

Campo de la invención

10 La presente invención está relacionada con el campo de la microbiología enmarcada en la determinación de motilidad bacteriana a nivel de laboratorio.

Estado de la técnica

15

Dentro del estado de la técnica revisado, particularmente en literatura patente, no se encontraron métodos y/o dispositivos lo suficientemente similares al pretendido en la solución. De tal manera que no se ven afectadas la novedad y/o la altura inventiva de la solución.

20 En cualquier caso, se evidenciaron ciertos antecedentes que pudieran ser considerados cercanos o precursores de la solución presentada, y como tal se describen a continuación.

WO2011086216. Dispositivo inductivo detector de presencia bacteriana: La invención se refiere a un novedoso dispositivo para la detección de presencia bacteriana que comprende
25 dos transductores inductivos similares configurados de modo que uno de ellos puede quedar libre a la vez que el otro es expuesto a una solución, y que están adaptados para su conexión a un analizador de impedancias, deduciéndose de la variación de la impedancia del transductor inductivo cuando se expone a una solución la presencia o ausencia de bacterias en dicha solución.

30 La invención pretendida parte de la presencia bacteriana y permite la evaluación de las características cualitativas y cuantitativas del movimiento del microorganismo. Por lo tanto, la invención citada no resuelve un problema técnico similar.

5 **ES2656681:** Método automático para la observación del crecimiento de cultivos celulares. Un método automático para controlar el crecimiento del cultivo celular, en particular el crecimiento bacteriano, en el que mediante el método:

Se proporciona una placa receptora con un medio de cultivo sobre el que se cultiva una célula, en particular una muestra bacteriana de tejido humano o animal, tal como p. ej.
10 sangre, que contiene, adicionalmente, uno o más reactivos, en particular antibióticos. Se proporciona un microscopio que tiene un eje óptico con cámara y un soporte para la bandeja receptora que se puede mover automáticamente a lo largo del eje óptico y/o una unidad óptica de grabación movable automáticamente que se puede mover a lo largo del eje óptico. La bandeja de recepción para observar un posible crecimiento del cultivo celular en el medio
15 de cultivo se coloca en el microscopio en intervalos predeterminables en el rango de minutos de un solo dígito particular, una imagen del medio de cultivo es tomada por la cámara del microscopio por medio del soporte móvil y/o la unidad óptica de fotografía del microscopio se desplaza en el plano de adquisición de imagen a lo largo del eje óptico a través del medio de cultivo, se toma una imagen por plano de adquisición de imagen y
20 mediante software de análisis de imágenes, del grupo de imágenes grabadas, la imagen con más contraste del medio de cultivo o una imagen del medio de cultivo con suficiente contraste para el posterior procesamiento automático de imágenes se selecciona automáticamente y opcionalmente se almacena, donde, para seleccionar la imagen con más contraste o para seleccionar la imagen con suficiente contraste para el posterior
25 procesamiento de imágenes, la primera imagen capturada se almacenará como la imagen con más contraste para comparar cada imagen capturada adicional con la imagen almacenada y, si tiene más contraste, se guarda como la imagen anterior determinada con más contraste, el uso del software de análisis de imágenes basado en la imagen seleccionada determina automáticamente el tamaño del área ocupada por el área de cultivo
30 celular y - se determina si el cultivo celular está creciendo o no en función del tamaño de las áreas ocupadas de cultivo celular de las imágenes seleccionadas.

El método escrito se usa para controlar el crecimiento del cultivo bacteriano, no para evaluar el movimiento del mismo. De manera que si bien utiliza fotografías, el diseño del recipiente
35 y el método en general no cumplen la misma función técnica que la invención pretendida.

5 **ES2121887** - Método y aparato para el análisis microbiológico de muestras biológicas en una suspensión líquida mediante una técnica de dispersión de la luz: Método y aparato para el análisis microbiológico de muestras biológicas en una suspensión líquida mediante una técnica de dispersión de la luz, en el que se utilizan unos recipientes de tubos de ensayo hechos de un material transparente a las radiaciones electromagnéticas con una longitud

10 de onda determinada, cooperando cada uno de los recipientes con un sistema de termostato y por lo menos de manera momentánea con un equipo de agitación y unos elementos que mantienen la agitación relativos, cooperando el recipiente con un sistema de enfoque y colimación y con un dispositivo controlador, siendo la radiación electromagnética con una longitud de onda determinada emitida con su propio eje de

15 emisión y transmitida a través del recipiente por el sistema de enfoque y colimación dispersada por los microorganismos presentes en la muestra con una intensidad relacionada con su número y morfología, recogiendo el dispositivo controlador esta radiación dispersada según una sucesión a intervalos de tiempo deseados y según unos ángulos determinados, de 0 (grados) a 180 (grados) , en relación al eje de emisión con una

20 recogida de datos resultante y una formación de una curva, que representa la intensidad de la radiación dispersada frente al tiempo, cuyos parámetros se comparan con unos valores de referencia que se encuentran en un banco de datos de una unidad de proceso de datos para determinar los parámetros típicos del análisis que representan los números, la velocidad de reproducción y la morfología de los microorganismos presentes en la muestra.

25 Se trata de un método y un dispositivo totalmente distintos de aquellos que se pretenden proteger en la presente invención. Ello por cuanto se usa para el análisis de muestras biológicas en suspensión líquida, de manera que las características del recipiente no coinciden con las de la cámara de vidrio que se utiliza en la invención pretendida, y asimismo, el método no permite evaluar la motilidad bacteriana.

30

2380798. Procedimiento de detección y/o de identificación de bacterias presentes en una muestra, líquida o sólida, caracterizado por qué: En un primer recipiente, la muestra, que puede contener dichas bacterias, se pone en un medio de cultivo líquido. Se proporciona

35 un segundo recipiente que comprende al menos un sistema de detección de dichas bacterias. Se proporciona un medio de transferencia entre el primer recipiente y el segundo

5 recipiente, comprendiendo dicho medio de transferencia al menos una primera abertura a nivel del primer recipiente y al menos una segunda abertura a nivel del segundo recipiente, de tal manera que el segundo recipiente circunscribe un primer volumen de aire entre la
10 abertura del medio de transferencia y el sistema de detección de dichas bacterias. Se aplica una temperatura T1 en el interior del segundo recipiente y después, se aplica una temperatura T2 en el interior del segundo recipiente. La temperatura T1 es superior a la temperatura T2 de tal manera que se transfiere un volumen definido del medio de cultivo del primer recipiente al segundo recipiente. g. Se determina la presencia o ausencia de bacterias y/o se identifican las bacterias a nivel del sistema de detección.

15 Al igual que en invenciones citadas anteriormente, el método solo permite identificar la presencia bacteriana en el cultivo. Este aspecto será presentado en la invención pretendida, en la cual se busca evaluar la motilidad de la bacteria. De esta forma la geometría de los recipientes usados difiere, en el mismo sentido que las fases del proceso de la finalidad del mismo.

20

ES2053550. Aparatos y método para el cultivo y pruebas de microorganismos. procesos para el cultivo selectivo de una bacteria motil tal como Salmonella, y otras, incluyendo los siguientes pasos: Preparación de una muestra de dicho material que contenga una bacteria motil para la incubación bacteriológica. Colocar el material dentro de un recipiente de cultivo
25 que contenga liquido medio nutriente idóneo para la resucitación y crecimiento de la bacteria motil. Poner un transmisor parcialmente introducido en el líquido medio nutriente pero proyectando por encima una superficie del líquido medio nutriente, el soportado (p.e. gelificado) que contiene el transmisor selecciona de los medios apropiados para la indicación y crecimiento selectivo bacteriológico de la bacteria motil, y teniendo una
30 abertura por debajo de la superficie del líquido medio nutriente para el contacto entre el medio liquido en el recipiente de cultivo y el medio soportado portado por el transmisor y así permitir el transporte de la bacteria motil desde el líquido al medio soportado durante el cultivo, e incubación de la muestra y los medios nutrientes para permitir el crecimiento de cualquier bacteria motil presente en la muestra en el cultivo líquido, y permitir el transporte
35 de la bacteria motil durante el cultivo en el medio soportado y el crecimiento de la bacteria

5 motil en el mismo. La invención también se refiere a los aparatos para llevar a cabo los procesos.

Se trata de un proceso diseñado para facilitar el cultivo de una bacteria motil, y no precisamente para evaluar el grado de movilidad de la misma. Lo anterior implica que tanto los dispositivos como los métodos difieren en cuanto a características y fases, y por
10 consiguiente resuelven problemas técnicos distintos puntos

Breve descripción de la invención

15 El método propuesto comprende la utilización de una recámara, consistente en un dispositivo formado por un recipiente de vidrio con forma de paralelepípedo rectangular, con un orificio de entrada hacia un espacio vacío que funge como sitio de siembra. En este, se procede a realizar el cultivo bacteriano que será objeto de análisis.

La forma de la recámara usada disminuye la cantidad de medio de cultivo empleado de 3 ml a 0.5
20 ml, así como el tiempo requerido para su análisis y permite, dada la forma del recipiente, la captura de una imagen de alta resolución digitalizable que puede ser almacenada para su procesamiento por medio de un software que posibilita un análisis cualitativo y cuantitativo de la motilidad bacteriana

25

Breve descripción de las figuras

Figura 1. Vista general de la recámara para identificar motilidad en bacterias

Figura 2. Diagrama de flujo de procesos

30

5 Descripción detallada de la invención

El método descrito comprende el uso conjugado de una recámara de vidrio especialmente diseñada para el análisis de motilidad y un software genérico de procesamiento de imágenes para realizar análisis cualitativo y cuantitativo de la motilidad bacteriana en la mitad del tiempo y con una sexta parte de la cantidad de cultivo, regularmente utilizada en métodos más tradicionales. El método, además de lo anteriormente mencionado, consta de unas fases con requerimientos específicos que se describen a continuación.

Inicialmente, debe prepararse el medio de cultivo que permite (¿?) en suspensión de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se vierten de 0.5 a 1 ml de medio de cultivo en una recámara de vidrio transparente con forma de paralelepípedo rectangular (2) (poliedro de 8 aristas), con dimensiones que oscilan entre 4.8 – 5.6 centímetros de largo, x 1.8 – 2.6 centímetros de ancho y 1.0 – 2.0 cm de profundidad y en cuyo extremo superior tiene una tapa con un orificio en el medio (1).

La recámara contentiva del medio de cultivo, es sometida a un proceso de esterilización para el se coloca sobre la abertura superior de la recámara un tapón de algodón y se somete a esterilización por calor húmedo.

Luego se deja enfriar el medio de cultivo que, gracias a sus propiedades, pasa de estado líquido a semisólido, particularidad que es importante para visualizar la motilidad. Posteriormente, se incuba por 24 horas para realizarle un control de calidad estándar.

Paralelamente al proceso descrito, se siembra por aislamiento la cepa bacteriana en una caja de Petri durante 24 horas en condiciones de aerobiosis. Transcurrido ese tiempo, se realiza la siembra tomando con el asa en punta una porción del cultivo bacteriano y se introduce de forma vertical hasta las 2/3 partes del espacio que ocupa el medio en la recámara a través del orificio dispuesto para ello.

Luego del período de incubación, que es de 24 horas, se lee la motilidad y macroscópicamente se determina si es positiva o negativa. De estar presente se observa turbidez a partir del inóculo inicial y alrededor de éste. En caso de que sea negativo el test, el crecimiento del microorganismo solo se evidenciará en el sitio inicial de siembra (inóculo) y en el trayecto correspondiente. En este punto, las caras planas de la recámara permiten realizar un registro de imágenes con una cámara de alta resolución luego de las 24 horas de incubación, las cuales posteriormente pueden ser procesadas en un software genérico

- 5 y realizar análisis estadísticos a partir de los datos cuantitativos arrojados por las utilidades del mismo.

Las dimensiones y forma de la recámara, permiten que la cantidad de medio de cultivo utilizado sea 50% menos que el empleado de manera convencional, al igual que el tiempo de lectura, lo que supone una mejora considerable en la celeridad de la emisión de resultados y en la disminución de los residuos generados desde el laboratorio.

10