

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 789 577**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/18 (2006.01)

G01N 33/487 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.07.2017 E 17179602 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.03.2020 EP 3399050**

54 Título: **Una tira de prueba para la detección de la concentración mínima inhibitoria (MIC)**

30 Prioridad:

02.05.2017 TR 201706407

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

26.10.2020

73 Titular/es:

**KULEOGLU, MUSTAFA REMZI (50.0%)
Ivedik Organize Sanayi Bolgesi 1333.Cadde No:9
Yenimahalle
Ankara, TR y
KULEOGLU, ENVER ALI (50.0%)**

72 Inventor/es:

**KULEOGLU, MUSTAFA REMZI y
KULEOGLU, ENVER ALI**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 789 577 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

Una tira de prueba para la detección de la concentración mínima inhibitoria (MIC)

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a bandas de prueba de detección de la concentración mínima inhibitoria (MIC), que se producen aplicando antibióticos sobre tejidos de algodón, lino o seda, o tejidos de mezcla de algodón y polímero.

10

Antecedentes de la invención

Las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana son pruebas que se aplican para detectar la actividad in vitro de un agente antimicrobiano contra una especie bacteriana específica y se utilizan principalmente dos métodos, a saber, "difusión" y "dilución".

15

Las pruebas de dilución se aplican para detectar la concentración mínima de un agente antimicrobiano requerido para inhibir la reproducción de un microorganismo o matarlo. Las pruebas de dilución se aplican de dos maneras, a saber, "dilución de tubo" y "dilución de agar".

20

La publicación de Irith Wiegand, Kai Hilpert y Robert EW Hancock en el Center for Microbial Diseases and Immunity Research (163-175) (2008) El 17 de enero de 2008 divulga que el método de dilución de tubo se puede aplicar de dos maneras, a saber, "macro" y "micro". En principio, ambos métodos son iguales, pero los tubos de ensayo se usan en macrodilución, mientras que las "microplacas" basadas en "U" o "V" se usan en microdilución. En el método de dilución en tubo, se utiliza como medio el caldo Mueller-Hinton agregado con cationes (calcio y magnesio). Los antibióticos para analizar se preparan primero en sus solventes especiales y luego se diluyen en este caldo a una concentración dos veces menor. Se prepara un inóculo estándar del microorganismo y se agrega a cada tubo que contiene varias diluciones del agente antimicrobiano en cantidades iguales. Además, también se agrega al tubo de control que no incluye antibiótico y que es el indicador de reproducción. Un tubo o pocillo, en el que las bacterias no se inoculan sino que solo se elimina el medio, se prepara como medio de control. Los medios se examinan en términos de turbidez, que muestra el crecimiento bacteriano, después de una incubación de 16-20 horas a 37°C. La concentración más baja de fármaco, que previene el crecimiento bacteriano y en la que no hay turbidez visible, se evalúa como la concentración mínima inhibitoria (MIC). Los valores de MIC obtenidos como resultado de las pruebas de dilución proporcionan información al médico sobre la concentración de fármaco antimicrobiano requerida para inhibir el microorganismo que causa la infección (figura 6).

25

30

35

En una aplicación de vanguardia, los antibióticos disminuyeron de izquierda a derecha y se diluyeron respectivamente en el caldo, y se añadieron al mismo un volumen igual y una concentración igual de microorganismos. Los tubos en los que se agregaron microorganismos se incubaron a 37°C durante 16-20 horas y se evaluaron los resultados obtenidos. La concentración de antibiótico en el tubo, en el que los microorganismos no se reprodujeron, se registró como valor MIC (6.25 mg/ml)^[1, 2].

40

La invención divulgada en el documento de patente de los Estados Unidos No. US47783758, conocido en el estado de la técnica, se refiere a las pruebas de MIC utilizadas para el diagnóstico in vitro, y se afirma que la banda de prueba de detección utilizada es transparente, inerte y tiene una superficie no porosa. Por medio de esta patente, en lugar de la detección MIC realizada por la prueba de dilución de tubo, se logró inocular en una banda por primera vez.

45

"Etest Antimicrobial Susceptibility Testing", 31 de diciembre de 2012 (31/12/2012), extraído de Internet: URL:http://www.ilexmedical.com/files/E-test-Pack-age-Insert/AST_WW.pdf [extraído el 21/12/2017] divulga una banda de prueba MIC hecha de plástico.

50

"Prueba de sensibilidad a los antimicrobianos", 31 de diciembre de 2008 (31/12/2008), extraído de Internet: URL:<http://www.oxid.com/pdf/uk/MICE-mono-graph-march08.pdf> [extraído el 21/12/2017] divulga una banda de prueba MIC hecha de polímero plástico.

55

Las bandas de prueba MIC de la compañía Oxoid Limited mencionadas en la publicación titulada "Evaluadores M.I.C.E (M.I.C.E.) Método simple y conveniente para valores MIC precisos" en RAPIDMICROBIOLOGY con fecha 30/05/2008 se producen a partir de material polimérico. Además, el documento de patente de los Estados Unidos No. US6010910A de la compañía mencionada anteriormente divulga que las bandas en los kits de prueba pueden fabricarse a partir de plástico, cartón o materiales similares.

60

En la invención divulgada en el documento de patente europea con el número EP2480682 B1 de la compañía Liofilchem Srl, se afirma que las bandas de prueba de detección utilizadas para las pruebas MIC se producen a partir de material de papel. Se afirma que mediante el uso de bandas producidas a partir de material de papel,

65

se puede evitar la formación de burbujas de aire en el material de la banda adherido al medio, en el que se inoculan las bacterias, y se puede permitir el contacto del aire de las bandas con el medio ambiente. Además, en el método del estado de la técnica, se presiona sobre el material de la banda con un fórceps para evitar la formación de burbujas de aire después de colocar el material de la banda en el medio. Por lo tanto, se puede evitar la formación de burbujas de aire independientemente del material utilizado.

La invención divulgada en el documento de modelo de utilidad chino No. CN2564584, otra aplicación de vanguardia se refiere a una banda de prueba de placa de detección hecha de una membrana utilizada para detectar la concentración mínima antibacteriana de bacteriófagos. La banda de la membrana de filtración se fija en un sustrato, lo que conduce a una placa de detección de la prueba de sensibilidad al fármaco bacteriano. En dicha invención, se pueden llevar a cabo dos detecciones a la vez, incluyendo la sensibilidad al fármaco y la concentración antibacteriana mínima (MIC). Se afirma que dicha invención es ventajosa debido a su bajo coste, su aplicación simple y fácil y su fiabilidad.

Cuando se compara con las aplicaciones en el estado de la técnica; se ve que la producción de banda de prueba de detección de concentración mínima inhibitoria (MIC), en la que las bandas hechas de tejido de algodón, tejido de lino, tejido de seda o tejidos de mezcla de algodón y polímero, es ventajoso porque el material utilizado en el mismo es fácil de suministrar, tiene un bajo coste, se produce a partir de materiales resistentes al desgaste y al desgarrar, y permite una difusión más fácil y rápida del material antibiótico.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere a una banda de prueba según la reivindicación independiente 1. Las realizaciones preferidas se definen en las reivindicaciones dependientes.

Descripción detallada del invento

La "Banda de prueba para detección de MIC (concentración mínima inhibitoria)" desarrollada para cumplir el objetivo de la presente invención se ilustra en las figuras adjuntas en las que,

La figura 1 es una vista de la banda de prueba para la detección de MIC (concentración mínima inhibitoria) en una placa de Petri.

La figura 2 es una vista general de la banda de prueba para la detección de MIC (concentración mínima inhibitoria).

La figura 3 es una vista de las capas de la banda de prueba para la detección MIC (concentración mínima inhibitoria).

La figura 4 es una vista despiezada de las capas de la banda de prueba para la detección de MIC (concentración mínima inhibitoria).

La figura 5 es una vista despiezada de la banda de prueba para la detección de MIC (concentración mínima inhibitoria).

La figura 6 es una vista de la aplicación del método de dilución de tubo.

Los componentes en las figuras reciben los números de referencia de la siguiente manera:

1. Banda de prueba para detección de MIC (concentración mínima inhibitoria)
2. Capa de interacción
3. Capa regla
- A. Microorganismos
- B. placa de Petri
- C. valor MIC

La banda (1) de prueba de la invención para la detección de MIC (concentración mínima inhibitoria) se coloca en una placa (B) de Petri que contiene un medio de agar adecuado de modo que su capa, en la que se inocula un fármaco, se pone en contacto con los microorganismos (A) inoculados en la placa (B) de Petri con el fin de detectar la medida de interacción (Valor MIC (C)) de los microorganismos (A) con los antibacterianos (en antibióticos, antimicrobianos u otros fluidos biológicos), mediante el uso de un dispositivo (IVD) de diagnóstico in vitro; y

preferiblemente está en forma de una placa rectangular y se coloca en la placa (B) de Petri de tal manera que su capa, en el que se inocula el antibiótico, se pone en contacto con los microorganismos (A) en la placa (B) de Petri y se asegura que todas sus partes se adhieran presionando ligeramente sobre él a través de un dispositivo de sujeción; y comprende

5 - al menos una capa (2) de interacción que tiene la forma de una placa rectangular y está posicionada para contactar a los microorganismos (A) en la placa (B) de Petri,

10 - al menos una capa (3) regla que tiene la misma forma y tamaño con la capa (2) de interacción y está conectada a la capa (2) de interacción desde su cara que no hace contacto con los microorganismos (A);

y se caracteriza por

15 - la capa (2) de interacción; sobre el cual se aplica un antibiótico, cuya interacción con microorganismos (A) se examinará, en la superficie de este que contacta con los microorganismos (A) disminuyendo gradualmente las cantidades entre los lados cortos de su forma rectangular; y que está hecho de tejido de algodón, tejido de lino, tejido de seda o tejidos de algodón - mezcla de polímeros,

20 - la capa (3) regla, que, para determinar la concentración de antibiótico aplicada sobre la capa (2) de interacción, incluye números que indican el valor de concentración y líneas que indican las posiciones correspondientes a estas concentraciones.

25 En una realización de la invención, la capa (3) regla se produce usando tejido de algodón. Por consiguiente, en esta realización de la invención, la capa (3) regla y la capa (2) de interacción se producen juntas como una sola pieza y no están conectadas. Las bandas de prueba según la invención preferiblemente no tienen permeabilidad al aire.

En una realización de la invención, se prefiere que el polímero utilizado en las estructuras compuestas de tejido de algodón y combinación de polímeros sea polipropileno y copolímero de acrilato de etileno butilo.

30 En una realización de la invención, la capa (2) de interacción incluye cámaras, que permiten que el antibiótico inoculado se difunda fácilmente al medio, en la superficie de este en contacto con los microorganismos (A).

35 En una realización diferente de la invención, una mezcla de tejido de polímero y algodón, cuya capacidad de absorción es mayor que la de las aplicaciones de papel en el estado de la técnica, se usa como la capa (2) de interacción. En este sentido, los tejidos sintéticos que tienen un contenido de algodón del 50% o más también se usan como tejido de algodón. Como alternativa al tejido de algodón; tela de algodón, tela de mezcla de algodón y poliéster, tela de lino o tela de seda también se usan en el alcance de la invención, como se define en las reivindicaciones.

40 En una realización diferente de la invención, la capa (3) regla se produce a partir de aluminio, plástico o adhesivo de papel.

45 En una realización de la invención, la capa (3) regla tiene la forma de una etiqueta adhesiva y está adherida a la superficie de la capa (2) de interacción que no hace contacto con los microorganismos (A). Después de que se produce la capa (3) regla, los valores numéricos y las líneas, que permiten leer las mediciones, se proporcionan en la superficie de esta mediante impresión en la imprenta.

50 La banda (1) de prueba MIC de la presente invención permite que tanto la inoculación del fármaco como el fármaco inoculado se adhieran a la superficie y permanezcan allí de manera uniforme. La inoculación del fármaco se realiza después de conectar la capa (3) regla y la capa (2) de interacción y, por lo tanto, se forma la estructura de la banda (1) de prueba MIC de la presente invención. La inoculación del fármaco en la capa (2) de interacción se realiza entre los dos lados cortos de la capa (2) de interacción de manera decreciente, es decir, en forma de gradiente, de acuerdo con los valores de concentración en la capa (3) regla. Las bandas de prueba de MIC según la presente invención se producen preferiblemente en forma de una banda rectangular.

55 De esta manera, se puede colocar fácilmente en un medio como en una placa (B) de Petri en la que se inoculan los microorganismos, y el punto de intersección de la interacción entre el fármaco y la bacteria se puede detectar más específicamente por medio de los números en la regla. De esta forma, poder expresar la concentración mínima de antibiótico, a la que se produce la interacción microorganismo-antibiótico, denotada como valor MIC, ya que un valor numérico facilita los procedimientos para el usuario.

60 Las bandas de prueba MIC de la presente invención pueden almacenarse dentro del intervalo de -20 a 8°C. Por otro lado, las bandas de prueba MIC cumplen con dos valores estándar aceptados en todo el mundo, a saber, CLSI (Instituto de Estándares de Clínica y Laboratorio) en los Estados Unidos y EUCAST (Comité Europeo de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana) en la Unión Europea.

65

5 Se agregan gradualmente cantidades decrecientes de antibiótico a las bandas de prueba producidas usando tejido de algodón, tejido de lino, tejido de seda o tejidos de mezcla de algodón y polímero; y se imprime una regla en la capa de la banda de prueba, en la que no se inocula un fármaco (antibiótico), y que se produce a partir de material de aluminio, para poder evaluar el resultado del experimento. La concentración mínima de antibiótico (mg/l), a la que se inhibe el crecimiento bacteriano, de la regla dispuesta de acuerdo con los intervalos de valor MIC conocidos en la literatura se define como valor MIC.

10 El uso de tejido de algodón, tejido de lino, tejido de seda o tejidos de mezcla de algodón y polímero para su producción permitió obtener bandas, que son más resistentes contra el desgarro y la rotura, más ventajosas en términos de coste y fáciles de suministrar, y que permiten que el material antibiótico se difunda más fácil y rápidamente. Además, se observa que se puede evitar que la interacción entre el antibiótico y las bacterias se vea afectada por el aire en el ambiente exterior mediante el uso de bandas que no tienen permeabilidad al aire.

15 En otra realización de la invención, la capa de las bandas de prueba, en la que el fármaco no se inocula y se imprime una regla, se produce a partir de un material plástico o de papel.

En otra realización de la invención, la capa regla se produce usando material de tejido.

20 Referencias

[1]. Bauer J.D., Ackerman P.G., Toro G., Clinical laboratory methods, 8th edition, The C.V. Mosby Company, St. Louis, USA 1974; 661-662

25 [2]. Bauer J.D., Clinical laboratory methods, 9th edition, The C.V. Mosby Company, St. Louis, USA 1982 ; 883-884

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una banda (1) de prueba para la detección de concentración mínima inhibitoria (MIC) adecuada para ser colocada en una placa (B) de Petri, que comprende
- 10 - una capa (2) de interacción; que tiene la forma de una placa rectangular y que puede colocarse de manera que entre en contacto con los microorganismos (A) en la placa (B) de Petri y sobre la cual se aplica un antibiótico, en la superficie de esta para contactar los microorganismos (A), en cantidades gradualmente decrecientes entre los lados cortos de su forma de placa rectangular;
- 15 - una capa (3) regla, que tiene la misma forma y tamaño que la capa (2) de interacción y está conectada a la capa (2) de interacción desde su cara que no es para contactar los microorganismos (A) y que, para poder calcular la concentración de antibiótico aplicada sobre la capa (2) de interacción, incluye números que indican un valor de la concentración de antibiótico y líneas que indican las posiciones correspondientes a estas concentraciones de antibiótico;
- caracterizado porque la capa de interacción está hecha de tejido de algodón, tejido de lino, tejido de seda o tejidos de mezcla de algodón y polímero.
- 20 2. Una banda (1) de prueba para detección de MIC según la reivindicación 1, caracterizada porque la capa (3) regla está hecha de tejido de algodón y está formada como una sola pieza con la capa (2) de interacción.
- 25 3. Una banda (1) de prueba para la detección de MIC según la reivindicación 1, caracterizada porque la capa (2) de interacción no tiene permeabilidad al aire.
- 30 4. Una banda (1) de prueba para la detección de MIC según la reivindicación 1, caracterizada porque el polímero de las tejidos de la mezcla de algodón y polímero es polipropileno y copolímero de butilacrilato de etileno.
5. Una banda (4) de prueba para la detección de MIC según la reivindicación 4, caracterizada porque los tejidos de la mezcla de algodón y polímero son tejidos sintéticos que tienen un contenido de algodón del 50% o más.
- 35 6. Una banda (1) de prueba para detección de MIC según la reivindicación 1, caracterizada porque la capa (3) regla está hecha de aluminio, plástico o material de papel.
- 40 7. Una banda (1) de prueba para la detección de MIC según la reivindicación 1, caracterizada porque los números y las líneas son números y líneas impresos.
8. Una banda (1) de prueba para la detección de MIC según la reivindicación 1, caracterizada porque la capa (3) regla tiene la forma de una etiqueta adhesiva y está adherida y fijada en la capa (2) de interacción.

FIGURA 1

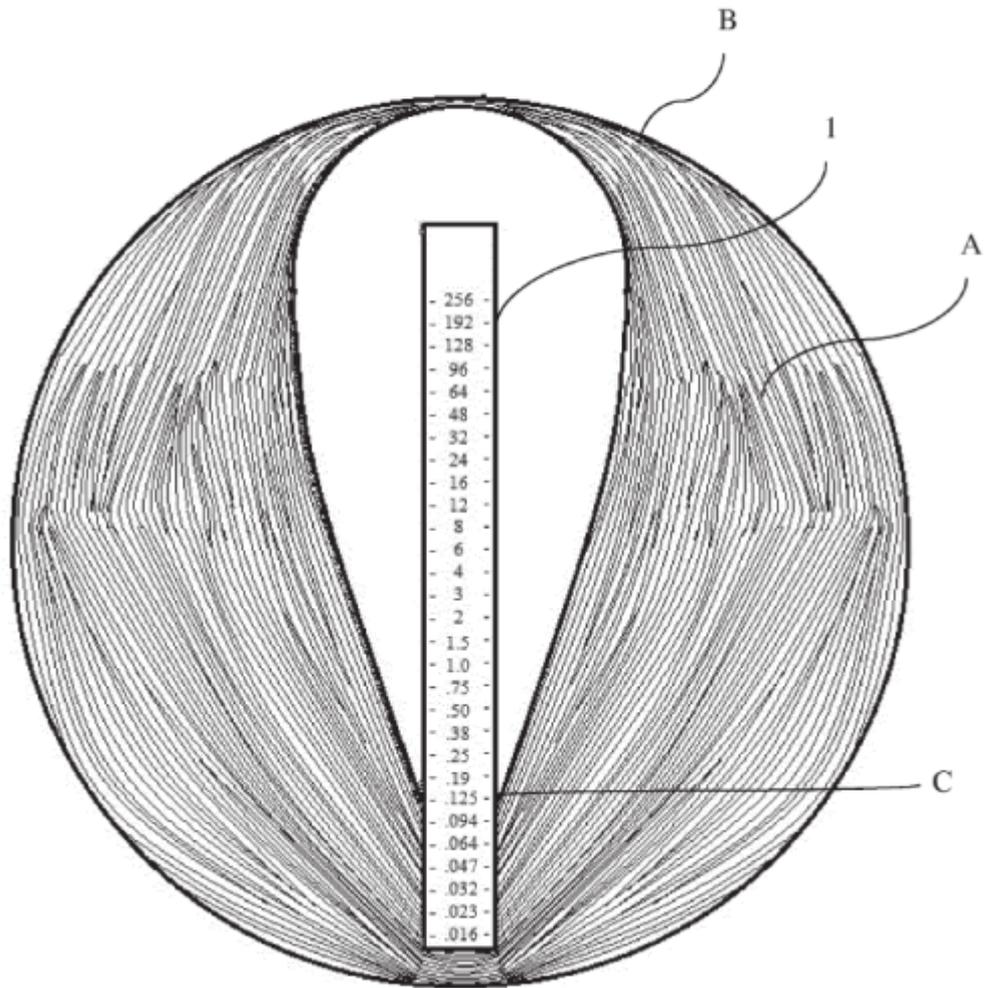


FIGURA 2

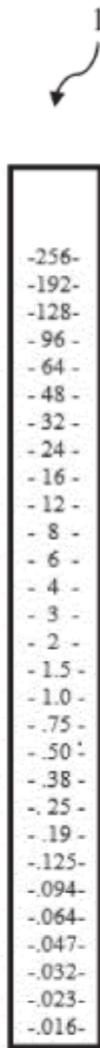


FIGURA 3

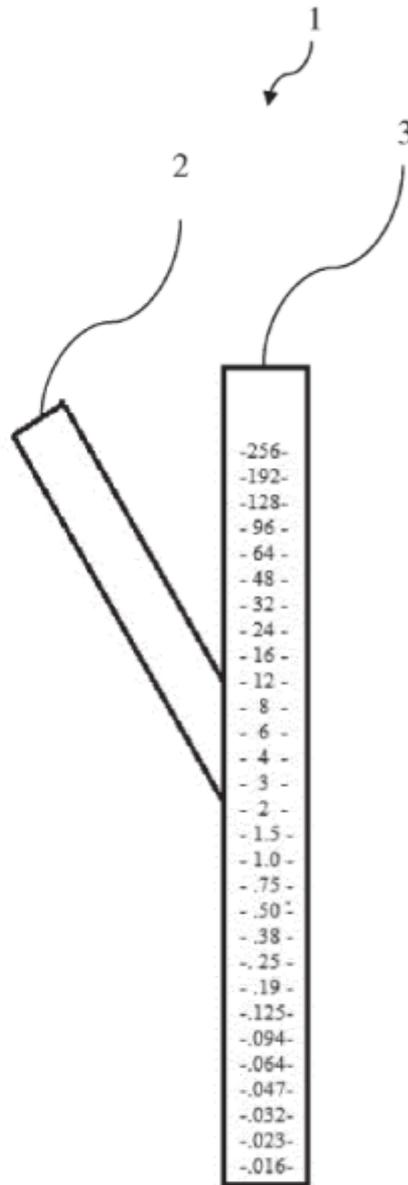


FIGURA 4

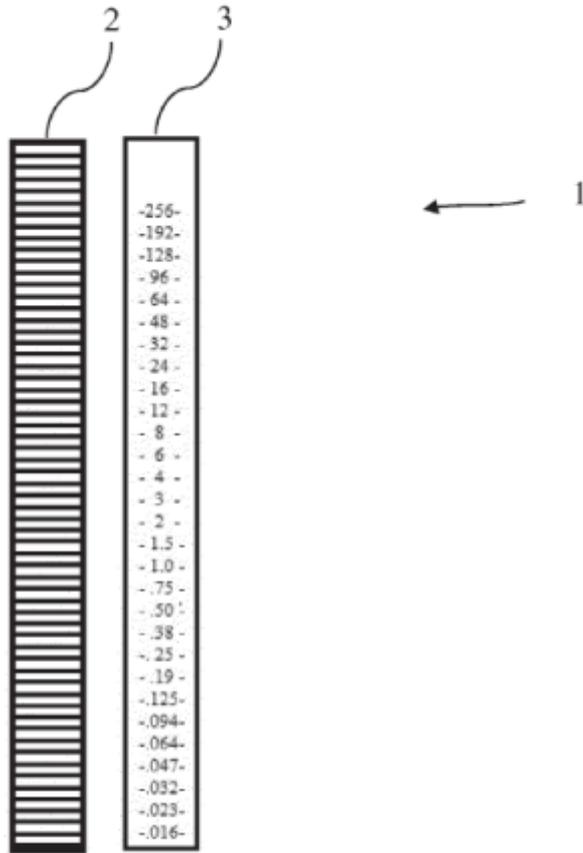


FIGURA 5

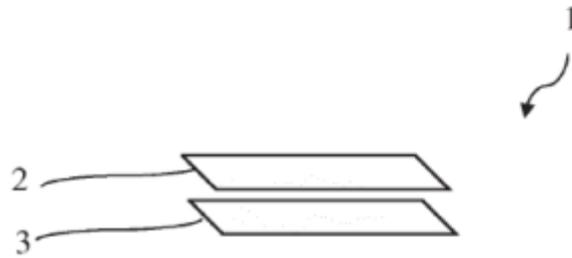


FIGURA 6

