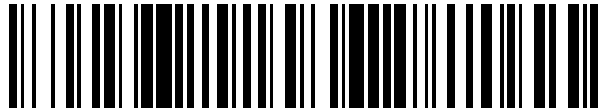


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 449 665**

21 Número de solicitud: 201231456

51 Int. Cl.:

C12Q 1/68 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A2

22 Fecha de presentación:

19.09.2012

43 Fecha de publicación de la solicitud:

20.03.2014

71 Solicitantes:

**SERVIZO GALEGO DE SAÚDE-CONSELLERÍA DE
SANIDADE, XUNTA DE GALICIA (50.0%)
Edificio Administrativo de San Lázaro s/n
15703 Santiago de Compostela (A Coruña) ES y
FUNDACIÓN DO COMPLEXO HOSPITALARIO
UNIVERSITARIO A CORUÑA (50.0%)**

72 Inventor/es:

**BOU ARÉVALO, Germán;
FERNÁNDEZ GONZÁLEZ, Ana y
TÓMAS CARMONA , Maria Del Mar**

74 Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

54 Título: **Procedimiento para el diagnóstico clínico de una enfermedad infecciosa basada en el empleo de la PCR cuantitativa, oligonucleótidos marcados de 8 a 9 nucleótidos de longitud y la UNG del Bacalao del Atlántico (Gadus morhua).**

ES 2 449 665 A2

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 449 665**

21 Número de solicitud: 201231456

57 Resumen:

La presente invención proporciona un procedimiento, útil para su uso en un laboratorio de microbiología clínica, que permite la determinación de la presencia o ausencia de un microorganismo en una muestra Biológica de un sujeto con un alto grado de fiabilidad utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) realizada de forma cuantitativa en tiempo real. Dicho procedimiento comprende los siguientes pasos:

a. Llevar a cabo un tratamiento de la mezcla de reacción que se utilizará para llevar a cabo la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) realizada de forma cuantitativa en tiempo real con la Uracil-ADN-Glicosilasa procedente del Bacalao del Atlántico (*Gadus morhua*) de SEQ ID No 3 o con una variante de la misma; y

b. Determinar la presencia o ausencia del microorganismo en la muestra biológica, tras tratamiento de la mezcla de reacción según el apartado a), a través de la determinación de la presencia o ausencia de amplicones procedentes de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) realizada de forma cuantitativa en tiempo real; donde dicha reacción en cadena de la polimerasa (PCR) emplea ADN, ADN complementario (ADNc) ó ADN de hebra simple obtenido por retrotranscripción de ácido ribonucleico (ARN) de la muestra biológica, al menos un par de cebadores específicos, dNTPs, un tampón de reacción adecuado, una ADN polimerasa termoestable y una sonda marcada fluorescentemente, donde dicha sonda marcada fluorescentemente consiste en un oligonucleótido con una longitud de 8 a 9 nucleótidos marcado con un fluoróforo, preferiblemente dicha sonda presenta una longitud de 8 nucleótidos.

DESCRIPCIÓN

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la determinación de la presencia o ausencia de un microorganismo en una muestra biológica de un sujeto a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) realizada de forma cuantitativa en tiempo real , que comprende:

- 5 a. Llevar a cabo un tratamiento de la mezcla de reacción que se utilizará para llevar a cabo la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) realizada de forma cuantitativa en tiempo real con la Uracil-ADN-Glicosilasa procedente del Bacalao del Atlántico (*Gadus morhua*) de SEQ ID No 3; y
- 10 b. Determinar la presencia o ausencia del microorganismo en la muestra biológica, tras el tratamiento de la mezcla de reacción según el apartado a), a través de la determinación de la presencia o ausencia de amplicones procedentes de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) realizada de forma cuantitativa en tiempo real;

15 donde dicha reacción en cadena de la polimerasa (PCR) emplea ADN, ADN complementario (ADNc) ó ADN de hebra simple obtenido por retrotranscripción de ácido ribonucleico (ARN), de la muestra biológica, al menos un par de cebadores específicos, dNTPs, un tampón de reacción adecuado, una ADN polimerasa termoestable y una sonda marcada fluorescentemente, donde dicha sonda marcada fluorescentemente consiste en un oligonucleótido con una longitud de 8 a 9 nucleótidos marcado con un fluoroforo.

- 20 2. El procedimiento de la reivindicación 1, donde la sonda marcada fluorescentemente consiste en un oligonucleótido con una longitud de 8 nucleótidos.
3. El procedimiento de la reivindicación 1 ó 2, donde dicha reacción en cadena de la polimerasa (PCR) amplifica amplicones con una longitud entre 60 y 120 nucleótidos.
4. El procedimiento de la reivindicación 1 ó 2, donde dicha reacción en cadena de la polimerasa (PCR) amplifica amplicones con una longitud entre 70 y 110 nucleótidos.
- 25 5. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la sonda marcada fluorescentemente es una sonda Taqman.
6. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el sujeto es un humano.
7. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el microorganismo es un patógeno.
- 30 8. El procedimiento según la reivindicación 7, donde el patógeno se selecciona de la lista que consiste en *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Listeria monocytogenes*, *Virus de la Varicela Zoster*, *Bordetella pertussis*, *Bordetella holmensis*, el complejo *Mycobacterium tuberculosis*, *Haemophilus influenzae* o *Streptococcus pneumoniae*.

LISTADO DE SECUENCIAS

