 11 se fabrica por superposición de dos películas 40 y 41, procediendo cada una de una bobina sobre la cual está almacenada, siendo las películas superpuestas comprimidas en caliente por un par de rodillos 42 y 43 entre los cuales pasan las películas superpuestas. Se colaminan así las películas 40 y 41. En la hoja 11, la capa interna 35 procede de la película 40 y la capa externa 36 procede de la película 41.
- 20 La película 41 se prepara por extrusión simple de una única clase de poliéster (PET).
- La película 40 se prepara por coextrusión de tres clases diferentes de polietileno (PE), de manera que la película 40 presente tres sub-capas superpuestas 44, 45 y 46, como se muestra en la figura 7.
- 25 La sub-capa 44 es la sub-capa más interna. En consecuencia, la superficie 30 de la hoja 11 forma parte de la sub-capa 44.
- La sub-capa 46 es la sub-capa más externa, que está por lo tanto recubierta por la capa externa 36.
- 30 La sub-capa 45 es una sub-capa intermedia entre la sub-capa 44 y la sub-capa 46.
- La sub-capa 46 está prevista para el enganche entre las películas 40 y 41. Para formar la sub-capa 46, se utilizan unos gránulos de una clase de polietileno (PE) apropiada para realizar el enganche con poliéster (PET).
- 35 La sub-capa 45 está prevista para dar algunas características mecánicas a la hoja 11. Para formar la sub-capa 45, se utilizan unos gránulos de una clase de polietileno (PE) apropiada para proporcionar estas características mecánicas.
- 40 La sub-capa 44 más interna está prevista para ser soldable con la sub-capa correspondiente de la otra hoja de la bolsita 10, con el fin de que se pueda formar la zona de soldadura 13. La sub-capa 44 está prevista, por otro lado, para interactuar con la dosis de semen diluido 27 a través de la superficie enfrentada al saquito 14, es decir la superficie 30.
- 45 Para formar la sub-capa 44, se mezclan, por un lado, unos gránulos de polietileno de una clase apropiada para la soldadura y, por otro lado, unos gránulos de una asociación de polietileno y de triclosán al 15% en peso de triclosán.
- Las proporciones de la mezcla de gránulos son del 99% en peso de los gránulos de polietileno y del 1% en peso de los gránulos de la asociación de polietileno y de triclosán.
- 50 El material mezclado obtenido contiene por lo tanto un 1% en peso de gránulos de la asociación de polietileno y de triclosán. En consecuencia, el material mezclado obtenido contiene un 0,15% en peso de triclosán. La sub-capa 44 contiene por lo tanto un 0,15% en peso de triclosán.
- 55 Tal como se ha indicado anteriormente, las películas 40 y 41 se superponen y comprimen en caliente por un par de rodillos 42 y 43 entre los cuales pasan para proporcionar la hoja 11.
- Se observará que en la hoja 11, es relativamente fácil constatar la existencia de la capa interna 35 y de la capa externa 36, pero que, debido al paso entre los rodillos 42 y 43, es difícil distinguir en la capa interna 35 las sub-capas 44, 45 y 46, que están no obstante presentes.
- 60 En la hoja 11, la sub-capa 44 representa el 13% del peso total de la hoja 11. Por lo tanto, en la hoja 11, hay un $0,15\% \times 13\%$, es decir un 0,02%, o dicho de otra manera 20 mg de triclosán por 100 g de hoja 11.
- 65 Al tener la hoja 11 una densidad de 92 g/m^2 , hay 18 mg de triclosán por m^2 de película.

Se describirá ahora con la ayuda de las figuras 8 a 10 cómo se prepara el semen diluido previsto para ser acondicionada en la bolsita 10.

5 La figura 8 muestra una bolsita 50 de recogida que contiene semen animal fresco 51, en este caso semen de verraco.

10 La figura 9 muestra un frasco 52 que contiene un medio de dilución 53 a mezclar con el semen animal fresco tal como el semen 51 para dar semen animal diluido tal como el de la dosis 27. El medio de dilución 53 es sin antibiótico.

La figura 10 muestra una jarra 54 recubierta con una bolsa 55 de protección.

15 El conjunto formado por la jarra 54 recubierta con la bolsa 55 contiene semen animal diluido 56 obtenido por mezcla del semen animal fresco 51 de la bolsita de recogida 50 con el medio de dilución 53 del frasco 52.

El semen diluido 56 está previsto para ser subdividido en dosis individuales 27 llenando cada una de ellas una bolsita 10.

20 Se describirá ahora un ejemplo de resultados obtenidos con la bolsita 10 para la conservación del semen diluido.

Ejemplo 1

25 Además de la bolsita 10 (a continuación "*bolsita A*"), se utiliza una bolsita (a continuación "*bolsita B*") parecida a la bolsita 10 pero cuyas hojas tales como la 11 y la 12 son convencionales, es decir sin triclosán.

30 A partir de una misma extracción de semen fresco 51, se prepara extemporáneamente en la hora siguiente, y en cualquier caso como muy tarde en las veinticuatro horas, semen diluido 56 con el medio de dilución sin antibiótico 53 (a continuación "*semen diluido A*") y se prepara también semen diluido con un medio de dilución convencional que contiene un antibiótico (a continuación "*semen diluido B*").

La dilución se efectúa para que el semen diluido A y el semen diluido B tengan una concentración de 35 millones de espermatozoides por ml.

35 Un recuento bacteriano efectuado sobre unas muestras extraídas entonces, ha permitido verificar que el semen diluido A y el semen diluido B tienen inicialmente una carga bacteriana parecida.

Se llena después una bolsita A con una dosis de semen diluido A, una bolsita B con una dosis de semen diluido B y una bolsita B con una dosis de semen diluido A.

40 Se dejan a continuación las bolsitas reposar seis días en las condiciones habituales de conservación, es decir a 17°C en posición horizontal.

Se analiza después el semen diluido de cada bolsita.

45 Se efectúa por un lado un recuento bacteriano y, por otro lado, una evaluación de la motilidad de los espermatozoides.

Se procede de la misma manera con otras cinco extracciones de semen fresco de verraco.

50 Las tablas siguientes dan los resultados medios obtenidos para las seis muestras.

En lo que se refiere al recuento bacteriano, los resultados son los siguientes:

	Recuento bacteriano (UFC/ml)
bolsita B semen diluido A	$5 \cdot 10^4$
bolsita A semen diluido A	$3 \cdot 10^4$
bolsita B semen diluido B	$1 \cdot 10^4$

55 El recuento bacteriano se ha efectuado por extracción de muestras, y después por puesta en cultivo de las muestras extraídas en unas cajas de Petri que contienen una gelosa Triptona Soja Agar (TSA) durante cuarenta y ocho horas a 30°C. Se cultiva una mitad de las muestras en aerobiosis y la otra mitad en anaerobiosis. Los resultados obtenidos se promedian, estando estos resultados expresados en unidades que forman colonia (UFC) por ml.

60 En lo que se refiere a la motilidad de los espermatozoides, los resultados son los siguientes:

	Motilidad (%)
bolsita semen diluido A	65
bolsita A semen diluido A	61

El análisis de motilidad se efectúa mediante un dispositivo de análisis del esperma asistido por ordenador comercializado por la solicitante bajo la denominación CASA (Computer Assisted Sperm Analysis).

- 5 Se trata de análisis de imágenes que determinan el porcentaje de espermatozoides móviles con respecto al conjunto de los espermatozoides.

Se describirán ahora otros dos ejemplos de resultados obtenidos con unas bolsitas parecidas a la bolsita 10 pero que comprenden una cantidad diferente de triclosán.

10

Ejemplo 2

15 Se procede de la misma manera que para el Ejemplo 1 pero con unas bolsitas cuya sub-capa tal como la 44 de las hojas tales como la 11 y la 12 está formada con una mezcla de gránulos cuyas proporciones no son del 99% en peso para los gránulos de polietileno y del 1% en peso para los gránulos de la asociación de polietileno y de triclosán, sino del 99,5% en peso de gránulos de polietileno y del 0,5% en peso de gránulos de la asociación de polietileno y de triclosán.

20 Las hojas de la bolsita A contienen en este ejemplo 10 mg de triclosán para 100 g de hoja, es decir aproximadamente 9 mg de triclosán por m² de hoja; y la sub-capa 44 más interna contiene un 0,075% en peso de triclosán.

En lo que se refiere al recuento bacteriano, los resultados obtenidos son los siguientes:

	Recuento bacteriano (UFC/ml)
bolsita B semen diluido A	$5 \cdot 10^4$
bolsita A semen diluido A	$0,7 \cdot 10^4$
bolsita B semen diluido B	$1 \cdot 10^4$

25

En lo que se refiere a la motilidad, los resultados son los siguientes:

	Motilidad (%)
bolsita B semen diluido A	65
bolsita A semen diluido A	65

Ejemplo 3

30

35 Se procede de la misma manera que para el Ejemplo 1 pero con unas bolsitas cuya sub-capa tal como la 44 de las hojas tales como la 11 y la 12 están formadas con una mezcla de gránulos cuyas proporciones no son del 99% en peso para los gránulos de polietileno y del 1% en peso para los gránulos de la asociación de polietileno y de triclosán, sino del 98,5% en peso de gránulos de polietileno y del 1,5% en peso de gránulos de la asociación de polietileno y de triclosán.

40 Las hojas de la bolsita A contienen en este ejemplo 29 mg de triclosán para 100 g de hoja, es decir aproximadamente 27 mg de triclosán por m² de hoja; y la sub-capa 44 más interna contiene un 0,225% en peso de triclosán.

40

En lo que se refiere al recuento bacteriano, los resultados obtenidos son los siguientes:

	Recuento bacteriano (UFC/ml)
bolsita B semen diluido A	$5 \cdot 10^4$
bolsita A semen diluido A	$0,04 \cdot 10^4$
bolsita B semen diluido B	$1 \cdot 10^4$

45 En lo que se refiere a la motilidad, los resultados obtenidos son los siguientes:

	Motilidad (%)
bolsita semen diluido A	65
bolsita A semen diluido A	65

Cantidad de triclosán liberada

Se describirán ahora unos ensayos con la bolsita del Ejemplo 3 para determinar la cantidad de triclosán liberada en la dosis de semen diluido tal como la 27 contenida en el saquito tal como el 14 de esta bolsita.

5 Para simplificar los ensayos, no es una dosis de semen diluido la que se ha conservado en la bolsita, sino únicamente medio de dilución.

10 En este caso, se ha utilizado el medio de dilución 53 (a continuación "medio A") y un medio de dilución convencional que contiene un antibiótico (a continuación "medio B").

Se llena una bolsita del Ejemplo 3 con una dosis de medio A y una bolsita del Ejemplo 3 con una dosis de medio B.

15 Se dejan después reposar las bolsitas durante cinco días en las condiciones habituales de conservación, es decir a 17°C en posición horizontal.

20 Se analiza a continuación el medio contenido en cada bolsita, con el fin de determinar la concentración en triclosán.

Este análisis se efectúa por cromatografía en fase líquida acoplada a un detector de masa en tándem (método LC-MS-MS).

25 A partir de las concentraciones obtenidas, se determina la cantidad de triclosán liberada en una dosis completa prevista para ser contenida en la bolsita, es decir en 70 ml.

30 Se observará que el peso de triclosán tenido en cuenta en las hojas tales como la 11 y la 12 de la bolsita del Ejemplo 3 para el cálculo de la proporción liberada no es el peso de triclosán en el conjunto de estas hojas, sino sólo en las partes enfrentadas al saquito tal como el 14. En este caso, estas partes pesan aproximadamente 1,835 g (determinado después del recorte y del pesaje). Como hay 29 mg de triclosán por 100 g de hoja, la cantidad de triclosán contenida en estas partes es de aproximadamente 532 µg.

Los resultados obtenidos son los siguientes:

	Cantidad de triclosán liberada en la dosis	Proporción de triclosán liberada en la dosis
Medio A	2,7 µg	0,5%
Medio B	1,9 µg	0,35%

35 Se comentarán ahora los resultados de los diferentes análisis descritos anteriormente.

De manera general, para estos diferentes análisis, la dispersión alrededor de los valores es baja, de manera que los resultados dados anteriormente pueden ser considerados como significativos.

40 Se comentarán ahora los resultados referentes a la cantidad de triclosán liberada en los medios de dilución.

Se constata que las cantidades liberadas son ínfimas (en este caso, alrededor del 1%).

45 La solicitante piensa que, con los diferentes medios de dilución existentes, la cantidad liberada debería permanecer ínfima, por ejemplo inferior al 2% en peso.

Se comentarán ahora los resultados referentes al recuento bacteriano.

50 Se observará que, para cada ejemplo, al final del periodo de conservación, la población de bacterias es significativamente menos elevada para las bolsitas según la invención, es decir las bolsitas A que contienen el semen diluido A, que para las bolsitas control, es decir las bolsitas B que contienen el semen diluido A.

55 Se observa también que, para cada ejemplo, al final del periodo de conservación, la población de bacterias es comparable para las bolsitas según la invención y para las bolsitas convencionales, es decir las bolsitas B que contienen el semen diluido B, incluso más baja para las bolsitas según la invención.

60 Por lo tanto, se puede considerar que las bolsitas según la invención tienen la capacidad de conservar el semen diluido con un medio sin antibiótico (semen A) en unas condiciones bacteriostáticas.

Se comentarán ahora los resultados referentes a la motilidad de los espermatozoides.

Se observa que, al final del periodo de conservación, la motilidad es comparable para las bolsitas según la

invención (bolsita A) y las bolsitas convencionales (bolsitas B).

Se puede considerar por lo tanto que el triclosán que contienen las bolsitas según la invención no perturba la motilidad de los espermatozoides.

5 De manera general, se ha determinado que la bolsita según la invención ofrece buenos rendimientos cuando la relación entre el volumen del saquito tal como el 14 y la suma de las superficies de las áreas tales como la 30 y la 31 de las hojas tales como la 11 y la 12 enfrentadas a dicho saquito está comprendida entre $0,3 \text{ ml/cm}^2$ y $0,5 \text{ ml/cm}^2$.

10 Asimismo, se ha determinado que la bolsita según la invención ofrece buenos rendimientos cuando el volumen del saquito tal como el 14 está comprendido entre 50 ml y 100 ml.

15 Se ha determinado también que la bolsita según la invención ofrece buenos rendimientos cuando la sub-capa más interna tal como la 44 representa entre el 12% y el 18% en peso de la capa interna tal como la 35 de material termoplástico soldable.

20 En el ejemplo ilustrado, la capa interna tal como la 35 tiene un grosor del orden de $80 \mu\text{m}$. Se ha determinado también que la bolsita según la invención ofrece buenos rendimientos cuando la capa interna tal como la 35 tiene un grosor comprendido entre $20 \mu\text{m}$ y $110 \mu\text{m}$.

Se ha determinado también que la bolsita según la invención ofrece buenos rendimientos cuando la capa interna tal como la 35 comprende entre 1 mg/m^2 y 40 mg/m^2 de triclosán, preferentemente entre 10 mg/m^2 y 40 mg/m^2 .

25 Por otro lado, se ha determinado que la bolsita según la invención ofrece buenos rendimientos cuando, en la sub-capa más interna tal como la 44, hay entre el 0,0075% y el 0,3% en peso de triclosán, preferentemente entre el 0,075% y el 0,3% en peso de triclosán.

30 Se describirá ahora cómo se puede determinar la cantidad de triclosán que contiene la hoja 11 o la hoja 12.

Se deberá observar que la cantidad determinada se expresa en peso por unidad de superficie de dicha hoja (en este caso en mg/m^2).

35 Se recorta una muestra de la hoja 11 o 12 a nivel del saquito 14 de la bolsita 10. Esta muestra presenta una superficie determinada, por ejemplo 1 cm^2 .

La muestra se sumerge después en acetona y se somete a sonicación durante 2h con el fin de extraerle el triclosán.

40 La concentración en triclosán en la solución obtenida se determina a continuación por cromatografía en fase líquida de la manera descrita anteriormente a propósito de la cantidad de triclosán liberada.

45 Se repite esta dosificación (inmersión en acetona con sonicación y después determinación de la concentración de la solución obtenida) con la misma muestra, tantas veces como sean necesarias hasta que ya no se detecte triclosán en la solución obtenida.

Las cantidades de triclosán determinadas en cada dosificación se adicionan entonces con el fin de obtener la cantidad total de triclosán inicialmente presente en la muestra.

50 Esta cantidad se aplica finalmente a la superficie de la muestra.

55 Se observará que se puede determinar la cantidad de triclosán en la única capa interna 35 eliminando previamente la capa externa 36, por ejemplo por erosión o deslaminación. Sin embargo, en este caso, como no hay triclosán en la capa externa 36, la cantidad de triclosán por unidad de superficie no cambia.

60 Por supuesto, es posible extraer el triclosán de la muestra con un disolvente diferente de la acetona, por ejemplo el diclorometano, con o sin sonicación; y determinar la concentración de la solución obtenida mediante otro método, por ejemplo la cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) acoplada a un detector de UV con barra de diodos DAD (método HPLC-UV-DAD).

65 En los ejemplos ilustrados, el triclosán está previsto únicamente en la sub-capa 44 más interna de la capa interna 35, lo cual es particularmente económico. En unas variantes no ilustradas, hay triclosán en otro lugar diferente que en la sub-capa más interna, por ejemplo en toda la capa interna tal como la 35, incluso en la capa externa tal como la 36; o una sola de las hojas 11 y 12 comprende triclosán.

En unas variantes no ilustradas, la capa externa 36 de polietileno (PET) es sustituida por una capa de poliamida,

por una capa de aluminio o por una capa de EVOH/polipropileno; y en lugar de colaminar unas películas tales como la 40 y la 41, la hoja tal como la 11 o la 12 se fabrica totalmente por coextrusión.

5 En unas variantes no ilustradas, la disposición de la bolsita es diferente, con por ejemplo el mismo conducto que sirve al mismo tiempo para el llenado y el vaciado; o bien no hay cánula para el vaciado.

Son posibles numerosas variantes diferentes en función de las circunstancias, y se recuerda a este respecto, que la invención no se limita a los ejemplos descritos y representados.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Bolsita de acondicionamiento de semen animal diluida conveniente para la inseminación artificial, en particular de las especies porcinas, que comprende dos hojas flexibles (11, 12) fijadas una a la otra por una zona de soldadura (13) que delimita un saquito (14) que tiene un volumen predeterminado cuando se llena dicha bolsita (10), estando dicho saquito (14) previsto para contener una dosis (27) de dicho semen animal diluido que tiene dicho volumen predeterminado, teniendo cada hoja flexible (11, 12) su superficie (30, 31) enfrentada a dicho saquito (14) que forma parte de una capa (35) de material termoplástico soldable; caracterizada por que, para una o preferentemente cada hoja (11, 12), dicha capa de material termoplástico soldable (35) comprende triclosán; y la relación entre dicho volumen predeterminado de dicho saquito (14) y la suma de las superficies de las áreas (30, 31) de dichas hojas (11, 12) enfrentadas a dicho saquito (14) está comprendida entre 0,3 ml/cm² y 0,5 ml/cm².
- 10 2. Bolsita según la reivindicación 1, caracterizada por que dicho volumen predeterminado de dicho saquito (14) está comprendido entre 50 ml y 100 ml.
- 15 3. Bolsita según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, caracterizada por que dicha capa de material termoplástico soldable (35) comprende entre 1 mg/m² y 40 mg/m² de triclosán.
- 20 4. Bolsita según la reivindicación 3, caracterizada por que dicha capa de material termoplástico soldable comprende entre 10 mg/m² y 40 mg/m² de triclosán.
- 25 5. Bolsita según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizada por que dicha capa de material termoplástico soldable (35) comprende varias sub-capas (44, 45, 46) realizadas en diferentes clases de dicho material termoplástico soldable, teniendo una o preferentemente cada hoja flexible (11, 12) su superficie (30, 31) enfrentada a dicho saquito (14) que forma parte de la sub-capa (44) más interna, comprendiendo triclosán solamente la sub-capa (44) más interna.
- 30 6. Bolsita según la reivindicación 5, caracterizada por que en la sub-capa (44) más interna hay entre el 0,0075% y el 0,3% en peso de triclosán.
- 35 7. Bolsita según cualquiera de las reivindicaciones 5 o 6, caracterizada por que dicha sub-capa (44) más interna representa entre el 12% y el 18% en peso de la capa (35) de material termoplástico soldable.
- 40 8. Bolsita según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizada por que una o preferentemente cada hoja flexible (11, 12) comprende, además de dicha capa (35) de material termoplástico soldable, por lo menos otra capa (36) de material distinto de dicho material termoplástico soldable, que recubre dicha capa (35) de material termoplástico soldable por el lado opuesto a dicho saquito (14), comprendiendo triclosán solamente dicha capa (35) de material termoplástico soldable.
- 45 9. Bolsita según la reivindicación 8, caracterizada por que dicha otra capa (36) de material distinto de dicho material termoplástico soldable es una capa externa realizada en un material termoplástico.
10. Bolsita según la reivindicación 9, caracterizada por que dicho material termoplástico soldable es polietileno (PE) y dicho material termoplástico de la capa externa (36) es poliéster (PET).
- 50 11. Bolsita según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, caracterizada por que dicha capa (35) de material termoplástico soldable tiene un grosor comprendido entre 20 µm y 110 µm.
12. Sistema para acondicionar en bolsitas semen animal diluido, conveniente para la inseminación artificial, en particular para las especies porcinas, que comprende un medio de dilución de semen fresco (51) para dar semen diluido (56) y unas bolsitas a llenar con dicho semen diluido; caracterizado por que dichas bolsitas (10) son según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 y dicho medio de dilución (53) es sin antibiótico.

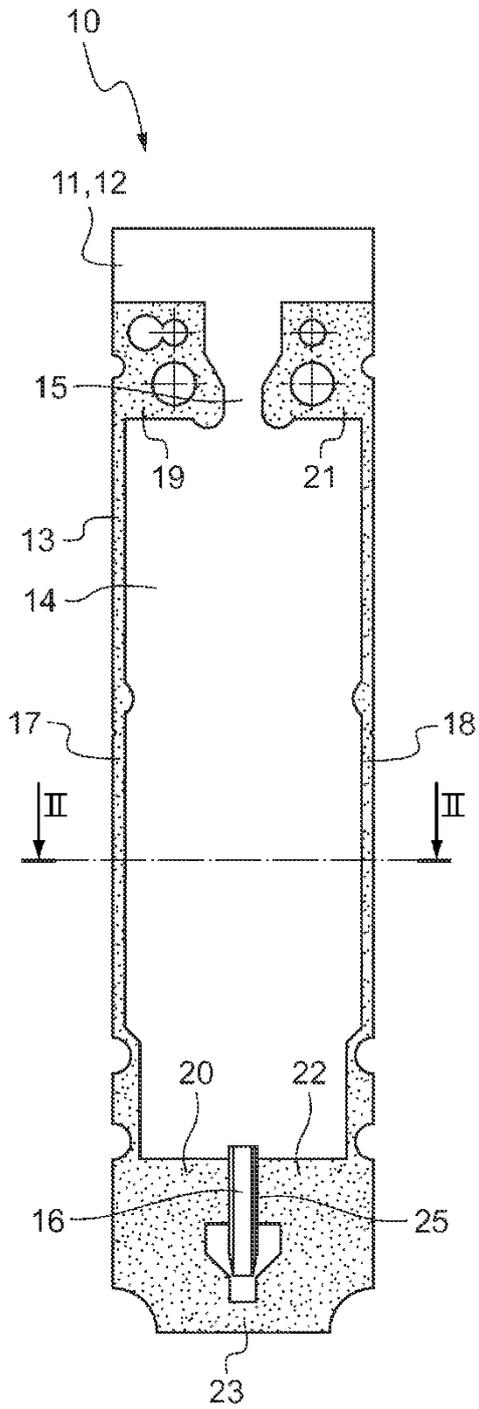


Fig. 1

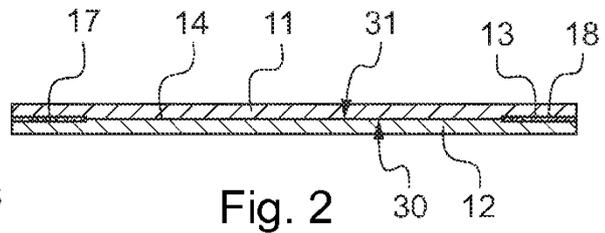


Fig. 2

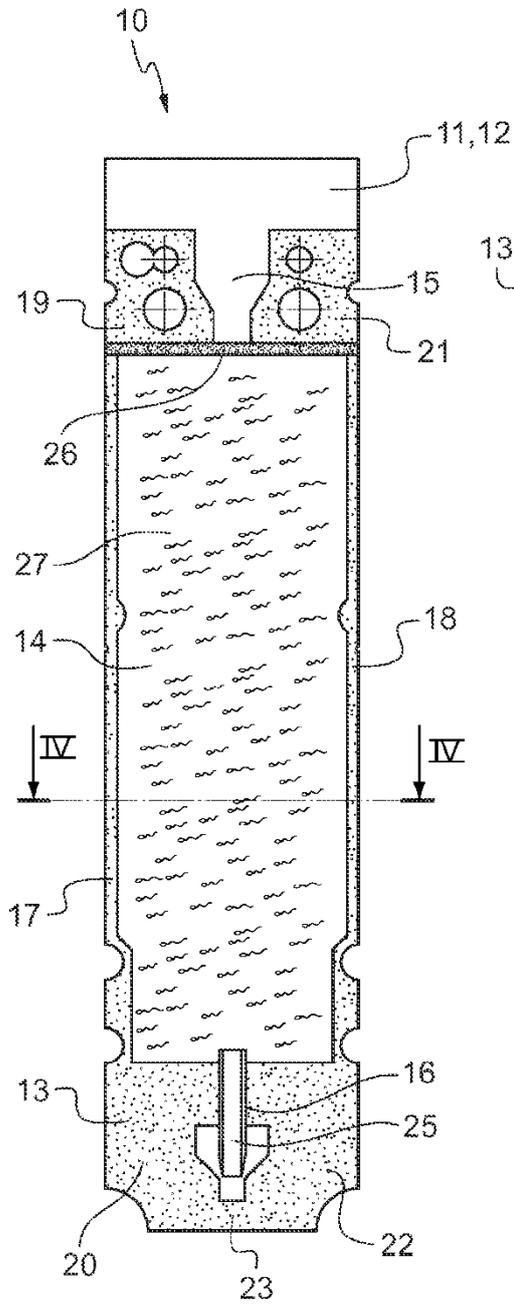


Fig. 3

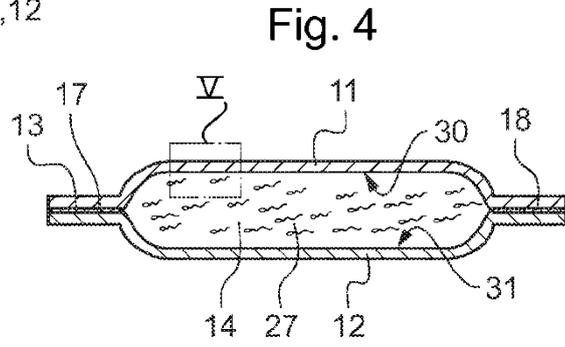


Fig. 4

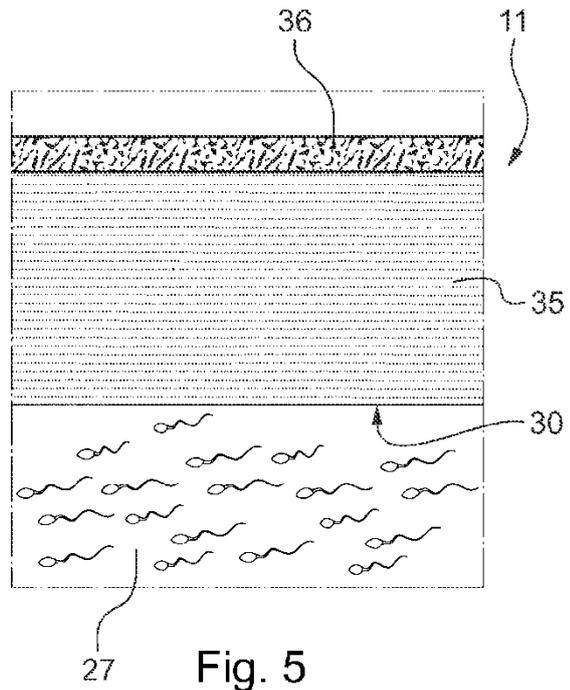


Fig. 5

