



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 364 561**

51 Int. Cl.⁷: **C12Q 1/24**
C12Q 1/04
C12Q 1/34

12

TRADUCCIÓN DE REIVINDICACIONES DE SOLICITUD
DE PATENTE EUROPEA

T1

96 Número de solicitud europea: **05706799 .3**

96 Fecha de presentación de la solicitud: **28.02.2005**

97 Número de publicación de la solicitud: **1725676**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **29.11.2006**

30

Prioridad: **01.03.2004 DK 2004 00348**
03.03.2004 US 549158 P

71

Solicitante/s: **MYCOMETER A/S**
Lersø Parkalle 40 Ö
2100 Copenhagen, DK

43

Fecha de publicación de la mención BOPI:
06.09.2011

72

Inventor/es: **Reeslev, Morten y**
Miller, Morten

46

Fecha de publicación de la traducción de las
reivindicaciones: **06.09.2011**

74

Agente: **Carpintero López, Mario**

54

Título: **Medición de la contaminación.**

ES 2 364 561 T1

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento de preparación de muestras para un medio sospechoso de contener contaminantes, comprendiendo el procedimiento a) pasar un volumen conocido de dicho medio a través de un filtro desde un lado influente a un lado efluente, concentrando, de este modo, los contaminantes en el lado influente del filtro, b) poner en contacto el lado influente del filtro con un vehículo líquido que contiene al menos un sustrato que mediante la interacción con los contaminantes produce en cada caso un resto detectable y c) permitir interactuar al sustrato con los contaminantes en el lado influente del filtro durante un periodo que sea suficiente para permitir detectar en el vehículo líquido el resto detectable.

2. El procedimiento según la reivindicación 1, en el que, antes de la etapa a, el medio se pasa a través de un filtro previo que no retiene los contaminantes, pero retiene partículas más gruesas.

3. El procedimiento según la reivindicación 1 ó 2, seleccionándose los contaminantes del grupo que consiste en bacterias; hongos tales como hongos filamentosos y levaduras, algas, protozoos, esporas de bacterias, esporas de hongos y polen, y fragmentos de los mismos.

4. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el medio es un medio líquido.

5. El procedimiento según la reivindicación 4, en el que el medio líquido se selecciona del grupo que consiste en agua ambiental, agua potable, agua caliente, agua industrial, agua de proceso, agua de limpieza *in situ*, en extracto líquido de un material sólido, una muestra de superficie suspendida o solubilizada y productos industriales líquidos tales como cosméticos, productos farmacéuticos y productos alimentarios.

6. El procedimiento según la reivindicación 4-5, en el que la viscosidad del medio líquido se reduce antes de la etapa a.

7. El procedimiento según la reivindicación 6, en el que la viscosidad se reduce mediante dilución o mediante tratamiento con un agente químico tal como un agente adyuvante de la solubilidad o un detergente.

8. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que el medio es un medio gaseoso.

9. El procedimiento según la reivindicación 8, en el que el medio gaseoso es aire, tal como aire procedente de una instalación estéril, de un dispositivo de flujo de aire laminar o aire ambiental.

10. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el filtro tiene un tamaño de poro lo suficientemente pequeño como para retener sustancialmente todos los contaminantes presentes en el medio.

11. El procedimiento según la reivindicación 10, en el que el filtro tiene un tamaño de poro lo suficientemente grande como para permitir que el resto detectable pase a través del filtro.

12. El procedimiento según la reivindicación 11, en el que el tamaño de poro es como máximo de 20 μm .

13. El procedimiento según la reivindicación 11 ó 12, en el que el tamaño de poro es al menos de 0,1 μm .

14. El procedimiento según una cualquiera de las

reivindicaciones precedentes, en el que al menos un sustrato produce el resto detectable, siendo escindido mediante una enzima que es característica para los contaminantes.

15. El procedimiento según la reivindicación 14, en el que la enzima está seleccionada del grupo que consiste en carbohidrasas, proteasas, lipasas, esterasas, amidasas, sulfatasas, nucleasas y fosfatasa tales como fosfatasa alcalina.

16. El procedimiento según la reivindicación 14 ó 15, en el que la enzima es expresada constitutivamente por microorganismos.

17. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 14-16, en el que al menos un sustrato es un sustrato fluorógeno o cromógeno que produce productos fluorescentes azules, verdes y rojos como resto detectable.

18. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 14-17, en el que al menos un sustrato se selecciona del grupo que consiste en sal 5-bromo-4-cloro-3-indolil-fosfato de disodio; sal 9H-(1,3-dicloro-9,9-dimetilacridina-2-ona-7-il)-fosfato de amonio; sal fluoresceína-difosfato de tetraamonio; un derivado demetilumbeliferilo tal como fosfato de 6,8-difluoro-4-metilumbeliferilo, sal trihidrato de 4-metilumbeliferil-fosfato de dicitlohexilamonio, ácido libre de fosfato de 4-metilumbeliferilo; sal 4-metilumbeliferilfosfato de dilitio, 4-metilumbeliferil- β -N-acetilglucosamida y fosfato de troflurometilumbeliferilo, sales de fosfato de 4-nitrofenilo y fosfato de resorufina.

19. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 14-18, en el que el resto detectable es detectable en una cantidad de como máximo 100 picomoles, preferentemente como máximo de 50 picomoles, más preferentemente como máximo de 20 picomoles e incluso más preferentemente como máximo de 10 picomoles y del modo más preferente de como máximo 1 picomol.

20. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones preferentes, en el que se usan al menos dos sustratos que producen restos detectables que proporcionan señales que pueden combinarse en un valor único de señal medida.

21. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1-20, en el que se usan al menos dos sustratos que producen restos detectables que proporcionan señales distinguibles.

22. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que los contaminantes son microorganismos viables.

23. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la cantidad de sustrato en el vehículo líquido no limita la velocidad de producción del resto detectable.

24. El procedimiento de la reivindicación 23, en el que la velocidad de producción del resto detectable es una función de la cantidad de contaminantes en el volumen conocido del medio.

25. El procedimiento según la reivindicación 24, en el que la función es lineal.

26. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que varios volúmenes conocidos diferentes del medio se pasan cada uno a través de un filtro en la etapa a, para asegurar que al menos uno de los volúmenes contiene un número adecuado de contaminantes.

27. El procedimiento según una cualquiera de las

reivindicaciones precedentes, en el que el filtro es parte de un dispositivo de filtro estéril cerrado.

28. El procedimiento según la reivindicación 27, en el que el dispositivo de filtro estéril cerrado es desechable.

29. El procedimiento según la reivindicación 27 ó 28, en el que el dispositivo de filtro estéril cerrado integra al filtro y a una carcasa de filtro en una unidad estructural cerrada irreversible.

30. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 27-29, en el que el eje transversal más largo del dispositivo de filtro estéril cerrado no excede los 10 cm de longitud.

31. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la interacción de la etapa c se concluye interrumpiendo el contacto entre el sustrato y los contaminantes.

32. El procedimiento según la reivindicación 31, en el que la interrupción se logra evacuando el vehículo líquido desde el dispositivo de filtro mientras se retienen los contaminantes en el dispositivo de filtro.

33. El procedimiento según la reivindicación 32, en el que el vehículo líquido se evacua desde el dispositivo de filtro en la dirección que va desde el lado influente al efluente del filtro.

34. El procedimiento según la reivindicación 33, en el que la evacuación se logra aplicando una presión elevada sobre el lado influente del filtro o aplicando una presión reducida sobre el lado efluente del filtro.

35. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1-30, en el que la interacción de la etapa c se concluye sobre el filtro o en el que la interacción no se concluye.

36. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende, después de la etapa c, una etapa d) posterior que implica detectar, cuantitativa o cualitativamente, el resto detectable en el vehículo líquido y correlacionar la detección del resto con la cantidad o presencia de contaminantes en la muestra.

37. El procedimiento según la reivindicación 36, en el que la detección de la etapa d se realiza midiendo la característica de fluorescencia del resto detectable.

38. El procedimiento según la reivindicación 37, en el que la fluorescencia se mide en la etapa d directamente sobre el vehículo líquido sin una interrupción del contacto entre el vehículo líquido y los contaminantes.

39. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 36-38, en el que la correlación de la etapa d comprende el uso de una curva estándar pre-determinada que expresa la relación entre la cantidad de contaminantes y la cantidad de resto detectable en condiciones estándar.

40. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 36-39, en el que la detección se realiza en un sistema de microvaloración.

41. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que los contaminantes se someten a una influencia potenciadora de la señal, bien antes de la etapa a o bien en la etapa b.

42. El procedimiento según la reivindicación 41, en el que la influencia potenciadora de la señal aumenta la sensibilidad total en una detección subsiguiente o favorece la detección subsiguiente de tipos específicos de contaminantes, o reduce la detección de tipos específicos de contaminantes.

43. El procedimiento según la reivindicación 41, en el que la influencia potenciadora de la señal está seleccionada de una sustancia potenciadora enzimática, una temperatura selectiva o un intervalo de temperatura selectivo, un pH selectivo, una concentración de sal selectiva, un potenciador del crecimiento no selectivo y una sustancia potenciadora del crecimiento selectiva.

44. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la etapa a está precedida por una incubación del medio.

45. El procedimiento según la reivindicación 44, en el que la incubación implica

- el tratamiento con una sustancia inductora de enzimas potenciando, por lo tanto, la detección del resto detectable y/o

- someter al medio a una sustancia selectiva para levadura, hongos o bacterias y/o

- someter al medio a un potenciador de crecimiento no selectivo para microorganismos y/o

- someter al medio a una sustancia capaz de extraer enzimas celulares.

46. Un kit para determinar contaminantes en un medio, comprendiendo el kit

- al menos un dispositivo de filtro que comprende un filtro con un tamaño de poro lo suficientemente pequeño como para retener los contaminantes en el lado influente del filtro,

- medios para hacer pasar un volumen conocido de medio a través del filtro,

- al menos un agente que, después de la interacción con los contaminantes, liberará un resto detectable, cuya cantidad puede correlacionarse con la cantidad de contaminantes que han interactuado con el agente e

- instrucciones que definan las etapas para a) obtener un volumen conocido y hacerlo pasar a través del dispositivo de filtro estéril, b) poner en contacto el lado influente del filtro con el agente, c) permitir que el agente interactúe con contaminantes que puedan estar en el lado influente del filtro y d) detectar cuantitativamente el resto detectable.

47. Uso de un dispositivo de filtro estéril cerrado tal como un recipiente de reacción para una reacción entre contaminantes retenidos en el dispositivo y un sustrato que libera un resto detectable cuando se pone en contacto con los contaminantes.

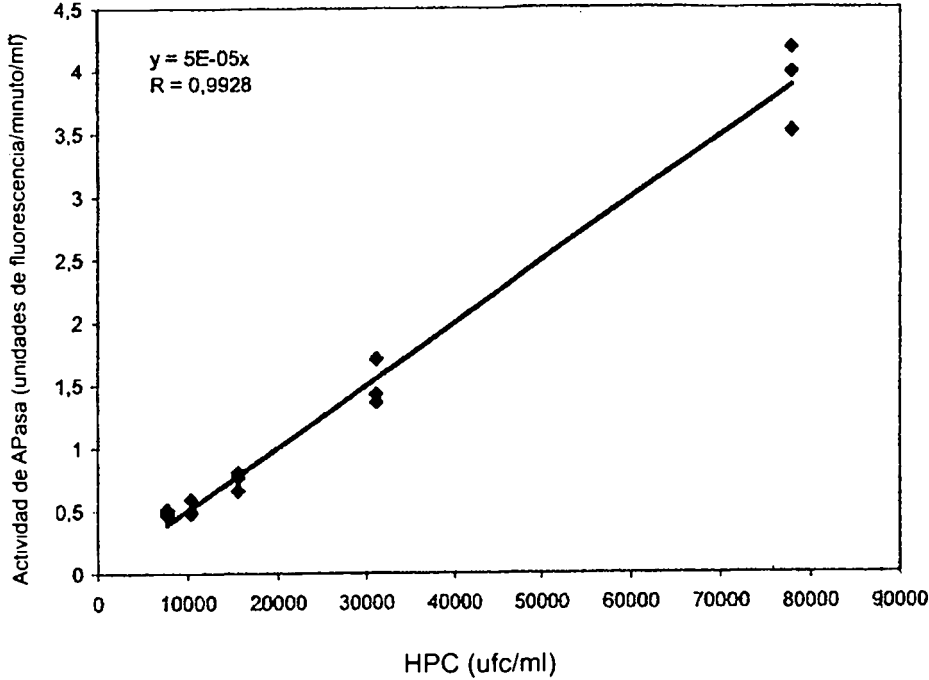


Fig. 1

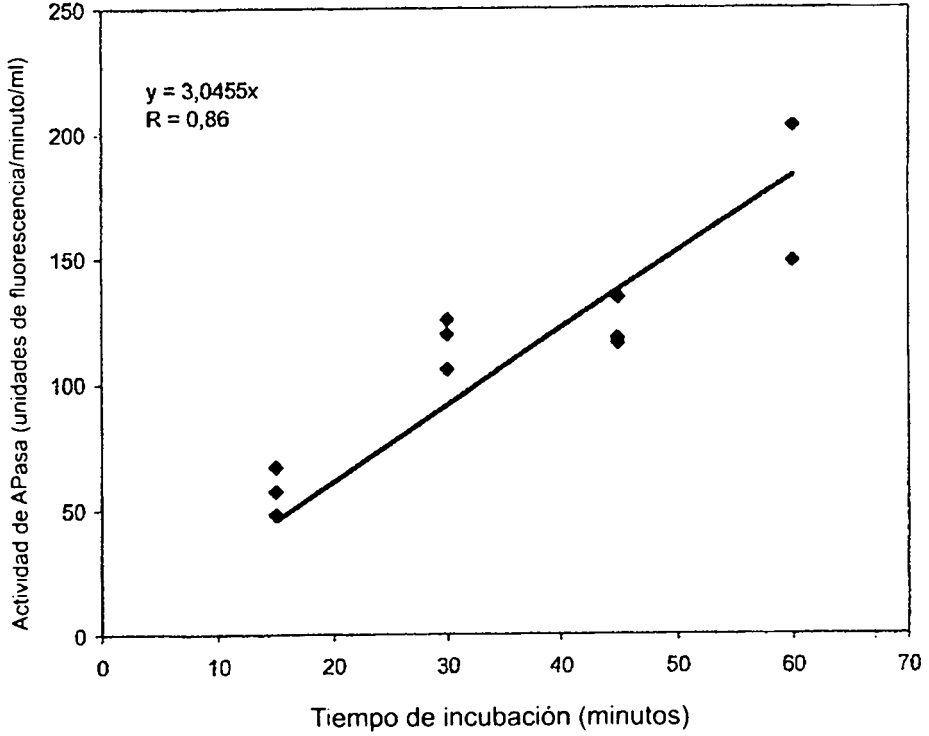


Fig. 2

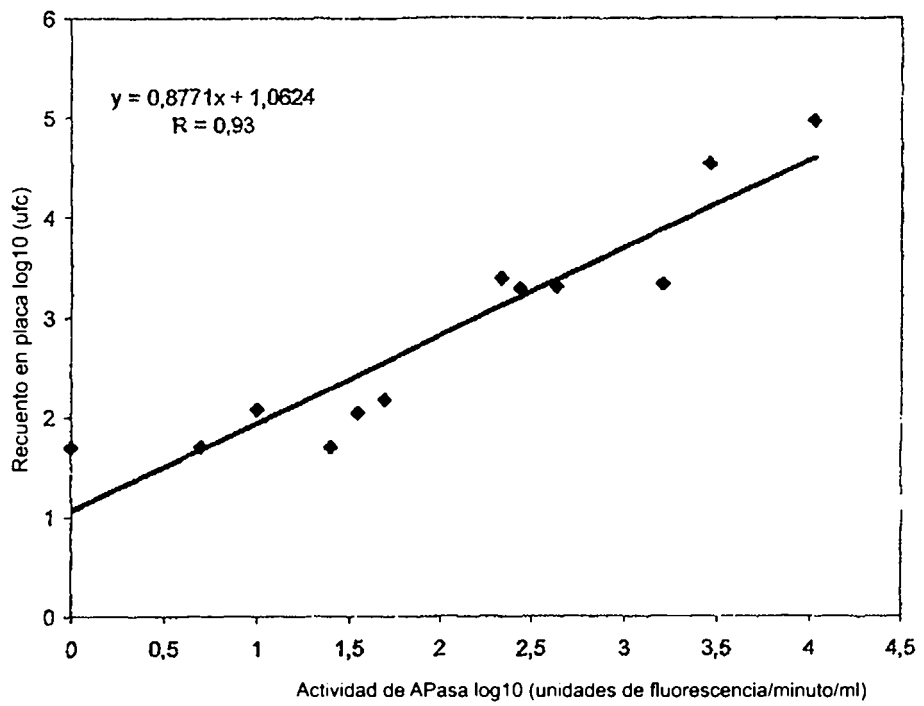


Fig. 3

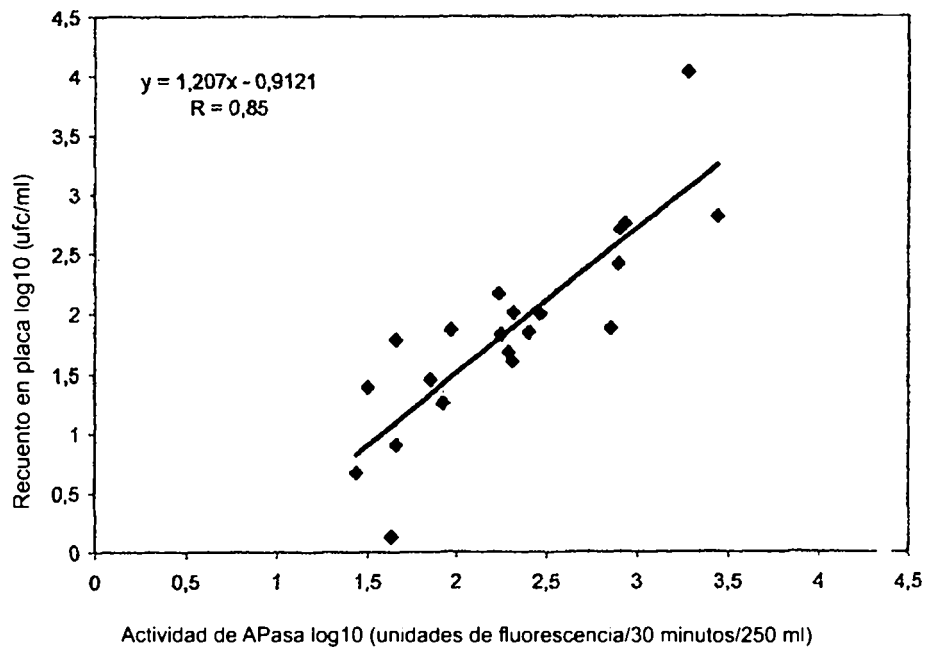


Fig. 4

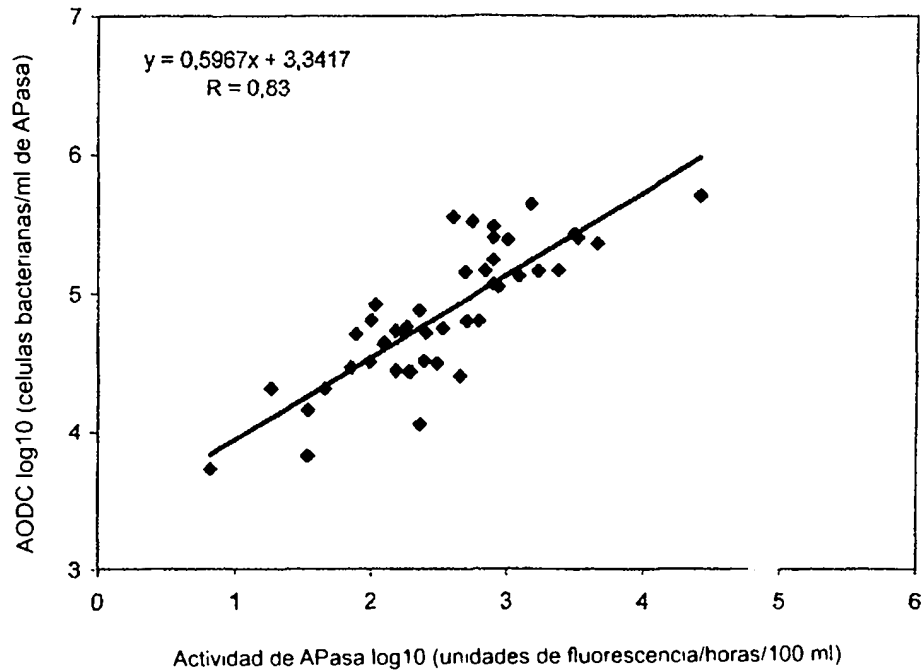


Fig. 5

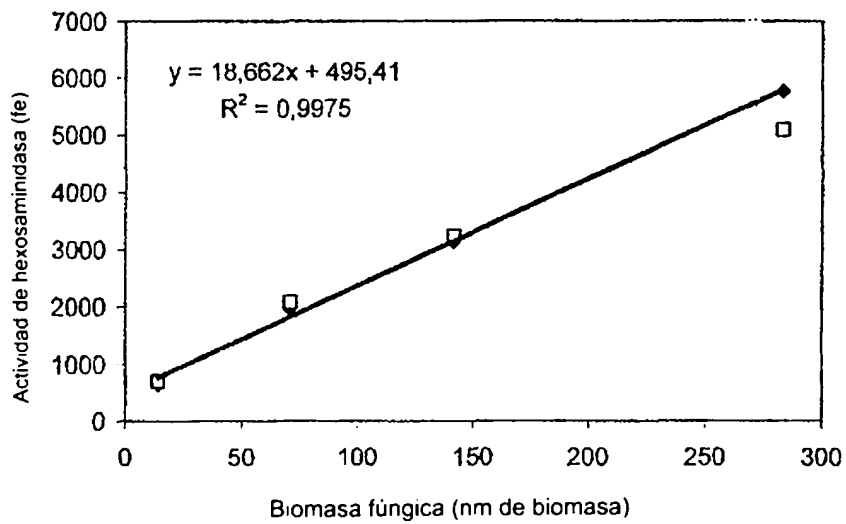


Fig. 6