

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 673 003**

51 Int. Cl.:

G01N 21/64 (2006.01)

C12M 1/34 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.09.2009 E 09290703 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.03.2018 EP 2166341**

54 Título: **Dispositivo para análisis microbiológico**

30 Prioridad:

23.09.2008 FR 0856405

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

19.06.2018

73 Titular/es:

**EMD MILLIPORE CORPORATION (100.0%)
400 Summit Drive
Burlington, MA 01803, US**

72 Inventor/es:

**WAICHE, GAËL y
RIBAUT, SÉBASTIEN**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 673 003 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

Dispositivo para análisis microbiológico

La presente invención se refiere a un dispositivo para el análisis microbiológico de soportes que pueden contener microorganismos con el fin de detectar la presencia o ausencia de esos microorganismos.

- 5 Una forma de analizar tales soportes consiste en detectar la presencia de los microorganismos por el análisis de la fluorescencia emitida por esos microorganismos después de que hayan sido marcados por lo que se denominan marcadores de fluorogén o fluoróforo.

Estos marcadores tienen la particularidad de emitir fluorescencia solo cuando han sido activados de antemano por una enzima contenida en los microorganismos.

- 10 Estos marcadores generalmente comprenden un grupo fluoróforo así como un grupo capaz de ocultar o prevenir la fluorescencia del grupo fluoróforo. Cuando los microorganismos están presentes, el efecto de la enzima de los mismos es modificar ese segundo grupo con el fin de que se pueda detectar la fluorescencia del primer grupo.

- 15 De esta forma, como se ilustra por los espectros 53 y 54 de la figura 7, cuando los microorganismos marcados de esta manera se someten a una luz de excitación apropiada, el grupo fluoróforo es capaz de absorber energía luminosa con un espectro de absorción 53 cuya cresta 53' se encuentra en una longitud de onda λ_2 y de liberar esa energía en forma de un espectro característico de emisión fluorescente 54 cuya cresta 54' se encuentra en una longitud de onda λ_3 , distinta de λ_2 .

- 20 Con el fin de observar la fluorescencia emitida por los microorganismos en presencia de tales marcadores, ya se conocen dispositivos para el análisis microbiológico (integrados en microscopios, tal como en la solicitud de los Estados Unidos US 2007/0153372), que comprende medios de iluminación adaptados para iluminar el soporte que debe ser analizado para detectar, por fluorescencia, la presencia de microorganismos marcados por un agente fluoróforo así como una ventana para ver la luz procedente del soporte en respuesta a la luz emitida por los medios de iluminación.

- 25 La invención se refiere a la provisión de un dispositivo para detectar fluorescencia, tal como para el dispositivo de la técnica anterior, que tiene un mejor rendimiento y es más práctico.

Con este fin, se proporciona un dispositivo de acuerdo con la reivindicación 1.

- 30 Las dos bases provistas de fuentes de luz del dispositivo de acuerdo con la invención, al estar inclinadas una en relación con la otra y dirigidas hacia el soporte a analizar (cuando está colocado en el dispositivo), permiten obtener una iluminación simétrica y homogénea de toda la superficie del soporte para iluminar puesto que la luz de excitación producida por las fuentes de luz se emite desde ambos lados de la abertura que se proporciona para permitir la observación de la luz emitida en respuesta a esa excitación de luz.

El hecho de que esas dos bases estén provistas cada una de un grupo de fuentes de luz dispuestas en un conjunto regular también contribuye a hacer que la iluminación de la totalidad de la superficie de ese soporte sea particularmente homogénea.

- 35 Una disposición de este tipo hace posible de esta manera iluminar soportes de mayor tamaño que en los dispositivos de la técnica anterior integrados en microscopios mientras se mantiene una iluminación uniforme con un contraste tal que es fácilmente posible detectar la presencia de microorganismos a simple vista o con cualquier otro sensor de imagen.

- 40 En particular, es posible iluminar, por ejemplo, membranas microporosas al mismo tiempo que se mantiene una posición óptima y central de la abertura que permite la observación de la luz emitida en respuesta a la excitación luminosa producida por las fuentes de luz.

- 45 En el campo del análisis genético del ADN y similares, la solicitud de patente de los Estados Unidos US 2006/0024815 y la solicitud de patente japonesa 2005-283322 describe cada una un dispositivo que tiene medios de iluminación adaptados para iluminar un objeto para detectar ADN o similar así como una ventana para ver el objeto iluminado, comprendiendo los medios de iluminación dos fuentes de luz teniendo cada una un grupo de fuentes de luz y estando situada cada una en los lados de una abertura para permitir que la luz emitida por el objeto pase a través de la ventana de visión, estando inclinadas las citadas unidades de fuente de luz una hacia la otra en la dirección de una parte sobre la cual se coloca el objeto. En la solicitud de patente de los Estados Unidos US 2006/0024815, los medios de iluminación están formados exclusivamente por las unidades de fuente de luz. En la solicitud de patente japonesa 2005-283322, los medios de iluminación comprenden una pluralidad de componentes ópticos además de las unidades de fuente de luz.

- 50 De acuerdo con las características que son preferidas por razones de simplicidad y conveniencia tanto para la fabricación como para el uso:

- cada una de las citadas fuentes de luz tiene un mismo espectro de luz centrado en una longitud de onda predeterminada; y/o

- las citadas fuentes de luz son diodos emisores de luz.

5 De acuerdo con otras características preferidas, cada una de las citadas bases está inclinada en un ángulo entre 40° y 50° con respecto a la citada posición predeterminada para la recepción del citado soporte.

Sorprendentemente, se demuestra que el rango de valores (40°-50°) para la inclinación de las placas con respecto al soporte proporciona un rendimiento óptimo con respecto a la comodidad de lectura para la detección de los microorganismos.

10 Más en particular, parece que dentro de este rango de valores, los fenómenos de efecto velo (desde la difusión de luz extraña a través de la ventana de visión) y los fenómenos de reflexión (desde el reflejo de la luz sobre el soporte a analizar) se minimizan significativamente.

En otras palabras, se encuentra dentro de este rango de valores en el que se obtiene la mejor representación de la imagen, en términos de contraste, homogeneidad y brillo.

15 De acuerdo con todavía otras características preferidas, la altura entre el centro de cada conjunto y la citada posición predeterminada para la recepción del citado soporte en el citado dispositivo es una función del citado soporte.

De acuerdo con todavía otras características preferidas, el centro de cada una de los citados conjuntos está situado a una altura de entre 39,75 mm y 69,75 mm desde la citada posición predeterminada para la recepción del citado soporte.

20 Se ha probado que, dadas en particular las dimensiones que son deseables en la práctica para el soporte a analizar, este rango de alturas proporcionó un buen compromiso al permitir al mismo tiempo obtener un dispositivo compacto manteniendo un buen rendimiento con respecto al contraste y la comodidad de lectura para la fácil detección de los microorganismos.

De acuerdo con otras características preferidas:

25 - en cada base también hay montado, además del citado grupo de fuentes de luz, designado como el primer grupo, otro grupo de fuentes de luz, designado como el segundo grupo, estando las citadas fuentes del citado segundo grupo también espaciadas regularmente unas con las otras para formar un segundo conjunto para iluminar el citado soporte.

- para cada base, los centros de los citados conjuntos primero y segundo coinciden;

30 - los citados grupos primero y segundo están entrelazados uno dentro del otro;

- cada difusor es una placa de vidrio en la que una de las caras ha sido tratada con chorro de arena;

- la citada ventana de visión comprende una pluralidad de filtros;

- los citados filtros pertenecen a un portaobjetos montado de forma deslizante en el citado marco;

35 - los citados medios de iluminación están adaptados para iluminar la totalidad de la citada posición predeterminada para la recepción del citado soporte; y/o

- el citado soporte para analizar es una membrana microporosa.

Las características y ventajas de la invención aparecerán a partir de la siguiente descripción, dada a modo de ejemplo preferido pero no limitativo, con referencia a los dibujos adjuntos en los que:

- la figura 1 es un diagrama de un dispositivo de acuerdo con la invención;

40 - la figura 2 es una vista en perspectiva de ese dispositivo junto al cual está representada una unidad de filtro para analizar en el dispositivo;

- las figuras 3 y 4 son, respectivamente, una vista en perspectiva tomada desde abajo y una vista en sección en alzado tomada en un plano medio de simetría de ese dispositivo;

45 - la figura 5 es una vista en perspectiva de una de las dos placas de circuito impreso de ese dispositivo en la que están fijados dos grupos de diodos emisores de luz, emitiendo cada uno luz a una longitud de onda predeterminada;

- la figura 6 es una vista en perspectiva de otra realización del dispositivo de acuerdo con la invención; y

- la figura 7 ilustra los diagramas espectrales de diferentes miembros ópticos de un dispositivo de acuerdo con la invención así como el diagrama espectral del agente fluoróforo usado con ese dispositivo para marcar los microorganismos, con una escala común de longitudes de onda a lo largo del eje x, y una escala común de intensidad de luz relativa a lo largo del eje y.

- 5 A continuación se dará una descripción de una realización preferida del dispositivo de acuerdo con la invención con la ayuda de las figuras 1 a 5, antes de detallar su modo de operación con la ayuda de los diagramas espectrales que se ilustran en la figura 7.

El dispositivo 1 que se ilustra en las figuras 1 a 5 comprende una carcasa 2, medios de iluminación 3 formados por dos elementos de iluminación 4, un cajón deslizante 5 y una ventana de visión 7.

- 10 La carcasa es de forma general paralelepípedica y tiene una pared superior 10 y cuatro paredes laterales 11 a 14, una porción de la pared 14 no se muestra deliberadamente para mostrar el interior del dispositivo.

La ventana de visión 7 está constituida aquí por un filtro de paso bajo 6 (es decir, que permite que pasen las frecuencias más bajas, y por lo tanto las longitudes de onda más largas), estando formada una abertura 9 en la pared superior 10 de la carcasa 2 para recibir ese filtro 6 en la misma.

- 15 Como se verá a continuación, el interior de esta carcasa 2, delimitada por las paredes 10 a 14 y 30, forma una cámara de análisis aislada de la luz circundante y en la que se recibe el soporte para analizar.

El soporte para analizar es aquí una membrana microporosa 41 que pertenece a una unidad de filtro 40, aquí una unidad comercializada por Millipore© bajo la marca comercial Milliflex®. Esta membrana 41 tiene un diámetro de 55 mm y está rodeada por un cuerpo 42 de la unidad de filtro.

- 20 La membrana 41 utilizada aquí es de éster de celulosa y tiene un tamaño de poro adaptado para retener los microorganismos cuya presencia se desea detectar, más a menudo entre 0,10 y 100 micrómetros.

El cajón 5 tiene un cuerpo 30, un collarín 31 y una apéndice de agarre 32.

En el cuerpo 30 hay formada una cavidad cilíndrica 33 provista para recibir una unidad de filtro 40.

Los medios de iluminación 3 se describirán a continuación con la ayuda de las figuras 3 a 5.

- 25 Estos medios 3 comprenden dos miembros de iluminación separados 4.

Cada miembro 4 comprende un montaje 20 de sección trapezoidal, una placa de circuito impreso 21 en la que están dispuestos dos grupos 27 y 28 de diodos 22 y 23, un difusor 24 que cubre estos diodos y dos pantallas negras 26 entre los bordes de la placa 21 y los del difusor 24.

- 30 Los montajes 20 están fijados dentro de la carcasa 2 en la pared 10 de esa carcasa, mientras que las placas 21 están fijadas a los soportes 20 en las caras inclinadas de las mismas que están alejadas de las dispuestas contra la pared 10, de manera que esas placas están inclinadas una hacia la otra en la dirección de la zona de recepción 33 para el soporte 41.

- 35 Cada montaje 20 se proporciona de manera que cada placa 21 tenga una inclinación A (figura 1) de 45° con respecto a la pared 10 y a la posición predeterminada que ocupa la membrana 41, cuando la unidad 40 está en el alojamiento 33 del dispositivo (figura 1).

Los bordes superiores 25 de las placas 21 están a una distancia uno del otro igual a 100 mm, mientras que esos bordes 25 están a una distancia de 23 mm de la pared 10.

Los vértices de los diodos emisores de luz 22 y 23 están situados a una distancia de 15 mm de los difusores 24.

- 40 Estos difusores 24 están hechos aquí a partir de una placa de vidrio sobre la que se aplica un chorro de arena a una de las caras (la cara que está girada hacia los diodos).

En cada placa de circuito impreso, y como se ilustra en la figura 5, se dispone un primer grupo 27 de diodos, constituido por dieciséis diodos 22 así como un segundo grupo 28 de diodos constituidos por cuatro diodos 23.

- 45 Los diodos 22 están espaciados regularmente unos de los otros y dispuestos en cuatro filas equidistantes de cuatro diodos, de manera que cada diodo 22 está situado a una distancia de 16 mm de los diodos 22 directamente contiguos al mismo. Este grupo 27 forma de esta manera un conjunto de diodos que hace posible iluminar uniformemente la membrana 41 cuando está dispuesta en la carcasa 2 en su posición predeterminada, situándose el centro 29 del citado conjunto a una altura H de 54,75 mm desde esa posición predeterminada (figura 1).

Los diodos 23 están distribuidos en las cuatro esquinas de un cuadrado entrelazado en el centro del conjunto de diodos 22, estando cada diodo 23 a una distancia de 32 mm de los dos diodos vecinos 23 y en el centro de un

ES 2 673 003 T3

cuadrado en el que en las esquinas se encuentran cuatro diodos 22 (figura 5). El centro de este conjunto coincide con el centro 29 del conjunto constituida por los diodos 22.

5 Los diodos 22 son diodos de la compañía LUMILED © comercializados bajo la referencia LXHL-PB01 y cuyo espectro de emisión 55 se ilustra en la figura 7, este espectro de distribución Gaussiana tiene una cresta 55' en la longitud de onda λ_1 de 470 nm, emitiendo de esta manera en azul.

Los diodos 23 son diodos de la misma compañía comercializados bajo la referencia LXHL-PD01, cuyo espectro de emisión, que no se ilustra en los dibujos, también es de distribución Gaussiana y tiene una cresta en la longitud de onda de 625 nm emitiendo de esta manera en rojo.

10 Estos diodos tienen un ángulo de emisión sólido de 140° para un valor de intensidad relativa del 25% y un ángulo de emisión sólido de 90° para un valor de intensidad relativa del 60%.

Los diodos 23 tienen una potencia de emisión sustancialmente cuatro veces mayor que la de los diodos 22, de manera que son cuatro veces menos numerosos que los diodos 22.

15 Los conjuntos de diodos 22 y 23 están entrelazados (es decir, anidados uno dentro del otro) para obtener la luz más homogénea posible en la unidad de filtro que se va a iluminar, ya sea que la luz provenga de los diodos 22 o de los diodos 23.

Cada grupo de diodos produce un espectro de luz centrado en una longitud de onda predeterminada para poder excitar diferentes tipos predeterminados de fluoróforo.

Las pistas conductoras en cada placa 21 están conectadas eléctricamente a una unidad de mando y control para el dispositivo (no mostrada).

20 La preparación de una muestra para analizar se describirá brevemente a continuación.

Antes del paso de detección real, el operador recoge una muestra para analizar (que puede contener microorganismos) por filtración a través de una membrana 41 de una unidad 40.

25 Una vez que los microorganismos se han filtrado y retenido sobre la membrana, se puede incluir una etapa opcional de cultivo de los microorganismos en contacto con un medio de crecimiento apropiado. Este medio de crecimiento es preferiblemente un medio de gel sobre el que se deposita la membrana después de la filtración. Este paso, que es opcional, permite obtener colonias de cada uno de los microorganismos inicialmente filtrados, lo que aumenta el número de células para detectar.

30 La membrana y los microorganismos que contiene se ponen a continuación en contacto con una composición para hacer permeables las paredes de los microorganismos y a continuación se incorporan los marcadores de fluoróforo en la composición de reproducción permeable para entrar en el interior de los microorganismos a detectar.

A continuación se dará una descripción de la implementación de la determinación de la presencia o ausencia de microorganismos en una muestra preparada de esta manera sobre la base del dispositivo de acuerdo con la invención.

35 En una primera fase, se tira del cajón 5 y el operador coloca una unidad de filtro 40 (que posiblemente puede estar cubierta por una tapa transparente no ilustrada, para proteger la membrana de la contaminación exterior) en la cavidad 33 de ese cajón. El cajón 5 se empuja luego hasta que el collarín 31 se apoya contra la pared 13 de manera que la membrana 41 se dispone en su posición predeterminada dentro de la carcasa 2 para ser iluminada.

40 Dependiendo del fluoróforo que se usó para marcar los microorganismos, el operador selecciona a continuación (por ejemplo por medio de un conmutador que no se ilustra en los dibujos) los diodos correspondientes 22 o 23 para conectar (los diodos 22 en el ejemplo que se ilustra) para iluminar de manera uniforme toda la superficie de la membrana 41 y excitar, en la longitud de onda correcta, el fluoróforo que sirvió para el marcado.

Los difusores 24 así como la distribución espacial de los diodos sobre las placas 21 permiten una iluminación particularmente homogénea de toda la superficie de la membrana 41, cualquiera que sea el grupo de diodos utilizado.

45 Puesto que las placas 21 están dispuestas una a cada lado de la abertura 9 que recibe el filtro 6, la luz procedente de la unidad de filtro 40 que se emite en respuesta a la luz de excitación de los diodos pasa a través de ese filtro como se ilustra en la figura 1 de tal manera que es posible observar la respuesta de la luz de la membrana 41 a través del filtro 6, a simple vista o bien por medio de una cámara.

50 La respuesta a la luz obtenida en presencia de microorganismos usando los diferentes diagramas espectrales que se ilustran en la figura 7 será detallada a continuación.

En la figura 7, el espectro 55 es de forma Gaussiana y corresponde al espectro de la luz de excitación (aquí el espectro producido por los diodos 22) y tiene un pico cuya cresta 55' correspondiente al valor de intensidad de luz máxima está en la longitud de onda λ_1 igual a 470 nm.

5 Los espectros 53 y 54 corresponden respectivamente al espectro de absorción y al espectro de emisión del fluoróforo elegido aquí para marcar los microorganismos presentes en la membrana.

El fluoróforo representado aquí es 5-6 CFDA (carboxi-fluoresceína-di-acetato).

El espectro de absorción 53 tiene una cresta 53' en la longitud de onda λ_2 mayor que λ_1 y el espectro de emisión 54 tiene una cresta 54' en la longitud de onda λ_3 mayor que λ_2 .

10 En el ejemplo que se ilustra λ_2 es igual a 492 nm y λ_3 a 517 nm, la diferencia entre λ_1 y λ_2 aquí es menor que la diferencia entre λ_2 y λ_3 .

15 La longitud de onda de excitación λ_1 se elige deliberadamente para que sea menor que λ_2 de manera que la cresta 55' del espectro 55 está desplazada con relación a la cresta 53' del espectro 53, en el lado opuesto al espectro 54. Este desplazamiento se elige de manera que la luz procedente de los medios de iluminación tenga suficiente energía para excitar el fluoróforo sin que la luz provoque una interferencia parasitaria significativa con la emitida por el fluoróforo en respuesta a esa luz de excitación.

El espectro 56 es el del filtro 6 de la ventana de visión, en el que se elige la frecuencia de corte (aquí del orden de 550 nm) para dejar pasar esencialmente la luz emitida por el fluoróforo (espectro 54) y para detener la luz a longitudes de onda más cortas, en particular las procedentes de los diodos 22 después de la reflexión sobre la unidad 40.

20 Este filtro de salida (un filtro de color) es débilmente selectivo para permitir que una cantidad suficiente de luz regrese a los ojos del usuario dando una escena generalmente brillante y que por lo tanto es cómodo de observar mientras se asegura un nivel de contraste que está adaptado para la observación a simple vista

25 Cuando la luz de excitación procedente de los medios de iluminación 3 ilumina la membrana 41 de la unidad de filtro 40, cada posición de esa membrana que tiene microorganismos marcados por el fluoróforo se vuelve visible en forma de una mancha brillante de pequeño tamaño (unos pocos cientos de micrómetros) directamente observable a simple vista, que sale del filtro 6.

Los valores del ángulo A y de la altura H proporcionan una representación óptima para la lectura de los puntos brillantes en la membrana 41, ya sea a simple vista o por medio de una cámara.

30 Estos valores se han determinado aplicando una marca negra y una marca amarilla fluorescente a una membrana de control y buscando, para diferentes valores de ese ángulo A y de esa altura H, las configuraciones A, H para las cuales el brillo de la banda fluorescente es máximo mientras se minimiza el brillo parásito en la marca negra.

Sorprendentemente, se ha demostrado que el rango (40°-50°) para el ángulo A proporcionaba una intensidad de luz máxima para la marca fluorescente y prácticamente una ausencia de luz parásita para la marca negra, lo que corresponde a un óptimo en términos de comodidad de lectura.

35 Para tener un cierto margen de seguridad en relación con la holgura en el montaje del dispositivo, es por lo que el valor promedio de 45° se ha elegido aquí.

40 En lo que se refiere al valor de altura H, esta es una función del tamaño del objeto a iluminar, las diferentes configuraciones probadas han mostrado que para una membrana de un diámetro de 55 mm y para un rango de valores para el ángulo A entre 40° y 50°, los mejores resultados se obtuvieron para un rango de altura entre 39,75 y 69,75 mm. De forma similar aquí, es el valor promedio de 54,75 mm el que se eligió en este ejemplo.

El dispositivo también se adapta, ajustando la altura H, para iluminar tipos de muestra distintos a las membranas, y generalmente cualquier soporte adaptado para contener microorganismos (ya sea en una superficie o en un volumen) y cuya presencia se desea detectar mediante fluorescencia.

Otra realización de este dispositivo se representa en la figura 6.

45 En términos generales, los mismos números de referencia aumentados en 100 se usan para partes similares.

50 El dispositivo 101 tiene las mismas características que el dispositivo 1, aparte de que carece del cajón 5 (la unidad de filtro 40 aquí se coloca directamente sobre una mesa, por ejemplo) y por el hecho de que la ventana de visión 107 está formada aquí a partir de un portaobjetos 108 de forma rectangular dispuesto contra la pared 110 de la carcasa 102 y de cuatro filtros 106 a 106", estando alojado cada uno de los filtros en una abertura correspondiente del portaobjetos 108.

Cada filtro óptico es un filtro de paso bajo, lo que permite que pasen las frecuencias bajas (las longitudes de onda más largas) y cuya frecuencia de corte es distinta de las otras frecuencias de corte.

El portaobjetos 108 está aplicado en un carril de guía (no ilustrado) de ese dispositivo para poder colocar cualquiera de los cuatro filtros seleccionados entre 106 y 106" en registro con la abertura 109 de la pared 110.

- 5 De este modo, dependiendo del fluoróforo elegido y de los diodos que están conectados, es posible seleccionar entre los cuatro filtros disponibles el que tenga la frecuencia de corte más adecuada (para obtener el mejor contraste, por ejemplo).

En una realización no ilustrada, el filtro 6 no es un filtro de paso bajo sino un filtro de paso de banda cuya banda de paso está centrada sobre la longitud de onda λ_2 .

- 10 En todavía otra realización no ilustrada, las placas de circuito impreso 21 tienen un solo grupo de diodos espaciados regularmente, o más de dos grupos de diodos, estando adaptado cada grupo de diodos para iluminar el soporte 41 con diferentes longitudes de onda, teniendo los conjuntos de cada grupo de diodos formas regulares, tales como un cuadrado, rombo, triángulo, etc.

- 15 En todavía en otra realización no ilustrada, los diodos son reemplazados por cualquier otro tipo de fuente de luz unitaria y localizada tal como puntos de luz quimio luminiscentes y/o las placas de circuito impreso son reemplazadas por cualquier otro tipo de base capaz de soportar fuentes de luz tales como vidrio o placas de cerámica.

- 20 Por último, se observará que el citado sistema de iluminación también se puede producir en diferentes versiones para muchas otras aplicaciones, tales como análisis por microscopio, escaneo de biochips, lectura de placas por fluorescencia, citometría, transiluminadores, lectura en tiempo real de PCR, estando la configuración geométrica del dispositivo para cada una de estas aplicaciones en una versión específica para la aplicación en cuestión. El marco del dispositivo al que están fijadas las bases 21 no es necesariamente una carcasa como la carcasa 2 ilustrada; puede ser, por ejemplo, un aro que rodea los elementos ópticos de un microscopio.

- 25 La presente invención no está limitada a las realizaciones descritas y representadas, sino que está definida en las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo para el análisis microbiológico de un soporte (41) adaptado para contener microorganismos marcados por un agente fluoróforo que comprende medios de iluminación (3) adaptados para iluminar el citado soporte (41) para detectar, por fluorescencia, la presencia de los citados microorganismos marcados, así como una ventana (7; 107) para ver la luz emitida por el citado soporte (41) en respuesta a la luz de excitación producida por los citados medios de iluminación (3); comprendiendo los citados medios de iluminación (3) dos bases (21) en cada una de las cuales está montado al menos un grupo (27) de fuentes de luz (22), estando espaciadas las citadas fuentes (22) de ese grupo (27) regularmente unas de las otras para formar un conjunto para iluminar el citado soporte (41), estando las citadas bases (21) fijadas a un marco (2; 102) del citado dispositivo, uno en cada lado de una abertura (9; 109) formada en el citado marco (2; 102) para permitir que la luz emitida por el citado soporte (41) pase a través de la citada ventana de visión (7; 107), estando las citadas bases (21) inclinadas una hacia la otra en la dirección de una posición predeterminada para la recepción del citado soporte (41) en el citado dispositivo; comprendiendo los citados medios de iluminación (3), para cada base (21), un difusor (24) para la luz emitida por las citadas fuentes (22, 23); **caracterizado porque** solo hay un difusor entre las fuentes de luz (22, 23) y el soporte (41) para iluminar y **porque** la citada ventana de visión (7; 107) comprende un filtro (6; 106) adaptado para permitir que pasen las longitudes de onda más largas, siendo el citado filtro selectivo débilmente.
2. Un dispositivo de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado porque** cada una de las citadas fuentes de luz (22) tiene el mismo espectro de luz (55) centrado en una longitud de onda predeterminada (λ_1).
3. Un dispositivo de acuerdo con la reivindicación 2, **caracterizado porque** las citadas fuentes de luz son diodos emisores de luz (22).
4. Un dispositivo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado porque** cada una de las citadas bases (21) está inclinada en un ángulo (A) entre 40° y 50° con respecto a la citada posición predeterminada para la recepción del citado soporte (41).
5. Un dispositivo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado porque** la altura (H) entre el centro (29) de cada conjunto (27) y la citada posición predeterminada para la recepción del citado soporte (41) en el citado dispositivo es una función del citado soporte (41).
6. Un dispositivo de acuerdo con la reivindicación 5, **caracterizado porque** el centro (29) de cada uno de los citados conjuntos (27, 28) está situado a una altura (H) entre 39,75 mm y 69,75 mm desde la citada posición predeterminada para la recepción del citado soporte (41).
7. Un dispositivo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, **caracterizado porque** en cada base (21) también está montado, además del citado grupo (27) de fuentes de luz (22), designado como el primer grupo (27), otro grupo (28) de fuentes de luz (23), designado como el segundo grupo, estando espaciadas regularmente unas en relación con las otras las citadas fuentes del citado segundo grupo (23) también para formar un segundo conjunto para iluminar el citado soporte (41).
8. Un dispositivo de acuerdo con la reivindicación 7, **caracterizado porque** para cada base (21), los centros (29) de los citados conjuntos primero y segundo (27, 28) coinciden.
9. Un dispositivo de acuerdo con la reivindicación 8, **caracterizado porque** los citados conjuntos primero y segundo (27, 28) están entrelazados uno con el otro.
10. Un dispositivo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, **caracterizado porque** cada difusor (24) es una placa de vidrio en la que una de las caras es tratada con chorro de arena.
11. Un dispositivo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, **caracterizado porque** la citada ventana de visión (107) comprende una pluralidad de filtros (106, 106', 106'', 106''').
12. Un dispositivo de acuerdo con la reivindicación 11, **caracterizado porque** los citados filtros (106, 106', 106'', 106''') pertenecen a un portaobjetos (108) montado de forma deslizante en el citado marco (102).
13. Un dispositivo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, **caracterizado porque** los citados medios de iluminación (3) están adaptados para iluminar la totalidad de la citada posición predeterminada para la recepción del citado soporte (41).
14. Un dispositivo de acuerdo con la reivindicación 13, **caracterizado porque** el citado soporte para analizar es una membrana microporosa (41).

50

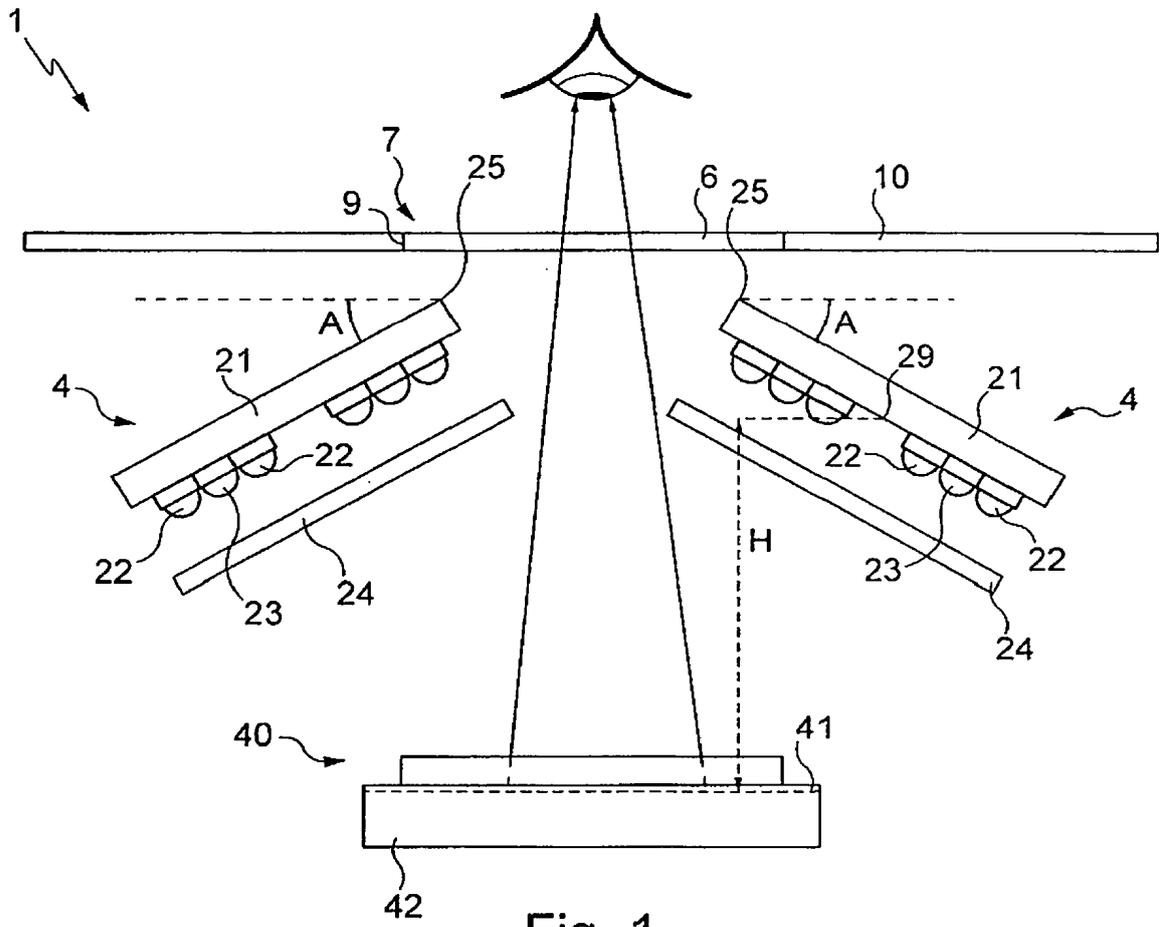


Fig. 1

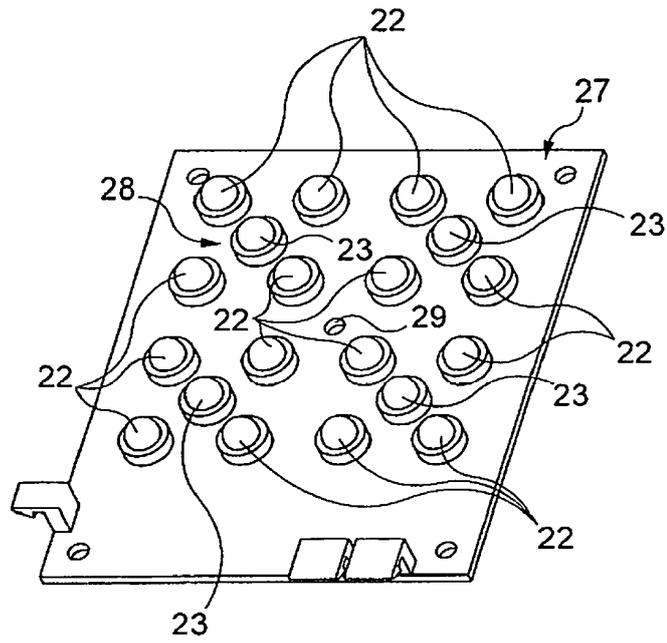


Fig. 5

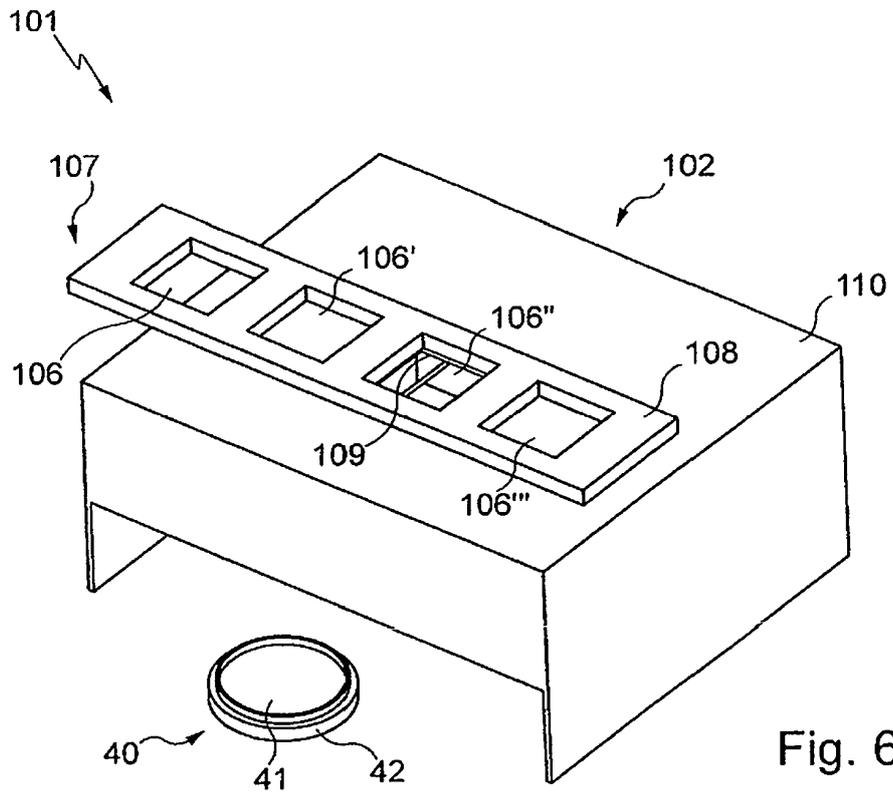


Fig. 6

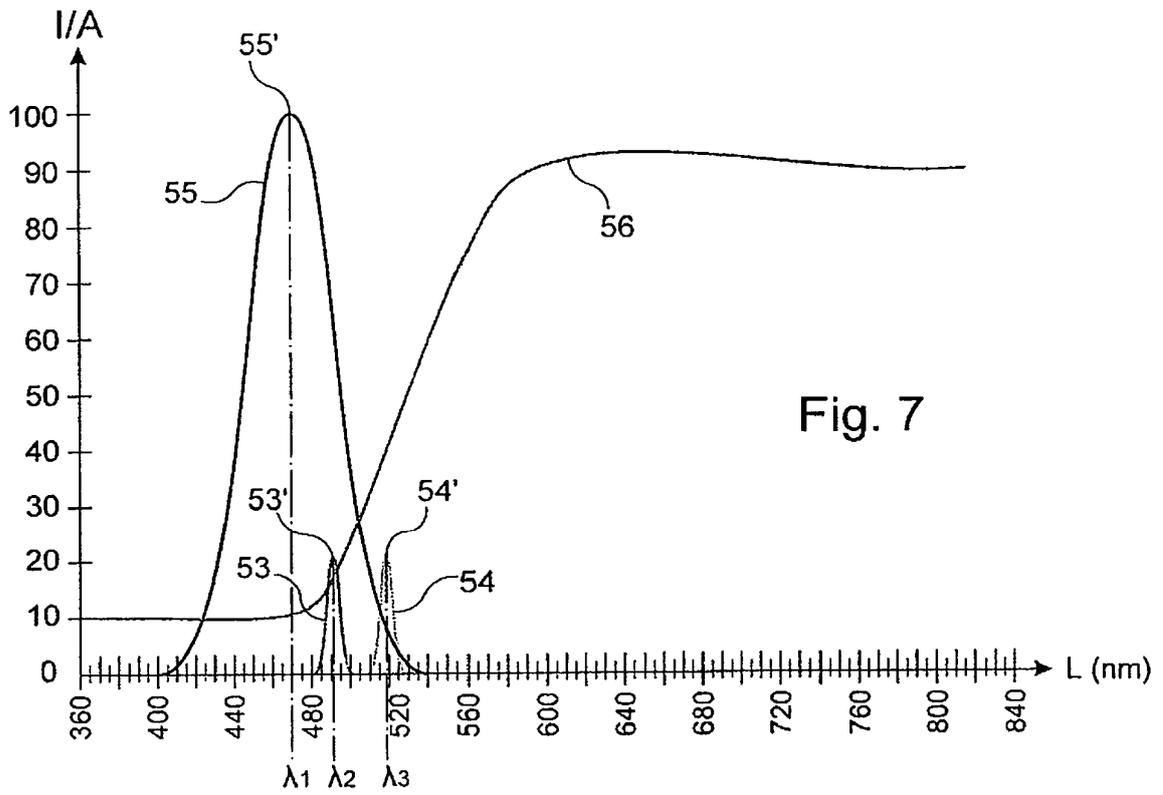


Fig. 7