

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 650 950**

51 Int. Cl.:

C12N 1/06 (2006.01)

C12Q 1/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.06.2013 PCT/EP2013/063333**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.01.2014 WO14009151**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.06.2013 E 13740218 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.11.2017 EP 2870233**

54 Título: **Un método para filtrar una muestra biológica**

30 Prioridad:

09.07.2012 EP 12175581

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

23.01.2018

73 Titular/es:

**BIOCARTIS NV (100.0%)
Generaal De Wittelaan 11 B3
2800 Mechelen, BE**

72 Inventor/es:

**PENTERMAN, ROEL y
VAN MEERBERGEN, BART**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 650 950 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

Un método para filtrar una muestra biológica

5 La presente descripción se refiere de una manera general a la detección de bajas concentraciones de microorganismos en una muestra que contiene una gran cantidad de otras células, y se refiere más particularmente a un método para la filtración de una muestra de sangre después de una lisis selectiva de células sanguíneas, para retener selectivamente patógenos sobre un filtro, mientras que se retira material celular sanguíneo tal como ADN y proteínas.

10 El diagnóstico molecular tiene como objetivo la rápida detección de cantidades insignificantes de patógenos (típicamente bacterias) en muestras tales como de sangre. Sin embargo, la sangre es una matriz compleja y comprende glóbulos blancos (leucocitos) para el sistema inmunitario adaptativo, glóbulos rojos (eritrocitos) para el transporte de oxígeno, y plaquetas (trombocitos) para la cicatrización de heridas. Esta composición complica la detección directa de patógenos en muestras tales como sangre, que contiene una gran cantidad de material celular tal como ADN y proteínas.

15 Por lo tanto, se necesitan métodos para enriquecer patógenos mientras que se retira el material celular sanguíneo de una muestra de sangre.

En un método conocido, los patógenos se recogen sobre un filtro mediante filtración de muestras de sangre de gran volumen, después de una lisis selectiva de células sanguíneas.

En la etapa de filtración, se retiran los componentes inhibidores tales como ADN o proteínas, mientras que los patógenos se retienen sobre el filtro.

20 La solicitud de patente internacional WO-A-2011/070507 describe un método para la lisis selectiva de células eucariotas dentro de una muestra que contiene o se sospecha que contiene microorganismos, en el que un detergente y un tampón se añaden a dicha muestra para obtener una disolución que se incubaba adicionalmente durante un periodo de tiempo lo suficientemente prolongado para lisar las células eucariotas. Este método permite la elaboración de muestras de sangre con un volumen del orden de 5 a 10 ml, mediante el lisado de los glóbulos blancos y rojos de la muestra, degradando el ADN de los glóbulos blancos, mientras que una parte sustancial (es decir, más de 20%, 40%, 60%, 80%, 90% o incluso más de 95%) de los microorganismos permanecen vivos, o si se destruyen mediante el tratamiento, comprenden todavía el ADN bacteriano dentro de la pared bacteriana.

25 Es importante que todo el volumen disponible de la muestra se filtre para recoger el máximo de microorganismos sobre el filtro. Sin embargo, cuando se aplica el método, el filtro usualmente se obtura antes de filtrar completamente la muestra, debido a, por ejemplo, la presencia de proteínas en la muestra que también están retenidas por el filtro. Esta obstrucción conduce a una terminación de la filtración, deteniendo de este modo toda la elaboración. Por lo tanto, el método existente limita la cantidad de muestra que puede elaborarse sobre un filtro.

30 La presente invención tiene como objetivo solucionar estos inconvenientes mencionados anteriormente, y propone en primer lugar un método para filtrar una muestra con células eucariotas sin el riesgo de limitar el volumen de muestra que puede filtrarse, por lo que la sensibilidad del método aumenta en comparación con los métodos existentes. Tal método de filtración puede usarse en un método general para detectar microorganismos en muestras complejas que contienen un alto fondo de proteínas y/o ácidos nucleicos.

35 Con este objetivo en mente, un primer aspecto de la descripción es un método para filtrar una muestra, que comprende las etapas de:

- 40 (a) proporcionar una muestra con células eucariotas y que contiene o se sospecha que contiene un microorganismo;
- (b) llevar a cabo una lisis selectiva de la célula eucariotas para obtener una muestra lisada;
- (c) filtrar la muestra lisada obtenida en la etapa (b) a través de un filtro dispuesto para retener el microorganismo;
- 45 (d) lavar el filtro con un tampón de lavado basado en detergente para solubilizar selectivamente sustancias diferentes al microorganismo retenido por el filtro, haciendo pasar el tampón de lavado basado en detergente a través del filtro, para retirar del filtro obstrucciones que consisten en las sustancias diferentes al microorganismo, para permitir una etapa adicional (c) de filtración de dicha muestra lisada;
- (e) repetir la etapa (c) al menos 1 vez.

50 La presente invención salva la obstrucción del filtro por sustancias que provienen de la matriz de la muestra o células eucariotas, mediante la etapa de lavar el filtro para retirar las obstrucciones del filtro, para que la muestra lisada pueda filtrarse completamente, sin paradas debidas a un descenso significativo de permeabilidad del filtro. La retirada selectiva de las obstrucciones se lleva a cabo mediante la disolución de tampón de lavado que contiene un detergente, para que sólo las sustancias diferentes al microorganismo se retiren del filtro. Los microorganismos acumulados sobre el filtro no se retiran o degradan con esta disolución de tampón de lavado, para que permanezcan sobre el filtro para una elaboración adicional para ser detectados o analizados.

55

Ventajosamente, las sustancias diferentes al microorganismo son proteínas que provienen de las células eucariotas. Se ha detectado que las proteínas que provienen de las células eucariotas son retenidas fácilmente por el filtro y obstruyen este último, por lo que el método conforme a la presente invención ayuda a llevar a cabo una retirada selectiva de estas obstrucciones de proteínas del filtro.

- 5 Ventajosamente, el tampón de lavado de detergente es una disolución salina tamponada con fosfato, con un pH superior a 5 e inferior a 9, y contiene un tensioactivo como detergente. Se logra un lavado selectivo de las sustancias diferentes a los microorganismos.

- 10 Ventajosamente, el tensioactivo es dodecilsulfato sódico (SDS), y el tampón de lavado de detergente contiene entre aproximadamente 0,2% y aproximadamente 0,5% de dodecilsulfato sódico (SDS) en volumen. Preferiblemente, el tensioactivo es dodecilsulfato sódico (SDS) y el tampón de lavado de detergente contiene dodecilsulfato sódico (SDS) al 0,3% en volumen. Esta concentración particular de dodecilsulfato sódico logra la disolución selectiva de sólo las sustancias diferentes a los microorganismos, tales como las proteínas que provienen de las células eucariotas. Idealmente, la concentración de SDS es desde 0,2% a 0,5%, preferiblemente de 0,25% a 0,35%, más preferiblemente de 0,27% a 0,33% en volumen. El detergente es SDS, ya que este detergente es conocido por tener un efecto pronunciado sobre las proteínas. Interactuará con las proteínas de tal modo que desnaturaliza las proteínas, reduce los enlaces de sulfito y dará como resultado una carga neta negativa final dependiendo de la masa de la proteína. Es clave la concentración del detergente: debe ayudar a abrir el filtro de manera eficaz, y además no puede conducir a la lisis de los patógenos ya recogidos.

- 20 En una realización preferida de la presente invención, el método comprende una etapa de detectar la obstrucción del filtro durante la etapa (c) de filtración de dicha muestra lisada. El método sigue la obstrucción del filtro, para que se pueda emprender una acción apropiada en relación con la obstrucción del filtro.

- 25 Idealmente, la etapa (d) de lavar el filtro se lleva a cabo cuando se detecta una obstrucción del filtro, por ejemplo, midiendo un aumento de la presión en la cámara del filtro. Como la filtración se pone en peligro si el filtro se obstruye, la etapa de lavado se lleva a cabo cuando se detecta una obstrucción, por lo que el procedimiento no comprende ninguna operación innecesaria de lavado: el lavado se lleva a cabo sólo si el filtro se obstruye.

Ventajosamente, la etapa (b) de lisis selectiva de células eucariotas comprende:

(b1) una etapa de añadir un detergente de lisado y un tampón alcalino a dicha muestra, seguido de

- 30 (b2) una etapa de incubar la muestra durante un periodo de tiempo suficientemente prolongado para lisar selectivamente las células eucariotas y degradar el ADN eucariota simultáneamente. Este método asegura una destrucción adecuada de la integridad física de la membrana de las células eucariotas, sin ningún intento de degradar la integridad del microorganismo.

En una realización, dicha muestra es una muestra de sangre de mamífero. El método mejora la filtración si la muestra es una muestra de sangre, con un lavado eficaz de las células sanguíneas lisadas que están retenidas por el filtro.

- 35 En una realización, la muestra de sangre es sangre completa.

El método conforme a la presente invención da buenos resultados cuando la muestra de sangre proviene de un paciente que padece un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS). Tales muestras de sangre que provienen de pacientes que padecen SIRS se han filtrado con éxito con el método conforme a la siguiente invención, incluso si la cascada de coagulación de la sangre se activa antes de la elaboración de la muestra de sangre.

- 40 En una realización de la presente invención, la etapa de filtración (c) se lleva a cabo durante un primer tiempo predeterminado, y la etapa de lavado (d) se lleva a cabo durante un segundo tiempo predeterminado. Esta realización limita la filtración a un primer tiempo determinado de modo que la obstrucción del filtro no limite la filtración, y limita la etapa de lavado a un segundo tiempo determinado de modo que el filtro lavado permita otra etapa de filtración. El filtro se lava regularmente durante la filtración de la muestra lisada, y las etapas de filtración y lavado se realizan de un modo secuencial antes de cualquier obstrucción, para que el filtro permanezca abierto durante un tiempo más prolongado y puedan elaborarse volúmenes más grandes.

- 45 Ventajosamente, el primer tiempo predeterminado varía de 20 a 80 segundos, preferiblemente de 50 a 70 segundos, y más preferiblemente de 55 a 65 segundos, y el segundo tiempo predeterminado varía de 5 a 25 segundos, preferiblemente de 5 a 20 segundos, y más preferiblemente de 5 a 15 segundos. Estos periodos de tiempo permiten filtrar eficazmente muestras de sangre que provienen de pacientes tales como pacientes que padecen un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) o endocarditis.

- 50 En otra realización de la presente invención, el método comprende además una etapa de lisis de dichos microorganismos y un análisis molecular basado en ácidos nucleicos para detectar el microorganismo.

La descripción también está relacionada con un dispositivo para la filtración de una muestra, que comprende:

- una cámara de lisis para aceptar una muestra con células eucariotas y que contiene o se sospecha que contiene un microorganismo, y para llevar a cabo una lisis selectiva de las células eucariotas, para obtener una muestra lisada,
- un filtro conectado a la cámara de lisis para filtrar la muestra lisada después de la lisis selectiva, estando dispuesto dicho filtro para retener dicho microorganismo sobre el filtro, y
- un depósito conectado al filtro y que contiene un tampón de lavado basado en detergente para solubilizar selectivamente sustancias diferentes al microorganismo retenido por el filtro, para retirar del filtro obstrucciones que consisten en las sustancias diferentes al microorganismo.

El dispositivo conforme a la presente invención proporciona una forma para lavar el filtro si está obstruido durante la filtración. De hecho, el tampón de lavado basado en detergente se selecciona para disolver sólo las sustancias diferentes a los microorganismos, tales como las proteínas que provienen de las células eucariotas, y el depósito que contiene el tampón de lavado basado en detergente se conecta al filtro para permitir un lavado del filtro. La filtración puede funcionar incluso si algunas proteínas obstruyen el filtro, sin ninguna pérdida de microorganismos que no están disueltos por el tampón de lavado basado en detergente.

En una realización, la cámara de lisis presenta un volumen de 40 ml o inferior.

Ventajosamente, el tampón de lavado de detergente es una disolución salina tamponada con fosfato con un pH superior a 5 e inferior a 9, y contiene entre aproximadamente 0,2% y aproximadamente 0,5% de dodecilsulfato sódico (SDS) en volumen, preferiblemente alrededor de 0,3%.

Ventajosamente, el dispositivo comprende además un sensor dispuesto para medir una obstrucción del filtro. Idealmente, el sensor es un sensor de presión. Como alternativa, el sensor puede ser un sensor óptico que mida una desviación de una bomba del dispositivo y que esté integrado en el dispositivo. Ventajosamente, la bomba anteriormente citada puede funcionar a una presión fija.

Ventajosamente, el dispositivo comprende además una cámara de detección para llevar a cabo un análisis molecular basado en ácidos nucleicos para detectar el microorganismo.

Definiciones

“Células sanguíneas”, en el contexto de la presente invención, se refiere a células de mamíferos presentes en la sangre, e incluye glóbulos rojos (eritrocitos), glóbulos blancos (leucocitos) y plaquetas (trombocitos).

“Sangre completa”, en el contexto de la presente invención, se refiere a sangre sin elaborar que comprende plasma y células sanguíneas, tratada con un anticoagulante.

“Muestra” se refiere a una disolución acuosa que comprende material celular, y comprende fluidos corporales tales como linfa, líquido cefalorraquídeo, sangre (sangre completa y plasma), saliva, pero también comprende, por ejemplo, la fracción acuosa de suspensiones homogeneizadas, tales como, por ejemplo, músculos, cerebro, hígado, u otros tejidos.

“Eucariota” se refiere a cualquier tipo de organismo eucariota excluyendo a hongos, tales como animales, en particular animales que contienen sangre, y comprende animales invertebrados tales como crustáceos y vertebrados. Los vertebrados comprenden animales tanto de sangre fría (peces, reptiles, anfibios) como de sangre caliente (aves y mamíferos). Los mamíferos comprenden en particular primates y, más particularmente, seres humanos.

La “lisis selectiva”, como se usa en la presente invención, se obtiene cuando en una muestra (tal como sangre), el tanto por ciento de células de microorganismos (tales como células bacterianas) en esa muestra que permanecen intactas es significativamente más alto (por ejemplo, 2, 5, 10, 20, 50, 100, 250, 500, o 1000 veces más) comparado con el tanto por ciento de células eucariotas que permanecen intactas del organismo del que se recoge la muestra de sangre. Por ejemplo, sin estar limitado a este método particular, una lisis selectiva de células eucariotas puede llevarse a cabo mediante el método descrito en el documento WO-A-2011/070507.

“Microorganismo”, como se usa en la presente invención, se refiere a bacterias (bacterias grampositivas y gramnegativas, así como a esporas bacterianas) y hongos unicelulares, tales como de levadura de cerveza y moho, que están presentes en el organismo del que se ha recogido una muestra, típicamente como patógeno.

Otras características y ventajas de la presente invención se verán más claramente a partir de la siguiente descripción detallada de ejemplos no limitantes particulares de la invención, ilustrados por los dibujos adjuntos, en los que:

- la figura 1 representa resultados comparativos de filtración de muestras de sangre con y sin la aplicación del método conforme a la presente invención;

- las figuras 2a y 2b representan resultados comparativos de la detección de diferentes patógenos con y sin la aplicación del método conforme a la presente invención. La figura 2a con el patógeno *P. aeruginosa* y la figura 2b con el patógeno *C. albicans*.

Descripción detallada

5 Experimento 1 – efecto sobre la filtración

La figura 1 representa resultados comparativos de filtración de 5 ml de muestras de sangre provenientes de pacientes que padecen un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), sin (muestras A) y con (muestras B) la etapa de lavado conforme a la presente invención.

10 Las muestras de sangre se sometieron todas (A y B) a una lisis selectiva de las células eucariotas con la adición de un tampón de lisis que consistía en un tampón $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_3^{2-}$ 1 M (de pH 10,0) con dodecilsulfato sódico (SDS) al 1%. Después de mezclar con la muestra de sangre, se produce la lisis selectiva, y se detuvo después de tres minutos usando un tercer tampón que baja el pH.

Todas las muestras de sangre se han procesado a través de un filtro dispuesto para retener microorganismos. Se han filtrado dos series de seis muestras de sangre:

- 15 - seis muestras de sangre preparadas con un método habitual sin el lavado del filtro durante la filtración después de la lisis selectiva (muestras de sangre A), y
- seis muestras de sangre preparadas con el método conforme a la presente invención con la etapa de lavado del filtro durante la filtración después de la lisis selectiva (muestras de sangre B). Para estas muestras B, la etapa de filtración duró un minuto y la etapa de lavado duró diez segundos, realizándose las etapas de un modo secuencial.

20 Las muestras de sangre se prepararon usando cartuchos desechables dispuestos con una cámara de lisis conectada a tal filtro, teniendo los cartuchos un depósito adicional conectado al filtro y que contenían un tampón de lavado de disolución salina tamponada con fosfato, que contenía dodecilsulfato sódico (SDS) al 0,3% en volumen, para las muestras de sangre B. Las muestras de sangre A se sometieron directamente y sólo a la operación de filtración, y las muestras de sangre B se sometieron a una etapa de filtración de un minuto, interrumpida por una etapa de diez segundos de lavado del filtro con la disolución salina tamponada con fosfato que contiene dodecilsulfato sódico (SDS) al 0,3% en volumen, seguido de una etapa adicional de filtración.

25 La figura 1 representa la cantidad de líquido filtrado para cada muestra. Para las muestras de sangre A, sólo una muestra de sangre de 5 ml se ha filtrado completamente, sólo 2-3 ml de cuatro muestras de sangre se han filtrado antes de la obstrucción del filtro, y una muestra de sangre no se filtró en absoluto, obstruyéndose el filtro inmediatamente. Las seis muestras de sangre B se han filtrado completamente. Esto demuestra que la etapa de lavado del filtro permite la filtración del volumen completo de 5 ml de muestras de sangre sometidas previamente a una lisis selectiva.

Experimento 2 – resultados comparativos de recuperación de patógenos

35 La figura 2a representa resultados de la recuperación de un patógeno específico, *P. aeruginosa*, contenido en muestras de sangre de donantes sanos normales, usando el método conforme a la presente invención, comparado con resultados con un método sin lavar el filtro. Las muestras de sangre A representan un punto de comparación con el método sin lavar el filtro, y las muestras de sangre B se ensayaron introduciendo una etapa de lavado durante la filtración conforme a la presente invención. La gráfica muestra que no hay efecto del lavado del filtro en la recuperación del patógeno de la sangre.

40 La figura 2b representa resultados de la recuperación de un patógeno específico, *C. albicans*, contenido en muestras de sangre, usando el método conforme a la presente invención, comparado con resultados con un método sin lavar el filtro. Este experimento con el patógeno *C. albicans* conduce también a la conclusión de que el método conforme a la presente invención no tiene un efecto perjudicial en la recuperación de los patógenos de la sangre, ya que las muestras de sangre A (punto de comparación, sin la etapa de lavado del filtro) muestran resultados similares a las muestras de sangre B, ensayadas con la etapa de lavado durante la filtración.

Experimento 3 – efecto sobre el volumen filtrable

50 En un tercer experimento, un cartucho desechable se diseñó con un tamaño de filtro cuatro veces más pequeño que el tamaño de filtro habitual ($1,75 \text{ cm}^2$ frente a 7 cm^2). Las muestras de sangre de 5 ml que provienen de sangre de donante sano normal se han filtrado con éxito con el método conforme a la presente invención (con una etapa de lavado del filtro), que sería similar a muestras de sangre de 20 ml filtradas a través de filtros de tamaños habituales. Esto es al menos dos veces el volumen filtrable que se logra con el método sin el nuevo lavado.

Se entiende que se pueden implementar mejoras y/o modificaciones obvias para un experto en la técnica, dentro del alcance de la descripción como se define en las reivindicaciones adjuntas. En particular, la lisis selectiva de las

células eucariotas puede llevarse a cabo con cualquier método conocido que use un procedimiento físico, químico o biológico.

REIVINDICACIONES

1. Un método para filtrar una muestra de sangre de mamífero, que comprende las etapas de:
 - (a) proporcionar una muestra de sangre de mamífero con células sanguíneas, y que contiene o se sospecha que contiene un microorganismo;
 - 5 (b) llevar a cabo una lisis selectiva de las células sanguíneas para obtener una muestra lisada;
 - (c) filtrar una parte de la muestra lisada obtenida en la etapa (b) a través de un filtro dispuesto para retener el microorganismo;
 - (d) lavar el filtro con un tampón de lavado basado en detergente, capaz de solubilizar selectivamente sustancias diferentes al microorganismo retenido por el filtro, haciendo pasar el tampón de lavado basado en
 - 10 detergente a través del filtro, para retirar del filtro obstrucciones que consisten en las sustancias diferentes al microorganismo, para permitir una etapa adicional (c) de filtración de dicha muestra lisada;
 - (e) repetir la etapa (c) al menos 1 vez, para filtrar al menos una parte adicional de la muestra lisada, y repetir opcionalmente las etapas (d) y (c) para que la muestra lisada pueda filtrarse completamente.
2. El método conforme a la reivindicación 1, en el que las sustancias diferentes al microorganismo son proteínas que provienen de las células sanguíneas.
3. El método conforme a la reivindicación 1 o 2, en el que el tampón de lavado basado en detergente es una disolución salina tamponada con fosfato, con un pH superior a 5 e inferior a 9, y contiene un tensioactivo como detergente.
4. El método conforme a la reivindicación 3, en el que el tensioactivo es dodecilsulfato sódico (SDS) y en el que el tampón de lavado basado en detergente contiene entre aproximadamente 0,2% y aproximadamente
 - 20 0,5% de dodecilsulfato sódico (SDS) en volumen, preferiblemente alrededor de 0,3%.
5. El método conforme a la reivindicación de 1 a 4, que comprende además una etapa de detectar la obstrucción del filtro durante la etapa (c) de filtración de dicha muestra lisada.
6. El método conforme a la reivindicación 5, en el que la etapa (d) de lavado del filtro se lleva a cabo cuando se detecta una obstrucción del filtro.
7. El método conforme a una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que la etapa (b) de lisis selectiva de células sanguíneas comprende:
 - (b1) una etapa de añadir un detergente de lisado y un tampón alcalino a dicha muestra de sangre de mamífero, seguido de
 - 30 (b2) una etapa de incubar la muestra durante un periodo de tiempo suficientemente prolongado para lisar selectivamente las células sanguíneas.
8. El método conforme a una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que la muestra de sangre proviene de un paciente que padece un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) o endocarditis.
9. El método conforme a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que comprende además una etapa de lisis de dicho microorganismo.
- 35 10. El método conforme a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, que comprende además un análisis molecular basado en ácidos nucleicos para detectar el microorganismo.
11. Un dispositivo para la filtración de una muestra de sangre de mamífero, que comprende:
 - una cámara de lisis para aceptar una muestra de sangre de mamífero con células sanguíneas, y que contiene o se sospecha que contiene un microorganismo, y para llevar a cabo una lisis selectiva de las células sanguíneas, para obtener una muestra lisada,
 - un filtro conectado a la cámara de lisis para filtrar la muestra lisada después de la lisis selectiva, estando dispuesto dicho filtro para retener dicho microorganismo sobre el filtro, y
 - un depósito conectado al filtro y que contiene un tampón de lavado basado en detergente, capaz
 - 45 de solubilizar selectivamente sustancias diferentes al microorganismo retenido por el filtro, para retirar del filtro obstrucciones que consisten en las sustancias diferentes al microorganismo.
12. El dispositivo conforme a la reivindicación 11, en el que el tampón de lavado basado en detergente es una disolución salina tamponada con fosfato, con un pH superior a 5 e inferior a 9, y contiene entre aproximadamente 0,2% y aproximadamente 0,5% de dodecilsulfato sódico (SDS) en volumen, preferiblemente alrededor de 0,3%.
- 50 13. El dispositivo conforme a una cualquiera de las reivindicaciones 11 o 12, que comprende además un sensor dispuesto para medir una obstrucción del filtro.
14. El dispositivo conforme a una cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13, que comprende además una cámara de detección para llevar a cabo un análisis molecular basado en ácidos nucleicos, para detectar el
 - 55 microorganismo.



