

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 891 726**

51 Int. Cl.:

A61B 10/00

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.04.2016** **PCT/FR2016/050963**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.10.2016** **WO16170290**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.04.2016** **E 16722301 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.08.2021** **EP 3285654**

54 Título: **Procedimiento de muestreo de microorganismos, dispositivo de muestreo de microorganismos y kit de muestreo que comprende dicho dispositivo de muestreo**

30 Prioridad:

24.04.2015 FR 1553721

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

31.01.2022

73 Titular/es:

**MAAT PHARMA (50.0%)
70 Avenue Tony Garnier
69007 Lyon, FR y
INSTITUT NATIONAL DE RECHERCHE POUR
L'AGRICULTURE, L'ALIMENTATION ET
L'ENVIRONNEMENT (50.0%)**

72 Inventor/es:

**SCHWINTNER, CAROLE;
AFFAGARD, HERVÉ y
DORE, JOËL**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 891 726 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

Procedimiento de muestreo de microorganismos, dispositivo de muestreo de microorganismos y kit de muestreo que comprende dicho dispositivo de muestreo

5 La invención se refiere a un procedimiento de muestreo de microorganismos, a un dispositivo de muestreo de microorganismos y a un kit de muestreo que utiliza dicho dispositivo de muestreo.

La invención se aplica en especial al muestreo de microbiota intestinal humana por ejemplo para tratar disbiosis intestinales, tales como las infecciones por *Clostridium difficile* por trasplante de la microbiota intestinal.

10 La microbiota intestinal está constituida por el conjunto de microorganismos (bacterias, levaduras y hongos) que se encuentran en el sistema gastrointestinal humano (intestino, estómago y heces). La diversidad microbiana se estima hoy en día que es de aproximadamente 10^3 especies bacterianas que componen la microbiota intestinal que domina a un individuo adulto, con una abundancia de 10^{14} bacterias, que representan un metagenoma bacteriano de 200.000 a 800.000 genes en cada individuo, es decir de 10 a 50 veces el número de genes del genoma humano.

15 Estéril en el útero, el intestino se coloniza desde los primeros días de vida hasta evolucionar hacia una microbiota individual única. Cada persona posee bacterias relativamente similares en términos de especies pero la composición exacta de su microbiota, (especies, proporciones) es para una gran parte (de aproximadamente 2/3 de las especies) específica del anfitrión.

Por tanto, la microbiota intestinal humana es un ecosistema muy diversificado, complejo y específico de cada individuo.

20 Es esencial para la salud de un individuo mantener una microbiota estable que sea a la vez capaz de volver a su estado inicial después de un cambio y que resista a la invasión. El mantenimiento de una gran diversidad de microbiota favorece su estabilidad.

25 Sin embargo, ciertas patologías o tratamientos desequilibran la microbiota: por ejemplo, los antibióticos así como las enfermedades de componente inflamatorio, tales como la enfermedad inflamatoria crónica del intestino (MICI), pueden limitar la diversidad de la microbiota en el intestino. Los tratamientos antibióticos (o antibioterapia) en especial, tienen como resultado una alteración de la microbiota, lo que puede favorecer la proliferación de organismos patógenos como *Clostridium difficile*. Las infecciones de *Clostridium difficile* son responsables de la diarrea nosocomial; esta bacteria es resistente a la antibioterapia clásica (de gran espectro, tal como la vancomicina y el metronidazol).

30 Con el fin de restablecer la flora intestinal y luchar contra las infecciones de tipo *Clostridium difficile* y por tanto restablecer la homeostasis (es decir la simbiosis), se contempla y se prueba un trasplante de microbiota fecal. La misma consiste en la introducción de heces de un sujeto donante sano en el tubo digestivo de un paciente receptor, con el fin de reequilibrar la flora intestinal alterada del anfitrión. Este trasplante de microbiota fecal puede ser alogénico (es decir de un individuo donante sano a un paciente) o autólogo (es decir de un individuo asimismo). Los resultados obtenidos en las infecciones de tipo *Clostridium difficile* son alentadores, y ciertos pacientes han sido tratados con éxito (*Tauxe et al, Lab Medicine, Winter 2015, volume 46, Number 1*).

35 Con anterioridad a la realización de dicho trasplante, la microbiota se recoge en general en el sujeto donante sano por medio de un dispositivo de muestreo de tipo que comprende:

- un contenedor que comprende un cuerpo que comprende un espacio interior adaptado para recibir el material biológico y un cuello que delimita una abertura de acceso al espacio interior del cuerpo, el cuerpo del contenedor que está constituido de una bolsa flexible,
- 40 - una tapa adaptada para montarse de manera desmontable y estanca en el cuello del contenedor de manera que se obtura la abertura de acceso del cuello y para cerrar el espacio interior del cuerpo,
- un miembro de transferencia que comprende interiormente un pasaje entre el espacio interior y un entorno exterior, el miembro de transferencia que presenta un estado abierto en el cual dicho miembro de transferencia establece una comunicación con el espacio interior a través del pasaje y un estado cerrado en el cual dicho miembro de transferencia evita cualquier comunicación con el espacio interior a través del pasaje.

45 Un dispositivo de muestreo conocido de este tipo se describe en el documento WO 2013/090825. Con dicho dispositivo de muestreo, después de haber recogido el material biológico, el contenedor es cerrado por la tapa antes de poner el material biológico en suspensión mezclando el material biológico recogido con un fluido diluyente. Se pueden obtener condiciones anaerobias en el espacio interior del cuerpo por una aspiración, posiblemente completada por la adición de sustancias apropiadas.

50 Sin embargo, el dispositivo de muestreo conocido no ofrece las condiciones que permitan asegurar de manera simple una preservación satisfactoria de las bacterias de la microbiota y, en particular de las bacterias anaerobias, componentes mayoritarios de la microbiota intestinal. Además, el dispositivo de muestreo conocido no permite realizar las manipulaciones necesarias con anterioridad de la microbiota de manera segura, el operario que realiza las manipulaciones se arriesga a entrar en contacto con el material biológico.

La invención tiene por objetivo paliar los problemas planteados anteriormente.

Con tal fin, según un primer aspecto, la invención propone un procedimiento de muestreo de microorganismos contenidos en un material biológico, el procedimiento de muestreo que utiliza un dispositivo de muestreo del tipo citado anteriormente en el cual dicho al menos un miembro de transferencia comprende un miembro de evacuación adaptado para, en el estado abierto, evacuar al menos una parte de los gases contenidos en el espacio interior del cuerpo del contenedor, el procedimiento de muestreo que comprende las etapas que consisten en:

- recoger el material biológico en el espacio interior del cuerpo del contenedor y cerrar el espacio interior montando la tapa en el cuello del contenedor,

- poner el espacio interior del cuerpo del contenedor en anaerobiosis poniendo el miembro de evacuación en el estado abierto, comprimiendo el cuerpo del contenedor de manera que se evacúa al menos una parte de los gases contenidos en el espacio interior del cuerpo del contenedor y poniendo el miembro de evacuación en el estado cerrado.

Por tanto, la invención permite obtener de manera simple y segura condiciones óptimas de preservación de los microorganismos y en particular de la microbiota. En particular, la invención permite realizar una puesta en anaerobiosis por una simple compresión ejercida en el cuerpo del contenedor para evacuar el oxígeno y conservar las bacterias anaerobias sensibles al oxígeno. Las bacterias mantenidas en un sistema cerrado pueden conservarse en condiciones de anaerobiosis aislándose de los contaminantes exteriores. Además, esta puesta en anaerobiosis así como la puesta en suspensión posterior del material biológico realizadas comprimiendo el cuerpo del contenedor, sin haber recurrido a un mezclador, permiten aumentar la viabilidad de las bacterias. Además, las manipulaciones se pueden realizar con el contenedor cerrado por la tapa y por tanto sin tener riesgo de contacto con el material biológico por el operario.

El miembro de evacuación puede presentar caras exterior e interior opuestas, el miembro de evacuación que está en el estado cerrado en el reposo y que pasa al estado abierto cuando se aplica una diferencia de presión entre las caras interior y exterior. El procedimiento de muestreo puede por tanto prever, en el transcurso de la etapa que consiste en poner el espacio interior del cuerpo del contenedor en anaerobiosis, poner de forma automática el miembro de evacuación en el estado abierto comprimiendo el cuerpo del contenedor y después poner de forma automática el miembro de evacuación en el estado cerrado parando de comprimir el cuerpo del contenedor.

La tapa puede comprender una parte de apoyo que presenta una rigidez de conjunto y el miembro de evacuación puede proporcionarse en la parte de apoyo de la cubierta. El procedimiento de muestreo puede por tanto prever, en el transcurso de la etapa que consiste en poner el espacio interior del cuerpo del contenedor en anaerobiosis, presionar el cuerpo de contenedor contra la parte de apoyo de la tapa.

El procedimiento de muestreo puede comprender además la etapa que consiste en poner en suspensión el material biológico introduciendo un fluido diluyente en el espacio interior del cuerpo del contenedor por medio de dicho al menos un miembro de transferencia en el estado abierto, y mezclando el material biológico y el fluido diluyente por presión en el cuerpo del contenedor.

El procedimiento de muestreo puede comprender además la etapa que consiste en muestrear los microorganismos recogiendo al menos una parte del material biológico puesta en suspensión por medio de dicho al menos un miembro de transferencia en el estado abierto.

El procedimiento de muestreo puede prever, en el transcurso de la etapa consistente en recoger el material biológico en el espacio interior del cuerpo del contenedor, recoger directamente la materia fecal colocando el dispositivo de muestreo en un asiento de inodoro.

Según un segundo aspecto, la invención propone un dispositivo de muestreo de microorganismos contenidos en un material biológico, el dispositivo de muestreo que comprende:

- un contenedor que comprende un cuerpo que comprende un espacio interior adaptado para recibir el material biológico y un cuello que delimita una abertura de acceso al espacio interior del cuerpo, el cuerpo del contenedor que está constituido de una bolsa flexible,

- una tapa adaptada para ser montada de manera desmontable y estanca en el cuello del contenedor de manera que se obtura la abertura de acceso del cuello y que cierra el espacio interior del cuerpo,

en el cual al menos uno entre el contenedor y la tapa está provisto de al menos un miembro de transferencia que comprende interiormente un pasaje entre el espacio interior y un entorno exterior, el miembro de transferencia que presenta un estado abierto en el cual dicho miembro de transferencia establece una comunicación con el espacio interior a través del pasaje y un estado cerrado en el cual dicho miembro de transferencia evita cualquier comunicación con el espacio interior a través del pasaje,

en el cual dicho al menos un miembro de transferencia comprende un miembro de evacuación que presenta caras interior y exterior opuestas, el miembro de evacuación que está en el estado cerrado en el reposo y que pasa al estado abierto cuando se aplica una diferencia de presión entre las caras interior y exterior, de manera que pone de forma

automática al miembro de evacuación en el estado abierto comprimiendo el cuerpo del contenedor para evacuar al menos una parte de los gases contenidos en el espacio interior del cuerpo del contenedor y pone el espacio interior del cuerpo del contenedor en anaerobiosis y pone de forma automática el miembro de evacuación en el estado cerrado parando de comprimir el cuerpo del contenedor.

- 5 Para evitar la diseminación de los gérmenes y por tanto garantizar la seguridad del manipulador, el miembro de evacuación puede comprender una membrana de retención microporosa dispuesta en el pasaje y adaptada para retener el material biológico a la vez que deja pasar los gases.

- 10 Dicho al menos un miembro de transferencia puede comprender una toma de conexión dispuesta a través de uno entre el contenedor y la tapa y que comprende interiormente al menos una parte del pasaje y un elemento de obturación desplazable con respecto a la toma de conexión entre una posición de obturación, en la cual dicho elemento de obturación evita cualquier comunicación a través del pasaje y una posición de liberación en la cual dicho elemento de obturación permite la comunicación a través del pasaje.

- 15 El elemento de obturación puede montarse en el pasaje de la toma de conexión, el elemento de obturación que es empujado hacia la posición de obturación y que se puede desplazar hacia la posición de liberación. Estas disposiciones permiten realizar de manera simple una conexión sin perforación, desmontable y estanca que permite, en caso necesario, una comunicación bidireccional a la vez que mantiene el espacio interior perfectamente cerrado siempre que el elemento de obturación no se desplace por una acción positiva hacia la posición de liberación.

Dicho al menos un miembro de transferencia puede comprender al menos un tubo que se extiende desde la toma de conexión y que comprende interiormente una parte del pasaje.

- 20 Dicho al menos un miembro de transferencia puede comprender al menos una válvula montada en el tubo, la válvula que se puede desplazar entre una posición cerrada, en la cual dicha válvula evita cualquier comunicación a través del pasaje y una posición abierta en la cual dicha válvula permite la comunicación a través del pasaje.

- 25 Cuando el elemento de obturación se monta en el pasaje de la toma de conexión, el tubo puede comprender una toma de conexión complementaria provista de un elemento de liberación y adaptada para poder conectarse de manera desmontable a la toma de conexión de tal manera que el elemento de liberación desplace el elemento de obturación hacia la posición de liberación.

La tapa puede comprender una parte de apoyo que presenta una rigidez de conjunto y el miembro de evacuación puede disponerse en la parte de apoyo de la tapa, de manera que puede presionar el cuerpo del contenedor contra la parte de apoyo de la tapa para poner el espacio interior del cuerpo del contenedor en anaerobiosis.

- 30 El dispositivo de muestreo puede comprender además un filtro unido al contenedor de manera que define, en el espacio interior, un compartimento superior en el cual desemboca la abertura de acceso y un compartimento inferior, el filtro que presenta poros comprendidos entre 0,1 mm y 1,5 mm.

- 35 Con el fin de evitar una oclusión del pasaje por un cuerpo sólido contenido en el material biológico o un muestreo de dicho cuerpo sólido con los microorganismos, dicho al menos un miembro de transferencia puede estar previsto en el compartimento inferior aguas abajo del filtro con respecto a la abertura de acceso.

Según un tercer aspecto, la invención se refiere a un kit de muestreo que comprende:

- un dispositivo de muestreo tal como el definido anteriormente, y

- 40 - al menos un dispositivo adjunto elegido entre un dispositivo de alimentación adaptado para alimentar el espacio interior de fluido y un dispositivo de recepción adaptado para recibir un fluido contenido en el espacio interior, el dispositivo adjunto que se elige en especial entre un depósito de fluido diluyente, un tubo de análisis, un colector de distribución y una bolsa de recogida de microorganismos.

El kit de muestreo permite en especial muestrear y acondicionar los microorganismos en forma de inóculo listo para la utilización.

- 45 Cuando el miembro de transferencia del dispositivo de muestreo comprende un elemento de obturación montado en el pasaje de una toma de conexión, el dispositivo adjunto puede comprender una toma de conexión complementaria provista de un elemento de liberación y adaptada para conectarse de manera desmontable a la toma de conexión de tal manera que el elemento de liberación desplace el elemento de obturación hacia la posición de liberación.

- 50 Otros objetos y ventajas de la invención aparecerán de la lectura de la descripción siguiente de un modo de realización particular de la invención dado a título de ejemplo no limitativo, la descripción que se ha hecho con referencia a los dibujos adjuntos en los cuales:

- la figura 1 es una representación en perspectiva de un kit de muestreo que comprende un dispositivo de muestreo de microbiota contenida en un material biológico, el dispositivo de muestreo que comprende un contenedor y una tapa, el contenedor que comprende un cuerpo constituido de una bolsa flexible y la tapa que está provista de un miembro

de evacuación adaptado para evacuar al menos una parte de los gases contenidos en el espacio interior del cuerpo del contenedor,

- la figura 2 es una representación en perspectiva del dispositivo de muestreo de la figura 1 en una aplicación de un muestreo de microbiota intestinal contenida en la materia fecal como material biológico, el dispositivo de muestreo que está abierto con la tapa separada del contenedor para recoger la materia fecal,

- la figura 3 es una representación en perspectiva del dispositivo de muestreo de la figura 1 puesto en condición de anaerobiosis con la tapa montada en el contenedor y el cuerpo presionado contra la tapa para evacuar el oxígeno del espacio interior del cuerpo y conservar la microbiota presente en la materia fecal recogida,

- la figura 4 es un diagrama de flujo que ilustra las etapas de un procedimiento de muestreo de microbiota contenida en un material biológico, el procedimiento de muestreo que utiliza el dispositivo de muestreo de la figura 1.

En las figuras, las mismas referencias designan elementos idénticos o análogos.

La figura 1 representa un modo de realización de un kit 1 de muestreo que comprende un dispositivo 2 de muestreo de microorganismos contenidos en un material biológico. En el modo de realización representado, sin limitarse al mismo, el dispositivo 2 de muestreo se utiliza en el muestreo de microbiota intestinal contenida en la materia fecal de un individuo.

El dispositivo 2 de muestreo comprende un contenedor 5 destinado en especial a recoger la materia fecal.

El contenedor 5 comprende un cuerpo 6 constituido de una bolsa flexible que delimita un espacio 7 interior adaptado para recibir el material biológico y que presenta un borde 8 superior. El cuerpo 6 está realizado de un material deformable adaptado para formar una barrera para la materia fecal contenida en el espacio 7 interior y a los fluidos exteriores con el fin de evitar cualquier intercambio entre la materia fecal recogida y el exterior. En particular, el cuerpo 6 puede realizarse de polietileno (PE), de polipropileno (PP), de policloruro de vinilo (PVC), de policarbonato (PC) o de acetato de vinilo etileno (EVA).

El contenedor 5 comprende del mismo modo un cuello 10 cilíndrico de revolución alrededor de un eje A central al cual se une el borde 8 superior del cuerpo 6 por cualquier medio apropiado y en especial por soldadura, pegado u otros. El cuello 10 presenta una rigidez de conjunto y se realiza, por ejemplo, de material plástico tal como de polietileno (PE), de polipropileno (PP), de policloruro de vinilo (PVC), de policarbonato (PC) o de acetato de vinilo etileno (EVA). El cuello 10 presenta una superficie 11 interior que delimita una abertura 12 de acceso al espacio 7 interior del cuerpo 6 y una superficie 13 exterior provista de una o varias rampas 14 dispuestas de manera que forman una malla externa. Como variante se podría prever cualquier otra disposición continua o discreta de una o varias rampas 14, posiblemente divididas en partes iguales, en la superficie 13 exterior del cuello 10.

El contenedor 5 comprende del mismo modo un soporte 15 adaptado para asegurar un mantenimiento estable en una orientación apropiada y en particular con la abertura 12 de acceso orientada hacia arriba. En el modo de realización representado, el soporte 15 se une al cuello 10 y se conforma para poder apoyarse sobre el reborde de un asiento 3 de inodoro de acuerdo con la aplicación considerada. El soporte 15 comprende dos aletas 16 que se extienden radialmente con respecto al eje A central en sentidos diametralmente opuestos desde la superficie 13 exterior del cuello 10. Como variante, según la aplicación, el soporte podría tener cualquier otra forma apropiada.

Un filtro 20 se une, por ejemplo por soldadura, pegado u otros, al contenedor 5 de manera que define, en el espacio 7 interior, dos compartimentos. En la figura 1, el filtro 20 se une al cuerpo 6 de manera que se extiende en las inmediaciones de la abertura 12 de acceso del cuello 10. El espacio 7 interior presenta por tanto un compartimento superior en el cual desemboca la abertura 12 de acceso y un compartimento inferior en el lado del fondo 9. Como variante, el filtro puede unirse en cualquier otro emplazamiento apropiado del cuello o del cuerpo del contenedor para definir compartimentos inferior y superior de contenidos respectivos apropiados. El filtro presenta poros comprendidos entre 0,1 mm y 1,5 mm, en especial, entre 0,3 mm y 0,5 mm, adaptados para retener cuerpos sólidos no solubles contenidos en la materia fecal.

El cuerpo 6 del contenedor 5 comprende un primer miembro de transferencia que forma, en el modo de realización particular representado, un miembro 25 de recogida que permite recoger los microorganismos de la microbiota intestinal. El miembro 25 de recogida comprende una toma 26 de conexión inferior dispuesta a través del cuerpo 6 del contenedor 5 en las inmediaciones del fondo 9 del cuerpo 6 y un tubo 27 que se extiende desde la toma 26 de conexión inferior. La toma 26 de conexión inferior y el tubo 27 definen por tanto un pasaje en el interior del miembro 25 de recogida entre el espacio 7 interior y un entorno exterior. El miembro 25 de recogida comprende una válvula 28 montada en el tubo 27 y que se puede desplazar entre:

- una posición cerrada que define un estado cerrado del miembro 25 de recogida y en la cual la misma evita cualquier comunicación y en especial cualquier circulación de fluido a través del pasaje, y

- una posición abierta que define un estado abierto del miembro 25 de recogida y en la cual la misma permite la comunicación y en especial la circulación de fluido a través del pasaje.

Como variante, el miembro 25 de recogida podría comprender varios tubos 27 y varias válvulas 28.

El tubo 27 puede estar conectado de manera desmontable a la toma 26 de conexión inferior. Un elemento de obturación en forma de una válvula de clapeta se puede montar en el pasaje de la toma 26 de conexión inferior siendo empujada hacia una posición de obturación, en la cual el elemento de obturación evita cualquier comunicación a través del pasaje y que es desplazable hacia una posición de liberación en la cual el elemento de obturación permite la comunicación a través del pasaje. El tubo 27 comprende por tanto una toma de conexión complementaria adaptada para cooperar con la toma 26 de conexión inferior. En particular, la toma de conexión complementaria está provista de un elemento de liberación dispuesto para desplazar el elemento de obturación hacia la posición de liberación cuando la toma de conexión complementaria se conecta a la toma 26 de conexión inferior. La toma 26 de conexión inferior y la toma de conexión complementaria pueden por tanto formar, una de ellas, un miembro macho y, la otra, un miembro hembra de una conexión de tipo con cierre de Luer equipada de una válvula de clapeta en la cual:

- la toma 26 de conexión inferior está en la posición de obturación evitando cualquier comunicación entre el espacio 7 interior y el exterior a través del pasaje cuando el tubo 27 está separado del cuerpo 6 del contenedor 5, y

- la toma 26 de conexión inferior está en la posición de liberación estableciendo una comunicación entre el espacio 7 interior y el exterior a través del pasaje cuando el tubo 27 está conectado al cuerpo 6 del contenedor 5.

Dicha toma de conexión permite, por una conexión sin perforación, realizar una comunicación bidireccional a través del pasaje a la vez que mantiene el espacio interior perfectamente cerrado siempre que el elemento de obturación no se desplace hacia la posición de liberación por el elemento de liberación.

En otro modo de realización, el tubo 27 del miembro 25 de recogida puede ser integral con la toma 26 de conexión inferior, la válvula 28 que forma por tanto un elemento de obturación desplazable con respecto a la toma 26 de conexión entre una posición de obturación correspondiente a la posición cerrada de la válvula 28 y una posición de liberación correspondiente a la posición abierta. Como variante, en reemplazo de la válvula 28, el elemento de obturación podría ser un tapón perforable o montado de manera desmontable en el extremo libre del tubo 27.

Con el fin de poder conservar la materia fecal recogida, el dispositivo 2 de muestreo comprende una tapa 30 adaptada para montarse de manera desmontable y estanca en el cuello 10 del contenedor 5 de manera que obtura la abertura 12 de acceso del cuello 10 y que cierra el espacio 7 interior del cuerpo 6. La tapa 30 presenta una rigidez de conjunto y por ejemplo, es realizada de un material plástico análogo al del cuello 10. Comprende una pared 31 transversal que se extiende perpendicularmente a un eje B central y que presenta un borde 32 periférico circular con un diámetro correspondiente al del cuello 10 del contenedor 5. La tapa 30 comprende del mismo modo un faldón 33 cilíndrico de revolución alrededor del eje B central que se extiende desde el borde 32 periférico de la pared 31 transversal. El faldón 33 presenta una superficie interior provista de salientes que forman, en caso necesario, una malla interna, adaptados para cooperar con las rampas 14 sobre la superficie 13 exterior del cuello 10. Como variante, se puede prever cualquier otro dispositivo que permita unir de manera desmontable y estanca la tapa 30 y el cuello 10 del contenedor 5, en especial, un dispositivo de encaje por presión. La pared 31 transversal tiene una superficie inferior que presenta dos rebajes 34 dispuestos a ambos lados de un saliente 35 de entrada central. Los rebajes 34 son tales que una superficie inferior de la pared 31 transversal a nivel de los rebajes 34 aflora de o sobrepasa un borde 36 libre del faldón 33.

En uno de los rebajes 34, la tapa 30 está provista de un segundo miembro de transferencia realizado en forma de un miembro de evacuación adaptado para, en un estado abierto, evacuar al menos una parte de los gases contenidos en el espacio 7 interior del cuerpo 6 del contenedor 5. En el modo de realización particular representado, el miembro de evacuación es una válvula 40 antirretorno que está en un estado cerrado en reposo, en ausencia de un empuje exterior y que pasa a un estado abierto cuando se aplica una diferencia de presión entre las caras interior y exterior opuestas situadas respectivamente al lado de la superficie interior y exterior de la tapa 30.

En particular, la válvula 40 antirretorno comprende una toma 41 de conexión superior dispuesta a través de la tapa 30, entre sus superficies inferior y superior y un tubo 42 que se extiende desde la toma 41 de conexión superior. La toma 41 de conexión superior y el tubo 42 definen por tanto un pasaje al interior de la válvula 40 antirretorno entre el espacio 7 interior y el entorno exterior. En un burlate 43 central, el tubo 42 de la válvula 40 antirretorno comprende una membrana de retención microporosa dispuesta en el pasaje y adaptada para retener el material biológico a la vez que deja pasar los gases. La membrana de retención microporosa puede en especial ser del tipo de la comercializada por la empresa POREX® FILTRATION bajo la referencia XS-49 110 de polipropileno con poros comprendidos entre 125 µm y 175 µm. Como variante, la membrana de retención microporosa podría realizarse de cualquier otro material apropiado y en especial de un material sinterizado que presenta poros comprendidos entre 100 µm y 350 µm, en especial entre 200 µm y 300 µm, por ejemplo 250 µm.

Un elemento de obturación en forma de una válvula de clapeta puede montarse en el pasaje de la válvula 40 antirretorno y ser empujado hacia una posición de obturación que evita cualquier comunicación a través del pasaje y que se puede desplazar hacia una posición de liberación que permite una comunicación a través del pasaje.

En el modo de realización representado, el tubo 42 de la válvula 40 antirretorno es integral con la toma 41 de conexión superior. El elemento de obturación puede estar previsto en el tubo 42, en especial en las inmediaciones de un extremo libre.

En otro modo de realización, el tubo 42 de la válvula 40 antirretorno puede estar conectado de manera desmontable a la toma 41 de conexión superior. Como complemento o como sustitución de la válvula de clapeta prevista en el tubo 42, un nuevo elemento de obturación en forma de una válvula de clapeta puede estar provisto en la toma 41 de conexión superior y siendo empujado hacia una posición de obturación, evitando cualquier comunicación a través del pasaje y pudiéndose desplazar hacia una posición de liberación que permite una comunicación a través del pasaje.

En este otro modo de realización, el tubo 42 comprende una toma de conexión complementaria adaptada para cooperar con la toma 41 de conexión superior. En particular, la toma de conexión complementaria está provista de un elemento de liberación dispuesto para desplazar la válvula de clapeta de la toma 41 de conexión superior hacia la posición de liberación cuando la toma de conexión complementaria está conectada a la toma 41 de conexión superior.

La toma 41 de conexión superior está en la posición de obturación cuando el tubo 42 está separado de la tapa 30 y en la posición de liberación cuando el tubo 42 está conectado a la tapa 30.

Como variante, el miembro de evacuación podría realizarse de cualquier otro material apropiado para una válvula antirretorno. En particular, el miembro de evacuación podría comprender un pasaje que puede ser obturado por un elemento de obturación en forma de un tapón colocado de manera desmontable en el pasaje, por ejemplo montándose de manera desmontable en el extremo libre del tubo 42. Cuando el tapón se separa del pasaje, el miembro de evacuación está en el estado abierto, en el cual una comunicación entre el espacio 7 interior del contenedor 5 y el exterior se establece a través del pasaje. Cuando el tapón se coloca en el pasaje, obtura el pasaje y el miembro de evacuación está en el estado cerrado, en el cual se evita cualquier comunicación entre el espacio 7 interior del contenedor 5 y el exterior a través del pasaje.

En el otro rebaje 34, la tapa 30 comprende un tercer y un cuarto miembros de transferencia que forman, en el modo de realización particular representado, respectivamente, un miembro 45 de alimentación y un miembro 48 de muestreo. Los miembros 45 de alimentación y 48 de muestreo se adaptan, cada uno, para establecer una comunicación entre el espacio interior y el exterior en el estado abierto y para cerrar la comunicación entre el espacio interior y el exterior en el estado cerrado.

Los miembros 45 de alimentación y 48 de muestreo comprenden respectivamente tomas 46, 49 de conexión superiores suplementarias para los dispositivos adjuntos del kit de muestreo.

Cada una de las tomas 46, 49 de conexión superiores suplementarias está dispuesta a través de la tapa 30, entre sus superficies inferior y superior, para constituir uno de los miembros, por ejemplo hembra, de una conexión de tipo de cierre Luer. Como se describió anteriormente, cada una de las tomas 46, 49 de conexión superiores suplementarias de los miembros 45 de alimentación y 48 de muestreo puede estar provista de un elemento de obturación realizado en forma de una válvula 47 de clapeta, de un tapón u otros.

El miembro de obturación del miembro 45 de alimentación se realiza, por ejemplo, en forma de una válvula 47 de clapeta montada en el pasaje y adaptada para cooperar con un elemento de liberación de una toma de conexión complementaria prevista sobre el dispositivo adjunto y que constituye el otro miembro, por ejemplo macho, de la conexión de tipo de cierre Luer. La válvula 47 de clapeta empujada hacia una posición de obturación que evita cualquier comunicación a través del pasaje coloca la toma 46 de conexión superior suplementaria del miembro 45 de alimentación en un estado cerrado cuando el dispositivo adjunto está separado de la tapa 30. El elemento 47 de obturación desplazado hacia una posición de liberación que permite una comunicación a través del pasaje coloca la toma 46 de conexión superior suplementaria del miembro 45 de alimentación en un estado abierto cuando el dispositivo adjunto está conectado a la tapa 30.

El miembro de obturación del miembro 48 de muestreo se realiza, por ejemplo, en forma de un tapón, no representado, montado de manera desmontable sobre la toma 49 de conexión superior suplementaria. El miembro 48 de muestreo está en un estado abierto que permite una comunicación a través del pasaje cuando el tapón se separa de la toma 49 de conexión suplementaria y en un estado cerrado que evita cualquier comunicación a través del pasaje cuando el tapón está sobre la toma 49 de conexión superior suplementaria.

Los dispositivos adjuntos pueden, en especial, comprender:

- uno o varios depósitos de fluido diluyente y en especial una bolsa de alimentación, adaptados para conectarse a la toma 46 de conexión superior suplementaria del miembro 45 de alimentación, el depósito que comprende, en caso necesario, un conducto equipado de una toma de conexión complementaria con un elemento de liberación,
- uno o varios tubos de análisis adaptados para conectarse a la toma 49 de conexión superior suplementaria del miembro 48 de muestreo, cada tubo de análisis que se extiende entre un extremo abierto provisto, en caso necesario, de una toma de conexión complementaria con un elemento de liberación y un extremo cerrado de manera que se puede extraer con fines de análisis la materia fecal, y
- una o varias bolsas de recogida de microorganismos adaptadas para conectarse a la toma 26 de conexión inferior del miembro 25 de recogida por medio de un colector de distribución que comprende uno o varios conductos equipados de una toma de conexión complementaria con un elemento de liberación y, en caso necesario, de una o varias válvulas.

Como variante, el kit 1 de muestreo podría comprender cualquier otro tipo de dispositivo adjunto elegido entre un dispositivo de alimentación adaptado para alimentar el espacio 7 interior de fluido y un dispositivo de recepción adaptado para recibir un fluido contenido en el espacio 7 interior.

- 5 La invención ha sido descrita con un dispositivo de muestreo que comprende un primer, un segundo, un tercer y un cuarto miembros de transferencia que constituyen respectivamente un miembro de recogida, un miembro de evacuación en forma de una válvula antirretorno, un miembro de alimentación y un miembro de muestreo. Como variante, podría estar prevista cualquier otra disposición cualquier otra realización y cualquier otra funcionalidad de uno o varios miembros de transferencia que comprenden interiormente un pasaje y al menos una forma del miembro de evacuación adaptada para, en el estado abierto, evacuar al menos una parte de los gases contenidos en el espacio interior del cuerpo del contenedor. En particular, el dispositivo 2 de muestreo podría comprender sólo el primer 25 y el segundo 10 40 miembros de transferencia descritos anteriormente o incluso uno solo de ellos. Al menos un miembro de transferencia está previsto, con preferencia, en el compartimento inferior, aguas abajo del filtro con respecto a la abertura de acceso con el fin de evitar una oclusión de la toma de conexión por un cuerpo sólido contenido en el material biológico o un muestreo de dicho cuerpo sólido con los microorganismos.
- 15 En relación con las figuras 2 a 4, se describe ahora un procedimiento de muestreo de microbiota contenida en un material biológico que utiliza el sistema de muestreo.

- En la figura 2, la materia fecal es recogida colocando el contenedor 5 del dispositivo 2 de muestreo en el asiento 3 de inodoro con las aletas que descansan sobre el reborde del asiento 3 de inodoro. Como variante, la materia fecal podría depositarse de cualquier otra manera apropiada en el espacio 7 interior del contenedor 5. En el transcurso de esta etapa de recogida, el tubo 27 puede separarse del contenedor 5.
- 20

- En la figura 3, una vez que la materia fecal se ha recibido en el filtro 20 en el espacio 7 interior del cuerpo 6, el espacio 7 interiores cerrado enroscando la tapa 30 en el cuello 10 del contenedor 5. El miembro 25 de recogida, la válvula 40 antirretorno y los dos miembros 45, 48 de muestreo están en el estado cerrado. Un operario puede por tanto proceder a la puesta en anaerobiosis del espacio 7 interior del cuerpo 6 del contenedor 5 comprimiendo el cuerpo 6 del contenedor 5 haciendo por tanto pasar de forma automática la válvula 40 antirretorno al estado abierto. En particular, la pared 31 transversal de la tapa 30 a nivel de los rebajes 34 forma una parte de apoyo contra la cual puede presionarse el cuerpo 6 del contenedor 5 cuando la tapa 30 está montada en el cuello 10 del contenedor 5. Al hacer esto, una parte de los gases contenidos en el espacio 7 interior del cuerpo 6 del contenedor 5, en particular el oxígeno, se evacúa a través de la válvula 40 antirretorno dispuesta en la parte de apoyo de la tapa 30. La compresión del cuerpo 6 puede mejorarse mediante un agarre o un apoyo sobre un miembro de agarre, tal como una placa rígida o un asa, dispuesta en el fondo 9 en el lado opuesto del borde 8 superior. Una vez que la compresión del cuerpo 6 del contenedor 5 se ha detenido, la válvula 40 antirretorno vuelve de forma automática al estado cerrado para mantener las condiciones anaerobias en el espacio 7 interior del cuerpo 6.
- 25 30

- Según la aplicación considerada, la puesta en anaerobiosis puede completarse mediante una inyección de gas inerte en el espacio 7 interior del cuerpo 6 del contenedor 5 por medio de uno de los miembros 25, 40, 45, 48 de transferencia.
- 35

- Después de un tiempo posible de espera en condiciones determinadas y un posible control visual, la materia fecal se pone en suspensión conectando un depósito de fluido diluyente, tal como una bolsa de alimentación de fluido diluyente o un frasco de fluido diluyente en la toma 46 de conexión superior suplementaria del miembro 45 de alimentación sobre la tapa 30 del dispositivo 2 de muestreo. La toma 46 de conexión superior suplementaria pasa al estado abierto de tal manera que el fluido diluyente se introduce en el espacio 7 interior del cuerpo 6 del contenedor 5. El material biológico y el fluido diluyente se mezclan a continuación por presión sobre el cuerpo 6 del contenedor 5. La homogeneidad de la suspensión se mejora por su paso a través del filtro 20.
- 40

- Con anterioridad a la puesta en suspensión de la materia fecal, se pueden practicar análisis complementarios sobre la muestra muestreada por medio de un tubo de análisis conectado a la toma 49 de conexión superior suplementaria del miembro 48 de muestreo en la tapa 30 del dispositivo 2 de muestreo. Como variante, el muestreo de dicha muestra puede realizarse de forma simultánea o posteriormente a la puesta en suspensión.
- 45

- Para acondicionar la microbiota en forma de inóculo listo para la utilización, el tubo 27 o un colector de distribución se puede conectar a la toma 26 de conexión inferior del miembro 25 de recogida para muestrear la microbiota contenida en la materia fecal en una o varias bolsas de recogida conectadas respectivamente a uno o varios conductos del colector de distribución.
- 50

La microbiota puede a continuación sufrir cualquier operación apropiada para su conservación, su posible transporte y su trasplante.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de muestreo de microorganismos contenidos en un material biológico, el procedimiento de muestreo que utiliza un dispositivo (2) de muestreo que comprende:

- 5 - un contenedor (5) que comprende un cuerpo (6) que comprende un espacio (7) interior adaptado para recibir el material biológico, y un cuello (10) que delimita una abertura (12) de acceso al espacio (7) interior del cuerpo (6), el cuerpo (6) del contenedor (5) que está constituido de una bolsa flexible,
- una tapa (30) adaptada para montarse de manera desmontable y estanca en el cuello (10) del contenedor (5) de manera que obtura la abertura (12) de acceso del cuello (10) y que cierra el espacio (7) interior del cuerpo (6),
- 10 en el cual al menos uno de entre el contenedor (5) y la tapa (30) está provisto de al menos un miembro (25, 40, 45, 48) de transferencia que comprende interiormente un pasaje entre el espacio (7) interior y un entorno exterior, el miembro (25, 40, 45, 48) de transferencia que presenta un estado abierto en el cual dicho miembro (25, 40, 45, 48) de transferencia establece una comunicación con el espacio (7) interior a través del pasaje y un estado cerrado en el cual dicho miembro (25, 40, 45, 48) de transferencia evita cualquier comunicación con el espacio (7) interior a través del pasaje, dicho al menos un miembro (25, 40, 45, 48) de transferencia que comprende un miembro (40) de evacuación adaptado para, en el estado abierto, evacuar al menos una parte de los gases contenidos en el espacio (7) interior del cuerpo (6) del contenedor (5), el procedimiento de muestreo comprende las etapas que consisten en:
- 15 - recoger el material biológico en el espacio (7) interior del cuerpo (6) del contenedor (5), y cerrar el espacio (7) interior montando la tapa (30) en el cuello (10) del contenedor (5),
- 20 - poner el espacio (7) interior del cuerpo (6) del contenedor (5) en anaerobiosis poniendo el miembro (40) de evacuación en el estado abierto, comprimiendo el cuerpo (6) del contenedor (5) de manera que se evacúa al menos una parte de los gases contenidos en el espacio (7) interior del cuerpo (6) del contenedor (5) y poniendo el miembro (40) de evacuación en el estado cerrado.

25 2. Procedimiento de muestreo según la reivindicación 1, en el cual el miembro (40) de evacuación presenta caras interior y exterior opuestas, el miembro de evacuación que está en el estado cerrado en reposo y que pasa al estado abierto cuando se aplica una diferencia de presión entre las caras interior y exterior, el procedimiento de muestreo que prevé, en el transcurso de la etapa que consiste en poner el espacio (7) interior del cuerpo (6) del contenedor (5) en anaerobiosis, poner de forma automática el miembro (40) de evacuación en el estado abierto comprimiendo el cuerpo (6) del contenedor (5) después poner el miembro (40) de evacuación de forma automática en el estado cerrado parando de comprimir el cuerpo (6) del contenedor (5).

30 3. Procedimiento (2) de muestreo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en el cual la tapa (30) comprende una parte (31) de apoyo que presenta una rigidez de conjunto y en el cual el miembro (40) de evacuación está dispuesto en la parte (31) de apoyo de la tapa (30),

35 el procedimiento de muestreo que prevé, en el transcurso de la etapa que consiste en poner el espacio (7) interior del cuerpo (6) del contenedor (5) en anaerobiosis, presionar el cuerpo (6) del contenedor (5) contra la parte (31) de apoyo de la tapa (30).

4. Procedimiento de evacuación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende además la etapa que consiste en poner en suspensión el material biológico introduciendo un fluido diluyente en el espacio (7) interior del cuerpo (6) del contenedor (5) por medio de dicho al menos un miembro (25, 40, 45, 48) de transferencia en el estado abierto, y mezclando el material biológico y el fluido diluyente por presión en el cuerpo (6) del contenedor (5).

40 5. Procedimiento de muestreo según la reivindicación 4, que comprende además la etapa que consiste en muestrear los microorganismos recogiendo al menos una parte del material biológico puesta en suspensión por medio de dicho al menos un miembro (25, 40, 45, 48) de transferencia en el estado abierto.

45 6. Procedimiento de muestreo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que prevé, en el transcurso de la etapa que consiste en recoger el material biológico en el espacio (7) interior del cuerpo (6) del contenedor (5), recoger directamente la materia fecal colocando el dispositivo de muestreo en un asiento (3) de inodoro.

7. Dispositivo (2) de muestreo de microorganismos contenidos en un material biológico, el dispositivo (2) de muestreo que comprende:

- 50 - un contenedor (5) que comprende un cuerpo (6) que comprende un espacio (7) interior adaptado para recibir el material biológico y un cuello (10) que delimita una abertura (12) de acceso en el espacio (7) interior del cuerpo (6), el cuerpo (6) del contenedor (5) que está constituido de una bolsa flexible,
- una tapa (30) adaptada para ser montada de manera desmontable y estanca en el cuello (10) del contenedor (5) de manera que obtura la abertura (12) de acceso del cuello (10) y que cierra el espacio (7) interior del cuerpo (6),

- en el cual al menos uno de entre el contenedor (5) y la tapa (30) está provisto de al menos un miembro (25, 40, 45, 48) de transferencia que comprende interiormente un pasaje entre el espacio (7) interior y un entorno exterior, el miembro (25, 40, 45, 48) de transferencia que presenta un estado abierto en el cual dicho miembro (25, 40, 45, 48) de transferencia establece una comunicación con el espacio (7) interior a través del pasaje, y un estado cerrado en el cual dicho miembro (25, 40, 45, 48) de transferencia evita cualquier comunicación con el espacio (7) interior a través del pasaje,
- 5 el dispositivo (2) de muestreo que está caracterizado por que dicho al menos un miembro (25, 40, 45, 48) de transferencia comprende un miembro (40) de evacuación que presenta caras interior y exterior opuestas, el miembro de evacuación que está en el estado cerrado en reposo y que pasa al estado abierto cuando se aplica una diferencia de presión entre las caras interior y exterior, de manera que pone de forma automática el miembro (40) de evacuación en el estado abierto comprimiendo el cuerpo (6) del contenedor (5) para evacuar al menos una parte de los gases contenidos en el espacio (7) interior del cuerpo (6) del contenedor (5) y poner el espacio (7) interior del cuerpo (6) del contenedor (5) en anaerobiosis, y para poner de forma automática el miembro (40) de evacuación en el estado cerrado parando de comprimir el cuerpo (6) del contenedor (5).
- 10 8. Dispositivo (2) de muestreo según la reivindicación 7, en el cual la tapa (30) comprende una parte (31) de apoyo que presenta una rigidez de conjunto y en el cual el miembro (40) de evacuación se dispone en la parte (31) de apoyo de la tapa (30), de manera que puede presionar el cuerpo (6) del contenedor (5) contra la parte (31) de apoyo de la tapa (30) para poner el espacio (7) interior del cuerpo (6) del contenedor (5) en anaerobiosis.
- 15 9. Dispositivo (2) de muestreo según una cualquiera de las reivindicaciones 7 y 8, en el cual el miembro (40) de evacuación comprende una membrana de retención microporosa dispuesta en el pasaje y adaptada para retener el material biológico a la vez que deja pasar los gases.
- 20 10. Dispositivo (2) de evacuación según una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, en el cual dicho al menos un miembro (25, 40, 45, 48) de transferencia comprende una toma (26, 41, 46, 49) de conexión dispuesta a través de uno entre el contenedor (5) y la tapa (30) y que comprende interiormente al menos una parte del pasaje, y un elemento (47) de obturación que se puede desplazar con respecto a la toma (26, 41, 46, 49) de conexión entre una posición de obturación, en la cual dicho elemento (47) de obturación evita cualquier comunicación a través del pasaje, y una posición de liberación en la cual dicho elemento (47) de obturación permite la comunicación a través del pasaje.
- 25 11. Dispositivo (2) de muestreo según la reivindicación 10, en el cual el elemento (47) de obturación se monta en el pasaje de la toma (26, 46) de conexión, el elemento (47) de obturación que es empujado hacia la posición de obturación y que se puede desplazar hacia la posición de liberación.
- 30 12. Dispositivo (2) de muestreo según una cualquiera de las reivindicaciones 10 y 11, en el cual dicho al menos un miembro (25, 40) de transferencia comprende al menos un tubo (27, 42) que se extiende desde la toma (26, 41) de conexión y que comprende interiormente una parte del pasaje.
- 35 13. Dispositivo (2) de muestreo según la reivindicación 12, en el cual dicho al menos un miembro (25) de transferencia comprende al menos una válvula (28) montada en el tubo (27), la válvula (28) que se puede desplazar entre una posición cerrada, en la cual dicha válvula (28) evita cualquier comunicación a través del pasaje y una posición abierta en la cual dicha válvula (28) permite la comunicación a través del pasaje.
- 40 14. Dispositivo (2) de muestreo según una cualquiera de las reivindicaciones 12 y 13 cuando depende de la reivindicación 11, en el cual el tubo (27) comprende una toma de conexión complementaria provista de un elemento de liberación y adaptado para conectarse de manera desmontable a la toma (26) de conexión de tal manera que el elemento de liberación desplaza el elemento de obturación hacia la posición de liberación.
- 45 15. Dispositivo (2) de muestreo según una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 14, que comprende además un filtro (20) unido al contenedor (5) de manera que define, en el espacio (7) interior, un compartimento superior en el cual desemboca la abertura (12) de acceso y un compartimento inferior, el filtro (20) que presenta poros comprendidos entre 0,1 mm y 1,5 mm.
- 50 16. Kit (1) de muestreo que comprende:
- un dispositivo (2) de muestreo según una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 15, y
 - al menos un dispositivo adjunto elegido entre un dispositivo de alimentación adaptado para alimentar el espacio (7) interior de fluido, y un dispositivo de recepción adaptado para recibir un fluido contenido en el espacio (7) interior, el dispositivo adjunto que se elige en especial entre un depósito de fluido diluyente, un tubo de análisis, un colector de distribución y una bolsa de recogida de microorganismos.
17. Kit (1) de muestreo según la reivindicación 16 cuando depende de la reivindicación 11, en el cual el dispositivo adjunto comprende una toma de conexión complementaria provista de un elemento de liberación y adaptado para conectarse de manera desmontable a la toma (26, 46) de conexión del miembro (25, 45) de transferencia del dispositivo

(2) de muestreo de tal manera que el elemento de liberación desplaza el elemento de obturación hacia la posición de liberación.

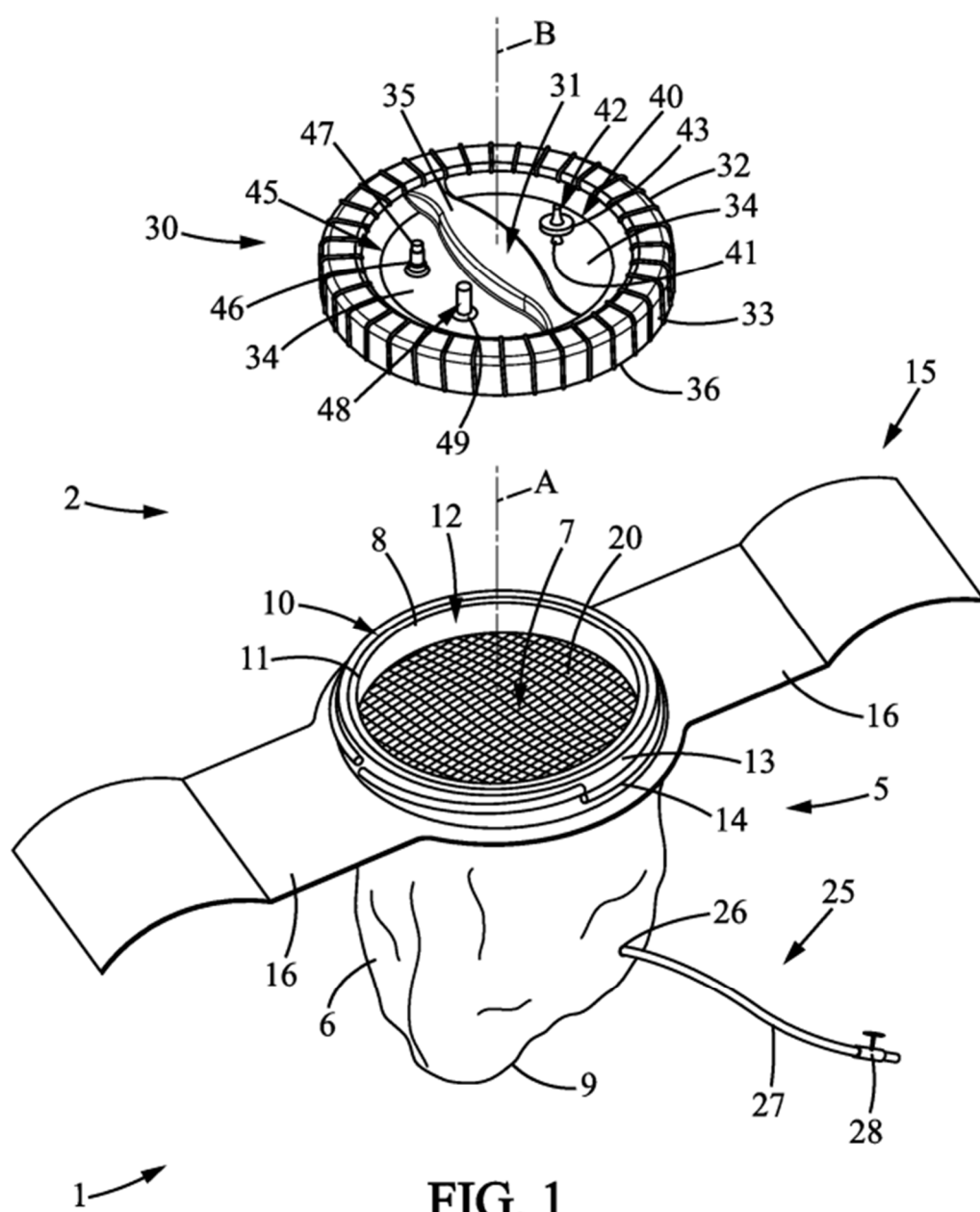


FIG. 1

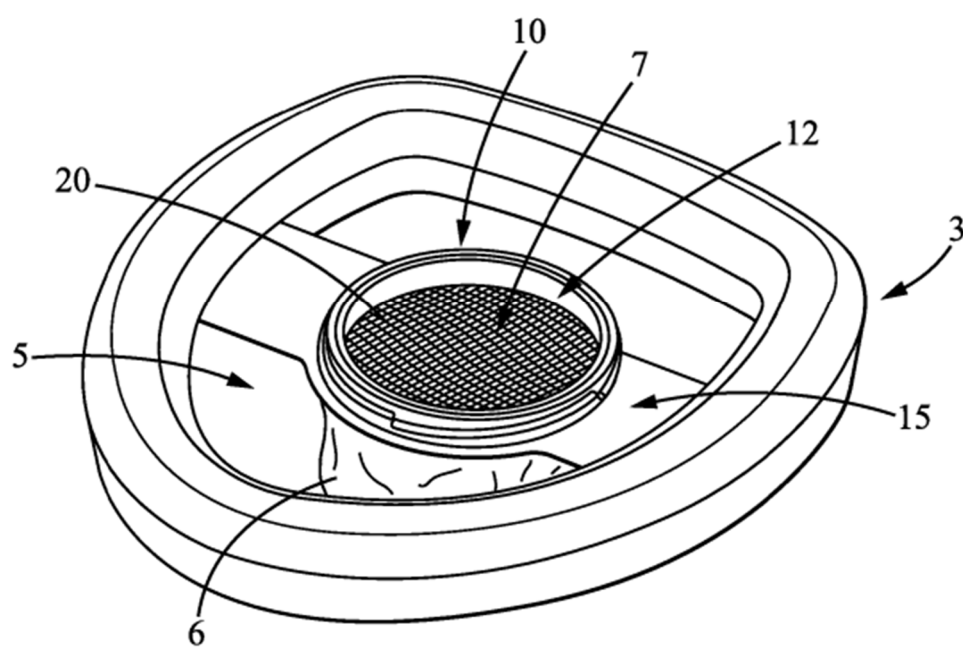


FIG. 2

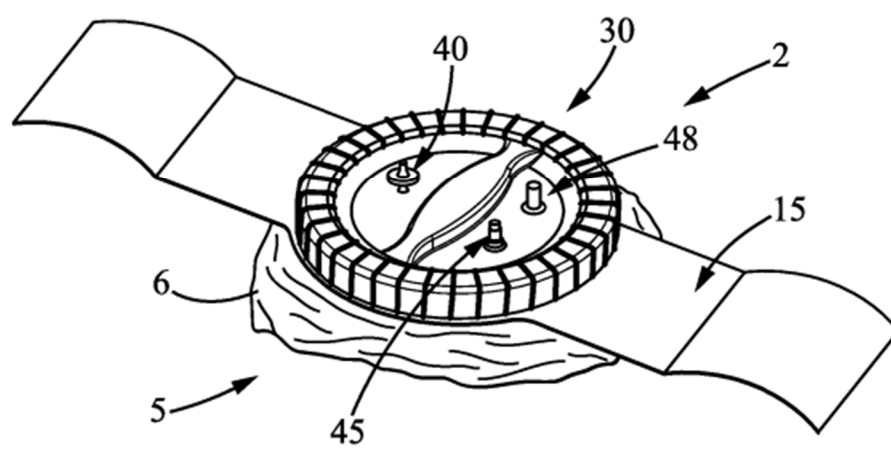


FIG. 3

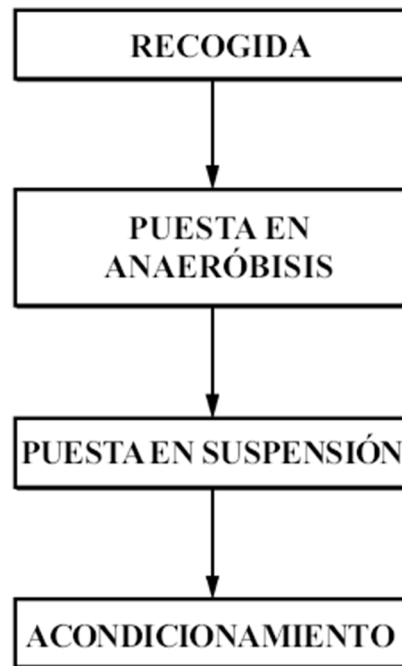


FIG. 4