

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 655 974**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/04 (2006.01)

G01N 33/558 (2006.01)

G01N 33/569 (2006.01)

G01N 33/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.03.2016 E 16162980 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.11.2017 EP 3075862**

54 Título: **Dispositivos y análisis para el diagnóstico de la sinusitis**

30 Prioridad:

30.03.2015 US 201562140405 P

25.08.2015 US 201562209712 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.02.2018

73 Titular/es:

**ENTVANTAGE DIAGNOSTICS, INC. (100.0%)
4200 Marathon Boulevard Suite 200
Auston, TX 78756, US**

72 Inventor/es:

**SKRABA, JOSEPH;
HAWKINS, ORIANA E. y
MOHANA-SUNDARAM, SOUMYA**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 655 974 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

Dispositivos y análisis para el diagnóstico de la sinusitis

5 **Campo**

La presente solicitud se refiere a métodos y dispositivos para la determinación de la presencia de uno o más patógenos asociados con sinusitis bacteriana a partir de una muestra de mucosidad recogida, y preferentemente la detección de tres o más de los patógenos asociados con más del 90 % de la sinusitis bacteriana.

10

Antecedentes

La sinusitis, definida como inflamación de los tejidos sinusales, habitualmente como una complicación de infecciones víricas desde el resfriado común. Aunque hay más de mil millones de resfriados comunes en los Estados Unidos, un pequeño porcentaje de ellos causan sinusitis. De hecho, a 29 millones de personas se les diagnosticó sinusitis en 2011 en los Estados Unidos. A menudo se prescriben antibióticos como tratamiento para la sinusitis y ésta es la 5ª indicación principal para prescripciones de antibióticos anualmente. Se estima que los mercados de la UE occidental están por encima de los 43 millones de pacientes anualmente. La mayoría de estos pacientes son examinados en primer lugar por médicos de atención primaria y a continuación son remitidos a otorrinolaringólogos, también conocidos como ORL si sus síntomas no se resuelven. Casos complicados de sinusitis conducen, con el tiempo, a cirugía y hay 1,5 millones de pacientes en los Estados Unidos cada año que son candidatos para procedimientos quirúrgicos, en los que actualmente 500 mil pacientes eligen someterse a algún tipo de procedimiento quirúrgico. Los costes directos asociados con el tratamiento de la sinusitis suponen más de 6 mil millones de dólares anualmente, con otros 3 mil millones de dólares asociados con costes indirectos asociados al tratamiento de la sinusitis.

El diagnóstico inicial de la sinusitis sigue siendo un desafío para los médicos. Un paciente que se presenta en la consulta de un médico con un complejo de síntomas de fiebre, cefalea y fatiga, también presentes en muchos tipos diferentes de enfermedades sistémicas, podría justificar un diagnóstico de sinusitis. Como resultado, muchos pacientes con enfermedades no relacionadas con el seno tales como trastornos de migraña, fatiga crónica y trastornos sistémicos crónicos son diagnosticados erróneamente como sinusitis. Un ensayo de diagnóstico de laboratorio objetivo adicional guiaría a los médicos en cuanto a la etiología de estos síntomas comunes de infecciones víricas de las vías respiratorias superiores, sinusitis bacteriana aguda y sinusitis crónica y conduciría a la reducción de prescripciones de antibióticos y esteroides innecesarios proporcionados a pacientes.

Actualmente, los médicos normalmente deciden sobre un régimen de tratamiento sin un ensayo definitivo para determinar si el paciente tiene sinusitis vírica, sinusitis bacteriana, infección de las vías respiratorias superiores, fatiga crónica o migrañas, dado que es difícil diagnosticar la causa de la sinusitis como etiología viral o bacteriana. El tratamiento a menudo implica antibióticos, que son eficaces solamente para una pequeña cantidad de estas afecciones. La mayoría de los casos de sinusitis son víricos, con algunas estimaciones de que aproximadamente el 90 % de los casos de sinusitis son víricos. La mayoría de los pacientes reciben un antibiótico que no necesitan, pueden empeorar su afección y pueden causar resistencia a antibióticos. El documento WO 2006/033662 desvela métodos y kits para la detección de múltiples patógenos para diagnosticar diversos trastornos y entre ellos sinusitis. Se necesitan métodos mejorados de diagnóstico de la sinusitis. En particular, lo que se necesita es un ensayo rápido y definitivo para la causa de la sinusitis, lo que podría ahorrar al médico tiempo y proporcionar información oportuna que causaría que se prescribieran menos antibióticos.

Existen muchas ventajas de determinar la etiología de la sinusitis (por ejemplo, como viral, bacteriana, etc.), incluyendo la reducción de costes de atención sanitaria, disminuciones del uso de antibióticos y resistencia bacteriana concomitante a fármacos, y mejoras en el nivel de atención para pacientes. En el presente documento se describen aparatos de diagnóstico de sinusitis bacteriana (por ejemplo, dispositivos, sistemas, kits, etc.) y métodos que pueden abordar muchas de las necesidades descritas en el presente documento. Por ejemplo, los aparatos y métodos de muestreo, ensayo y tratamiento descritos en el presente documento pueden permitir un diagnóstico rápido y definitivo de sinusitis bacteriana, permitiendo un tratamiento dirigido con antibióticos óptimos basándose en el diagnóstico específico. Dicho tratamiento dirigido puede evitar tratamientos con antibióticos innecesarios para pacientes que no padecen sinusitis bacteriana. Un diagnóstico rápido también puede dar como resultado tratamientos mejorados para pacientes que dan negativo en el ensayo para sinusitis bacteriana tratando en su lugar al paciente basándose en un ensayo negativo para sinusitis bacteriana.

60 **Sumario de la divulgación**

En el presente documento se describen aparatos (por ejemplo, sistemas, kits, análisis, incluyendo kits de análisis de flujo lateral) y métodos que pueden permitir la determinación de la presencia de uno o más de los tres patógenos asociados con más del 90 % de la sinusitis bacterianas a partir de una muestra de mucosidad recogida. Específicamente, estos métodos y aparatos pueden determinar, como parte de un único análisis rápido, la presencia de uno o más de: *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* y *Streptococcus pneumoniae*. En particular, en el

presente documento se describen dispositivos de recogida sinusal para la recogida de muestras de mucosidad de los senos paranasales de un paciente; estos dispositivos de recogida pueden estar incluidos como parte de los análisis descritos en el presente documento.

- 5 Los dispositivos de recogida sinusal (dispositivos de muestreo) descritos en el presente documento están concebidos para uso durante una visita rutinaria a la consulta de un médico. Estos dispositivos pueden permitir de forma precisa y rápida (con un mínimo de incomodidad) la adquisición de una muestra de mucosidad a partir de la región del meato medio del seno (mientras se evita el direccionamiento erróneo a la región y la contaminación cruzada). Una muestra de mucosidad recogida puede analizarse a continuación usando cualquiera de los análisis de flujo lateral descritos en el presente documento. Si el ensayo es positivo para cualquiera de los tres patógenos bacterianos, el paciente tiene sinusitis bacteriana y se le puede prescribir un régimen de antibióticos y/o esteroides apropiado para abordar las bacterias patógenas. Si el ensayo es negativo, el paciente puede ser tratado para sinusitis vírica y puede que no se le administren antibióticos. Ejemplos de los dispositivos y análisis de muestreo (por ejemplo, análisis de flujo lateral) se describen en el presente documento. Aunque la mayoría de estos ejemplos describen aparatos, incluyendo dispositivos de recogida, que están adaptados para uso en la cavidad nasal, cualquiera de estos aparatos y métodos puede estar adaptado para uso en otras regiones. Por ejemplo, una variación del dispositivo de muestreo y/o el análisis puede adaptarse para uso en la recogida de muestras de mucosidad desde el interior del seno durante procedimientos de cirugía sinusal, de un oído (por ejemplo, en el caso de otitis media, que es causada habitualmente por los mismos tres patógenos que la sinusitis bacteriana) o en otro lugar.

- Tal como se describirá con más detalle a continuación, estos análisis pueden configurarse como análisis de flujo lateral que incluyen una única solución de lisis (por ejemplo, solución de tampón de lisis) que es apropiada para uso con los tres tipos de bacterias (por ejemplo, *H. influenzae*, *M. catarrhalis* y *S. pneumoniae*) con el fin de dejar expuestos los antígenos específicos de cada uno para detección. Cualquiera de los análisis descritos en el presente documento pueden adaptarse para uso con el tampón de lisis, y pueden incluir múltiples (por ejemplo, tres) pares, o acumulaciones definidas, de agentes de unión al antígeno que se unen a antígenos (por ejemplo, proteínas superficiales) específicos de cada tipo de bacteria (por ejemplo, H.flu, M.cat, S.pneumo). Los agentes de unión al antígeno ("agentes") pueden ser anticuerpos monoclonales o policlonales, o fragmentos de anticuerpo (por ejemplo, fragmentos FAB, etc.) o moléculas que incluyen todos o una parte de estos. Pares de dichos agentes pueden unirse a diferentes partes del mismo antígeno. Un agente específico de cada tipo de bacterias (por ejemplo, H.flu, M.cat, S.pneumo) puede estar unido a un sustrato en fase sólida (por ejemplo, membrana, partícula, etc.) y dispuesto espacialmente en el análisis y proporcionar identificación específico de *H. influenzae*, *M. catarrhalis* y *S. pneumoniae* mediante detección visual de la unión, incluyendo uniendo el antígeno al sustrato anclado y a un agente etiquetado. Los pares o acumulaciones de anticuerpos pueden seleccionarse para tener baja reactividad cruzada, mientras se permite una detección comparable de *H. influenzae*, *M. catarrhalis* y *S. pneumoniae*.

- El agente de unión al antígeno (o "agente" y también puede denominarse en el presente documento un indicador) puede seleccionarse de modo que sean selectivos para el organismo de interés, se unan a un antígeno del mismo origen específicamente, tengan reactividad cruzada mínima con organismos contaminantes comunes y reactividad cruzada mínima con organismos comensales. Estos agentes de unión al antígeno también pueden tener una elevada afinidad por el antígeno del patógeno diana, cinética de asociación rápida, cinética de disociación lenta, y ser sensible a números bajos del patógeno. Finalmente, estos agentes de unión al antígeno pueden ser compatibles con el flujo lateral, y compatibles con un conjugado. Tal como se ha mencionado anteriormente, en particular los agentes de unión al antígeno también pueden ser compatibles para uso con una solución de lisis común para los tres patógenos.

- Tal como se describirá con más detalle en el presente documento, descubrir una solución de lisis común que pueda funcionar con múltiples tipos de patógenos, y particularmente H.flu, M.cat y S.pneumo, fue sorprendentemente difícil, dado que muchos agentes líticos usados comúnmente (detergentes, enzimas, etc.) no funcionaban con los tres, dando como resultado lisis incompleta (obstrucción del sistema de flujo lateral), lisis que era demasiado lenta (por ejemplo, duró más de 15 minutos), o alteró las proteínas superficiales, incluyendo los antígenos específicos de cada tipo celular.

- Haemophilus influenzae* (*H. influenzae*) puede detectarse usando un par o acumulación de anticuerpos que son específicos de uno o más agentes de unión al antígeno que son relativamente específicos o característicos de *H. influenzae*. Por ejemplo, el indicador para *H. influenzae* puede unirse con especificidad al sitio de unión al antígeno OMP-P2 y/o OMP-P5 para el patógeno. Tal como se describe en el presente documento, se han evaluado numerosos anticuerpos candidatos primarios, y se han cribado para reactividad cruzada entre numerosas (por ejemplo, 30) cepas bacterianas comensales para garantizar reactividad cruzada mínima con la flora normal que se encuentra en el seno sano. Otros ejemplos de agentes de unión al antígeno incluyen anticuerpos que pueden usarse se describen en el documento US20140314876.

- Análogamente, *Moraxella catarrhalis* (*M. catarrhalis*) puede detectarse usando un par o acumulación de agentes de unión al antígeno que son específicos de un marcador para *M. catarrhalis* (véase, por ejemplo, el documento US7811589) tal como proteínas de la membrana externa, Proteína C y Proteína D.

Uno o más agentes de unión al antígeno específicos de *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumonia*) también pueden dirigirse a marcadores de *S. pneumoniae* tales como el antígeno PsaA.

En el presente documento se describen específicamente kits de análisis para detectar de forma concurrente *H. influenzae*, *M. catarrhalis* y *S. pneumoniae* a partir de una muestra de la mucosa. Un kit de análisis puede incluir: un tampón de lisis para lisar células en la muestra y formar una única solución de muestra, en el que el tampón de lisis comprende entre el 0,01 % y el 5 % (p/p) del tensioactivo aniónico y entre el 0,1 % y el 15 % (p/p) del agente osmótico; un cartucho que contiene uno o más sustratos en fase sólida que alojan un primer agente que se une específicamente a un primer antígeno específico de *H. influenzae* pero no de *M. catarrhalis* o *S. pneumoniae*, un segundo agente que se une específicamente a un segundo antígeno específico de *M. catarrhalis* pero no de *H. influenzae* o *S. pneumoniae*, y un tercer agente que se une específicamente a un tercer antígeno específico de *S. pneumoniae* pero no de *M. catarrhalis* o *H. influenzae*, en el que los primer, segundo y tercer agentes están unidos a regiones específicas de los uno o más sustratos en fase sólida en el cartucho; una o más regiones de conjugación dentro del cartucho, las una o más regiones de conjugación en comunicación fluida con los uno o más sustratos en fase sólida y que comprenden un cuarto agente que está etiquetado y que se une específicamente al primer antígeno, un quinto agente que está etiquetado y que se une específicamente al segundo antígeno, y un sexto agente que está etiquetado y que se une específicamente al tercer antígeno; una o más entradas de muestra en el cartucho en comunicación fluida con las una o más regiones de conjugación; y una o más ventanas a través de las cuales las regiones específicas del sustrato en fase sólida al que los primer, segundo y tercer agentes están unidos pueden visualizarse.

El tensioactivo aniónico del tampón de lisis puede comprender Sarkosyl y en el que el agente osmótico del tampón de lisis comprende sacarosa. Cualquiera de estos kits de análisis puede incluir un tampón de dilución, tal como se describe en el presente documento.

El cartucho puede incluir una carcasa que encierra uno o más (por ejemplo, tres, dispuestos en paralelo) sustratos en fase sólida. Por ejemplo, un cartucho puede comprender una pluralidad (por ejemplo, 3) de sustratos en fase sólida, en el que cada sustrato en fase sólida aloja uno del primer agente, el segundo agente o el tercer agente. Como alternativa, el cartucho puede comprender un único sustrato en fase sólida que aloja cada uno del primer agente, segundo agente y tercer agente. El primer antígeno puede ser un antígeno de la superficie celular específico de *H. influenzae*, el segundo antígeno puede ser un antígeno de la superficie celular específico de *M. catarrhalis* y el tercer antígeno puede ser un antígeno de la superficie celular específico de *S. pneumoniae*.

Cualquiera de estas regiones del cartucho puede incluir una región de conjugación. La región de conjugación puede alojar el agente de unión al antígeno no unido, que puede estar marcado con un marcador (por ejemplo, un marcador visualizable tal como un metal coloidal, perla coloreada, etc.). El agente o agentes de unión al antígeno en la región de conjugación pueden estar en solución (por ejemplo, es una esponja de conjugación o almohadilla de conjugación humedecida previamente, una cámara de conjugación de fluido, etc.). Como alternativa, el agente de unión al antígeno (por ejemplo, anticuerpo, FAB, etc.) puede liofilizarse y almacenarse en esta región, y la solución de muestra puede resuspender el agente de unión al antígeno, permitiéndole que se una antes de entrar en la parte o partes del sustrato en fase sólida a las que el agente o agentes de unión al antígeno están unidos. En variaciones que tienen un único sustrato en fase sólida con regiones discretas para cada uno de los diferentes tipos de agentes de unión al antígeno que se unen a tipos bacterianos específicos, puede usarse una única región de conjugación (por ejemplo, que aloja el cuarto agente, quinto agente y sexto agente). Cualquiera de estos cartuchos puede incluir múltiples regiones de conjugación. En particular, cartuchos que tienen trayectorias de fluido paralelas pueden incluir múltiples regiones de conjugación, donde cada región de conjugación aloja el agente de unión al antígeno etiquetado específico de uno de los tipos de bacterias correspondientes al agente de unión al antígeno unido sobre el sustrato en fase sólida aguas abajo.

Cualquiera de estos kits puede incluir un cartucho a única entrada de muestra. La única entrada puede alimentar al interior de una única vía fluidica o al interior de una pluralidad (por ejemplo, 3) de vías fluidicas paralelas que pueden conectar, por ejemplo, a una región o cámara de muestra (por ejemplo, almohadilla de muestra), una región o cámara de conjugación (por ejemplo, almohadilla de conjugación), una región o cámara de incubación (por ejemplo, almohadilla de incubación), una región de sustrato en fase sólida (por ejemplo, región de detección, que puede combinarse con la región o cámara de incubación o independientemente de ésta), y/o una cámara o región de desechos (por ejemplo, almohadilla absorbente). La trayectoria o trayectorias de fluido a través del cartucho pueden incluir una entrada de aire. Por ejemplo, una entrada de aire puede estar presente en un extremo opuesto de la trayectoria de fluido desde la entrada de muestra.

Las una o más ventanas en el cartucho pueden permitir el visionado del sustrato en fase sólida, permitir la detección (por ejemplo, visual, óptica, etc.) de unión del antígeno al sustrato o sustratos en fase sólida en esta región (por ejemplo, la región de detección) donde el agente de unión al antígeno anclado/unido se unió específicamente al sustrato en fase sólida. En algunas variaciones, el método incluye lectura/detección de la unión usando un lector que incluye un lector óptico (por ejemplo, lector fluorescente, etc.), lectura visual (por ejemplo, manual o automática), etc. Los cartuchos descritos en el presente documento pueden estar configurados para ser compatibles con uno o más lectores, incluyendo lectores ópticos tales como el dispositivo "Sophia" de Quidel que es un lector óptico que usa

marcadores fluorescentes (véase, por ejemplo, www.auidel.com/immunoassays/sofia-tests-kits) o el sistema "Veritor" de Becton Dickinson (véase, por ejemplo, www.bd.com/ds/veritorsystem/poctestng.asp).

Tal como se ha mencionado, cualquiera de los agentes de unión al antígeno (por ejemplo, cualquiera o todos del primer agente, segundo agente, tercer agente, cuarto agente, quinto agente y sexto agente) puede comprender un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo.

Los uno o más sustratos en fase sólida pueden ser, por ejemplo, una membrana u otra superficie sobre la cual un agente de unión al antígeno está inmovilizado. El sustrato puede ser liso, poroso, áspero, etc. En algunas variaciones, se usa un único sustrato en fase sólida al que cada uno de los múltiples agentes de unión al antígeno (por ejemplo, los primer, segundo y tercer agentes, cada uno específico de un antígeno de uno de *M.cat*, *S.pneumo*, o *H.flu*). De este modo, en cualquiera de estas variaciones, las una o más regiones de conjugación pueden ser una única región de conjugación, y las una o más entradas de muestra pueden ser una única entrada de muestra, y el único sustrato en fase sólida puede estar aguas arriba de la única región de conjugación que está aguas arriba de la única entrada de muestra.

Cualquiera de estos kits de análisis también puede incluir una región de control sobre el sustrato en fase sólida. La región de control puede incluir un agente de unión inmovilizado que se une a uno o más de los agentes de unión al antígeno solubles en el análisis (por ejemplo, el primer, segundo o tercer análisis) configurados para unirse a uno o más del cuarto agente, quinto agente o sexto agente y una almohadilla absorbente, aguas abajo de las regiones específicas del sustrato en fase sólida al que los primer, segundo y tercer agentes están unidos.

Por ejemplo, en el presente documento se describen kits de análisis para detectar de forma concurrente *H. influenzae*, *M. catarrhalis* y *S. pneumoniae* a partir de una muestra de la mucosa, comprendiendo el kit de análisis: un tampón de lisis para lisar células en la muestra y formar una única solución de muestra, en el que el tampón de lisis comprende entre el 0,01 % y el 5 % (p/p) del tensioactivo aniónico y entre el 0,1 % y el 15 % (p/p) del agente osmótico; un cartucho que contiene un sustrato en fase sólida que aloja un primer agente que se une específicamente a un primer antígeno específico de *H. influenzae* pero no de *M. catarrhalis* o *S. pneumoniae*, un segundo agente que se une específicamente a un segundo antígeno específico de *M. catarrhalis* pero no de *H. influenzae* o *S. pneumoniae*, y un tercer agente que se une específicamente a un tercer antígeno específico de *S. pneumoniae* pero no de *M. catarrhalis* o *H. influenzae*, en el que los primer, segundo y tercer agentes están unidos a regiones específicas del sustrato en fase sólida; y una región de conjugación dentro del cartucho, región de conjugación en comunicación fluida con el sustrato en fase sólida y que comprende un cuarto agente que está etiquetado y que se une específicamente al primer antígeno, un quinto agente que está etiquetado y que se une específicamente al segundo antígeno, y un sexto agente que está etiquetado y que se une específicamente al tercer antígeno; una entrada de muestra en el cartucho en comunicación fluida con la región de conjugación; y una o más ventanas que deja expuestas las regiones específicas del sustrato en fase sólida a las que los primer, segundo y tercer agentes están unidos.

También en el presente documento se describen métodos de detección de forma concurrente *H. influenzae*, *M. catarrhalis* y *S. pneumoniae* a partir de una muestra de la mucosa. Por ejemplo, un método de detección de forma concurrente *H. influenzae*, *M. catarrhalis* y *S. pneumoniae* a partir de una muestra de la mucosa puede incluir: añadir la muestra a un tampón de lisis para lisar células en la muestra y formar una única solución de muestra, en el que el tampón de lisis comprende tanto un tensioactivo aniónico como un agente osmótico; añadir la solución de muestra a un cartucho que contiene uno o más sustratos en fase sólida que alojan un primer agente que se une específicamente a un primer antígeno específico de *H. influenzae* pero no de *M. catarrhalis* o *S. pneumoniae*, un segundo agente que se une específicamente a un segundo antígeno específico de *M. catarrhalis* pero no de *H. influenzae* o *S. pneumoniae*, y un tercer agente que se une específicamente a un tercer antígeno específico de *S. pneumoniae* pero no de *M. catarrhalis* o *H. influenzae*, en el que los primer, segundo y tercer agentes están unidos a regiones específicas de los uno o más sustratos en fase sólida en el cartucho; y poner en contacto la solución de muestra, bien antes o después de que se añada al cartucho, con un cuarto agente que está etiquetado y que se une específicamente al primer antígeno, un quinto agente que está etiquetado y que se une específicamente al segundo antígeno, y un sexto agente que está etiquetado y que se une específicamente al tercer antígeno.

En general, los agentes que se unen específicamente a los antígenos (por ejemplo, primer antígeno, segundo antígeno, tercer antígeno) descritos en el presente documento no se unen a antígenos (proteínas) de la mayoría de otras bacterias comensales en la muestra sinusal, además de tener poca o ninguna unión a otros antígenos diferentes del antígeno pretendido/diana. Por ejemplo, el agente de unión al antígeno (por ejemplo, anticuerpo o fragmento de anticuerpo) puede unirse específicamente to al primer antígeno diana (por ejemplo, de *H. flu*), pero no a antígenos no diana (por ejemplo, de *M.Cat* o *S.pneumo*).

En cualquiera de estos métodos, kits y composiciones descritos en el presente documento, el tampón de lisis puede comprender entre el 0,01 % y el 5 % (p/p) del tensioactivo aniónico y entre el 0,1 % y el 15 % (p/p) del agente osmótico. El tensioactivo aniónico del tampón de lisis puede comprender entre el 0,01 % y el 5 % (p/v) de Sarkosyl y el agente osmótico del tampón de lisis puede comprender entre el 0,1 % y el 15 % (p/p) de sacarosa.

Cualquiera de estos métodos puede incluir añadir un tampón de dilución a la solución de muestra antes de añadirla al cartucho.

Añadir la solución de muestra al cartucho puede incluir aplicar una única embolada de muestra o aplicar múltiples emboladas de muestra. Por ejemplo, añadir solución de muestra al cartucho puede comprender dividir la muestra entre una pluralidad de regiones en el cartucho, en el que cada región está en comunicación fluida con sustratos en fase sólida independientes y en el que cada sustrato en fase sólida aloja uno del primer agente, el segundo agente o el tercer agente.

Añadir la solución de muestra al cartucho puede comprender añadir la solución de muestra a una única región en el cartucho que está en comunicación fluida con un sustrato en fase sólida que aloja cada uno del primer agente, segundo agente y tercer agente. En cualquiera de estos métodos, kits y composiciones descritos en el presente documento, los antígenos para cada tipo bacteriano pueden ser antígenos de la superficie celular. Por ejemplo, el primer antígeno puede ser un antígeno de la superficie celular específico de *H. influenzae*, el segundo antígeno puede ser un antígeno de la superficie celular específico de *M. catarrhalis* y el tercer antígeno puede ser un antígeno de la superficie celular específico de *S. pneumoniae*.

Cualquiera de estos métodos puede incluir hacer pasar la solución de muestra sobre los uno o más sustratos en fase sólida en el cartucho después de poner en contacto la solución de muestra con los cuarto, quinto y sexto agentes.

La etapa de poner en contacto la solución de muestra con el cuarto, quinto y sexto agente puede comprender hacer pasar la muestra a través de una o más partes del cartucho aguas arriba de las regiones específicas del sustrato en fase sólida en el cartucho al que los primer, segundo y tercer agentes están unidos.

Cualquiera de los métodos descritos en el presente documento puede incluir identificar visualmente qué cepa (por ejemplo, *M.cat.*, *S.pneumo* o *H.flu*) está presente en la solución de muestra identificando que el cuarto agente se ha unido al primer antígeno en la región de sustrato en fase sólida donde el primer agente se unió, y/o el quinto agente se ha unido al segundo antígeno en la región de sustrato en fase sólida donde el segundo agente se unió, y/o que el sexto agente se ha unido al tercer antígeno en la región de sustrato en fase sólida donde el tercer agente se unió.

La solución de muestra puede estar expuesta (por ejemplo, puesta en contacto con) los agentes de unión al antígeno etiquetados bien antes o bien después de que se añada al cartucho. Por ejemplo, la solución de muestra puede ponerse en contacto con el cuarto agente, quinto agente y sexto agente antes de que se añada al cartucho, o la solución de muestra puede ponerse en contacto con el cuarto agente, quinto agente y sexto agente después de que se añada al cartucho.

Por ejemplo, un método para detectar de forma concurrente *H. influenzae*, *M. catarrhalis* y *S. pneumoniae* a partir de una muestra de la mucosa puede incluir: añadir la muestra a un tampón de lisis para lisar células en la muestra y formar una única solución de muestra, en el que el tampón de lisis comprende entre el 0,01 % y el 5 % (p/p) del tensioactivo aniónico y entre el 0,1 % y el 15 % (p/p) del agente osmótico; añadir la solución de muestra a un cartucho que contiene un sustrato en fase sólida que aloja un primer agente que se une específicamente a un primer antígeno específico de *H. influenzae* pero no de *M. catarrhalis* o *S. pneumoniae*, un segundo agente que se une específicamente a un segundo antígeno específico de *M. catarrhalis* pero no de *H. influenzae* o *S. pneumoniae*, y un tercer agente que se une específicamente a un tercer antígeno específico de *S. pneumoniae* pero no de *M. catarrhalis* o *H. influenzae*, en el que los primer, segundo y tercer agentes están unidos a regiones independientes específicas del sustrato en fase sólida; poner en contacto la solución de muestra con un cuarto agente que está etiquetado y que se une específicamente al primer antígeno, un quinto agente que está etiquetado y que se une específicamente al segundo antígeno, y un sexto agente que está etiquetado y que se une específicamente al tercer antígeno; e identificar visualmente a través de una ventana en el cartucho que el cuarto agente se ha unido al primer antígeno, el quinto agente se ha unido al segundo antígeno, o el sexto agente se ha unido al tercer antígeno.

Aunque los kits (por ejemplo, kits de análisis, sistemas) descritos en el presente documento en estos ejemplos están configurados para realizar ensayos para las presencias de tres bacterias (por ejemplo, *S. pneumoniae* pero no *M. catarrhalis* o *H. influenzae*), cualquiera de estos kits y métodos puede estar, en su lugar, configurado para identificar la presencia de dos o más de tres bacterias. En particular, cualquiera de los métodos y kits descritos en el presente documento puede estar configurado para determinar la presencia de *S. pneumoniae* y/o *H. influenzae*, que juntos suponen aproximadamente el 70-75 % de las sinusitis bacterianas.

También en el presente documento se describen dispositivos de muestreo nasal que pueden usarse por sí mismos o como parte de un kit o sistema para ensayar un material nasal (por ejemplo, mucosa), particularmente de la región del meato medio del seno.

Por ejemplo, un dispositivo de muestreo nasal para obtener una muestra de secreción sinusal del seno de un sujeto puede incluir: un cuerpo alargado que tiene una región del extremo distal que está doblada con respecto a una región proximal entre 15 grados y 30 grados; un colector de muestras en un extremo distal de un vástago extensible,

en el que el colector de muestras está configurado para recoger una muestra de fluido sinusal, en el que además el colector de muestras está completamente alojado dentro del extremo distal del cuerpo alargado en una posición retraída; y un control acoplado al vástago extensible y configurado para extender y retraer el colector de muestras dentro y fuera del extremo distal del cuerpo alargado; en el que el dispositivo de muestreo nasal tiene una configuración retraída con el colector de muestras retraído y alojado completamente dentro del extremo distal del cuerpo alargado, una configuración de muestreo con el colector de muestras extendido distalmente fuera de una abertura distal de la región del extremo distal del cuerpo alargado una primera distancia entre 0,5 cm y 3 cm, y una configuración de elución con el colector de muestras extendido distalmente fuera de la abertura distal de la región del extremo distal del cuerpo alargado una segunda distancia que es mayor que la primera distancia.

Un dispositivo de muestreo nasal para obtener una muestra de secreción sinusal del seno de un sujeto, en el que el dispositivo de muestreo nasal incluye: un cuerpo alargado que tiene una región del extremo distal que está doblada con respecto a una región proximal entre 15 grados y 30 grados; un colector de muestras en un extremo distal de un vástago extensible, en el que el colector de muestras está configurado para recoger una muestra de fluido sinusal, en el que además el colector de muestras está completamente alojado dentro del extremo distal del cuerpo alargado en una posición retraída; y un control acoplado al vástago extensible, teniendo el control un primer punto prefijado en el que el colector de muestras está extendido distalmente fuera de una abertura distal de la región del extremo distal del cuerpo alargado una primera distancia entre 0,5 cm y 3 cm, teniendo el control un segundo punto prefijado, en el que el colector de muestras está retraído y alojado completamente dentro del extremo distal del cuerpo alargado, teniendo el control un tercer punto prefijado, en el que el colector de muestras está extendido distalmente fuera de la abertura distal de la región del extremo distal del cuerpo alargado una segunda distancia que es mayor que la primera distancia.

Cualquiera de estos dispositivos de muestreo nasal puede incluir un separador (que también puede ser una protuberancia, saliente, deflector, etc.) en el vástago extensible proximal al colector de muestras, en el que el separador está configurado para impedir que el colector de muestras entre en contacto con una superficie interna del cuerpo alargado cuando el colector de muestras está retraído en el extremo distal del cuerpo alargado. Centrar el colector de muestras de esta manera puede impedir que el colector de muestras se contamine por otras bacterias (por ejemplo, de regiones diferentes de la región de muestreo) por contacto con la carcasa externa del cuerpo alargado, que puede entrar en contacto con otras regiones; esto también puede impedir la liberación de forma prematura de material o limitar la cantidad de material alojado por el colector de muestras (por ejemplo, hisopo).

Cualquiera de los dispositivos de muestreo nasal descritos en el presente documento puede incluir un tope liberable configurado para impedir que el control seleccione el tercer punto prefijado hasta que el tope sea liberado. Puede usarse cualquier tope apropiado, incluyendo una región de interferencia entre el vástago extensible y el cuerpo alargado y/o mango, un retén, etc. Por ejemplo, el tope puede comprender un mango desmontable configurado para acoplarse de forma liberable a un extremo distal del vástago extensible. El tope puede incluir un conector liberable que conecta el vástago extensible al tope.

En general, las dimensiones del muestreo nasal pueden estar configuradas para uso dentro de los conductos nasales (por ejemplo, el seno) de modo que el colector de muestras puede extenderse en la región correcta del aparato para alcanzar la parte deseada del seno (por ejemplo la región del meato medio, la región del meato superior, la región del meato inferior, etc.). Tanto el ángulo del extremo distal del dispositivo con respecto a regiones más proximales así como el tamaño y la forma del dispositivo pueden estar configurados para permitir aplicación externa (a través de los orificios/fosas nasales) del dispositivo para muestrear la mucosa. Por ejemplo, la región del extremo distal del cuerpo alargado puede estar entre 1,5 y 3,5 cm de largo (por ejemplo, entre 1 y 5 cm de largo, entre 1 y 4 cm de largo, entre 1,5 y 4 cm de largo, entre 2 y 3 cm de largo, etc.). Análogamente, la región proximal del cuerpo alargado puede ser mayor que 1 cm de largo (por ejemplo, mayor que 1,5 cm, mayor que 2 cm, mayor que 3 cm, mayor que 4 cm, mayor que 5 cm, entre 1 cm y 30 cm, entre 1 cm y 20 cm, entre 1 cm y 15 cm, etc.).

Análogamente, el colector de muestras puede ser de cualquier tamaño apropiado (por ejemplo, entre 0,2 y 2 cm de largo, entre 0,4 y 1,5 cm de largo, entre 0,5 y 1,2 cm de largo, etc.). El vástago extensible puede ser de cualquier longitud apropiada (por ejemplo, mayor que 2 cm, mayor que 5 cm, mayor que 10 cm, entre 1 cm y 30 cm, entre 1 cm y 20 cm, entre 1 cm y 15 cm, entre 1 cm y 12 cm, etc.). El vástago extensible puede estar configurado (mediante funcionamiento del control) para extenderse desde la región del extremo distal del cuerpo alargado una cantidad predeterminada. Por ejemplo, tal como se ha mencionado anteriormente, en una posición de muestreo, el colector de muestras puede estar extendido desde el extremo distal entre 0,5 cm y 3 cm. En la configuración de elución, el vástago extensible se extiende lejos del cuerpo alargado más que en la configuración de muestreo. Esto puede conseguirse haciendo avanzar el vástago extensible con respecto al cuerpo alargado, o retrayendo la región del extremo distal del cuerpo alargado proximalmente, con respecto al vástago extensible, o en alguna variación retirando toda o una parte de la región del extremo distal del vástago alargado. Por ejemplo, en algunas variaciones, la distancia que el colector de muestras se extiende desde el cuerpo alargado en la configuración de elución (por ejemplo, la segunda distancia) puede ser de 1,0 cm o mayor que la primera distancia.

Tal como se describe en el presente documento, en general el colector de muestras puede ser un hisopo, incluyendo en particular un hisopo de guata de algodón. También puede ser beneficioso usar un hisopo que tiene extremos que

son ramificados (por ejemplo, bifurcados o divididos de forma múltiple).

En cualquiera de estas variaciones, el control en el dispositivo de muestreo nasal puede estar acoplado a un mango en el extremo proximal del dispositivo. Por ejemplo, cualquiera de estos aparatos puede incluir un cuerpo del mango que se extiende proximalmente desde el cuerpo alargado, en el que el vástago extensible se extiende a través del cuerpo alargado y al interior de un canal interno dentro del cuerpo del mango. El vástago extensible puede ser generalmente un vástago alargado flexible. El vástago extensible puede estar configurado para deslizarse dentro del cuerpo alargado.

De este modo, cualquiera de los dispositivos descritos en el presente documento puede incluir un control configurado como una barra deslizante. Otros ejemplos de controles pueden incluir diales, mandos giratorios, conmutadores, o similares. En algunas variaciones, un control que puede estar incluido (por ejemplo, además de una barra deslizante u otro control) puede ser un anillo para el dedo. En algunas variaciones, un control comprende puede ser un accionador de compresión configurado para ser comprimido para seleccionar el tercer punto prefijado en el que el colector de muestras está extendido distalmente fuera de la abertura distal de la región del extremo distal del cuerpo alargado la segunda distancia. En general, un control puede estar configurado para hacerle avanzar distalmente para seleccionar el primer punto prefijado en el que el colector de muestras está extendido distalmente fuera de una abertura distal de la región del extremo distal del cuerpo alargado la primera distancia. En algunas variaciones a control comprende un pulsador configurado para ser pulsado para seleccionar el tercer punto prefijado en el que el colector de muestras está extendido distalmente fuera de la abertura distal de la región del extremo distal del cuerpo alargado la segunda distancia.

Cualquiera de estos dispositivos descritos en el presente documento puede incluir un fiador configurado para bloquear el control en uno o más de: el primer punto prefijado, el segundo punto prefijado o el tercer punto prefijado (opcional).

Cualquiera de los dispositivos descritos en el presente documento puede incluir un indicador de profundidad configurado para visualizar una posición del colector de muestras a un usuario del dispositivo. La región del extremo distal puede estar configurado para tener una configuración abierta cuando el colector de muestras se hace avanzar fuera del extremo distal del cuerpo alargado, y una configuración cerrada cuando el colector de muestras está en la posición retraída.

Cualquiera de estos dispositivos también puede incluir un tope de profundidad para impedir que el dispositivo de muestreo se inserte a demasiada profundidad en una cavidad nasal y/o sinusal de un sujeto.

Por ejemplo, un dispositivo de muestreo nasal para obtener una muestra de secreción sinusal del seno de un sujeto puede incluir: un cuerpo alargado hueco que tiene una región del extremo distal que está doblada con respecto a una región proximal entre 15 grados y 30 grados; un colector de muestras en un extremo distal de un vástago extensible, en el que el colector de muestras está configurado para recoger una muestra de fluido sinusal, en el que, además, el colector de muestras está completamente alojado dentro del extremo distal del cuerpo alargado en una posición retraída; un control acoplado al vástago extensible, teniendo el control un primer punto prefijado en el que el colector de muestras está extendido distalmente fuera de una abertura distal de la región del extremo distal del cuerpo alargado una primera distancia entre 0,5 cm y 3 cm, teniendo el control un segundo punto prefijado, en el que el colector de muestras está retraído y alojado completamente dentro del extremo distal del cuerpo alargado, teniendo el control un tercer punto prefijado, en el que el colector de muestras está extendido distalmente fuera de la abertura distal de la región del extremo distal del cuerpo alargado una segunda distancia que es 1,0 cm o mayor que la primera distancia; y una proyección en el vástago extensible proximal al colector de muestras, en el que la proyección está configurada para impedir que el colector de muestras entre en contacto con una superficie interna del cuerpo alargado hueco cuando el colector de muestras está retraído en el extremo distal del cuerpo alargado.

También en el presente documento se describen métodos que incluyen métodos de uso de un dispositivo de muestreo nasal. Por ejemplo, un método para detectar una o más bacterias nasales en un paciente, usando un dispositivo de muestreo nasal que incluye un cuerpo alargado que tiene una región del extremo distal que está doblada con respecto a una región proximal entre 15 grados y 30 grados, un colector de muestras en un extremo distal de un vástago extensible, y un control acoplado al vástago extensible, teniendo el control un primer punto prefijado en el que el colector de muestras está extendido distalmente fuera de una abertura distal de la región del extremo distal del cuerpo alargado una primera distancia, teniendo el control un segundo punto prefijado, en el que el colector de muestras está retraído y alojado completamente dentro del extremo distal del cuerpo alargado, teniendo el control un tercer punto prefijado, en el que el colector de muestras está extendido distalmente fuera de la abertura distal de la región del extremo distal del cuerpo alargado una segunda distancia que es mayor que la primera distancia, puede incluir: hacer avanzar la región del extremo distal del dispositivo de muestreo nasal a través de una fosa nasal del paciente hasta que la región del extremo distal es adyacente a un meato medio de un seno; ajustar el control al primer punto prefijado para extender el colector de muestras al interior del meato medio, de modo que entre en contacto con un fluido de secreción en el meato medio; ajustar el control al segundo punto prefijado para retraer el colector de muestras completamente dentro del extremo distal; retirar el dispositivo de muestreo nasal fuera de las fosas nasales del paciente; y ensayar el fluido de secreción con un ensayo de

inmunoanálisis después de retirar el dispositivo de muestreo nasal.

El fluido de secreción puede ensayarse usando cualquiera de los métodos descritos anteriormente (por ejemplo, detectar de forma concurrente *H. influenzae*, *M. catarrhalis* y *S. pneumoniae* a partir de una muestra de la mucosa).

- 5 Por ejemplo, ensayar el fluido de secreción puede incluir ajustar el control al tercer punto prefijado, de modo que el colector de muestras esté extendido distalmente fuera de la abertura distal de la región del extremo distal del cuerpo alargado una segunda distancia que es mayor que la primera distancia y poner en contacto el colector de muestras con una solución tampón. Ensayar el fluido de secreción puede comprender poner en contacto el fluido de secreción con una solución de lisis. Por ejemplo, ensayar el fluido de secreción puede comprender poner en contacto el fluido de secreción con una solución de lisis que comprende tanto un agente osmótico como un tensioactivo aniónico. En algunas variaciones, ensayar el fluido de secreción comprende poner en contacto el fluido de secreción con una solución de lisis que comprende lauroil sarcosinato sódico y sacarosa para formar un fluido de muestra y poner en contacto el ensayo de inmunoanálisis con el fluido de muestra. Ensayar el fluido de secreción puede comprender ensayar el fluido de secreción con uno o más agentes que se unen a: un antígeno específico de *H. influenzae*, un antígeno específico de *M. catarrhalis*, o un antígeno específico de *S. pneumoniae*. Ensayar el fluido de secreción puede comprender ensayar el fluido de secreción con uno o más agentes que se unen a cada uno de: un antígeno específico de *H. influenzae*, un antígeno específico de *M. catarrhalis*, o un antígeno específico de *S. pneumoniae*.

- 20 También en el presente documento se describen sistemas para detectar sinusitis bacteriana que generalmente incluyen un dispositivo de muestreo de la mucosa tal como se describe en el presente documento y cualquiera de los análisis/kits descritos en el presente documento. Por ejemplo, un sistema para detectar sinusitis bacteriana puede incluir un dispositivo de muestreo nasal para obtener una muestra de secreción sinusal del seno de un sujeto, en el que el dispositivo de muestreo nasal incluye: un cuerpo alargado que tiene una región del extremo distal que está doblada con respecto a una región proximal entre 15 grados y 30 grados; un colector de muestras en un extremo distal de un vástago extensible, en el que el colector de muestras está configurado para recoger una muestra de fluido sinusal, en el que además el colector de muestras está completamente alojado dentro del extremo distal del cuerpo alargado en una posición retraída; un control acoplado al vástago extensible, teniendo el control un primer punto prefijado en el que el colector de muestras está extendido distalmente fuera de una abertura distal de la región del extremo distal del cuerpo alargado una primera distancia, teniendo el control un segundo punto prefijado, en el que el colector de muestras está retraído y alojado completamente dentro del extremo distal del cuerpo alargado, teniendo el control un tercer punto prefijado, en el que el colector de muestras está extendido distalmente fuera de la abertura distal de la región del extremo distal del cuerpo alargado una segunda distancia que es mayor que la primera distancia; y un kit de inmunoanálisis para detectar al menos una cepa bacteriana asociada con infecciones por sinusitis bacteriana.

- 35 El kit de inmunoanálisis puede incluir un tampón de lisis que comprende tanto un tensioactivo aniónico como un agente osmótico, tal como un tensioactivo aniónico entre el 0,01 % y el 5 % (p/p) y un agente osmótico entre el 0,1 % y el 15 % (p/p). En algunas variaciones, el kit de inmunoanálisis puede comprender un tampón de lisis que comprende Sarkosyl y sacarosa.

- 40 En cualquiera de estas variaciones, el kit de inmunoanálisis puede incluir un cartucho, y el cartucho puede incluir una entrada de muestra para depositar una muestra, una almohadilla de muestra sobre la que se absorbe la muestra antes de la elución, una almohadilla de conjugado que contiene al menos un anticuerpo complejoado con un marcador detectable, una almohadilla detectora que comprende al menos una zona, en la que la zona comprende anticuerpos dirigidos a al menos un antígeno bacteriano unido a la almohadilla detectora, y una ventana de visualización para ver los resultados del análisis.

- 50 El kit de inmunoanálisis puede comprender un cartucho que comprende una entrada de muestra para depositar una muestra, una almohadilla de muestra sobre la que se absorbe la muestra antes de la elución, una almohadilla de conjugado que contiene una pluralidad de anticuerpos complejados con un marcador detectable, una almohadilla detectora que comprende una pluralidad de diferentes zonas, en la que cada zona comprende anticuerpos dirigidos a al menos un antígeno bacteriano unido a la almohadilla detectora, y una ventana de visualización para visualizar una o más de las zonas de la almohadilla detectora. El kit puede incluir un dispositivo de muestreo con un separador en el vástago extensible proximal al colector de muestras, en el que el separador está configurado para impedir que el colector de muestras entre en contacto con una superficie interna del cuerpo alargado cuando el colector de muestras está retraído en el interior del extremo distal del cuerpo alargado.

- 60 Un sistema para detectar sinusitis bacteriana puede incluir: un dispositivo de muestreo nasal para obtener una muestra de secreción sinusal del seno de un sujeto, en el que el dispositivo de muestreo nasal incluye: un cuerpo alargado que tiene una región del extremo distal que está doblada con respecto a una región proximal entre 15 grados y 30 grados; un colector de muestras en un extremo distal de un vástago extensible, en el que el colector de muestras está configurado para recoger una muestra de fluido sinusal, en el que además el colector de muestras está completamente alojado dentro del extremo distal del cuerpo alargado en una posición retraída; un control acoplado al vástago extensible, teniendo el control un primer punto prefijado en el que el colector de muestras está extendido distalmente fuera de una abertura distal de la región del extremo distal del cuerpo alargado una primera distancia, teniendo el control un segundo punto prefijado, en el que el colector de muestras está retraído y alojado

- completamente dentro del extremo distal del cuerpo alargado, teniendo el control un tercer punto prefijado, en el que el colector de muestras está extendido distalmente fuera de la abertura distal de la región del extremo distal del cuerpo alargado una segunda distancia que es mayor que la primera distancia; y un kit de inmunoanálisis para detectar múltiples cepas bacterianas asociadas con infecciones por sinusitis bacteriana, comprendiendo el kit un tampón de lisis que comprende tanto un tensioactivo aniónico entre el 0,01 % y el 5 % (p/p) como un agente osmótico entre el 0,1 % y el 15 % (p/p).

Breve descripción de los dibujos

- La figura 1 es una ilustración de un seno sano y un seno que muestra síntomas de sinusitis.
La figura 2 es una imagen de escaneo por TC de un paciente que exhibe síntomas de sinusitis.
Las figuras 3A-3F muestran un ejemplo de un método para muestrear un seno de acuerdo con algunas realizaciones.
Las figuras 4A-4C ilustran aspectos de un dispositivo configurado para muestrear un seno de acuerdo con algunas realizaciones.
Las figuras 5A-5C ilustran aspectos de un dispositivo configurado para muestrear un seno de acuerdo con algunas realizaciones.
Las figuras 6A-6C ilustran aspectos de un dispositivo configurado para muestrear un seno de acuerdo con algunas realizaciones.
Las figuras 7A-7C ilustran aspectos de un dispositivo configurado para muestrear un seno de acuerdo con algunas realizaciones.
Las figuras 8A-8C ilustran aspectos de un dispositivo configurado para muestrear un seno de acuerdo con algunas realizaciones.
Las figuras 9A-9C ilustran aspectos de un dispositivo configurado para muestrear un seno de acuerdo con algunas realizaciones.
Las figuras 10A-10D ilustran aspectos de un dispositivo configurado para muestrear un seno de acuerdo con algunas realizaciones.
Las figuras 11A-11C ilustran aspectos de un dispositivo configurado para muestrear un seno de acuerdo con algunas realizaciones.
Las figuras 12A-12E ilustran aspectos de un dispositivo configurado para muestrear un seno de acuerdo con algunas realizaciones.
Las figuras 13A-13E ilustran aspectos de un dispositivo configurado para muestrear un seno de acuerdo con algunas realizaciones.
Las figuras 14A-14E ilustran aspectos de un dispositivo configurado para muestrear un seno de acuerdo con algunas realizaciones.
La figura 15A es una representación del lado lateral de otra variación de un dispositivo configurado para muestrear a partir de un seno.
La figura 15B es una representación del lado posterior del dispositivo ensamblado de la figura 15A.
Las figuras 15C y 15D muestran vistas parcialmente en despiece ordenado del lado lateral y el frente del dispositivo de la figura 15A.
La figura 16 es un ejemplo de un extremo proximal de un colector de muestras que está insertado en un extremo distal de la parte del cuerpo principal.
La figura 17A ilustra una variación de un extremo distal de un colector de muestras y un manguito correspondiente en el que el colector de muestras puede estar alojado. También se muestra al menos un acoplador que une el manguito al cuerpo principal del dispositivo.
FIG. 17B ilustra una configuración alternativa para el al menos un acoplador que une el manguito al cuerpo principal del dispositivo.
La figura 18A muestra una vista en despiece ordenado de una variación de un extremo distal de un mango y un extremo proximal de una región del cuerpo principal.
La figura 18B ilustra un extremo distal de un anillo para el pulgar que está separado de un extremo proximal de una región del cuerpo principal del dispositivo, similar a la vista de la figura 18A. La región de controlador de anillo para el pulgar en el extremo distal (lado izquierdo de las figuras 18A y 18B) puede estar acoplada en el extremo distal de la región del cuerpo principal.
La figura 19 ilustra un manguito para alojar el extremo distal del hisopo. Tanto el manguito (cubierta protectora) como el colector de muestras (que incluye el hisopo) están doblados de una manera predefinida tal como se describe en el presente documento.
La figura 20 muestra un extremo proximal del colector de muestras acoplado con el extremo distal del cuerpo principal.
La figura 21 ilustra una región del extremo proximal de un colector de muestras que se acopla con el mango.
La figura 22 ilustra otra variación de un dispositivo de muestreo que tiene un acoplador y retén liberable (por ejemplo fiador liberable, o fiador de liberación) en el cuerpo principal para encajar con el mango distal.
La figura 23A muestra un acoplador (mostrado como un acoplador de encaje por presión) en el mango y un canal de acoplamiento correspondiente en el cuerpo principal.
La figura 23B es una vista alternativa del acoplador del mango y un canal de acoplamiento correspondiente en el cuerpo principal.
La figura 23C es otra vista de un acoplador del mango y un canal de acoplamiento correspondiente en el cuerpo

principal.

Las figuras 24A-24D muestran esquemas de un ejemplo de un análisis de flujo lateral (que tiene dos lecturas de detección, por ejemplo, para dos conjuntos de anticuerpos) y componentes. La figura 24A muestra una carcasa de análisis, una almohadilla de muestra para aceptar la muestra, una almohadilla de conjugado que contiene el primer anticuerpo con molécula detectora complejada, una almohadilla de detección junto con la cual la muestra se desplazará y entrará en contacto con zonas de segundos anticuerpos correspondientes unidos a la almohadilla de detección para cada antígeno de interés. La figura 24B muestra una muestra sobre la almohadilla de muestra, el conjunto de primeros anticuerpos sobre la almohadilla de conjugado, y zonas sobre la almohadilla de detección que alojan diferentes anticuerpos. La figura 24C muestra una solución de elución (oscura) que se desplaza por la almohadilla de detección y pone primeros anticuerpos-molécula detectora acoplados a antígenos correspondientes en contacto con el segundo conjunto de anticuerpos. La figura 24D muestra el análisis completado donde los primeros anticuerpos-molécula detectora acoplados a antígenos correspondientes también están unidos ahora a los segundos anticuerpos correspondientes para cada antígeno diferente de interés.

Las figuras 25A-25K ilustran el funcionamiento de un colector de muestras tal como se describe en el presente documento.

La figura 26 ilustra esquemáticamente una variación de un análisis similar al análisis mostrado en las figuras 24A-24D para diagnosticar la sinusitis.

La figura 27 es una tabla que ilustra la eficacia de diversos tampones de lisis sobre tres de los tipos de bacterias que serán examinadas de forma concurrente por los aparatos y métodos descritos en el presente documento.

La figura 28 es una tabla que ilustra dos ejemplos de tampones de lisis compatibles para la detección concurrente de múltiples tipos celulares diferentes (por ejemplo, M.cat, S.pneumo y H.flu) tal como se describe en el presente documento.

La figura 29 es una tabla que ilustra dos tampones de dilución ejemplares compatibles para la detección concurrente de múltiples tipos celulares diferentes tal como se describe en el presente documento. En estos ejemplos, el tampón de lisis nº 1 (a la izquierda de la figura 28) se usó con el tampón de dilución nº 1 (a la izquierda de la figura 29), y el tampón de lisis nº 2 (a la derecha en la figura 28) se usó con el tampón de dilución nº 2 (a la derecha en la figura 29).

Las figuras 30A-30C ilustran la detección de cada uno de S.pneumo, M.cat y H.flu, respectivamente, usando los kits y métodos descritos en el presente documento. La concentración de células detectadas (expresada como unidades formadoras de colonias (UFC/muestra) en este prototipo muestra umbrales para detección visual a partir de un análisis de flujo lateral ejemplar tal como el ilustrado en las figuras 24A-24D y 26. La figura 30A ilustra que el análisis prototipo detectó el antígeno PsaA (el marcador de la superficie celular para S.pneumo) a concentraciones bacterianas que varían entre 10^3 - 10^7 por 100 μ l de muestra con resolución a 1×10^4 . La figura 30B ilustra que el análisis prototipo detectó el antígeno CD (un marcador de la superficie celular para M.cat) a concentraciones bacterianas que varían entre 10^4 - 10^7 por 100 μ l de muestra con buena resolución a 1×10^5 . La figura 30C ilustra que el análisis prototipo detectó el antígeno OMP-P5 (un marcador de la superficie celular para H.flu) a concentraciones bacterianas que varían entre 10^5 - 10^7 por 100 μ l de muestra con buena resolución a 2×10^5 .

La figura 31 es un ejemplo de un cartucho que tiene un único sustrato en fase sólida (que combina tres análisis independientes, cada uno para un tipo bacteriano diferente) que puede ensayar simultáneamente la presencia de cada uno de tres tipos diferentes de bacterias.

La figura 32 es un ejemplo de un cartucho configurado para ensayar simultáneamente la presencia de cada uno de tres tipos diferentes de bacterias en paralelo; el cartucho incluye tres sustratos en fase sólida independientes y tres trayectorias fluidicas. Aunque el ejemplo mostrado en la figura 32 incluye tres orificios de entrada independientes, puede usarse un único orificio que tiene tres trayectorias fluidicas.

Descripción detallada

En el presente documento se desvelan aparatos (incluyendo dispositivos, sistemas, kits y análisis) y métodos para diagnosticar la sinusitis, que incluyen obtener una muestra de fluido sinusal de un paciente y/o determinar si el paciente está infectado con uno o más de *H. influenzae* (H.flu), *M. catarrhalis* (M.cat) y *S. pneumoniae* (S.pneumo). Por ejemplo, en el presente documento se describen dispositivos de muestra para muestrear de forma precisa y rápida fluido sinusal dentro del seno, tal como el meato medio o el seno maxilar, y análisis para ensayar rápidamente esta muestra para determinar la presencia de bacterias, virus y otras enfermedades de interés. El rápido diagnóstico de la presencia o ausencia de las enfermedades de interés puede mejorar el tratamiento del paciente.

La figura 1 ilustra una comparación entre un seno sano y un seno con sinusitis. La sinusitis puede causar un exceso de mucosidad en el seno frontal y el seno maxilar. Otros síntomas pueden incluir inflamación del revestimiento sinusal e infección del seno. La figura 2 ilustra una imagen de TC de un paciente con sinusitis crónica. Las flechas indican los senos congestionados típicos de la sinusitis crónica.

El ensayo del fluido mucoso/sinusal dentro del seno, tal como el meato medio o el seno maxilar, puede ayudar a diagnosticar la afección que causa los síntomas incómodos en el paciente. El fluido sinusal puede indicar una infección bacteriana, infección vírica, o proporcionar otra información para ayudar a diagnosticar y formular un tratamiento terapéutico eficiente y eficaz. Otros ejemplos de zonas de los senos que pueden ensayarse usando los dispositivos y métodos desvelados en el presente documento son los senos frontales, senos maxilares, senos

etmoidales y senos esfenoidales. Los dispositivos desvelados en el presente documento también pueden tener una geometría en punta configurada para hacerles avanzar en otros pasajes dentro del cuerpo. Por ejemplo, los dispositivos pueden estar configurados para recoger una muestra de la región nasofaríngea, el conducto esofágico, desde el oído medio y otras partes de la anatomía que un experto en la materia querría muestrear.

Las figuras 3A-3D muestran un ejemplo de un método para muestrear un seno de acuerdo con algunas realizaciones. Las figuras 3A-3D incluyen una ilustración esquemática de una parte de un seno 100 que incluye las fosas nasales 102, el meato medio 103, orificio del seno maxilar 104, seno maxilar 106 y fluido sinusal 108 dentro del seno maxilar 106. La figura 3B es una ilustración esquemática de una parte de un dispositivo de muestreo 110. Cualquiera de los dispositivos de muestreo desvelados en el presente documento puede usarse como el dispositivo de muestreo 110 tal como se ilustra en las figuras 3A-3D. El dispositivo de muestreo 110 incluye una parte distal configurada para hacerle avanzar a través de las fosas nasales 102 hasta una zona adyacente al meato medio 103 y el seno maxilar 104 tal como se muestra en la figura 3B. Después de que se ha hecho avanzar el dispositivo de muestreo 110 hasta una zona deseada adyacente al meato medio 103, se puede hacer avanzar el colector de muestras 112 distalmente hasta contactar con y muestrear fluido sinusal en el meato medio 103 tal como se muestra en la figura 3C. Después de que se ha obtenido la muestra del fluido sinusal por el colector de muestras 112, el colector de muestras 112 puede retraerse de vuelta al interior del dispositivo de muestreo 110. Después de que el colector de muestras 112 ha sido retraído de vuelta al interior del dispositivo de muestreo 110, el dispositivo de muestreo 110 puede ser retirado de las fosas nasales 102 tal como se muestra en la figura 3D. El dispositivo de muestreo 110 puede usarse para muestrear cualquiera de las fosas nasales.

Después de que el fluido sinusal ha sido muestreado usando el dispositivo de muestreo 110, la muestra de fluido sinusal puede ensayarse. La figura 3E ilustra un ejemplo de un kit que puede incluir un dispositivo de muestreo tal como se describe en el presente documento. El kit puede incluir una solución de lisis (por ejemplo, tampón o tampón de lisis) 150, ensayo de diagnóstico 152, y envase 154 además del colector de muestras. Tal como se describirá con más detalle a continuación, se puede hacer avanzar distalmente un colector de muestras 112 que contiene una muestra de fluido sinusal tal como se describe en el presente documento, y colocarse en contacto con la solución de tampón de lisis 150 para formar la solución de muestra en la que células bacterianas (y en particular *H. influenzae*, *M. catarrhalis* y *S. pneumoniae*) se lisan para dejar expuestos marcadores que pueden ser detectados mediante el análisis. De este modo, una alícuota de la solución de muestra puede aplicarse al ensayo de diagnóstico 152. El ensayo de diagnóstico 152 puede producir un cambio de color u otra indicación visible para el facultativo médico para indicar un resultado positivo o negativo para una o más de las bacterias ensayadas (por ejemplo, para sinusitis, *H. influenzae*, *M. catarrhalis* y *S. pneumoniae*). La figura 3F ilustra un ejemplo de un ensayo de diagnóstico 156 con tres ensayos diferentes (uno para cada uno de *H. influenzae*, *M. catarrhalis* y *S. pneumoniae*) y un control. La figura 3F ilustra un ejemplo de respuestas positivas para los tres ensayos diferentes y el control. En general, un ensayo de diagnóstico 152 puede contener una pluralidad de ensayos de inmunoanálisis. Los ensayos pueden proporcionar resultados rápidos del orden de 1-30 minutos (por ejemplo, 5-20 min, 5-17 min, 5-15 min, etc.). Otras configuraciones pueden usarse para los ensayos de inmunoanálisis, por ejemplo múltiples tiras reactivas pueden estar incluidas en el ensayo de diagnóstico 152 con cada tira reactiva ensayando para un patógeno diferente en cada tira, o puede usarse alguna variación de un único análisis secuencial y uno o más análisis paralelos. En algunas realizaciones, el ensayo de diagnóstico incluye ensayos para dos o más patógenos. En algunas realizaciones, el ensayo de diagnóstico incluye ensayos para tres o más patógenos. En algunas realizaciones, el ensayo de diagnóstico incluye ensayos para cuatro o más patógenos.

En algunas realizaciones, los ensayos de inmunoanálisis pueden incluir afecciones comunes implicadas en sinusitis, tales como estreptococo A, gripe A, y gripe B. En algunas realizaciones, los ensayos de inmunoanálisis pueden incluir estreptococo A. En algunas realizaciones los ensayos de inmunoanálisis pueden incluir gripe A. En algunas realizaciones, los ensayos de inmunoanálisis pueden incluir gripe B.

En algunas realizaciones, los ensayos de diagnóstico pueden incluir ensayos de sinusitis bacteriana. Ejemplos of patógenos de sinusitis bacteriana incluyen: *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* y *Streptococcus pneumoniae*. Otros ejemplos de ensayos de diagnóstico que pueden usarse con los dispositivos kits y métodos desvelados en el presente documento incluyen la publicación de patente de Estados Unidos N.º 2014/0314876 de Das y col., titulada "Proteomics Based Diagnostic Detection Method for Chronic Sinusitis", cuya divulgación se incorpora como referencia en el presente documento en su totalidad.

Los dispositivos de recogida de muestras desvelados en el presente documento pueden incluir una punta distal que está configurada para hacerla avanzar dentro de la fosa nasal del paciente. La punta distal puede incluir una doblez que está configurada para alinearse con la anatomía de la mayoría de los pacientes, tal como el meato medio. En algunos casos, la doblez tiene un ángulo de aproximadamente 10 grados a aproximadamente 30 grados con respecto a un eje mayor del dispositivo. En algunas realizaciones, la punta distal puede ser flexible. La punta distal puede estar hecha de un material blando, biocompatible y plegable, tal como un polímero. En algunas realizaciones la punta distal puede estar hecha de silicona. Otros ejemplos de polímeros biocompatibles incluyen elastómero termoplástico (TPE), vulcanizados termoplásticos (TPV), poliolefinas termoplásticas (TPO), polímeros de uretano termoplásticos (TPU), etc. Ejemplos específicos de polímeros que pueden usarse para la punta distal también incluyen Kraton, Versaflex, Santoprene, etc. También pueden usarse otros polímeros biocompatibles conocidos por

el experto en la materia. En algunas realizaciones, la punta distal puede estar hecha de metal. Puede ser deseable (aunque no necesario) tener una dureza del material de entre aproximadamente Durometer Shore A90 y D 85.

- La punta distal puede tener un extremo abierto. En algunas realizaciones, la punta distal incluye un extremo distal cubierto o cerrado. El extremo distal cubierto o cerrado puede abrirse con el avance distal del colector de muestras. En algunas realizaciones, la cubierta puede estar diseñada para ser perforada por el colector de muestras. En algunas realizaciones la cubierta puede estar diseñada para abrirse y cerrarse para reducir la probabilidad de contaminación del colector de muestras. En algunas realizaciones, la cubierta o el extremo distal pueden estar diseñados para abrirse de forma liberable. Por ejemplo, la cubierta o el extremo distal pueden tener una abertura modelada según un patrón. El colector de muestras puede ser empujado a través de la abertura modelada según un patrón y la abertura modelada según un patrón puede cerrarse después de que el colector de muestras esté retraído. El extremo distal o cubierta cerrada puede prevenir contaminación del colector de muestras cuando se hace avanzar el dispositivo a través de la fosa nasal o se retrae fuera del paciente después de que se ha tomado la muestra. En algunas realizaciones, la punta distal puede tener un extremo distal abierto.
- Se puede hacer avanzar el colector de muestras pasado distalmente un extremo distal de la punta distal para tomar una muestra de fluido sinusal u otro fluido diana. El colector de muestras puede ser un hisopo o contener otro material absorbente que pueda recoger y alojar fluido. El avance del colector de muestras puede realizarse usando un accionador. En algunas realizaciones, el accionador puede ser una barra deslizante o una pluralidad de barras deslizantes. En algunas realizaciones, una parte de mango encajada con el colector de muestras puede usarse para hacer avanzar y retraer el colector de muestras. En algunas realizaciones, la muestra de mucosidad puede recogerse usando presión negativa. Por ejemplo, el accionador puede crear una presión negativa en el entorno que rodea a la punta distal de modo que la muestra de mucosidad fluya al interior del colector de muestras.
- El dispositivo puede incluir un seguro o fiador para reducir el avance involuntario del colector de muestras mientras el dispositivo está en la fosa nasal del paciente. Por ejemplo, se puede requerir que un botón o barra deslizante sea pulsado para permitir el avance adicional del accionador. En algunas realizaciones, se puede requerir que la propia barra deslizante sea pulsada antes de que pueda deslizarse. En algunos casos, el seguro puede ser un fiador que puede desactivarse antes de hacer avanzar más el colector de muestras. En algunas realizaciones, la barra deslizante puede incluir dos barras deslizantes que son pulsadas simultáneamente para permitir el movimiento del accionador. En algunos casos, el accionador puede moverse a lo largo de una pista con muescas para capturar o detener el accionador en la posición de muestreo y la posición de solución de muestra. En algunos casos, el accionador puede moverse a lo largo de una pista con una configuración de tipo escalera que requiere desplazar el accionador en una posición de detención antes de hacer avanzar más o retraer el accionador.
- En algunas realizaciones, los dispositivos pueden ser accionados usando una sola mano. Por ejemplo, una parte del dispositivo se puede sujetar con uno o más dedos mientras que el accionador o el extremo proximal del dispositivo puede sujetarse y accionarse usando el pulgar. Los dispositivos pueden estar configurados para uso ambidextro. Por ejemplo, el dispositivo puede estar diseñado de forma ergonómica para adaptarse al uso con la mano izquierda y la mano derecha. El profesional médico puede usar cualquier mano que prefiera para accionar el dispositivo. En algunas realizaciones, el dispositivo puede ser accionado con ambas manos. Por ejemplo, el técnico de laboratorio puede preferir usar ambas manos para extender el colector de muestras para procesamiento.
- El dispositivo puede incluir un marcador para indicar la orientación del dispositivo, tal como la dirección de la doblez en el extremo distal. El marcador puede indicar la dirección lateral y/o las fosas nasales izquierda o derecha. El marcador puede incluir una parte coloreada del dispositivo, una etiqueta en el dispositivo, o una proyección en el exterior del dispositivo que indica la orientación de la doblez en el extremo distal.
- El dispositivo puede usarse para tomar una muestra de cualquier orificio nasal. La orientación de todo el dispositivo se puede hacer girar aproximadamente 180 grados para uso en el otro orificio nasal. En algunas realizaciones, el dispositivo puede tener una parte giratoria que se puede hacer girar, por ejemplo 180 grados, de modo que el dispositivo pueda usarse para el otro orificio nasal. Por ejemplo, la parte distal de la punta se puede hacer girar con respecto al mango del dispositivo.
- El dispositivo puede tener una construcción de múltiples piezas. El colector de muestras puede ser parte de un mango amovible. En algunos casos, una parte del mango puede retirarse antes de ser capaces de dejar expuesto el colector de muestras a la solución de muestra. En algunas realizaciones, una parte de la cubierta distal puede retirarse para acceder al colector de muestras.
- Los dispositivos descritos en el presente documento pueden usarse con un endoscopio para proporcionar orientación y visualización adicionales para ayudar al profesional sanitario con la obtención de una muestra a partir de la ubicación deseada.
- Después de obtener la muestra, el dispositivo puede retirarse del paciente seguido por poner en contacto el colector de muestras con una solución de muestra. Se puede hacer avanzar el colector de muestras distalmente pasado el extremo distal para poner en contacto el colector de muestras con la solución de muestra. En algunas realizaciones,

el colector de muestras puede retirarse proximalmente a través de un interior del dispositivo seguido por poner en contacto el colector de muestras con la solución de muestra. En algunas realizaciones, se puede tirar hacia atrás de la cubierta distal para dejar expuesto el colector de muestras. En algunas realizaciones, la cubierta distal puede tener una construcción de múltiples piezas, de modo que la cubierta pueda retirarse para dejar expuesto el colector de muestras. En algunas realizaciones, puede usarse una barra deslizante independiente para hacer avanzar el colector de muestras hasta una posición de solución de muestra para contacto con la solución de muestra.

El dispositivo puede incluir un indicador de profundidad para proporcionar información al usuario respecto a la ubicación del colector de muestras, tal como la distancia que se ha hecho avanzar el colector de muestras.

En algunas realizaciones, el dispositivo puede incluir un tope o guarda configurado para encajar con el exterior de la nariz/orificio nasal para impedir el avance adicional del dispositivo. En algunas realizaciones, el tope o guarda puede ser retirado por el profesional sanitario para proporcionar orientación visual adicional y holgura para un endoscopio.

Los dispositivos pueden tener una posición retraída naturalmente. Por ejemplo, un elemento de compresión podría proporcionar una fuerza de apoyo para mantener el colector de muestras en la posición retraída. El elemento de compresión podría tirar del colector de muestras proximalmente después de obtener la muestra en ausencia de una fuerza de accionamiento aplicada por el usuario.

En algunas realizaciones, el dispositivo de mano puede estar configurado para ser desechable después de obtener un fluido de muestra del paciente. En algunas realizaciones, los dispositivos de mano pueden estar configurados para ser reutilizables. Por ejemplo, el dispositivo podría esterilizarse después de obtener un fluido de muestra y usarse para la posterior recogida de muestras de un segundo paciente. En algunas realizaciones, el mango puede estar diseñado para reutilizarlo y un nuevo colector de muestras u otra parte puede estar combinado con el mango para formar un dispositivo para obtener una muestra de un segundo paciente. El colector de muestras podría proporcionarse por separado como un cartucho de un solo uso que se usará con el mango esterilizado.

El colector de muestras puede incluir una estructura para facilitar la apertura y/o el cierre de una cubierta distal. Por ejemplo, aletas o un resalte pueden estar ubicados adyacentes al colector de muestras para abrir empujando la cubierta distal y para mantener la cubierta distal abierta durante la retracción para impedir la pérdida de muestra causada por que la cubierta distal exprima el colector de muestras.

Las figuras 4-14 ilustran aspectos de diversas realizaciones de los dispositivos de recogida de muestras de mano desvelados en el presente documento.

Las figuras 4A-4C ilustran aspectos de un dispositivo configurado para muestrear un seno de acuerdo con algunas realizaciones. Las figuras 4A-4C ilustran un colector de muestras de mano 200 con una sección distal 202 y una sección proximal 204. La sección distal 202 incluye un extremo distal 206 configurado para ser introducido a través de las fosas nasales del paciente. La sección proximal 204 está configurada para deslizarse con respecto a la sección distal 202 para mover el colector de muestras 210, ilustrado como un hisopo, con respecto al extremo distal 206. El dispositivo 200 está configurado para agarrarlo con una mano humano y con un asidero para el dedo 212 en la parte distal 202 y un asidero para el pulgar 214 en la parte proximal 204. El dispositivo 200 puede accionarse con una mano, de modo que el movimiento de un pulgar sobre el asidero para el pulgar 214 pueda hacer avanzar la parte proximal 204 con respecto a la parte distal 202. El dispositivo 200 incluye una abertura o ventana 216, de modo que pueda observarse un vástago 218 de la parte proximal 204. La ventana 216 también puede usarse para proporcionar información sobre orientación al usuario, tal como la dirección lateral del dispositivo. El dispositivo ilustrado 200 incluye un indicador de profundidad 220 que ayuda al operador a determinar la posición del colector de muestras 210. La parte distal 206 se puede hacer avanzar a través de las fosas nasales hasta la ubicación diana seguida por hacer avanzar la parte proximal 204 y el colector de muestras 210 con respecto a la parte distal 206 hasta contactar con el fluido sinusal. Después de que se ha recogido la muestra, el colector de muestras 210 se retrae de vuelta al interior de la parte distal 206 del dispositivo 200 para proteger el colector de muestras 210 de los senos mientras se retira el dispositivo 200. Después de que el colector de muestras 210 ha sido retraído dentro del dispositivo 200, el dispositivo 200 puede ser retirado del paciente. La parte proximal 204 puede retraerse proximalmente con respecto a la parte distal 202 para separar completamente la parte proximal 204 y la parte distal 202 para ensayo de muestras, tal como se muestra en la figura 4C. La parte proximal 204 y el colector de muestras 210 pueden manipularse para el ensayo y el procesamiento de muestras. El colector de muestras 210 con la muestra sinusal puede ensayarse usando los métodos de ensayo de diagnóstico rápido desvelados en el presente documento.

Las figuras 5A-5C ilustran aspectos de un dispositivo configurado para muestrear un seno de acuerdo con algunas realizaciones. Las figuras 5A-5C ilustran un colector de muestras de mano 300 con una sección distal 302 y una sección proximal 304. La sección distal 302 incluye un extremo distal 306 configurado para ser introducido a través de las fosas nasales del paciente. Un elemento de compresión/de resorte 308 encaja con un vástago 310 conectado al colector de muestras 312. La sección distal 302 incluye marcadores de situación 314. El marcador de situación 314 puede incluir un marcador para proporcionar una orientación del dispositivo al usuario, tal como la marca "L" en el dispositivo 300 que indica la dirección lateral. Un indicador de profundidad 315 puede estar incluido en la sección

distal 302 para proporcionar información de situación de profundidad al usuario. El dispositivo 300 se puede agarrar usando el asidero para el dedo 316 y el elemento de compresión 308. El elemento de compresión 308 puede ser empujado hacia delante para hacer avanzar el vástago 310 y el colector de muestras 312 distalmente con respecto a la parte distal 302 tal como se muestra en la figura 5B para recuperar una muestra de fluido sinusal. El elemento de compresión 308 proporciona una fuerza para retraer el colector de muestras 312 proximalmente en ausencia de una fuerza aplicada por el usuario. El elemento de compresión 308 puede funcionar como una retracción automática del colector de muestras 312 después de que se ha recuperado una muestra de fluido sinusal. El elemento de compresión 308 puede ser empujado completamente hacia delante para poner en contacto el colector de muestras 312 con la solución de muestra tal como se muestra en la figura 5C. Empujar el colector de muestras 312 distalmente fuera del dispositivo puede minimizar pérdidas del fluido sinusal recogido.

Las figuras 6A-6C ilustran aspectos de un dispositivo configurado para muestrear un seno de acuerdo con algunas realizaciones. Las figuras 6A-6C ilustran un colector de muestras de mano 400 con una sección distal 402 y una sección proximal 404. La sección distal 402 incluye un extremo distal 406 configurado para ser introducido a través de las fosas nasales del paciente. El extremo distal 406 se puede hacer avanzar y retraerse por un accionador, tal como la barra deslizante 408. La barra deslizante 408 puede deslizarse a lo largo del cuerpo de la sección proximal 404. La sección proximal 404 incluye un asidero para el dedo 410 y un asidero para el pulgar 411. El asidero para el pulgar 411 puede ser empujado para hacer avanzar el colector de muestras 412 tal como se ilustra en la figura 6B. El asidero para el pulgar 411 puede retraerse en ausencia de una fuerza aplicada para retraer el colector de muestras de vuelta dentro de la parte distal 406. La barra deslizante 408 puede retraer adicionalmente el extremo distal 406 para dejar expuesto el colector de muestras 412 tal como se muestra en la figura 6C para contacto con una solución de muestra mientras se minimiza la pérdida de muestra. La barra deslizante 408 puede proporcionar orientación del extremo distal 406 al usuario. Por ejemplo, el extremo distal puede curvarse en la misma dirección/lado que la ubicación de la barra deslizante tal como se muestra en el dispositivo 400. Los salientes 414 en la parte distal 406 pueden funcionar como un indicador de profundidad para proporcionar información adicional de situación y orientación al usuario.

Las figuras 7A-7C ilustran aspectos de un dispositivo configurado para muestrear fluido sinusal de acuerdo con algunas realizaciones. El colector de muestras de mano 500 incluye una sección distal 502 y una sección proximal 504. La sección distal 502 incluye un extremo distal 506 con una cubierta externa 508 que tiene una sección del extremo distal cortada según un patrón 510 que permite que el colector de muestras 512 avance distalmente pasada la cubierta 508. La cubierta 508 puede estar hecha de un material flexible y biocompatible tal como silicona. El dispositivo 500 incluye un asidero para el dedo 514 y un asidero para el pulgar 516. El asidero para el pulgar 516 se puede hacer avanzar para empujar el colector de muestras 512 distalmente pasada la cubierta 508 tal como se muestra en la figura 7B. El colector de muestras 512 avanza pasada la sección del extremo distal cortada según un patrón 510 hasta contactar con el fluido sinusal. El colector de muestras 512 se puede retraer y cubrir mientras se retira el dispositivo del dispositivo para impedir contaminar el colector de muestras con mucosidad de zonas más allá del fluido sinusal diana. El asidero para el pulgar 516 puede incluir marcas o una sección coloreada 518 para proporcionar información de orientación al usuario, tal como la dirección de la doblez en la sección distal 502. La cresta 520 en la sección distal 502 puede funcionar como un indicador de profundidad para proporcionar información de situación y orientación adicional al usuario. Se puede tirar hacia atrás de la cubierta 508 para dejar expuesto el colector de muestras 512 a la solución de muestra, tal como se muestra en la figura 7C. La cubierta 508 puede tener un patrón o muescas para plegarse a medida que se tira de ella hacia atrás lejos del colector de muestras 512. Retraer la cubierta 508 con respecto al colector de muestras 512 puede ayudar a minimizar la pérdida de muestra desde el colector de muestras 512.

Las figuras 8A-8C ilustran aspectos de un dispositivo configurado para muestrear un seno de acuerdo con algunas realizaciones. El colector de muestras de mano 600 incluye una sección distal 602 y una sección proximal 604. La sección distal tiene una construcción de dos piezas con una primera parte de manguito distal 606 y una segunda parte de manguito distal 608. La sección proximal 604 incluye una sección de asidero para el dedo 610 y un asidero para el pulgar 612. La sección de asidero para el dedo 610 incluye una marca 611 para etiquetar el lado lateral del dispositivo para hacer saber al usuario la orientación de la doblez en la sección distal 602 del dispositivo 600. El asidero para el pulgar 612 puede ser empujado distalmente para dejar expuesto el colector de muestras 614 para recoger una muestra de fluido sinusal, tal como se muestra en la figura 8B. El asidero para el pulgar 612 puede retraerse para retraer el colector de muestras 614 que tiene la muestra de fluido sinusal de vuelta dentro de la sección distal 602 antes de retirar el dispositivo 600 del paciente para evitar contaminar la muestra recogida. El colector de muestras 614 puede procesarse después de que el dispositivo 600 es retirado del paciente. El colector de muestras 614 puede exponerse a la solución de muestra retirando la primera parte de manguito distal 606 y la segunda parte de manguito distal 608, tal como se muestra en la figura 8C.

Las figuras 9A-9C ilustran aspectos de un dispositivo configurado para muestrear un seno de acuerdo con algunas realizaciones. El dispositivo de mano 700 tiene una forma de tipo bolígrafo con una sección distal 702 y una sección proximal 704. La sección distal 702 incluye una punta distal 706 con una abertura 708 modelada según un patrón. El colector de muestras 710 se puede hacer avanzar pasada la abertura modelada según un patrón haciendo avanzar la barra deslizante 712. El dispositivo 700 incluye dos barras deslizantes 712 en una parte central 713 del dispositivo. El cuerpo del dispositivo 700 puede incluir un marcador 714 para proporcionar información sobre la

orientación del dispositivo al usuario, tal como la dirección de la doblez de la sección distal 702. El dispositivo 700 puede incluir un mango 716 en la sección proximal 704. El dispositivo 700 puede ser agarrado por el usuario usando el pulgar y el dedo corazón. La barra deslizante 712 puede tener múltiples posiciones. Una posición retraída se muestra en la figura 9A. Una posición de la barra deslizante 712 parcialmente avanzada se muestra en la figura 9B con el colector de muestras 710 avanzados distalmente pasada la abertura 708 modelada según un patrón. La barra deslizante 712 se puede hacer avanzar más para dejar expuesto el colector de muestras 710 a la solución de muestra tal como se muestra en la figura 9C. La barra deslizante 712 tiene una posición retraída, posición de muestreo, y posición de ensayo. El dispositivo 700 puede incluir un fiador en cada una de la posición retraída, posición de muestreo y posición de ensayo. La barra deslizante 712 puede estar configurada de modo que ambas barras deslizantes 712 son empujadas para permitir el movimiento de la barra deslizante 712. El dispositivo 700 puede usarse para cualquier orificio nasal girando 180 grados. La punta distal 706 puede estar hecha de un material polimérico blando como silicona para ser cómodo para el paciente. La forma del encaje 720 entre la punta distal 702 con una parte de mango puede contornearse, tal como se muestra en las figuras 9A-9C, de modo que el contorno del encaje 720 puede proporcionar información de profundidad y orientación al usuario del dispositivo. La abertura 708 modelada según un patrón puede abrirse como la mandíbula de un caimán para proteger el colector de muestras 710 de ser contaminado por mucosidad nasal o contaminación bacteriana o cruzada mientras se hace avanzar el dispositivo en el orificio nasal o se retrae del orificio nasal después del muestreo. El dispositivo puede incluir un resalte o aleta 718 adyacente al colector de muestras 710 para facilitar la apertura de la abertura 708 modelada según un patrón. El resalte o aleta 718 puede abrir empujando la abertura 708 modelada según un patrón y también ayudar a abrir empujando y mantener abierta la abertura 708 modelada según un patrón cuando el colector de muestras 710 está retraído para minimizar la pérdida de muestra.

Las figuras 10A-10D ilustran aspectos de un dispositivo configurado para muestrear un seno de acuerdo con algunas realizaciones. El dispositivo de mano 800 tiene una sección distal 802 y una sección proximal 804. La sección proximal 804 incluye un mango 806 con una barra deslizante 812. La sección distal 802 incluye una parte distal 808. La parte distal 808 incluye un marcador de orientación 810 para visualizar la orientación de la doblez en la parte distal 808. La parte distal 808 se puede girar 180° con respecto al mango 806 de modo que el dispositivo 800 se pueda usar para cualquier orificio nasal. La parte distal 808 puede estar hecha de un material blando tal como silicona para mejorar la comodidad del paciente. La barra deslizante 812 se puede hacer avanzar hasta la marca 814 de muestra para hacer avanzar distalmente el colector de muestras 816 pasada la parte distal 808 tal como se muestra en la figura 10C. El colector de muestras 816 se puede hacer avanzar adicionalmente usando la barra deslizante 812 tal como se muestra en la figura 10D hasta contactar con la solución de muestra.

Las figuras 11A-11C ilustran aspectos de un dispositivo configurado para muestrear un seno de acuerdo con algunas realizaciones. Las figuras 11A-11C ilustran un colector de muestras de mano 900 con una sección distal 902 y una sección proximal 904. La sección distal 902 incluye un extremo distal 906 configurado para ser introducido a través de las fosas nasales del paciente. La sección proximal 904 está configurada para deslizarse con respecto a la sección distal 902 para mover el colector de muestras 910, ilustrado como un hisopo, con respecto al extremo distal 906. El dispositivo 900 está configurado para ser agarrado con una mano humana con un asidero para el dedo 912 en la parte distal 902 y un asidero para el pulgar 914 en la parte proximal 904. El dispositivo 900 incluye una marca 916 para indicar la orientación de la doblez en el extremo distal 906. El dispositivo puede incluir un collarín 908 para impedir el avance adicional del extremo distal 906 después de que ha sido insertado en las fosas nasales. El dispositivo 900 puede ser manejado con una mano, de modo que el movimiento de un pulgar sobre el asidero para el pulgar 914 pueda hacer avanzar la parte proximal 904 con respecto a la parte distal 902. El extremo distal 906 se puede hacer avanzar a través de las fosas nasales hasta la ubicación diana, seguido por hacer avanzar la parte proximal 904 y el colector de muestras 910 con respecto a la parte distal 906 para contactar con el fluido sinusal tal como se muestra en la figura 11B. Después de que se ha recogido la muestra, el dispositivo 900 puede retirarse del paciente y la parte proximal 904 puede retraerse proximalmente con respecto a la parte distal 902 para separar completamente la parte proximal 904 y la parte distal 902 tal como se muestra en la figura 11C. El colector de muestras 910 con la muestra sinusal puede ensayarse usando los métodos de ensayo de diagnóstico rápido desvelados en el presente documento.

Las figuras 12A-12E ilustran aspectos de un dispositivo configurado para muestrear un seno de acuerdo con algunas realizaciones. El dispositivo de mano 1000 tiene una forma de tipo bolígrafo con una sección distal 1002 y una sección proximal 1004. La sección distal 1002 incluye una punta distal 1006 con una abertura 1008 modelada según un patrón. El colector de muestras 1010 puede hacerse avanzar pasada la abertura modelada según un patrón haciendo avanzar la barra deslizante 1012. El dispositivo 1000 incluye dos barras deslizantes 1012 en una parte central 1013 del dispositivo. El cuerpo del dispositivo 1000 puede incluir un indicador de profundidad amovible 1018. El indicador de profundidad 1018 se puede hacer girar 90 grados respecto a un eje mayor del dispositivo 1000 para maximizar la visualización de la cavidad nasal. La figura 12B ilustra el dispositivo 1000 con el indicador de profundidad 1018 retirado. El cuerpo del dispositivo 1000 puede incluir un marcador 1014 para proporcionar información sobre la orientación del dispositivo al usuario, tal como la dirección de la doblez de la sección distal 1002. El dispositivo 1000 puede incluir un mango 1016 en la sección proximal 1004. El dispositivo 1000 puede ser agarrado por el usuario usando el pulgar y el dedo corazón.

La barra deslizante 1012 puede tener múltiples posiciones. Una posición retraída se muestra en las figuras 12A y

12C. Una posición de la barra deslizante 1012 parcialmente avanzada se muestra en la figura 12D con el colector de muestras 1010 avanzado distalmente pasada la abertura 1008 modelada según un patrón. La barra deslizante 1012 puede avanzarse más para dejar expuesto el colector de muestras 1010 hasta la solución de muestra tal como se muestra en la figura 12E. De este modo, la barra deslizante 1012 tiene una posición retraída, posición de muestreo y posición de ensayo. El dispositivo 1000 puede incluir un fiador en cada una de la posición retraída, posición de muestreo y posición de ensayo. La barra deslizante 1002 puede estar configurada de modo que ambas barras deslizantes 1012 sean empujadas para permitir el movimiento de la barra deslizante 1012. El dispositivo 1000 puede usarse para cualquier orificio nasal girando 180 grados. La punta distal 1006 puede estar hecha de un material polimérico blando como silicona para ser cómoda para el usuario. La abertura 1008 modelada según un patrón puede abrirse como la mandíbula de un caimán para proteger el colector de muestras 1010 de ser contaminado por mucosidad nasal o contaminación bacteriana o cruzada mientras se hace avanzar el dispositivo en el orificio nasal o se retrae del orificio nasal después del muestreo. El dispositivo puede incluir un indicador de profundidad 1018 adyacente al colector de muestras 1010. El dispositivo 1000 puede incluir opcionalmente un seguro que hace difícil empujar completamente por accidente el colector de muestras pasada la configuración de muestreo (figura 12D) mientras el dispositivo es desplegado en el paciente. El dispositivo 1000 puede permitir un acceso de una cámara endoscópica mejorado para el usuario. Por ejemplo, el indicador de profundidad 1018 puede retirarse para mejorar la holgura para una cámara o para visualización tal como se muestra en la figura 10B.

Las figuras 13A-13E ilustran aspectos de un dispositivo configurado para muestrear un seno de acuerdo con algunas realizaciones. El dispositivo de mano 1100 tiene una sección distal 1102 y una sección proximal 1104. La sección distal 1102 incluye una punta distal 1106 con una abertura 1108 modelada según un patrón. El colector de muestras 1110 puede avanzarse pasada la abertura modelada según un patrón haciendo avanzar el mango 1113. El cuerpo del dispositivo 1100 puede incluir un indicador de profundidad amovible 1118. La figura 13B ilustra el dispositivo 1100 con el indicador de profundidad 1118 retirado. El aspecto diferente del cuerpo del dispositivo 1100 y la sección distal 1102 también puede proporcionar información de profundidad y orientación al usuario. El cuerpo del dispositivo 1100 puede incluir un marcador 1114 para proporcionar información sobre la orientación del dispositivo al usuario, tal como la dirección de la doblez de la sección distal 1102. El dispositivo se puede sujetar por el mango 1113 y asideros para el dedo 1112. Una posición retraída se muestra en las figuras 13A y 13C. Una posición del mango 1113 avanzada se muestra en la figura 13D con el colector de muestras 1110 avanzado distalmente pasada la abertura 1108 modelada según un patrón. El mango 1113 puede retirarse tal como se muestra en la figura 13E. El lado inferior del dispositivo 1100 incluye una barra deslizante 1120 configurada para hacer avanzar el colector de muestras 1110 para contactar con la solución de muestra tal como se muestra en la figura 13E. El dispositivo 1100 puede usarse para cualquier orificio nasal girando 180 grados. El dispositivo 1100 puede incluir opcionalmente un seguro que hace difícil empujar completamente por accidente el colector de muestras pasada la configuración de muestreo mientras el dispositivo es desplegado en el paciente. El dispositivo 1100 puede permitir un acceso de cámara endoscópica mejorado para el paciente.

Las figuras 14A-14E ilustran aspectos de un dispositivo configurado para muestrear un seno de acuerdo con algunas realizaciones. El dispositivo de mano 1200 tiene una sección distal 1202 y una sección proximal 1204. La sección distal 1202 incluye una punta distal 1206 con una abertura 1208 modelada según un patrón. El colector de muestras 1210 puede hacerse avanzar pasada la abertura 1208 modelada según un patrón haciendo avanzar el mango 1213. El mango 1213 se puede hacer avanzar y retraer mediante el pulgar del usuario. El cuerpo del dispositivo 1200 puede incluir un indicador de profundidad amovible 1218. La figura 14B ilustra el dispositivo 1200 con el indicador de profundidad 1218 retirado. El aspecto diferente del cuerpo del dispositivo 1200 y la sección distal 1202 también puede proporcionar información de profundidad y orientación al usuario. El cuerpo del dispositivo 1200 puede incluir un marcador 1214 para proporcionar información sobre la orientación del dispositivo al usuario, tal como la dirección de la doblez de la sección distal 1202. El dispositivo se puede sujetar por el mango 1213 y los asideros para el dedo 1212. Una posición retraída se muestra en las figuras 14A y 14C. Una posición del mango 1213 avanzada se muestra en la figura 14D con el colector de muestras 1210 avanzado distalmente pasada la abertura 1208 modelada según un patrón. El mango 1213 se puede retirar tal como se muestra en la figura 14E. El lado inferior del dispositivo 1200 incluye una barra deslizante 1220 configurada para hacer avanzar el colector de muestras 1210 para contactar con la solución de muestra tal como se muestra en la figura 14E. En algunas realizaciones, el mango 1213 puede estar configurado de modo que tenga que ser retirado antes de que se pueda hacer avanzar la barra deslizante. El dispositivo 1200 puede usarse para cualquier orificio nasal girando 180 grados. El dispositivo 1200 puede incluir opcionalmente un seguro que hace difícil empujar completamente por accidente el colector de muestras pasada la configuración de muestreo mientras el dispositivo es desplegado en el paciente. El dispositivo 1200 puede permitir un acceso de cámara endoscópica mejorado para el paciente.

Las figuras 15A-21 ilustran dispositivos configurados para muestrear un seno de acuerdo con algunas realizaciones. Por ejemplo, en las figuras 15A-15D, el dispositivo de mano 1300 tiene una sección distal 1302 y una sección proximal 1304. El dispositivo de mano 1300 incluye un colector de muestras 1310 alojado dentro de un manguito 1305 con una abertura 1307 de manguito, un cuerpo principal 1330, un mango (anillo para el pulgar) 1313 y un tope de profundidad 1318. El manguito 1305 se acopla al cuerpo principal 1330 mediante un acoplador 1332. El acoplador 1332 puede tener una característica de fiador de doble punta tal como se muestra en la figura 17A o una característica de punta de bloqueó única tal como se muestra en la figura 17B.

El colector de muestras 1310 (por ejemplo, hisopo) puede hacerse avanzar pasada la abertura 1307 de manguito por el mango anular 1313, que puede estar configurado para extender el colector de muestras una distancia predeterminada desde el extremo distal. Esta primera distancia predeterminada está configurada para extenderse al interior de la región de muestra correcta (por ejemplo, el seno, tal como el meato medio o el seno maxilar), mientras que se evitan regiones distales a estas regiones que, de lo contrario, pueden contaminar la muestra. El anillo del mango 1313 incluye un conector (mostrado como una cavidad de anillo del mango) 1315 que es capaz de encajar con un extremo proximal del colector de muestras 1310 mientras que ambos elementos están retenidos dentro del cuerpo principal 1330. El colector de muestras incluye al menos una muesca 1311 para acoplamiento al anillo del mango 1313 tal como se muestra en la figura 16. La figura 21 muestra un diseño alternativo para acoplar el colector de muestras 1310 con el mango 1313, que incluye una o más muescas 1311 (en este ejemplo se muestran dos) que están dispuestas verticalmente y paralelas a el eje longitudinal del colector de muestras 1310. El colector de muestras 1310 puede hacerse avanzar pasada abertura 1307 de manguito la primera distancia predeterminada (por ejemplo, entre 5 y 20 mm (por ejemplo, entre 7 mm y 15 mm, entre 8 mm y 12 mm, etc.) haciendo avanzar el mango 1313. El mango 1313 puede hacerse avanzar y retraerse mediante el pulgar del usuario. Tener el mango 1313 limitado a hacer avanzar solamente el colector de muestras 1310 la primera distancia predeterminada desde la abertura 1307 de manguito puede impedir que una parte más larga del colector de muestras 1310 se extienda adicionalmente al interior del seno de sujeto y cause incomodidad y dolor, y/o contaminación. Una vez que se ha colocado una muestra sobre colector de muestras 1310, el colector de muestras 1310 puede estar retraído dentro del manguito 1305, y el dispositivo 1300 retirado del seno y la cavidad nasal del sujeto, la muestra puede procesarse para analizarla.

En ambos diseños mostrados en las figuras 18A y 18B, el mango 1313 puede retirarse. La retirada también puede liberar un mecanismo de bloqueo que impide que el segundo accionador/control (mostrado como la barra deslizante 1312 en la figura 15A) extienda el colector de muestras. La retirada puede conseguirse con fuerza mínima tirando de él en una dirección lateral opuesta desde el cuerpo de dispositivo 1300. Una vez que el mango 1313 ha sido retirado del dispositivo 1300, la barra deslizante 1312, mostrada dispuesta longitudinalmente a lo largo del dispositivo 1300 en la figura 15A puede hacer avanzar el colector de muestras 1310 más allá de la abertura 1307 de manguito para procesamiento una segunda distancia predefinida que es normalmente más lejos que la primera distancia predefinida. De este modo, la distancia que la barra deslizante 1312 puede hacer avanzar el colector de muestras 1310 puede ser mayor que la distancia que el colector de muestras 1310 puede ser extendido con el mango 1313. La segunda distancia predeterminada puede permitir que el colector de muestras 1310 se inserte en un tubo de muestra (por ejemplo, tampón de lisis) para procesar la muestra, tal como se describe con más detalle a continuación.

Cualquiera de estos dispositivos también puede incluir un elemento de centrado 1340 (que también puede denominarse separador o elemento de centrado) entre el colector de muestras y el cuerpo principal. El separador 1340 en la figura 17A es una protuberancia en el colector de muestras (por ejemplo, cerca del extremo distal) o el cuerpo principal que impide que el colector de muestras 1310 entre en contacto con los lados internos del manguito 1305 cuando el colector de muestras 1310 se extiende y se retrae del manguito 1305. Impedir que el colector de muestras 1310 contacte con los lados internos del manguito 1315 es especialmente importante cuando se retrae el colector de muestras 1310 dado que si el colector de muestras 1310 que contiene la muestra raspa pasados los lados internos del manguito 1305 a medida que está siendo retraído, una parte de la muestra recogida sobre esa superficie del colector de muestras 1310 se perderá, disminuyendo de este modo la cantidad de muestra (por ejemplo, células o bacterias) disponible para procesamiento y detección.

En las variaciones mostradas en la figura 22, el dispositivo de muestreo de mano 1400 tiene una sección distal 1402 y una sección proximal 1404. El dispositivo de mano 1400 incluye un colector de muestras 1410 alojado dentro de un manguito 1405 con una abertura 1407 de manguito, un cuerpo principal 1430, un mango (anillo de pulgar) 1413 y un tope de profundidad 1418.

A diferencia de la realización descrita anteriormente donde el mango está acoplado al colector de muestras con el cuerpo principal, y donde tras obtener una muestra, el usuario puede desprender el mango tirando del mango lateralmente lejos del resto del dispositivo, en las variaciones mostradas en la figura 17, el dispositivo 1400 puede incluir una característica de seguridad adicional para impedir el desacoplamiento involuntario del mango 1413 del colector de muestras 1410 y el cuerpo principal 1430. En esta variación, el cuerpo principal 1430 incluye un canal 1439. El canal 1439 es de una longitud predeterminada con respecto al cuerpo principal 1430. En funcionamiento, mango 1413 se acopla con el colector de muestras 1410 y el canal 1439 que proporciona es de una longitud predeterminada que el mango 1413 solamente puede deslizarse una distancia dada dentro del cuerpo principal 1430 cuando está acoplado. La distancia predeterminada corresponde a la distancia que el colector de muestras 1410 puede extenderse desde el manguito 1405. En cualquiera de las variaciones del dispositivo descritas en el presente documento, el mango puede incluir un elemento de liberación 1442. El elemento de liberación 1442, cuando se encaja con el canal 1439, puede permitir que el mango 1413 se extienda y retraiga el colector de muestras 1410 (por ejemplo, la primera longitud predeterminada). Para liberar el mango 1413, un usuario pulsa y desliza el elemento de liberación 1442 para permitir que el elemento de liberación 1442 se desprenda del cuerpo principal 1430 del dispositivo 1400. A continuación, similar a otras realizaciones, el dispositivo 1400 incluye una barra deslizante 1420 que puede extender el colector de muestras 1410 una segunda distancia predeterminada (que puede ser mayor que

la primera distancia predeterminada posible cuando colector de muestras 1410 es extendido por el mango 1413).

Métodos de uso del dispositivo de extracción

- 5 En el presente documento también se desvelan métodos de uso de los dispositivos descritos anteriormente, así como análisis de sinusitis que los usan.

10 Por ejemplo, se pueden emprender las siguientes etapas para obtener una muestra de mucosidad infectada de un paciente. Cuando el paciente está sentado o tumbado, colocar el dispositivo de muestreo (u otra realización del dispositivo) a aproximadamente cuarenta y cinco grados con respecto al suelo. Insertar el manguito del dispositivo (por ejemplo, el extremo distal) en el conducto nasal del sujeto, asegurándose de que el ángulo del manguito está apuntando hacia abajo para seguir la curvatura natural del conducto nasal. Se debe obrar con prudencia cuando el usuario experimente resistencia al insertar el dispositivo en la cavidad nasal de sujeto. El tope de profundidad en el dispositivo puede proporcionar una medida de seguridad e impedir que el usuario inserte involuntariamente más del dispositivo en la cavidad nasal del sujeto de lo que es necesario o seguro.

15 A continuación, el usuario empuja la barra deslizante hacia delante para dejar expuesto el extremo distal del hisopo al meato medio del seno. En otras realizaciones, el anillo para el pulgar está acoplado al elemento de hisopo. Allí, el usuario puede usar el anillo para el pulgar insertando el pulgar a través del orificio del anillo para el pulgar y deslizando el anillo para el pulgar hacia delante para dejar expuesto el extremo distal del hisopo para muestrear la región sinusal. Una vez que se ha recogido una muestra, el usuario puede retraer el extremo distal del colector de muestras usando la barra deslizante. En otras realizaciones, el usuario puede retraer el extremo distal del hisopo de vuelta al interior del manguito tirando del extremo proximal del anillo para el pulgar lejos del cuerpo principal. El dispositivo puede retirarse a continuación de la cavidad nasal de sujeto y la muestra recogida puede ensayarse a continuación para presencia bacteriana.

20 Las figuras 25A-25K ilustran otro método de manejo de los dispositivos de muestra de la mucosa sinusal descritos en el presente documento. En la figura 25A, el dispositivo de recogida sinusal se inserta en la nariz del paciente colocando el dispositivo (sonda) a un ángulo de aproximadamente 45 grados con respecto al suelo (mostrado mediante flechas), con el paciente en una posición sedente erguida. Tal como se muestra en la figura 25B, el dispositivo de recogida se coloca a continuación en el interior del seno insertando la punta del dispositivo de recogida del seno a través de la cavidad nasal y en el interior del meato medio del seno hasta que el tope de profundidad del dispositivo está encajado (por ejemplo, el tope toca el acceso nasal), o hasta que se siente una ligera resistencia del tejido. La figura 25C ilustra el dispositivo de recogida colocado correctamente en la región del meato medio.

30 Después de situar el dispositivo de recogida, tal como se muestra en la figura 25D, el anillo para el pulgar puede ser empujado para dejar expuesta la punta del hisopo y recoger la muestra, empujando en la dirección de la flecha para dejar expuesta la punta del hisopo a los fluidos sinusales. La punta del hisopo se extiende una primera distancia predeterminada en la región apropiada del seno, tal como se muestra en la figura 25E, que muestra la punta del hisopo expuesta para recogida del fluido. Seguidamente, la punta del hisopo puede retraerse al interior del dispositivo de recogida invirtiendo el movimiento del pulgar y retrayendo la punta del hisopo al interior del dispositivo de recogida, tal como se muestra en la figura 25F. La figura 25G muestra la punta del hisopo retraída completamente en el dispositivo de recogida. Seguidamente, el dispositivo de recogida puede retirarse de la nariz, tal como se muestra en la figura 25H. El dispositivo de recogida, una vez retirado de la nariz, está listo para ensayo de análisis, que puede realizarse en la consulta de un médico u otra zona de laboratorio.

40 Para el procesamiento, el controlador distal, por ejemplo, el mango o bucle para el pulgar distal, puede retirarse, tal como se muestra en la figura 25i. La retirada del mango en cualquiera de estos dispositivos puede liberar un limitador o fiador que impide que el hisopo se extienda distalmente. El dispositivo de recogida puede estar completa o parcialmente extendido antes de ensayar la muestra. Por ejemplo, la figura 25K muestra un dispositivo con el hisopo completamente extendido para procesamiento; la parte del hisopo (rodeada por un círculo) se extendió completamente deslizando el segundo controlador (distal) distalmente. Una vez completamente extendido, el hisopo puede procesarse insertándolo en un tampón (por ejemplo, tampón de lisis) tal como se describe con más detalle a continuación.

Análisis de muestras

50 También en el presente documento se describen análisis que pueden usarse para detectar y diagnosticar sinusitis bacterianas. Más específicamente, los análisis pueden utilizar agentes de unión al antígeno (por ejemplo, anticuerpos, fragmentos de anticuerpo, etc.) para detectar marcadores específicos de los tipos de bacterias contenidas dentro de las secreciones sinusales de sujeto. Los métodos desvelados en el presente documento pueden permitir la detección de antígenos distintivos que están asociados con patógenos bacterianos específicos dentro de la cavidad del seno paranasal, y pueden permitir, de este modo, una mejor comprensión de un cuidador en cuando a si prescribir un antibiótico es beneficioso. Los análisis también pueden proporcionar información que ayuda a un cuidador a decidir qué régimen de antibióticos proporcionaría el desenlace clínico más favorables y, lo más

importante, reducir el uso de anticuerpos de amplio espectro en casos donde dicho tratamiento no sería eficaz.

Estos análisis pueden utilizar biomarcadores que son antígenos específicos que indican la presencia del organismo o proceso patológico de interés. "Biomarcadores" son una molécula, gen o característica de origen natural mediante el cual un proceso, enfermedad patológica o fisiológica particular, o similares, pueden identificarse o caracterizarse. El término "biomarcador" puede referirse a proteína medida en una muestra cuya concentración refleja la gravedad o presencia de alguna patología. Los biomarcadores pueden medirse para identificar el riesgo de, el diagnóstico de o la progresión de un proceso patológico o fisiológico, enfermedad o similares. Los biomarcadores ejemplares incluyen proteínas, hormonas, prohormonas, lípidos, carbohidratos, ADN, ARN y combinaciones de los mismos. Aunque los ejemplos de análisis en el presente documento se describen específicos para agentes de unión al antígeno tales como anticuerpos en un análisis de flujo lateral de tipo sándwich, otros análisis, incluyendo hibridación de nucleótidos, también o como alternativa pueden usarse análisis enzimáticos y de tipo ligando-receptor.

En algunas variaciones, el análisis es capaz de detectar al menos un biomarcador y, más preferentemente, dos biomarcadores, incluyendo biomarcadores de cada uno de una pluralidad de tipos bacterianos relacionados con la sinusitis. Los análisis pueden modificarse adicionalmente para detectar más de dos biomarcadores (por ejemplo, preferentemente tres). Además, detectar los biomarcadores puede significar detectar una parte de las proteínas, hormonas, prohormonas, lípidos, carbohidratos, ADN, ARN y combinaciones de los mismos. Los biomarcadores también pueden ser una variante biológicamente activa de la molécula de interés de origen natural. Por ejemplo, una proteína o biomarcador de ADN puede tener al menos el 65 %, al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 85 %, 86 %, 87 %, 88 % u 89 %, y más normalmente el 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, y de la manera más común, el 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de conformidad o identidad de secuencia con la molécula nativa.

Análisis y kits

Cualquiera de los análisis descritos en el presente documento puede ser parte de un kit que permite a un usuario realizar fácilmente los análisis para detectar antígenos que son la causa primaria de sinusitis bacterianas. Los kits pueden incluir el dispositivo de muestreo que se ha descrito anteriormente. Los kits también pueden incluir un medio para lisar las células con el fin de dejar expuesto los antígenos de interés, tales como un tampón de lisis, y un medio para suministrar el sobrenadante lisado a la parte de análisis del kit.

Una primera etapa crítica en la obtención de resultados precisos es en el procesamiento apropiado de la muestra extraída del dispositivo de muestreo. El procesamiento apropiado incluye formular un tampón de lisis apropiado. Mientras que descubrir un tampón de lisis que puede lisar un tipo particular del célula es bastante sencillo, es mucho más desafiante preparar una composición tampón que sea capaz de lisar múltiples células bacterianas de interés mientras se proyecta la bioactividad de los antígenos de interés y mientras se lisa en una cantidad de tiempo razonable (por ejemplo, menos de 15 minutos). La mayoría de las células pueden lisarse mediante medios mecánicos, tales como sonicación o ciclos de congelación/descongelación, pero dichos métodos pueden requerir equipo adicional. De este modo, en algunos casos, es preferible usar métodos más suaves, tales como detergentes, para romper la membrana celular. Los detergentes pueden romper la capa lipídica que rodea a las células disolviendo proteínas e interrumpiendo las interacciones lípido-lípido, proteína-lípido, y/o proteína-proteína. La composición de detergente apropiada depende también del tipo de células a lisar, ya sean animales, bacterianas o de levadura.

En el desarrollo del análisis "triple" para detectar uno o más de *M. catarrhalis*, *S. pneumoniae* y *H. influenzae* descrito en el presente documento, se ensayaron diversos tampones de lisis para su capacidad para lisar todas las células bacterianas de interés, concretamente *M. catarrhalis*, *S. pneumoniae* y *H. influenzae*. Por ejemplo, aunque la N-Lauroilsarcosina lisó eficazmente NTHI y dejó expuestos antígenos para reconocimiento por sus antígenos, no lisó eficazmente *M. catarrhalis*. A continuación, TritonX-100, un tampón de lisis usado comúnmente, también se ensayó y pareció lisar *M. catarrhalis*, pero no funcionó bien con NTHI (*Haemophilus influenzae* no tipificable). Los inventores determinaron que la adición de sacarosa a un tampón de lisis que contenía N-Lauroilsarcosina (por ejemplo, Sarkosyl) fue eficaz para lisar las tres líneas celulares bacterianas de interés. Sin estar limitados a una teoría de funcionamiento particular, la adición de un porcentaje apropiado de sacarosa al tampón de lisis N-Lauroilsarcosina puede proporcionar un choque osmótico a las membranas celulares de las membranas celulares más resistentes a la lisis para conseguir una lisis apropiada.

La figura 27 ilustra diversos ejemplos de tampones de lisis que han sido examinados, lo que indica su eficacia con diferentes tipos de cepas bacterianas de interés. Aunque muchos de los tampones identificados son eficaces en la lisis de uno de los tipos de bacterias, en la figura 27, solamente la sacarosa al 7 % con Sarkosyl al 1,3 % fue eficaz (y eficiente) en la lisis de los tres de *M. catarrhalis*, *S. pneumoniae* y *H. influenzae*. Por ejemplo, Triton X-100 al 0,1 % con lisozima lisó eficaz/eficientemente *M. catarrhalis* pero no *S. pneumoniae* o *H. influenzae*, mientras que Sarkosyl al 1 % lisó eficaz/eficientemente *H. influenzae* pero no *S. pneumoniae* y *M. catarrhalis*. Ninguno de reactivo B-PER, Triton X-100 al 0,1 % sin lisozima, tampón RIPA, Tween 20 al 0,1 %, IGEPAL al 0,1 %, Tergitol al 0,1 % o Brij 35 al 0,1 % fue suficientemente eficaz en la lisis de cualquiera de *M. catarrhalis*, *S. pneumoniae* y *H. influenzae*. De este modo, fue sorprendente que solamente la combinación de sacarosa con lauroil sarcosinato sódico, (por ejemplo, sacarosa al 7 % con Sarkosyl al 1,3 %) fue capaz de lisar los tres tipos de células bacterianas a niveles casi

comparables. Aunque solamente sacarosa al 7 % con Sarkosyl al 1,3 %, otras combinaciones de sacarosa (por ejemplo, sacarosa entre el 3 % y el 15 %, y Sarkosyl entre el 0,5 % y el 3 %, etc.) pueden ser eficaces. De este modo, la combinación de detergente osmótico y aniónico que rompe la pared celular parece ser la más eficaz.

- 5 De este modo, en una variación, un tampón de lisis apropiado para uso con todos de *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* y *Streptococcus pneumoniae* incluye sacarosa entre el 5-15 % (por ejemplo, sacarosa al 7 %), EDTA, PMSF, Sarkosyl (lauroil sarcosinato sódico) al 1,3 %, Tris 50 mM a un pH de 8,0.

- 10 El análisis puede incluir agentes de unión al antígeno (por ejemplo, anticuerpos, fragmentos de anticuerpo, etc.) que se unen específicamente al biomarcador proteico de interés y componentes para inmunoanálisis para detectar los biomarcadores proteicos usando anticuerpos asociados. Los kits también pueden contener instrucciones sobre cómo llevar a cabo el muestreo, realizar el análisis y cualquiera de los métodos asociados con esta invención.

- 15 La presente invención proporciona métodos para detectar al menos un biomarcador que es específico de un perfil proteico de biopelícula para una bacteria patógena. En general, los métodos inmunológicos se conocen bien en la técnica, y realizados de forma rutinaria para fines de diagnóstico y de investigación. El ELISA (enzimoinmunoanálisis de adsorción) es una poderosa herramienta en el estudio de anticuerpos y antígenos y sus concentraciones en una muestra. Puede usarse ELISA para detectar la presencia de antígenos que son reconocidos por un anticuerpo o a la inversa, puede usarse ELISA para ensayar para anticuerpos que reconocen un antígeno. Un inmunoanálisis que
20 utiliza la plataforma ELISA es el ELISA en sándwich con dos anticuerpos.

- Se usa ELISA en sándwich para determinar la concentración de antígeno en muestras desconocidas. Si un patrón de antígeno puro está disponible, el análisis puede determinar la cantidad absoluta de antígeno en una muestra desconocida. El ELISA en sándwich requiere dos anticuerpos que se unen a epítomos que no se solapan sobre el
25 antígeno. Esto puede conseguirse con dos anticuerpos monoclonales que reconocen sitios discretos o un lote de anticuerpos policlonales purificados por afinidad. Un primer anticuerpo purificado (el anticuerpo de captura) está unido a una fase sólida. Se añade una muestra que contiene el primer antígeno correspondiente y se le permite complejarse con el primer anticuerpo unido. El primer antígeno no unido se elimina por lavado y a un segundo anticuerpo con una etiqueta (el anticuerpo de detección) se le permite unirse al primer antígeno, formando de este
30 modo un "sándwich". El análisis es entonces una cantidad cuantitativa o cualitativa del anticuerpo segundo/de detección unido. También es posible unir en primer lugar el antígeno al anticuerpo marcado/de detección y a continuación exponer el complejo antígeno-anticuerpo etiquetado al anticuerpo unido.

- La presente invención permite más de un análisis ELISA en sándwich, con el fin de detectar de forma concurrente uno o más de *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* y *Streptococcus pneumoniae*, que juntos pueden
35 suponer >90 % de las sinusitis bacterianas. En algunas variaciones, también pueden detectarse patógenos adicionales (por ejemplo, *Pseudomonas aeruginosa*). En algunas realizaciones, el análisis contiene dos, tres o más emparejamientos de antígeno y anticuerpo distintos de modo que más de un antígeno pueda detectarse con un único análisis. Los resultados de la presencia de al menos uno o más antígenos pueden obtenerse cualitativamente,
40 lo que significa que hay una concentración umbral del antígeno o antígenos objetivo dentro de la muestra. Además, el análisis puede proporcionar una medida más cuantitativa de la presencia de uno o más antígenos mediante comparación con un patrón o referencia. Un patrón o referencia se refiere a una muestra que tiene un antígeno y un biomarcador conocidos, y en algunos casos, una concentración conocida del antígeno y el biomarcador conocidos o antígenos y biomarcadores correspondientes de interés.

- 45 Puede usarse un indicador óptico (que incluye, aunque sin limitarse a visual) para indicar la presencia de un antígeno. El indicador visual se visualiza normalmente en una región del análisis. El indicador visual puede ser colorimétrico. El indicador visual también puede ser un símbolo, tal como una línea, que indica la presencia de un antígeno particular. El inmunoanálisis puede contener etiquetado próximo a las regiones donde se mostrarán
50 diferentes indicadores para la presencia de diversos antígenos. Tener el etiquetado alertará al usuario sobre qué antígeno particular es o antígenos están presentes con la muestra. Un usuario cuidadoso tendrá entonces un mejor conocimiento en cuando a qué antibiótico, si hay alguno, se le debería proporcionar al sujeto.

- El inmunoanálisis puede ser de cualquier formato adecuado. En algunos ejemplos, el inmunoanálisis puede
55 realizarse usando un formato de varilla medidora donde la solución de muestra es aspirada por el análisis de tipo "varilla medidora" con acción capilar. El inmunoanálisis también puede tener un formato en gran medida horizontal tal como un análisis de flujo lateral. En este último formato, la muestra extraída de la nariz del sujeto es tratada de modo que las células se lisan en un tampón apropiado, liberando las proteínas y proporcionando la solución de muestra. Una alícuota de la solución de muestra puede colocarse entonces en un depósito de muestra en el análisis
60 u otra región indicada en el análisis y hacerle migar entre regiones del análisis que contienen anticuerpos unidos. Además, los inmunoanálisis en formato de varilla medidora o plano pueden tener un soporte sólido hecho de cualquier material adecuado, tal como nitrocelulosa o difluoruro de polivinilideno (PVDF) u otras membranas, varilla medidora, pocillos o tubos.

- 65 En este presente ejemplo, se describe un inmunoanálisis combinado para tres antígenos diferentes. Los tres antígenos de interés se describen a continuación y están todos asociados con sinusitis bacteriana, pero el concepto

global de tener un ensayo de antígenos múltiples en un análisis puede aplicarse a otros sistemas de antígeno/anticuerpo también. Un ejemplo de un análisis de flujo lateral 1500 se muestra en las figuras 24A-24D. El análisis de flujo lateral 1500 incluye una carcasa 1509 que tiene una entrada de muestra 1501 (por ejemplo, orificio de muestra) para depositar una alícuota de muestra y una ventana de detección 1511 para visualizar los resultados del análisis. Una almohadilla de muestra 1503 una almohadilla de conjugado 1505, y una almohadilla de detección 1507 están incluidas dentro de una carcasa 1509. La almohadilla de muestra 1503 alojará la muestra que se desplazará a través del análisis. La almohadilla de muestra 1503 está en contacto con la almohadilla de conjugado 1505. La almohadilla de conjugado 1505 contiene el primer agente de unión al antígeno (por ejemplo, mostrado en este caso como un anticuerpo) específico de al menos un antígeno. En algunos ejemplos, la almohadilla de conjugado puede contener dos agentes de unión al antígeno distintos (por ejemplo, anticuerpos) que reconocen y se unen a dos antígenos distintos. En otros ejemplos, la almohadilla de conjugado puede contener tres agentes de unión al antígeno distintos que reconocen y se unen a tres antígenos distintos. Cuando se hace desplazar una muestra a través de la almohadilla de muestra 1503 pasada la almohadilla de conjugado 1505, cualquier antígeno o antígenos de interés se unirán a anticuerpos correspondientes. Los anticuerpos contenidos en la almohadilla de conjugado 1505 pueden estar unidos a una molécula detectora. El complejo o complejos de antígeno con detector-agente de unión al antígeno etiquetado se suministra a continuación a través de la almohadilla de detección 1507 donde un segundo agente de unión al antígeno (por ejemplo, anticuerpo o anticuerpos) correspondiente a los uno o más antígenos está inmovilizado sobre un soporte sólido. En este ejemplo, distintos anticuerpos están fijados en tiras a través de la almohadilla de detección 1507 tal como se muestra en las figuras 24B y 24C. De este modo, cuando el antígeno correspondiente complejado con anticuerpo marcado con detector se eluye pasadas las diferentes regiones de la almohadilla de detección 1507, el antígeno complejado con el anticuerpo marcado con detector se unirá al segundo anticuerpo inmovilizado correspondiente y producirá una señal tal como se muestra en las figuras 24C y 24D. En cualquier variación descrita en el presente documento, el patrón del agente de unión al antígeno inmovilizado puede ser cualquier patrón y/o densidad apropiados. Por ejemplo, uno (o preferentemente todos) de los agentes de unión al antígeno unidos pueden estar dispuestos sobre el sustrato en fase sólida en el interior de un carácter, símbolo, letra, palabra, pictograma, etc. En algunas variaciones, el agente de unión al antígeno está dispuesto en el interior de una letra (por ejemplo, que indica la inicial o el tipo de bacteria (por ejemplo, H.flu, M.cat, S.pneumo, etc.).

Por ejemplo, un perfil antigénico para NTHI puede incluir proteínas de la membrana externa (OMP), específicamente, OMP P5 y OMP P2. Se ha verificado que la presencia de OMP P5 y OMP P2 dentro del sobrenadante de biopelícula de NTHI y, de este modo, la detección de OMP P5 y OMP P2 con una muestra es indicativa de infección por NTHI. Se desarrollaron anticuerpos correspondientes tanto para OMP P5 como para OMP P2. Para *M. catarrhalis*, pueden usarse anticuerpos para proteínas de la membrana externa Proteína C y Proteína D (OMP-CD). Para *S. pneumoniae*, la proteína PsA (adhesión a la superficie de neumococo A) puede ser un antígeno viable para indicar la presencia de *S. pneumoniae*. PsA es una lipoproteína multifuncional de 37 kilodalton común expuesta en superficie detectada en todos los serotipos conocidos de *Streptococcus pneumoniae*.

Las figuras 31 y 32 ilustran ejemplos de otros tipos de configuraciones de cartucho que pueden ser útiles. Por ejemplo, la figura 31 ilustra esquemáticamente cómo tres análisis diferentes para diferentes bacterias pueden combinarse en un único análisis, usando un único tampón de lisis para los tres tipos de bacterias. En este ejemplo, el cartucho 3100 incluye un único orificio 3103. El cartucho también incluye una ventana 3109 en una región interna del cartucho, que muestra el sustrato en fase sólida sobre el que se está ejecutando el análisis.

La figura 32 es otra variación de cartucho en el que cada análisis se ejecuta en paralelo y la presentación del informe incluye tres ventanas independientes y/o tres sustratos en fase sólida independientes. Ambos de los ejemplos mostrados en las figuras 31 y 32 incluyen una banda de control que está formada como un control positivo de que el agente de unión al antígeno etiquetado se ha difundido a través del dispositivo. Tal como se ha mencionado anteriormente, cualquiera de estos dispositivos pueden incluir un respiradero o abertura en el extremo opuesto al cartucho.

Ejemplo 1 (Tampón de lisis)

Tal como se muestra en la figura 27, se ensayaron diferentes tampones de lisis para determinar la mejor composición tampón para lisar con éxito las células que corresponden a *Haemophilus influenzae* (H.flu), *Moraxella catarrhalis* (M.cat) y *Streptococcus pneumoniae* (S.pneumo). Algunos de los candidatos potenciales incluyendo N-Lauroilsarcosina, Triton X100, Sarkosyl, Sarkosyl y sacarosa y Bugbuster (Novogen). Se usaron muestras estandarizadas con concentraciones conocidas de *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* y *Streptococcus pneumoniae* para ensayar la eficacia de cada uno de estos tampones. Basándose en los datos de lisis, la composición de tampón de lisis de sacarosa y Sarkosyl parecía ser la más eficaz en ser capaz de lisar los tres tipos celulares. De forma importante, muchas combinaciones (incluyendo combinaciones que no incluyen Sarkosyl y sacarosa) no funcionan para los tres tipos celulares y, por lo tanto, pueden no ser compatibles con un análisis combinado para la detección de los tres tipos celulares.

De este modo, en general, solamente tampones de lisis que tenían un agente osmótico (por ejemplo, sacarosa) y un tensioactivo aniónico (Sarkosyl, lauroil sarcosinato sódico, que puede denominarse un tensioactivo iónico,

detergente aniónico o detergente iónico) fueron compatibles con los análisis para los tres de M. cat, S. pneumo y H. flu. En particular, los tampones de lisis que tenían un agente osmótico entre el 0,1 % y el 15 % (p/p o p/v, por ejemplo, entre el 0,5 % y el 12 %, el 0,5 % y el 10 %, etc.) y un tensioactivo aniónico entre el 0,01 % y el 5 % (p/p o p/v, por ejemplo, 0,05 % y 5 %, 0,1 % y 5 %, 0,05 % y 3 %, etc.) fueron eficaces, mientras que otros tampones de lisis que tienen detergentes/tensioactivos no iónicos, agentes enzimáticos, o agentes osmóticos en solitario o tensioactivos aniónicos/iónicos en solitario no fueron eficaces. Por ejemplo el tampón de lisis puede incluir un agente osmótico dentro de un intervalo que tenía un valor inferior del 0,1 %, 0,2 %, 0,3 %, 0,5 %, 0,6 %, 0,7 %, 0,8 %, 0,9 %, 1 %, 1,1 %, 1,2 %, 1,3 %, 1,4 %, 1,5 %, 1,6 %, 1,7 %, y un valor superior del 1,3 %, 1,5 %, 1,7 %, 2 %, 2,5 %, 3 %, 4 %, 5 %, 7,5 %, 10 %, 12 %, 15 %, 20 %, etc., donde el valor inferior es menor que el valor superior, y un detergente aniónico dentro de un intervalo que tenía un valor inferior del 0,05 %, 0,1 %, 0,15 %, 0,2 %, 0,25 %, 0,3 %, 0,35 %, 0,4 %, 0,45 %, 0,5 %, etc., y un valor superior del 1,3 %, 1,4 %, 1,5 %, 1,6 %, 1,7 %, 1,8 %, 1,9 %, 2 %, 2,1 %, 2,2 %, 2,3 %, 2,4 %, 2,5 %, 3 %, 4 %, 5 %, 7,5 %, 10 %, 12,5 %, 15 %, 17,5 %, 20 %, etc., donde el valor inferior es menor que el valor superior. Ejemplos de tensioactivos aniónicos (por ejemplo, detergentes) incluyen alquilbencenosulfonatos, sulfatos, sulfonatos y ésteres de fosfato, incluyendo en particular Sarkosyl (lauril sarcosinato sódico). Sorprendentemente, solamente tampones de lisis que contienen la combinación de un agente osmótico y un tensioactivo aniónico dentro de los intervalos especificados fueron compatibles para uso en el análisis que busca epítomos específicos de cada uno de los tres tipos celulares (M.cat, S.pneumo, H.flu).

La figura 28 ilustra dos tampones de lisis ejemplares que puede usarse (y se usaron para generar lecturas ejemplares en un análisis de flujo lateral, tales como las mostradas en las figuras 30A-30C, y pueden usarse como parte del análisis (por ejemplo, kits, sistemas, etc.) descrito en el presente documento. La figura 29 ilustra dos tampones de dilución ejemplares usados como parte del análisis (por ejemplo, kits, sistemas, etc.) descrito en el presente documento.

Ejemplo 2 (Selección del material para frotis)

También se realizaron experimentos que ensayan el material de hisopo de muestreo óptimo. Dado que la región donde se va a recoger la muestra, las cavidades nasal y sinusal de un sujeto, es una zona bastante sensible, es importante ser capaces de reunir de forma bastante rápida y eficaz material de muestra suficiente para analizar. Además, sería deseable muestrear solamente las cavidades nasal y sinusal del sujeto una vez dado que el muestreo repetido puede causar irritación a las cavidades nasal y sinusal del sujeto. Además, cualesquiera tentativas de reunir muestra después de un primer intento pueden desencadenar una respuesta autónoma de exceso de mucosidad en el conducto nasal que puede diluir la muestra recogida o sangre. Aunque pueden usarse materiales tales como hisopos de algodón y gasa, se ensayaron dos materiales de hisopo disponibles en el mercado por su capacidad para absorber rápidamente una muestra. Hydraflock, Ultraflock y Purflock se ensayaron por su capacidad para absorber agua, suelo de laboratorio ATS-M (suelo de ensayo artificial) que contenía mucina, y bacterias en suelo de laboratorio ATS en un intervalo de tiempo dado. Además del análisis de captación, los materiales se analizaron también por su capacidad para liberar muestra. Hydraflock mostró un 100 % de recuperación y liberación a 10 y 30 segundos. En cambio, materiales tales como Purflock mostraron solamente un 85 % de recuperación y liberación.

De este modo, en general, el colector de muestras (hisopo o material de hisopo) puede ser un material de guata de algodón que está acoplado a un vástago (por ejemplo, un vástago, varilla, miembro extensible y/o deslizante, etc.). Los materiales de guata de algodón pueden minimizar la captura de las células, mientras que las absorbe de forma eficiente para una liberación posterior. En particular, los hisopos de guata de algodón que tienen extremos distales de las fibras divididos (por ejemplo, bifurcados, o divididos de forma múltiple), tales como el material Hydroflock descrito anteriormente funcionan sorprendentemente bien, incluso en comparación con otros materiales de guata de algodón.

Ejemplo 3: análisis

Después del muestreo con un dispositivo tal como se ha descrito anteriormente para el dispositivo de recogida, el hisopo con la muestra se inserta en el tampón de lisis extendiendo completamente la punta del hisopo e insertándolo en un volumen apropiado de tampón de lisis, tal como se muestra en la figura 26. En este ejemplo, el extremo positivo del hisopo entra en un tubo con el tampón de lisis (el hisopo puede ser el hisopo de un dispositivo de muestreo, tal como se muestra en la figura 25K). El hisopo puede mezclarse o agitarse en el tampón, y retirarse (por ejemplo, después de entre 1-30 s). Las bacterias pueden lisarse dentro del tampón de muestreo por la acción del tampón de lisis. Véase las figuras 28 y 29 para ejemplos de tampón de lisis (figura 28) y tampón de dilución (figura 29). El tampón de muestra puede aplicarse a continuación directamente al análisis o puede diluirse (por ejemplo, 1:10) en el tampón de lisis o un segundo tampón (un tampón de dilución, por ejemplo, un tampón Tris), que puede ayudar a empapar por capilaridad la membrana. A continuación pueden cargarse 100-200 microlitros de muestra en el orificio en un cartucho de flujo lateral, seguido posiblemente por carga de un volumen adicional (por ejemplo, 100-200 microlitros) de tampón para inducir el empapamiento por capilaridad (como un "volumen subsiguiente"). Puede usarse un análisis configurado similar al mostrado en las figuras 24A-24D y descritos anteriormente (por ejemplo, un análisis de flujo lateral) en el que hay tres regiones independientes dispuestas en secuencia (adyacentes entre sí) seguidas por una región de control. Esta configuración es una variación de una disposición multiplexada. Como alternativa o adicionalmente, una o más de las regiones que contienen anticuerpo unido (regiones sensibles/de

detección) pueden estar presentes en una región paralela que es alimentada por el mismo o un orificio diferente. En estos ejemplos, los agentes de unión al antígeno son anticuerpos, incluyendo un par de anticuerpos está dirigido a cada antígeno específico de uno de los tipos bacterianos; un anticuerpo anclado (por ejemplo, en la región de detección) (por ejemplo, agente de unión al antígeno) y un anticuerpo soluble (de detección) (agente de unión al antígeno) que pueden estar unidos a un marcador visible (lectura) tal como oro coloidal o un colorante visible (por ejemplo, perla de látex coloreada). En algunas variaciones, el análisis se puede leer en aproximadamente 5 minutos (por ejemplo, después de 2-3 min de lisis o menos y 3-5 min en el cartucho o casete). El tiempo hasta un resultado positivo o negativo (tal como se muestra mediante el control positivo, que puede ser reactivo de forma cruzada con el anticuerpo de detección, por ejemplo, anticuerpo anti-ratón anclado dentro de una región de control aguas abajo), puede depender del empapamiento por capilaridad de la muestra en la membrana. Normalmente, después de añadir la muestra al dispositivo de análisis ("cartucho" o "casete"), la muestra empapa por capilaridad a través de una almohadilla de muestra al interior de una almohadilla de conjugado, a continuación al interior de la membrana, donde los marcadores pueden ser capturados por el anticuerpo de captura, anticuerpo de concentración también unido al marcador (antígeno) y que tiene una lectura (por ejemplo, oro coloidal) de modo que pueda visualizarse.

Tal como se ha mencionado, los anticuerpos de captura pueden disponerse sobre la membrana en diferentes posiciones características (por ejemplo, marcados/etiquetados), y pueden depender de la capacidad de empapamiento por capilaridad de la membrana.

Las figuras 30A-30C ilustran datos de un estudio preliminar de eficacia que muestran intervalos de sensibilidad para análisis tal como se describe en el presente documento para la detección de cada uno de S.pneumo, M.cat y H.flu, respectivamente.

En la figura 30A, se usó un análisis que usa un primer agente de unión al antígeno que está etiquetado y que se une a OMP-P2 y/o OMP-P5 y un cuarto agente de unión al antígeno anclado que se une específicamente a otra región del mismo antígeno (por ejemplo, OMP-P2 y/o OMP-P5). Los primer y cuarto agentes de unión al antígeno específico de *H. influenzae* pero no de *M. catarrhalis* o *S. pneumoniae*. En este ejemplo, se preparó un análisis de flujo lateral con estos agentes de unión al antígeno, una muestra de la mucosa (que se puede tomar usando un dispositivo de muestreo tal como los mostrados en las figuras 15A-23C y las etapas de las figuras 25A-25K). Para generar la curva mostrada, la muestra usada puede ser de un ejemplo cultivado de las bacterias, de modo que la concentración pueda determinarse con precisión. La muestra se resuspendió en un tampón de lisis tal como el tampón mostrado en la figura 28 (por ejemplo, tampón de lisis nº 1), de modo que los tres tipos de bacterias que están siendo muestreados (por ejemplo, H.flu, M.cat y S.pneumo) se lisaron apropiadamente después de aproximadamente 30 s a 1 min de lisis. La solución se diluyó a continuación y se aplicó al orificio de muestra 3201 de un cartucho de flujo lateral tal como el mostrado en la figura 32, de modo que pueda ser canalizado de forma fluidica a una región de conjugación (por ejemplo, cámara o almohadilla) que contiene el primer agente de unión al antígeno marcado y sin anclar. En este ejemplo, el agente de unión al antígeno es un anticuerpo monoclonal conjugado a una partícula (por ejemplo, oro coloidal o perla coloreada) que puede visualizarse a través de la ventana del cartucho después de desplazarse (por ejemplo, mediante acción capilar) desde la región de conjugación sobre y/o a través de la parte de la estructura de la fase sólida a la que el cuarto agente de unión al antígeno está anclado. Tal como se ilustra en la figura 30A, se usaron diferentes concentraciones de bacterias de muestra (H.flu) para generar la curva de sensibilidad. En las figuras 30A-30C, la detección se realizó de forma manual y visual, sin embargo, puede conseguirse mayor sensibilidad usando un lector (por ejemplo, lector óptico) tal como se ha mencionado anteriormente.

En este ejemplo, tal como se ha descrito anteriormente, se usó un único tampón de lisis para lisar la muestra, de modo que múltiples (por ejemplo, M.cat, H.flu y S.pneumo) tipos bacterianos podrían ensayarse simultáneamente a partir de la misma muestra, incluso después de una lisis muy breve (por ejemplo, entre 5 segundos y 15 minutos, entre 5 segundos y 10 minutos, entre 5 segundos y 5 minutos, entre 5 segundos y 4 minutos, entre 5 segundos y 3 minutos, entre 5 segundos y 2 minutos, entre 5 segundos y 1 minuto, entre 5 segundos y 45 segundos, etc., o menos de 15 minutos, menos de 10 minutos, menos de 5 minutos, menos de 1 minuto, etc.). La composición (y combinación) particular de agentes de lisis en el presente documento se describen sorprendentemente eficaces en lisar rápida, completa y suavemente los múltiples diferentes tipos/clases de bacterias sin alterar los antígenos o su capacidad para ser reconocidos por los agentes de unión al antígeno usados.

En la figura 30B, se detectó M.cat en paralelo (por ejemplo, cargando una muestra de la solución lisada en el segundo orificio 3207 del cartucho mostrado en la figura 32, y S.pneumo se detectó cargando la solución en el tercer orificio 3209 en la figura 32. Como alternativa, la detección concurrente puede realizarse usando un cartucho 3100 tal como el mostrado en la figura 31. Con respecto a la detección de *Moraxella catarrhalis* (M.cat) se usaron un par de agentes de unión al antígeno (segundo y quinto agentes de unión al antígeno o simplemente agentes) que son específicos de la Proteína C del antígeno (una proteína de la membrana externa) en una parte diferente del antígeno; el segundo agente de unión al antígeno está etiquetado tal como se ha descrito anteriormente (por ejemplo, usando oro coloidal), y el quinto agente de unión al antígeno está anclado a una región específica del sustrato en fase sólida (por ejemplo, una membrana dentro del cartucho). Análogamente, la detección de *Streptococcus pneumoniae* (S.pneumo) en la figura 30C puede realizarse usando el cartucho de flujo lateral tal como el mostrado en la figura 32 (aplicando la muestra en el orificio 3209). El antígeno en este ejemplo es un antígeno

PsaA que es reconocido tanto por el tercer como por el sexto agentes de unión al antígeno, donde el tercer agente está etiquetado y el sexto está anclado. De este modo, el segundo agente se une específicamente a un segundo antígeno específico de *M. catarrhalis* pero no de *H. influenzae* o *S. pneumoniae*. Análogamente, los tercer y sexto agentes se unen específicamente al tercer antígeno específico de *S. pneumoniae* pero no de *M. catarrhalis* o *H. influenzae*.

En las figuras 30A-30C, las sensibilidades para la detección de células (expresadas como unidades formadoras de colonias (UFC/muestra) muestran umbrales para detección visual entre 10^3 - 10^5 por 100 μ l de muestra. Tal como se ha mencionado anteriormente, esta sensibilidad se puede incrementar, por ejemplo usando un lector para leer el cartucho.

Cuando se hace referencia en el presente documento a una característica o elemento como "sobre" otra característica o elemento, puede estar directamente sobre la otra característica o elemento, o también pueden estar presentes características y/o elementos intermedios. Por el contrario, cuando se hace referencia a una característica o elemento como "directamente sobre" otra característica o elemento, no hay características o elementos intermedios presentes. También se entenderá que, cuando se hace referencia a una característica o elemento como "conectado", "fijado" o "acoplado" a otra característica o elemento, éste puede estar conectado, fijado o acoplado directamente a la otra característica o elemento o pueden estar presentes características o elementos intermedios. Por el contrario, cuando se hace referencia a una característica o elemento como "directamente conectado", "directamente fijado" o "directamente acoplado" a otra característica o elemento, no hay características o elementos intermedios presentes. Aunque descritos o mostrados con respecto a una realización, las características y elementos así descritos o mostrados pueden aplicarse a otras realizaciones. Los expertos en la materia también apreciarán que las referencias a una estructura o característica que está dispuesta "adyacente" a otra característica pueden tener partes que se solapan o subyacen a la característica adyacente.

La terminología usada en el presente documento es para fines de describir realizaciones particulares solamente y no pretende ser limitante de la invención. Por ejemplo, tal como se usan en el presente documento, las formas singulares "un", "uno" y "el" pretenden incluir también las formas plurales, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Se entenderá, además, que los términos "comprende" y/o "que comprende", cuando se usan en esta memoria descriptiva, especifican una presencia de características, etapas, operaciones, elementos y/o componentes indicados, pero no excluyen la presencia o la adición de una o más características, etapas, operaciones, elementos, componentes y/o grupos de los mismos. Tal como se usa en el presente documento, el término "y/o" incluye todas y cada una de las combinaciones de uno o más de los elementos enumerados asociados y puede abreviarse como "/".

Los términos relativos al espacio, tales como "debajo", "abajo", "inferior", "sobre", "superior" y similares, pueden usarse en el presente documento para facilitar la descripción para describir la relación de un elemento o característica con otros elementos o características tal como se ilustra en las figuras. Se entenderá que los términos relativos al espacio pretenden abarcar diferentes orientaciones del dispositivo en uso o funcionamiento además de la orientación representada en las figuras. Por ejemplo, si se invierte un dispositivo en las figuras, los elementos descritos como "bajo" o "debajo" de otros elementos o características estarían entonces orientados "sobre" los otros elementos o características. Por lo tanto, el término ejemplar "bajo" puede abarcar una orientación tanto sobre como bajo. El dispositivo puede estar orientado de otra manera (rotado 90 grados o en otras orientaciones) y los descriptores relativos al espacio usando en el presente documento se interpretan en consecuencia. Análogamente, los términos "hacia arriba", "hacia abajo", "vertical", "horizontal" y similares se usan en el presente documento con fines de explicación solamente, a menos que se indique específicamente lo contrario.

Aunque los términos "primero" y "segundo" pueden usarse en este documento para describir varias características/elementos, estas características/elementos no deberían estar limitados por estos términos, a menos que el contexto indique lo contrario. Estos términos se pueden usar para distinguir una característica/elemento de otra característica/elemento. Por lo tanto, una primera característica/elemento descrita a continuación podría denominarse una segunda característica/elemento y, análogamente, una segunda característica/elemento descrita a continuación podría denominarse una primera característica/elemento sin apartarse de las enseñanzas de la presente invención.

Tal como se usa en el presente documento en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones, incluyendo tal como se usa en los ejemplos y a menos que se especifique expresamente lo contrario, todos los números pueden leerse como si estuvieran precedidos por la palabra "alrededor de" o "aproximadamente" incluso si el término no aparece expresamente. La frase "alrededor de" o "aproximadamente" puede usarse cuando se describe magnitud y/o posición para indicar que el valor y/o posición descrito está dentro de un intervalo de valores y/o posiciones esperado razonable. Por ejemplo, un valor numérico puede tener un valor que es $\pm 0,1$ % del valor (o intervalo de valores) indicado, ± 1 % del valor (o intervalo de valores) indicado, ± 2 % del valor (o intervalo de valores) indicado, ± 5 % del valor (o intervalo de valores) indicado, ± 10 % del valor (o intervalo de valores) indicado, etc. Cualquier intervalo numérico indicado en el presente documento pretende incluir todos los sub-intervalos incluidos en su interior.

Aunque anteriormente se han descrito anteriormente diversas realizaciones ilustrativas, cualquiera de una serie de cambios se puede realizar en diversas realizaciones sin apartarse del alcance de la invención tal como se describe en las reivindicaciones. Por ejemplo, el orden en el que se realizan diversas etapas del método descrito, a menudo se puede cambiar en realizaciones alternativas, y en otras realizaciones alternativas, se pueden omitir por completo una o más etapas del método. Las características opcionales de diversas realizaciones de dispositivos y sistemas pueden incluirse en algunas realizaciones y no en otras. Por lo tanto, la descripción anterior se proporciona principalmente con fines ejemplares y no se debe interpretar que limita el alcance de la invención tal como se establece en las reivindicaciones.

- 10 Los ejemplos e ilustraciones incluidos en el presente documento muestran, a modo de ilustración y no de limitación, realizaciones específicas en las que se puede poner en práctica el objeto. Tal como se ha mencionado, se pueden utilizar y derivar otras realizaciones, de manera que puedan hacerse sustituciones y cambios estructurales y lógicos sin apartarse del alcance de esta divulgación. Dichas realizaciones del objeto de la invención se pueden denominar en el presente documento individual o colectivamente mediante el término "invención" simplemente por conveniencia
- 15 y sin intención de limitar voluntariamente el alcance de esta solicitud a una sola invención o concepto inventivo, si más de uno es, en hecho, desvelado. Por lo tanto, aunque se han ilustrado y descrito en el presente documento realizaciones específicas, cualquier disposición calculada para lograr el mismo propósito puede sustituir a las realizaciones específicas mostradas. Esta descripción pretende cubrir cualquiera y todas las adaptaciones o variaciones de diversas realizaciones. Las combinaciones de las realizaciones anteriores, y otras realizaciones no
- 20 específicamente descritas en el presente documento, serán evidentes para los expertos en la materia tras revisar la descripción anterior.

REIVINDICACIONES

1. Un kit de análisis para detectar de forma concurrente *H. influenzae*, *M. catarrhalis* y *S. pneumoniae* a partir de una muestra de la mucosa, comprendiendo el kit de análisis:

- 5 un tampón de lisis para lisar células en la muestra y formar una única solución de muestra, en el que el tampón de lisis comprende entre el 0,01 % y el 5 % (p/p) del tensioactivo aniónico y entre el 0,1 % y el 15 % (p/p) del agente osmótico;
- 10 un cartucho que contiene uno o más sustratos en fase sólida que aloja un primer agente que se une específicamente a un primer antígeno específico de *H. influenzae* pero no de *M. catarrhalis* o *S. pneumoniae*, un segundo agente que se une específicamente a un segundo antígeno específico de *M. catarrhalis* pero no de *H. influenzae* o *S. pneumoniae*, y un tercer agente que se une específicamente a un tercer antígeno específico de *S. pneumoniae* pero no de *M. catarrhalis* o *H. influenzae*, en el que los primer, segundo y tercer agentes están unidos a regiones específicas de los uno o más sustratos en fase sólida en el cartucho;
- 15 una o más regiones de conjugación dentro del cartucho, las una o más regiones de conjugación en comunicación fluida con los uno o más sustratos en fase sólida y que comprende un cuarto agente que está etiquetado y que se une específicamente al primer antígeno, un quinto agente que está etiquetado y que se une específicamente al segundo antígeno, y un sexto agente que está etiquetado y que se une específicamente al tercer antígeno;
- 20 una o más entradas de muestra en el cartucho en comunicación fluida con las una o más regiones de conjugación; y una o más ventanas a través de las cuales pueden verse las regiones específicas del sustrato en fase sólida al que los primer, segundo y tercer agentes están unidos.

25 2. El kit de análisis de la reivindicación 1, en el que el tensioactivo aniónico del tampón de lisis comprende Sarkosyl y en el que el agente osmótico del tampón de lisis comprende sacarosa.

3. El kit de análisis de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, que comprende además un tampón de dilución.

30 4. El kit de análisis de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el cartucho comprende una pluralidad de sustratos en fase sólida, en el que cada sustrato en fase sólida aloja uno del primer agente, el segundo agente o el tercer agente.

35 5. El kit de análisis de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el cartucho comprende un sustrato en fase sólida que aloja cada uno del primer agente, segundo agente y tercer agente.

6. El kit de análisis de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el primer antígeno es un antígeno de la superficie celular específico de *H. influenzae*, el segundo antígeno es un antígeno de la superficie celular específico de *M. catarrhalis* y el tercer antígeno es específico de *S. pneumoniae*.

40 7. El kit de análisis de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que una o más regiones de conjugación comprende una única región de conjugación que aloja el cuarto agente, quinto agente y sexto agente.

45 8. El kit de análisis de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la región de conjugación comprende una almohadilla de conjugación dentro del cartucho.

9. El kit de análisis de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el cuarto agente, quinto agente y sexto agente dentro de las una o más regiones de conjugación están liofilizados.

50 10. El kit de análisis de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que las una o más entradas de muestra comprenden una única entrada de muestra.

11. El kit de análisis de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que las una o más ventanas comprenden una única ventana.

55 12. El kit de análisis de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que cada uno del primer agente, segundo agente, tercer agente, cuarto agente, quinto agente y sexto agente, comprende un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo.

60 13. El kit de análisis de la reivindicación 1, en el que los uno o más sustratos en fase sólida es un único sustrato en fase sólida, y en el que las una o más regiones de conjugación es una única región de conjugación, y las una o más entradas de muestra es una única entrada de muestra, y en el que, además, el único sustrato en fase sólida está aguas arriba de la única región de conjugación que está aguas arriba de la única entrada de muestra.

65 14. El kit de análisis de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además una región de control que comprende un agente que está configurado para unirse a uno o más del cuarto agente, quinto agente o sexto agente y una almohadilla absorbente, aguas abajo de las regiones específicas del sustrato en fase sólida a las

que el primer agente, segundo agente y tercer agentes están unidos.

15. Un kit de análisis para detectar de forma concurrente *H. influenzae*, *M. catarrhalis* y *S. pneumoniae* a partir de una muestra de la mucosa, comprendiendo el kit de análisis:

- 5 un tampón de lisis para lisar células en la muestra y formar una única solución de muestra, en el que el tampón de lisis comprende entre el 0,01 % y el 5 % (p/p) del tensioactivo aniónico y entre el 0,1 % y el 15 % (p/p) del agente osmótico;
- 10 un cartucho que contiene un sustrato en fase sólida que aloja un primer agente que se une específicamente a un primer antígeno específico de *H. influenzae* pero no de *M. catarrhalis* o *S. pneumoniae*, un segundo agente que se une específicamente a un segundo antígeno específico de *M. catarrhalis* pero no de *H. influenzae* o *S. pneumoniae*, y un tercer agente que se une específicamente a un tercer antígeno específico de *S. pneumoniae* pero no de *M. catarrhalis* o *H. influenzae*, en el que los primer, segundo y tercer agentes están unidos a regiones específicas del sustrato en fase sólida; y
- 15 una región de conjugación dentro del cartucho, región de conjugación en comunicación fluida con el sustrato en fase sólida y que comprende un cuarto agente que está etiquetado y que se une específicamente al primer antígeno, un quinto agente que está etiquetado y que se une específicamente al segundo antígeno, y un sexto agente que está etiquetado y que se une específicamente al tercer antígeno;
- 20 una entrada de muestra en el cartucho en comunicación fluida con la región de conjugación; y
- una o más ventanas que dejan expuestas las regiones específicas del sustrato en fase sólida a las que los primer, segundo y tercer agentes están unidos.

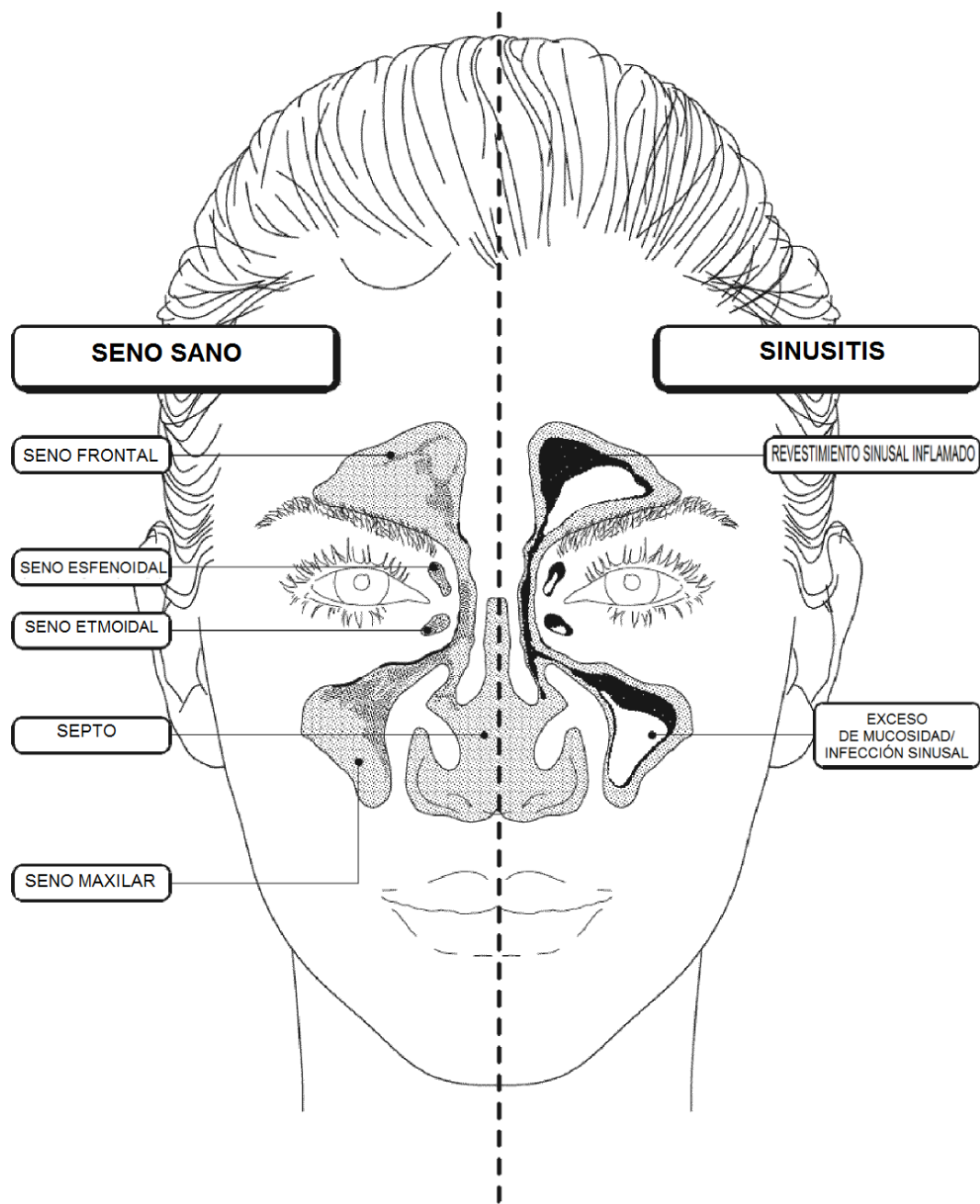


FIG. 1

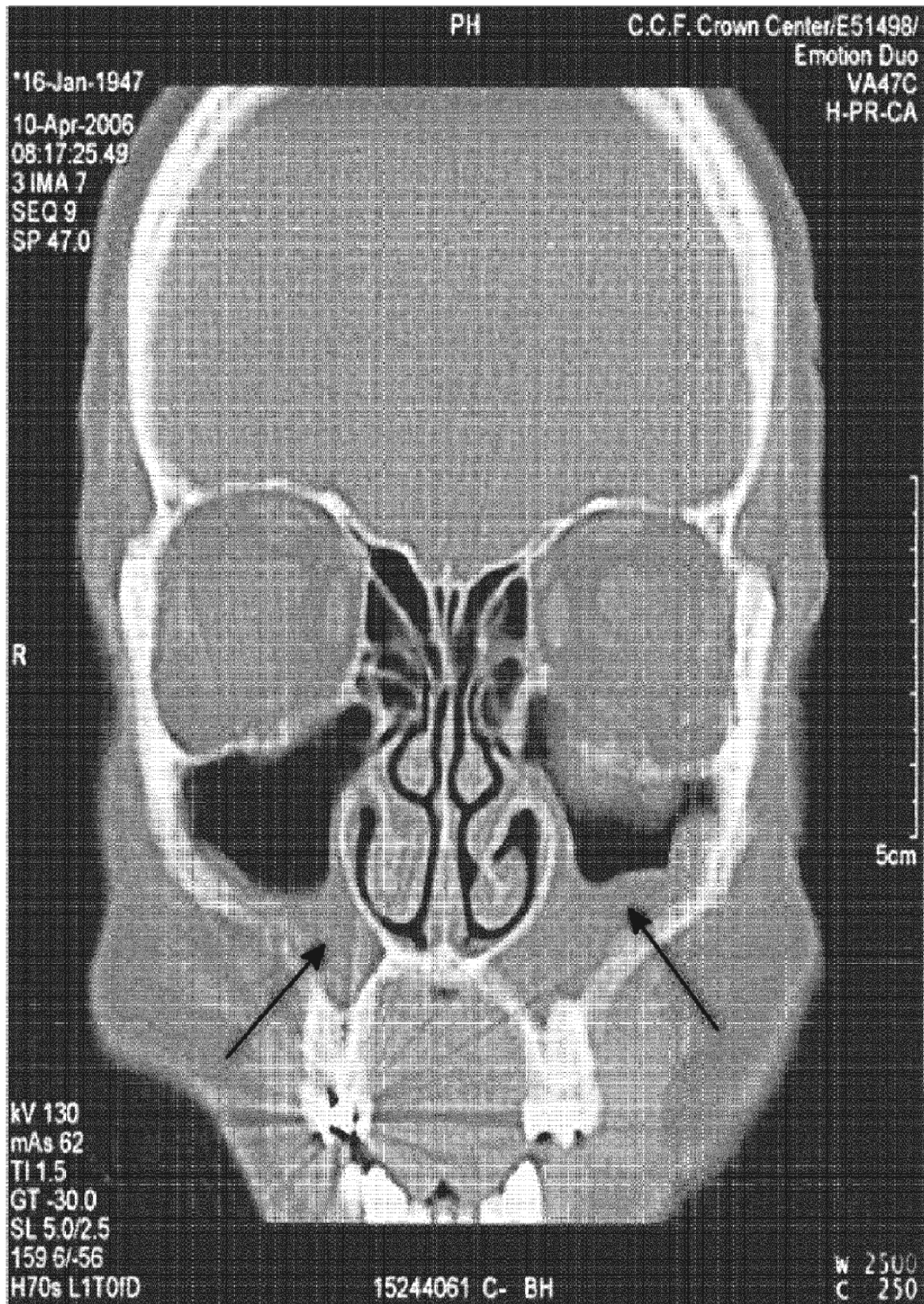


FIG. 2

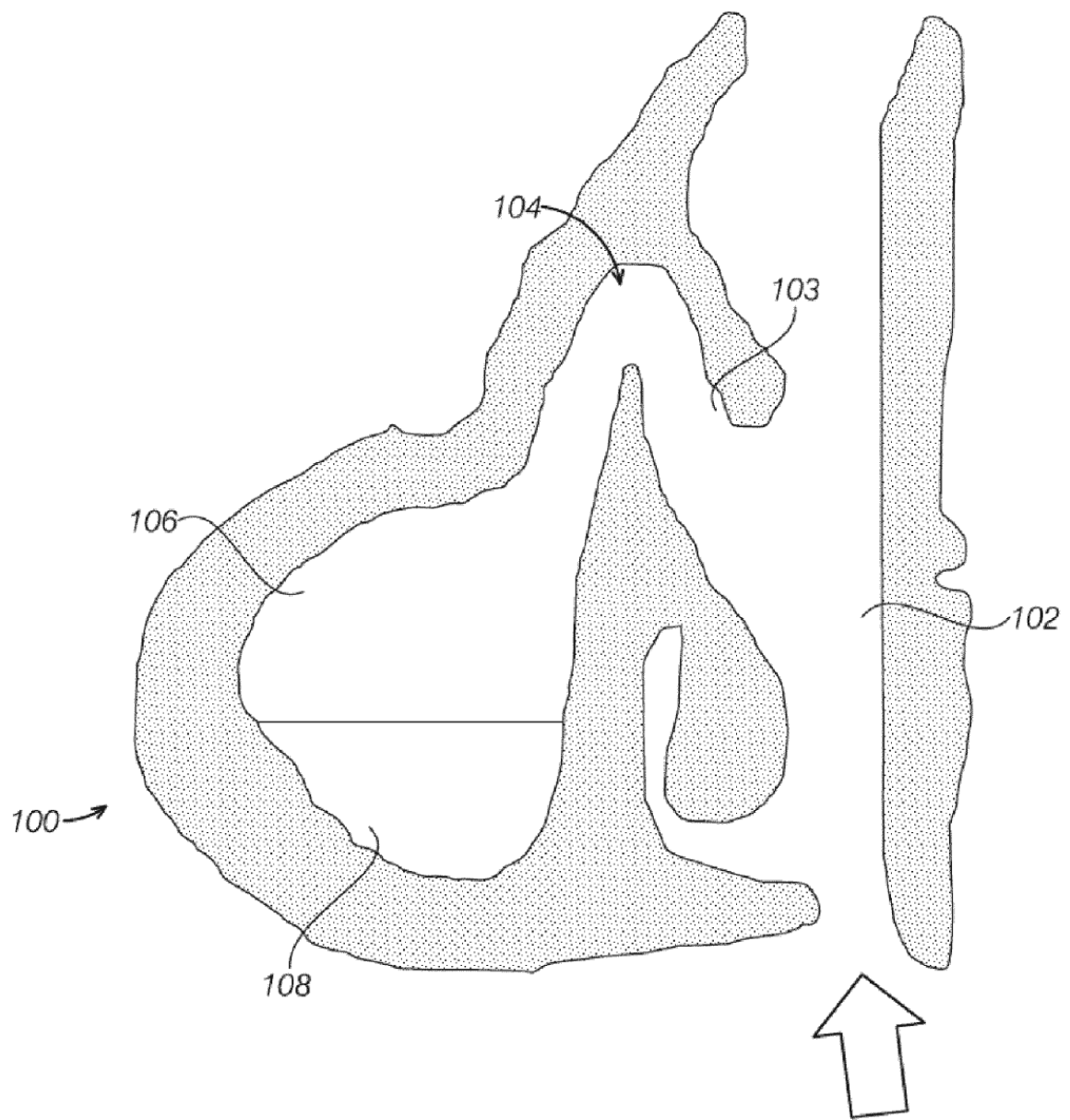


FIG. 3A

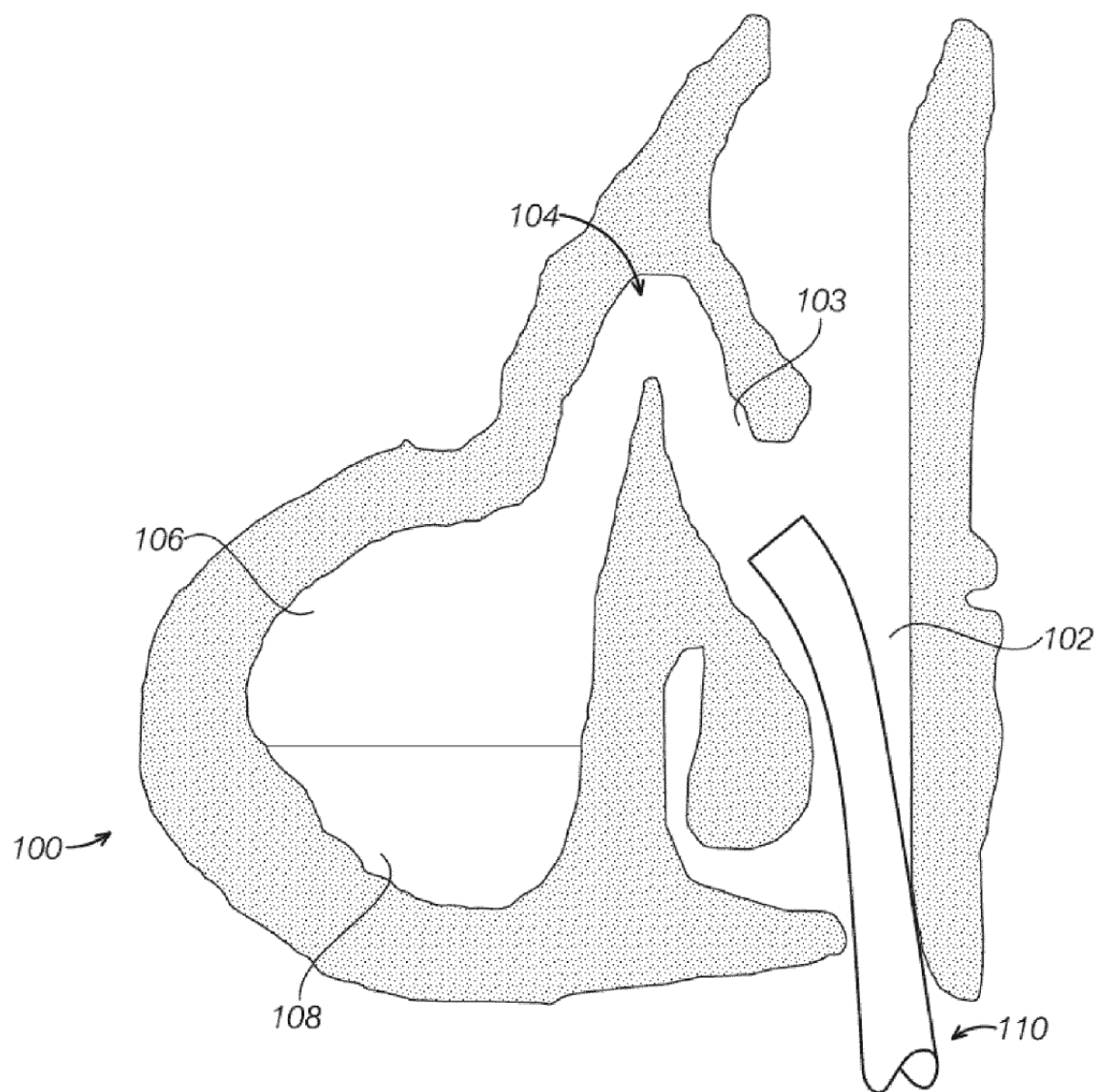


FIG. 3B

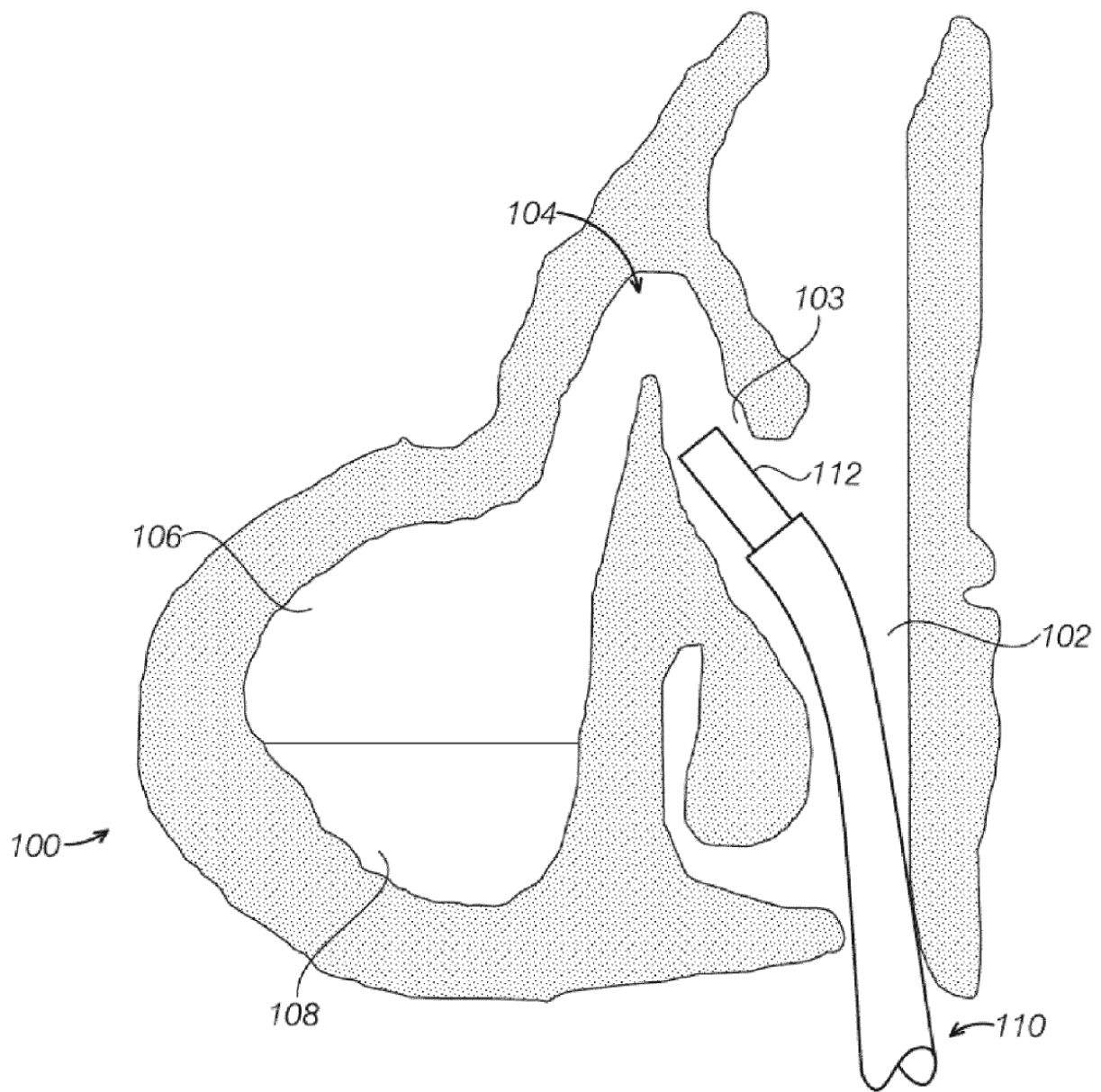


FIG. 3C

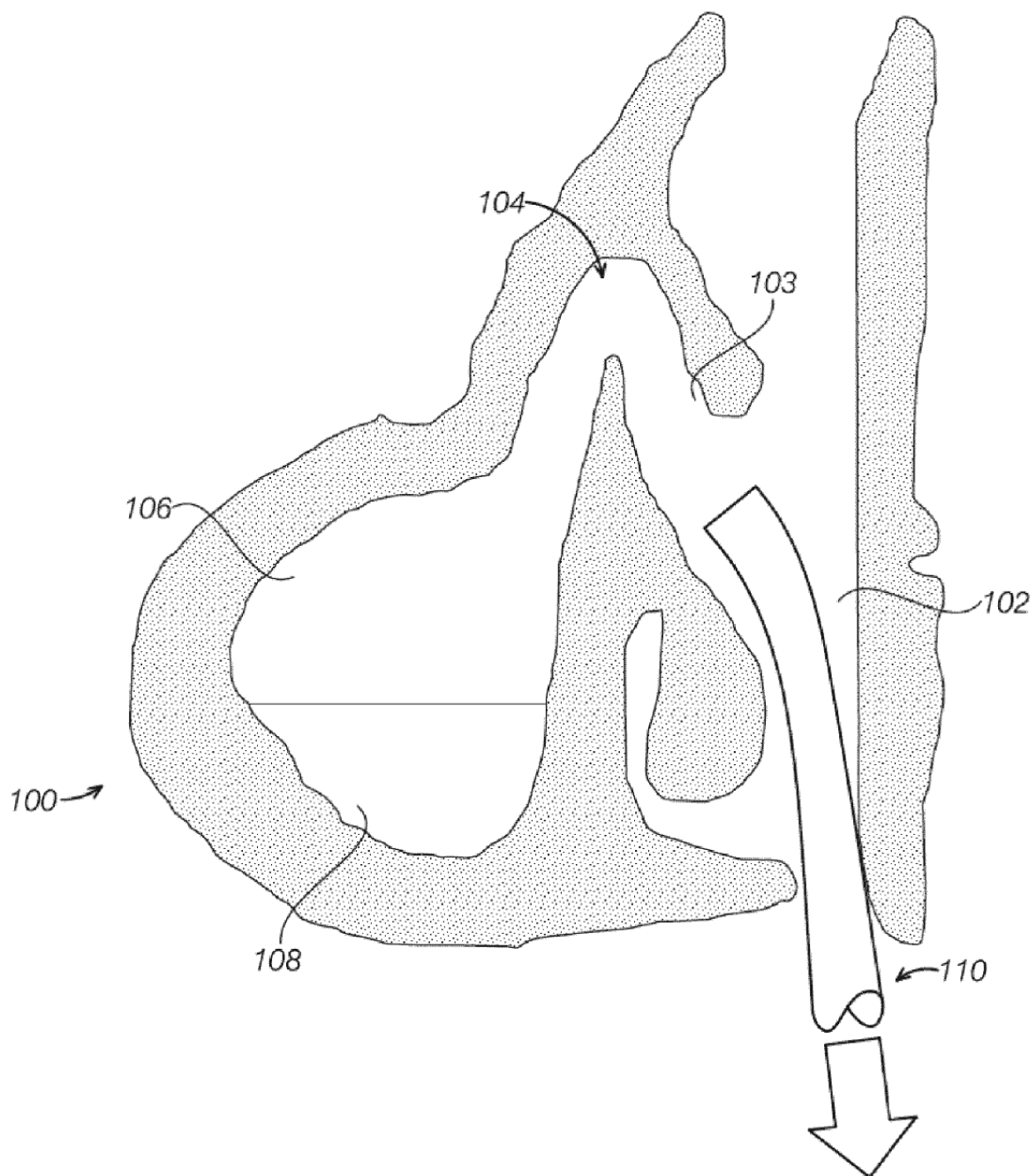


FIG. 3D

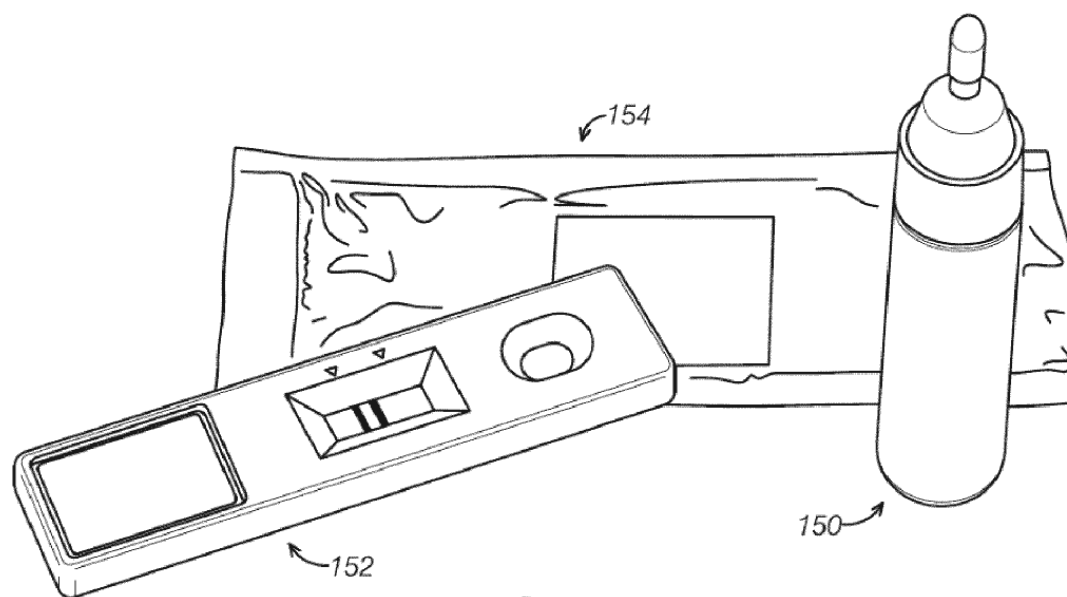


FIG. 3E

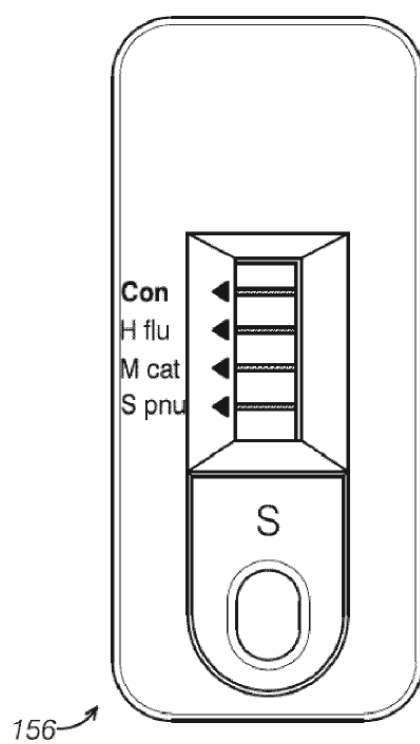


FIG. 3F

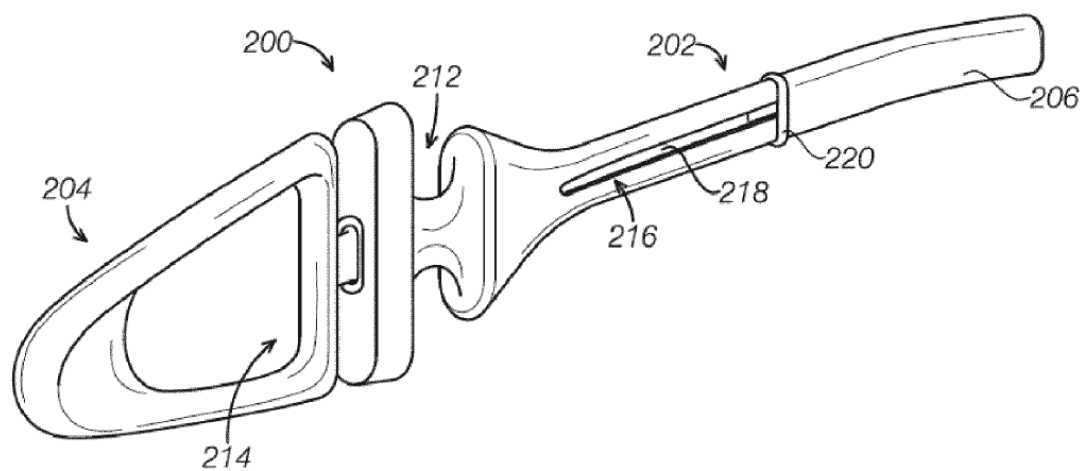


FIG. 4A

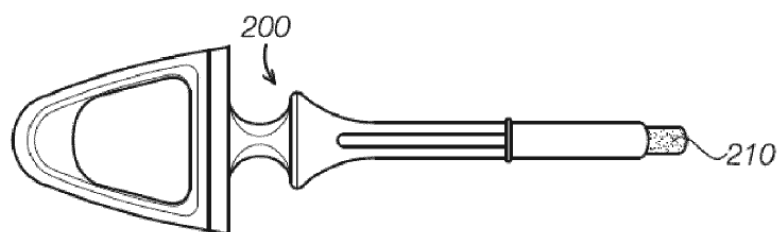


FIG. 4B

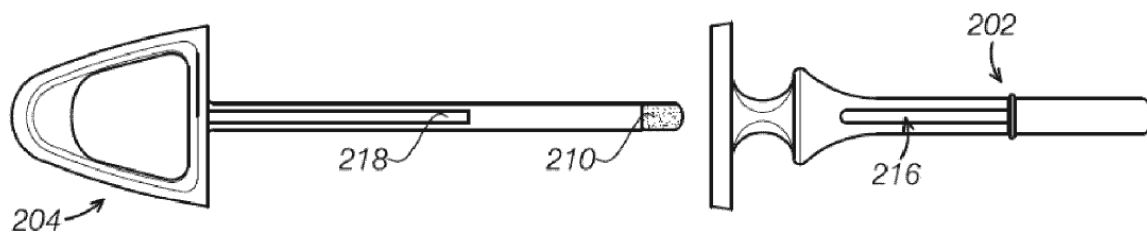
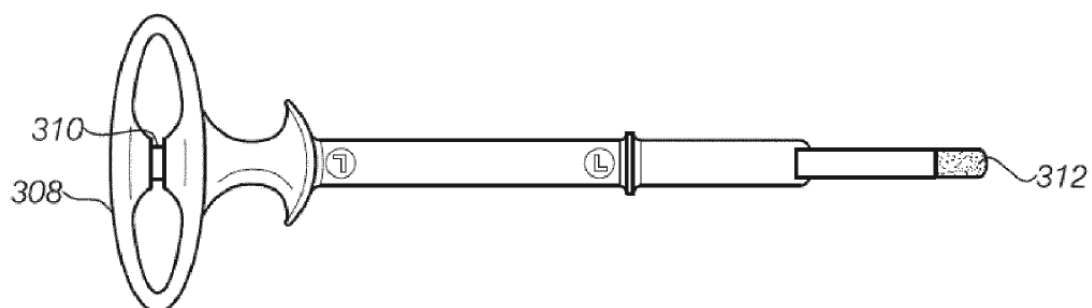
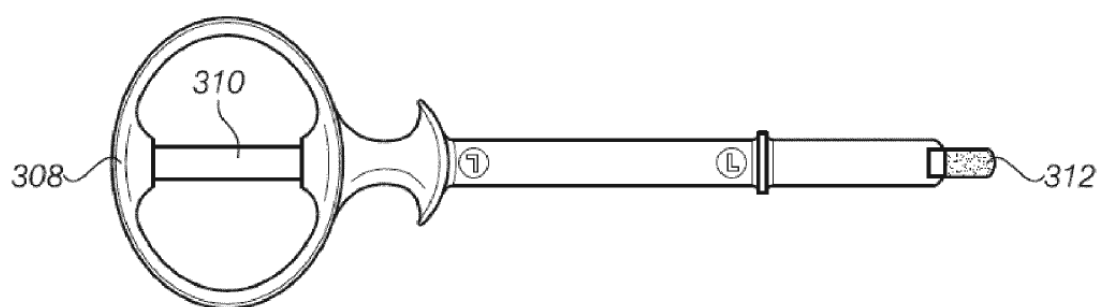
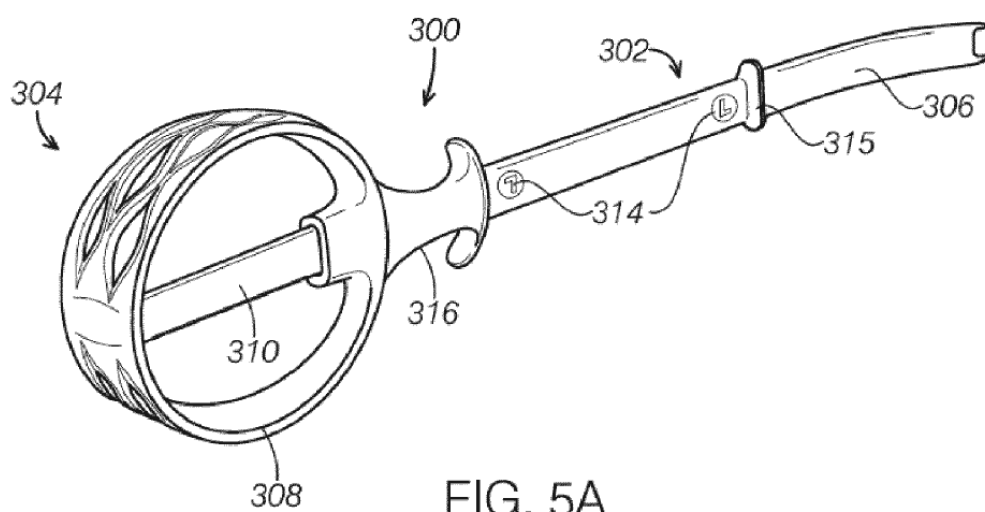
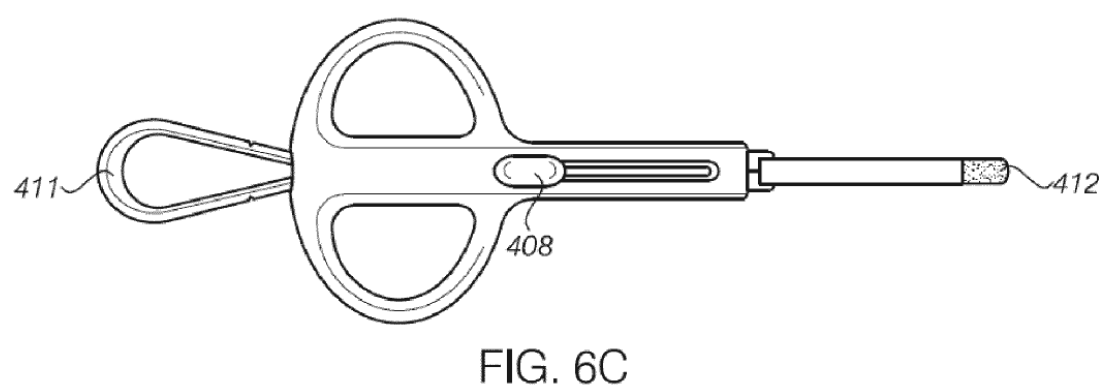
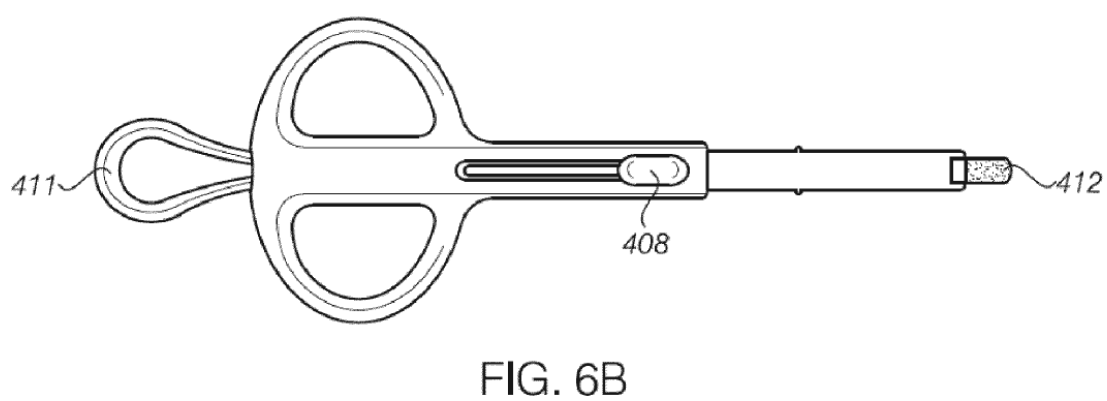
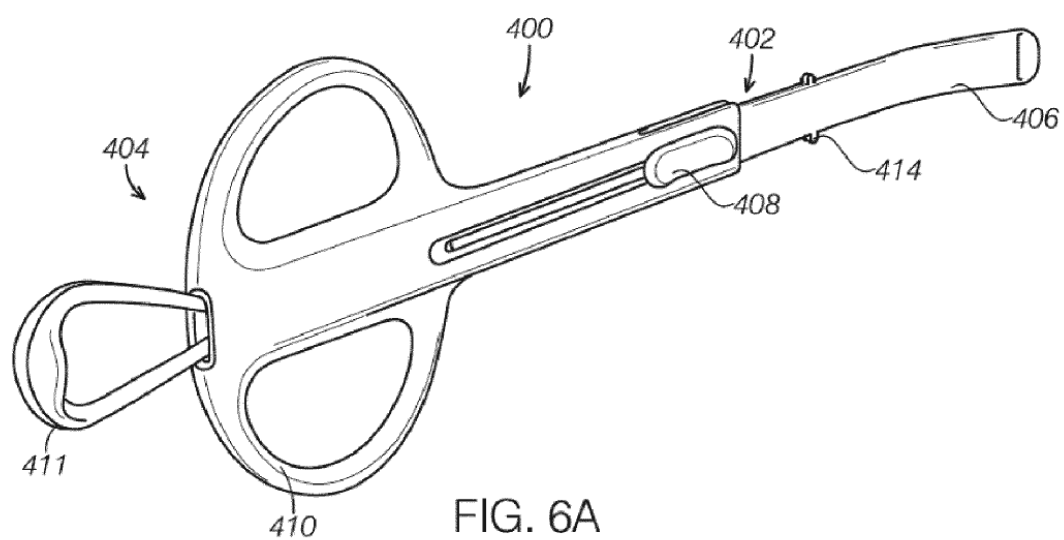


FIG. 4C





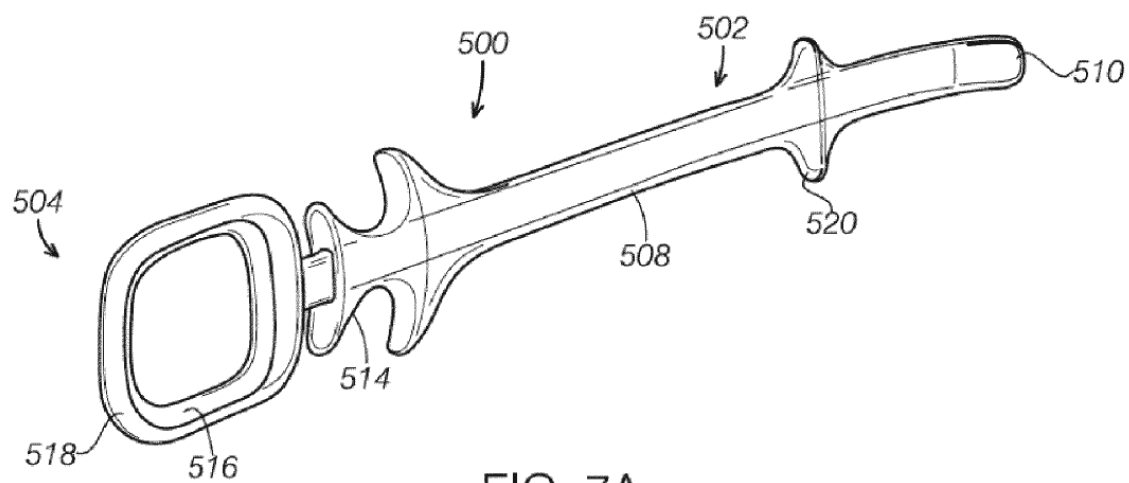


FIG. 7A

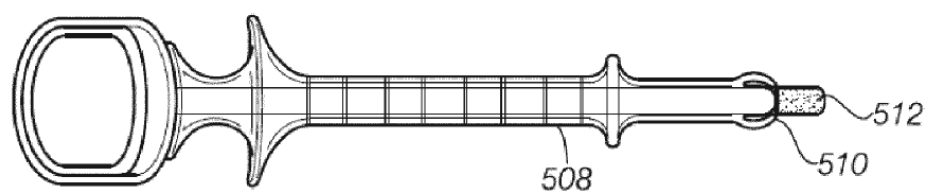


FIG. 7B

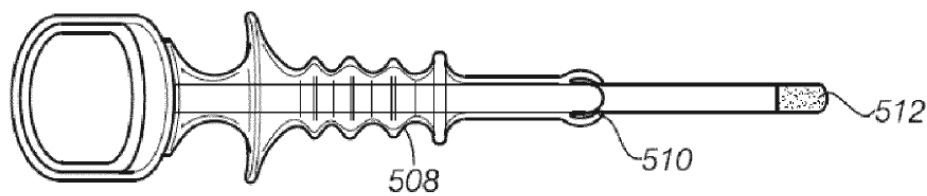
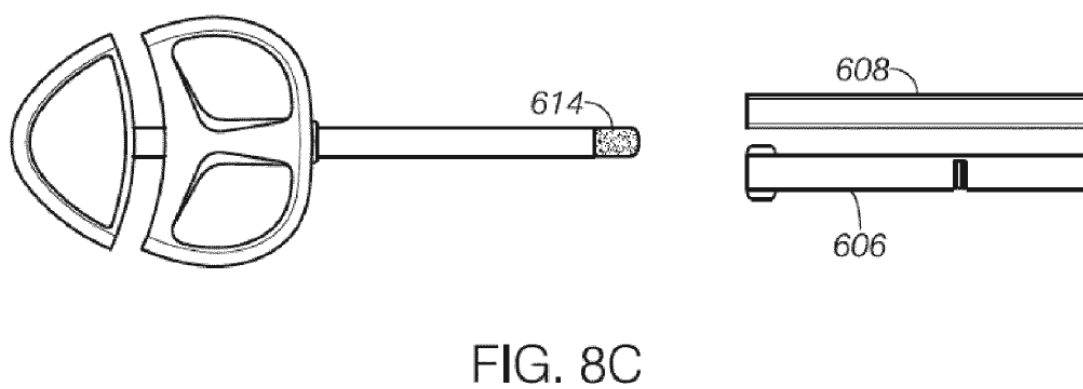
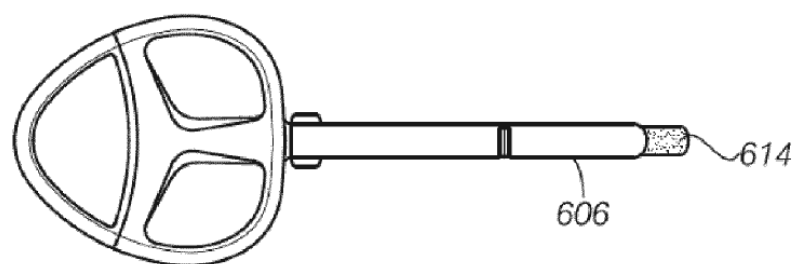
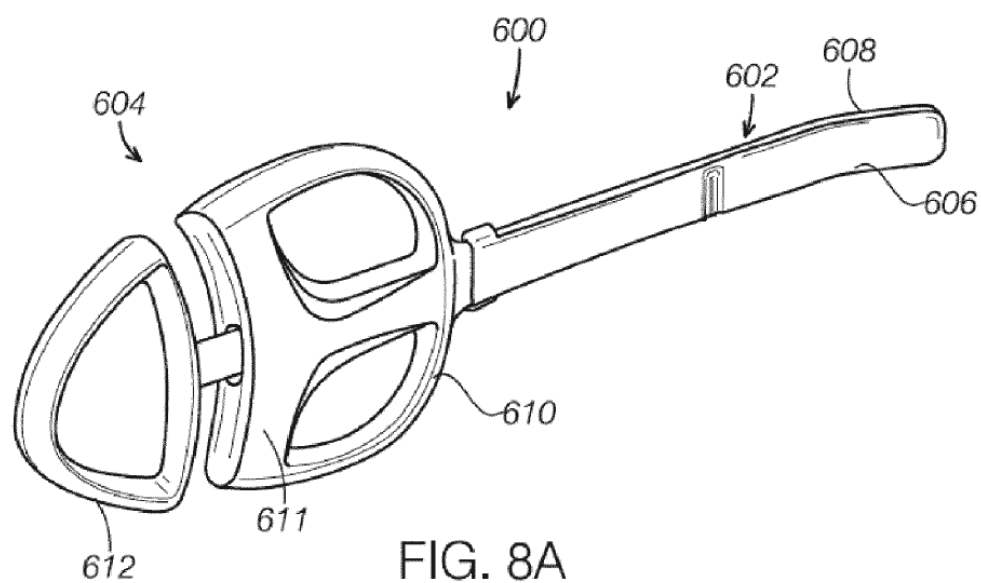
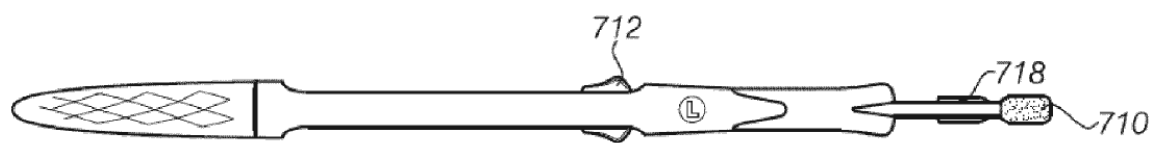
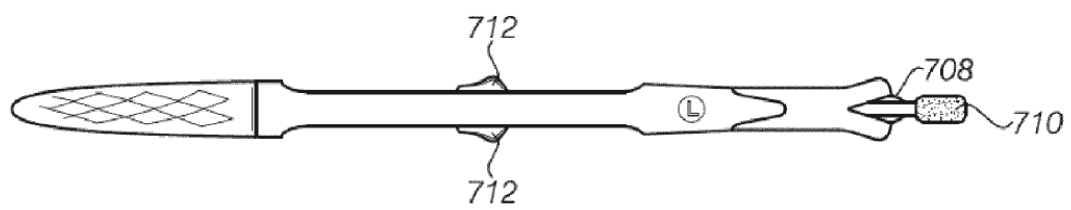
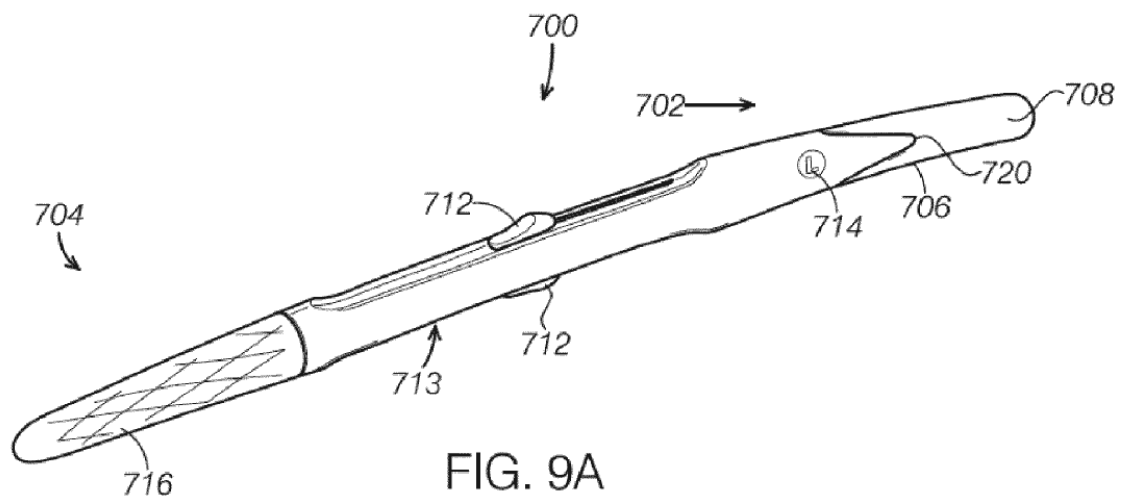


FIG. 7C





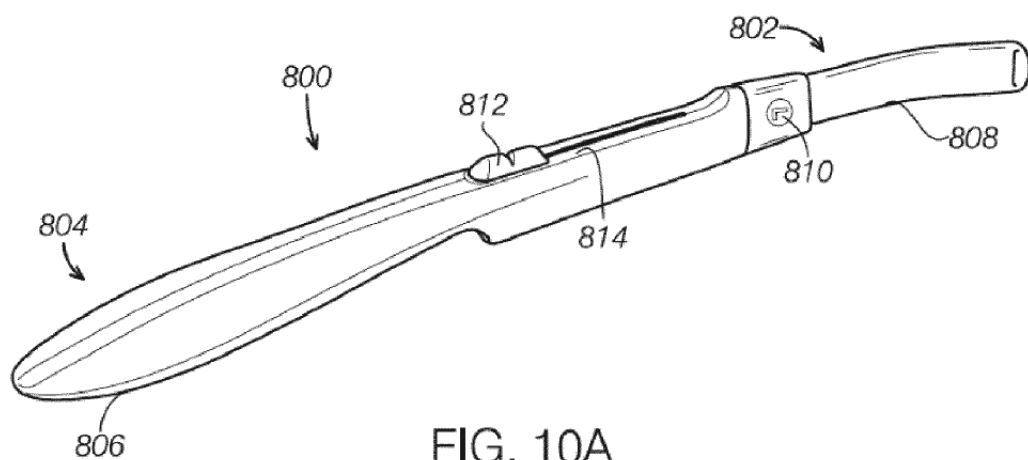


FIG. 10A

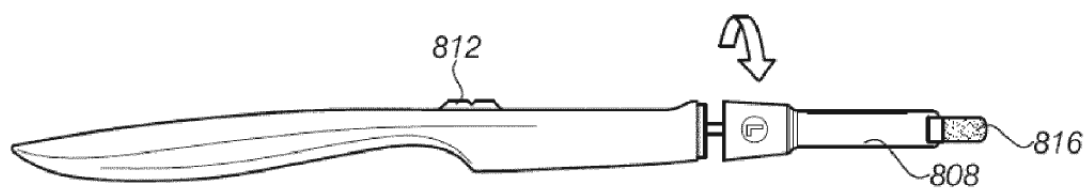


FIG. 10B

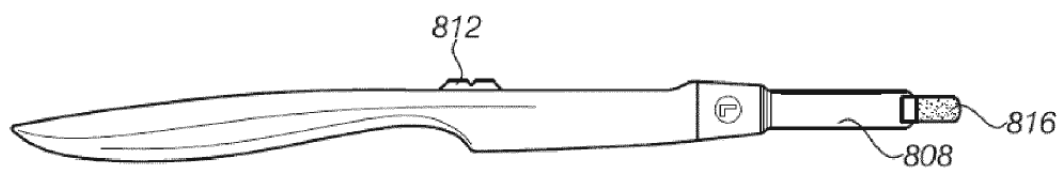


FIG. 10C

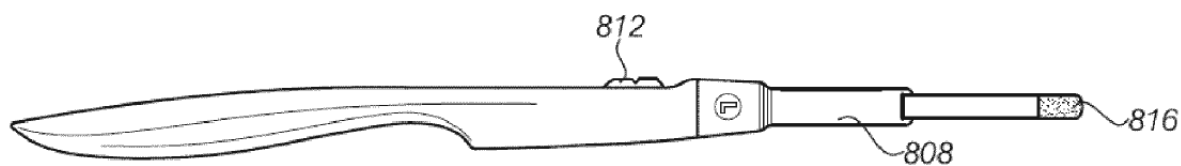
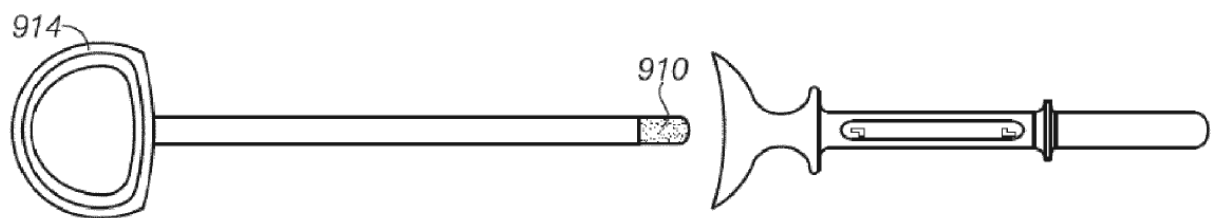
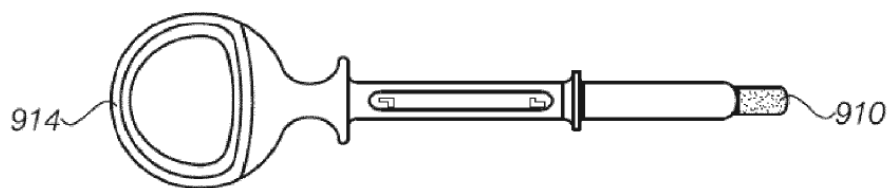
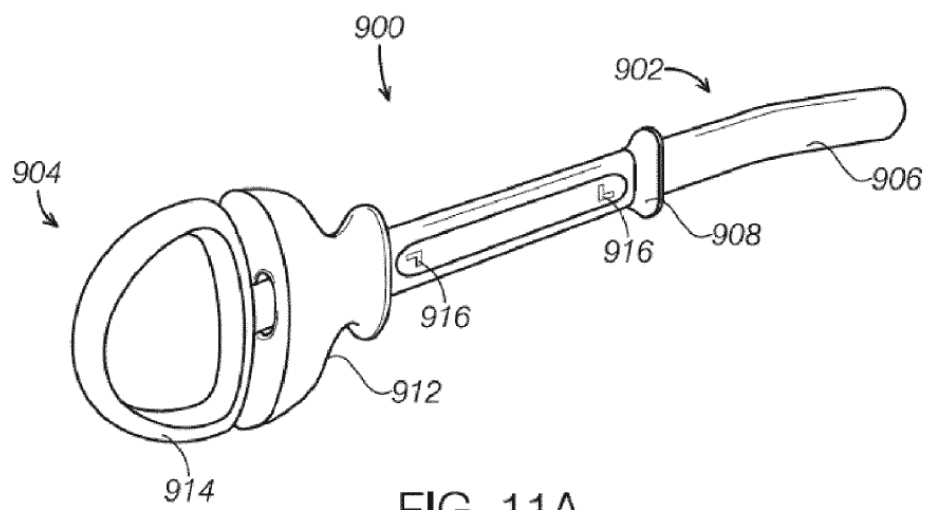


FIG. 10D



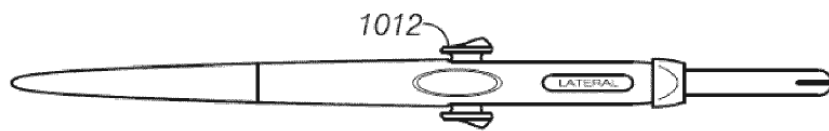
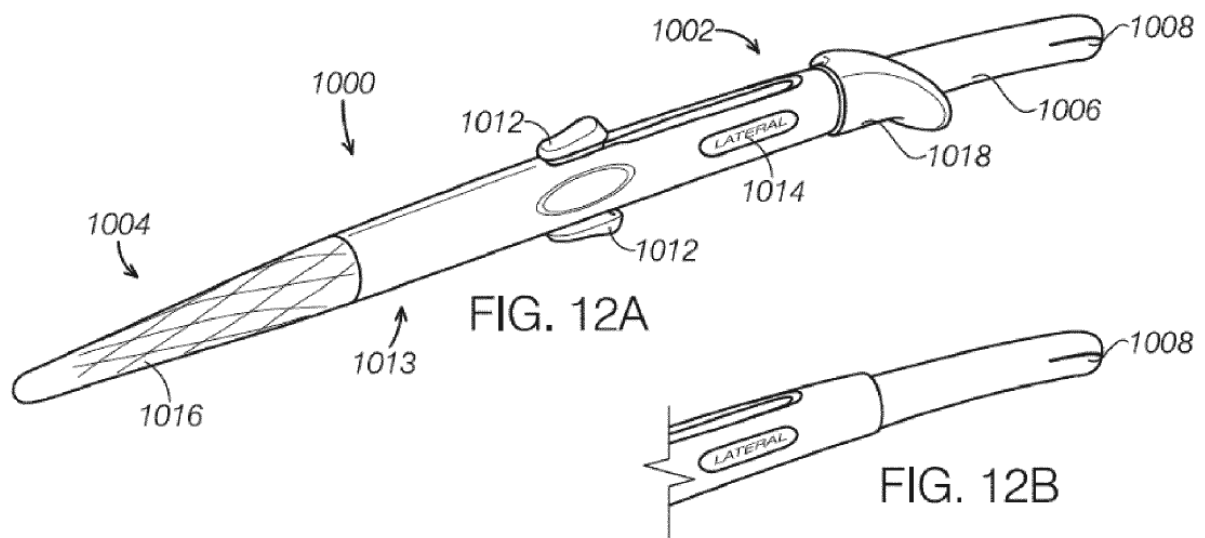


FIG. 12C

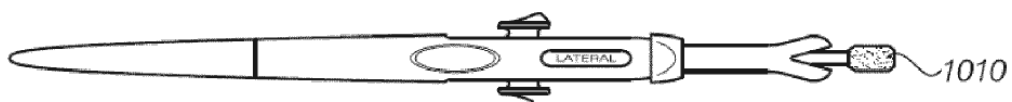
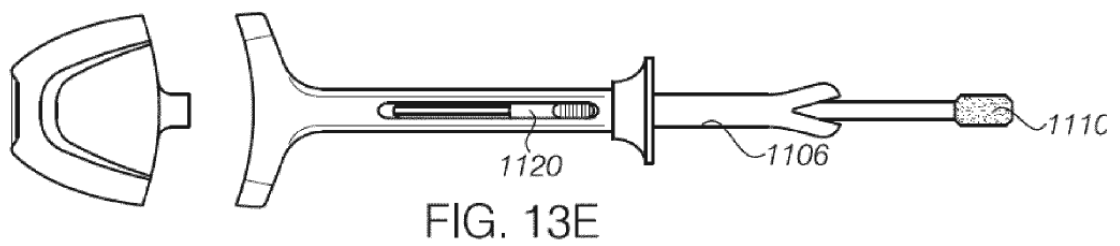
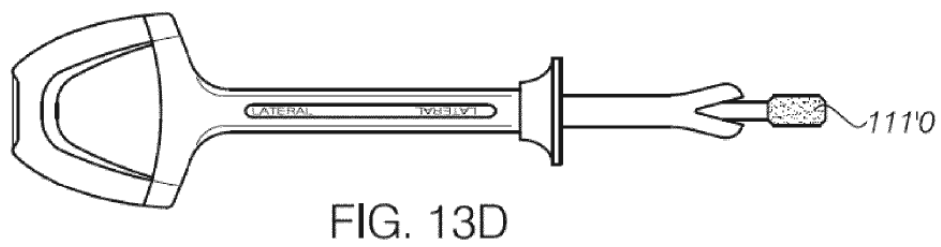
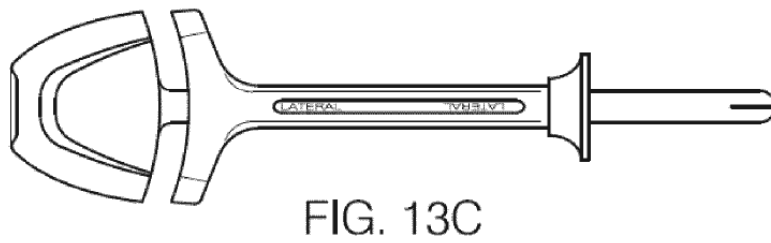
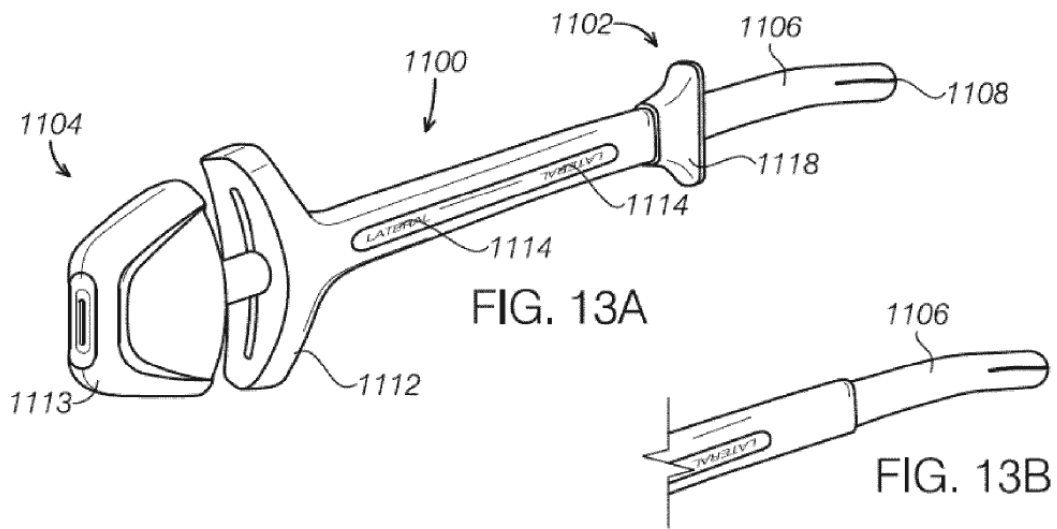
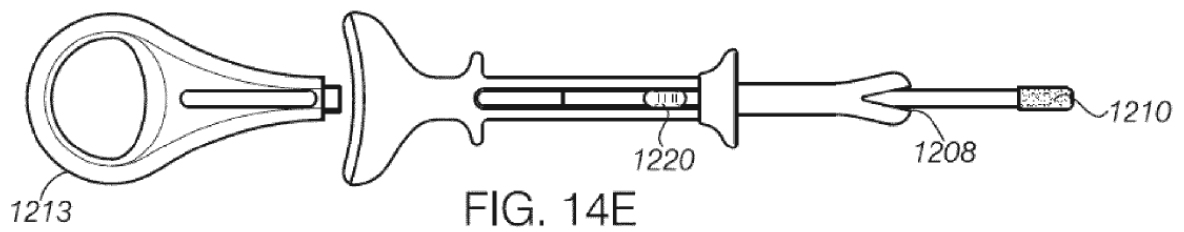
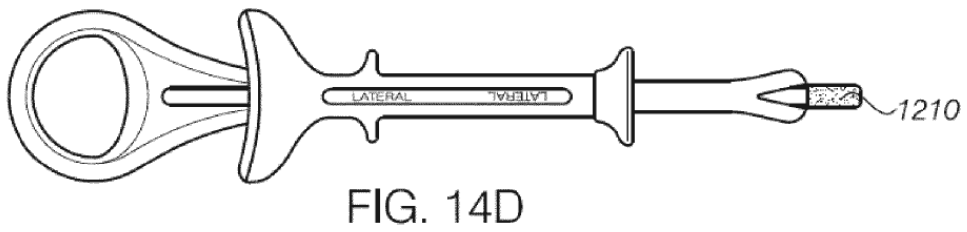
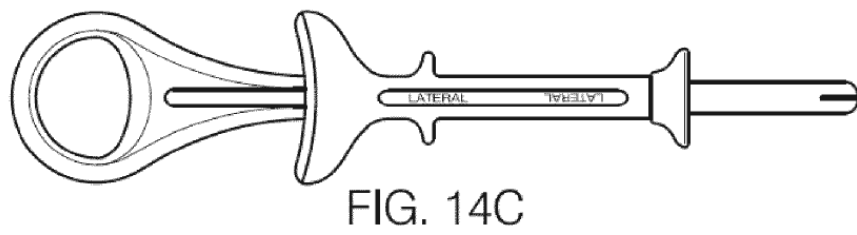
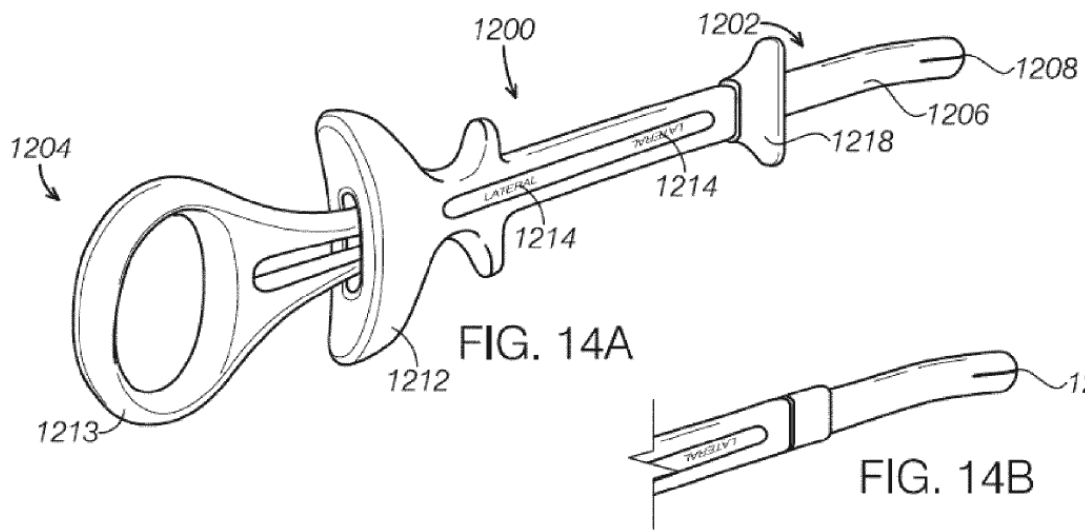


FIG. 12D



FIG. 12E





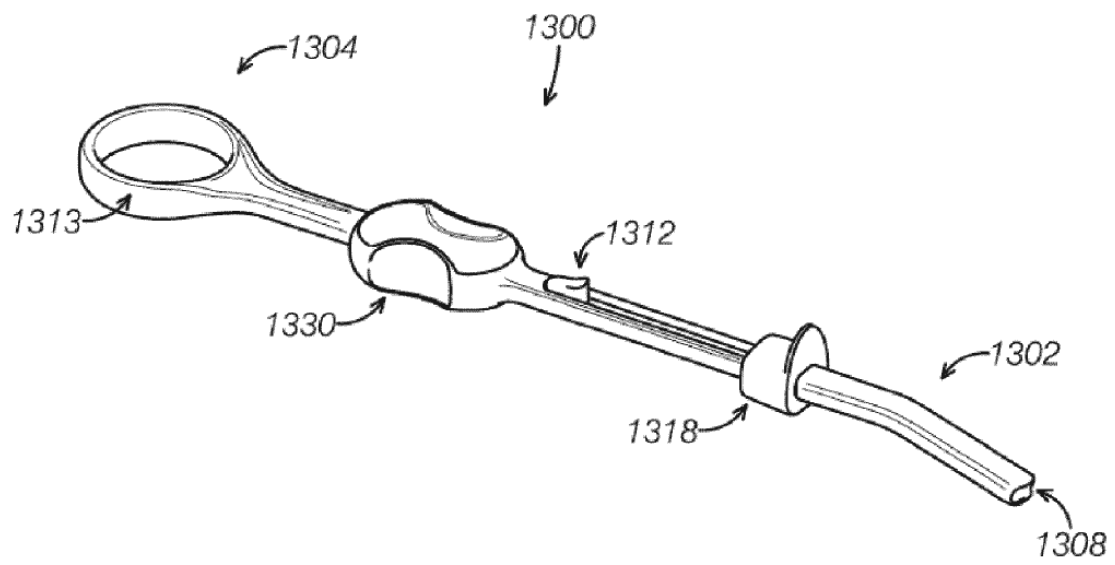


FIG. 15A

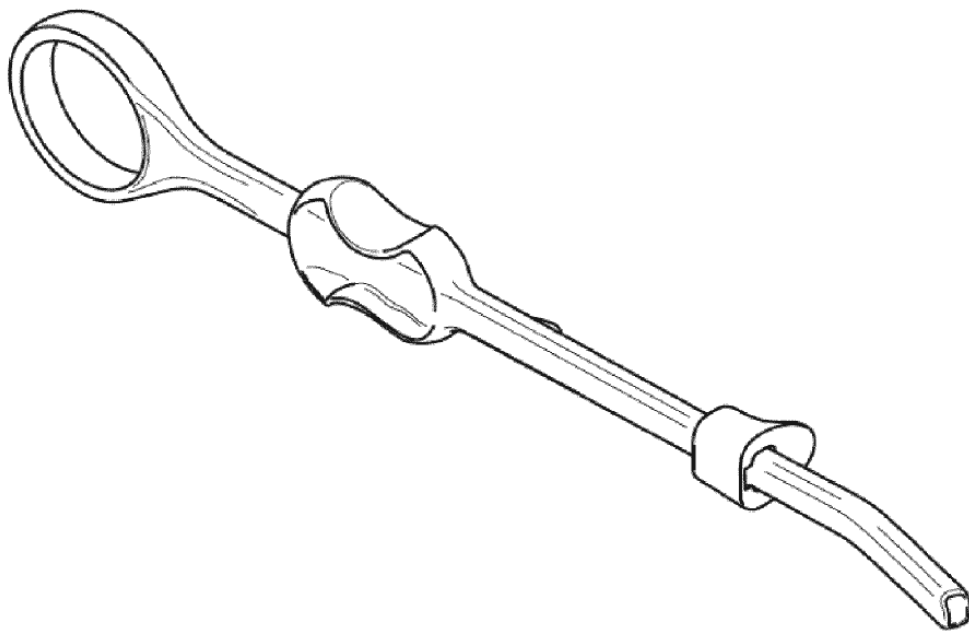


FIG. 15B

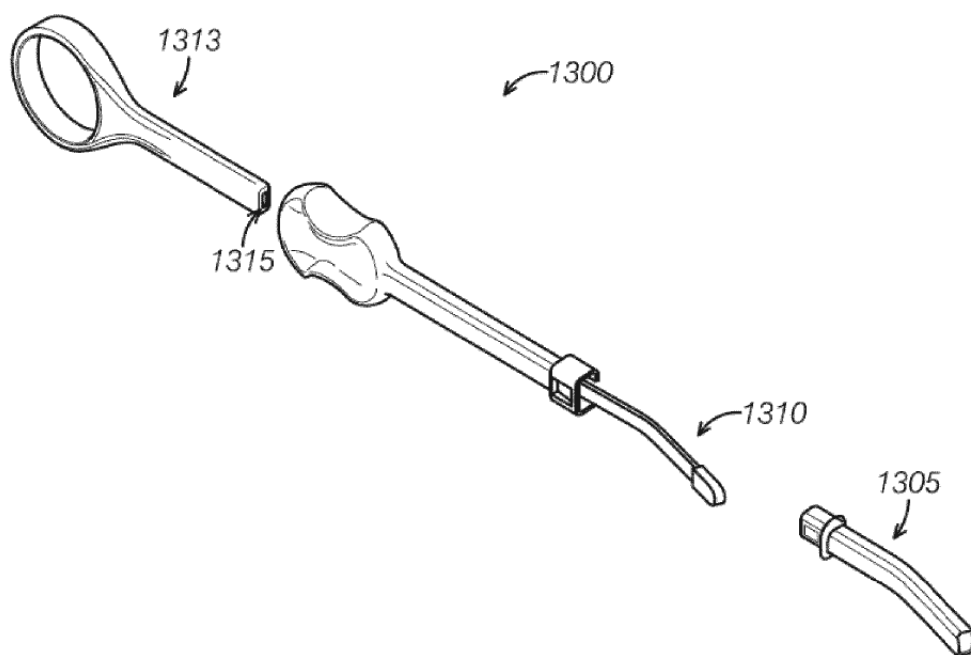


FIG. 15C

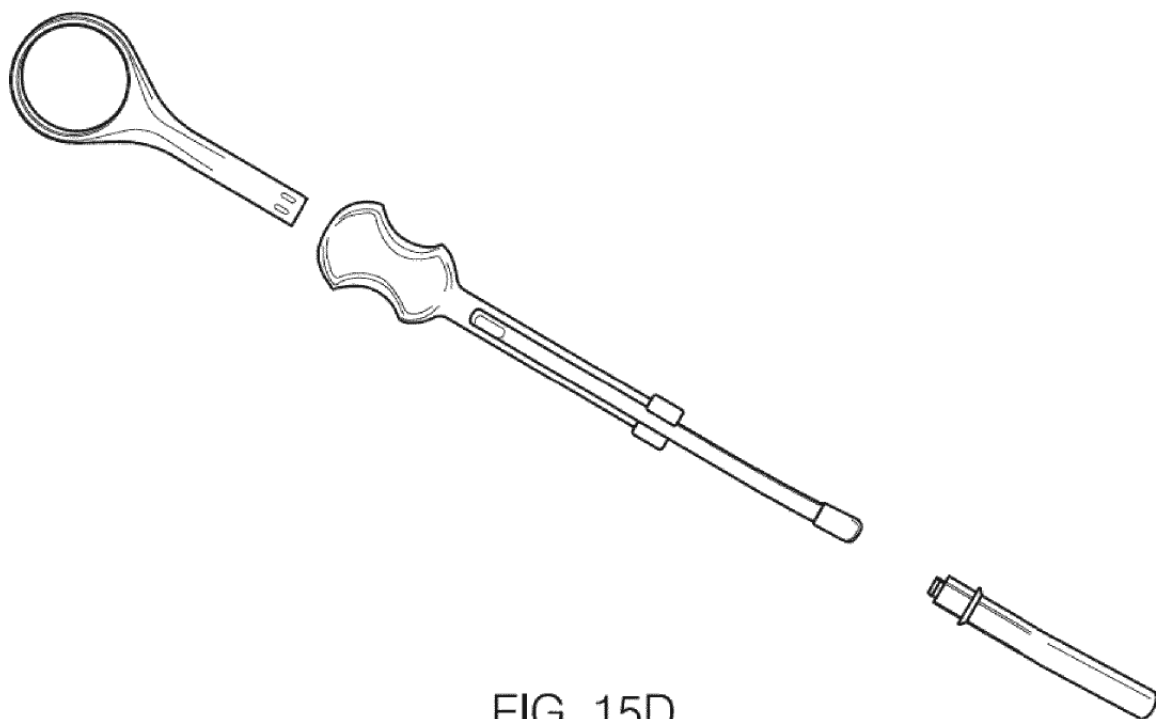
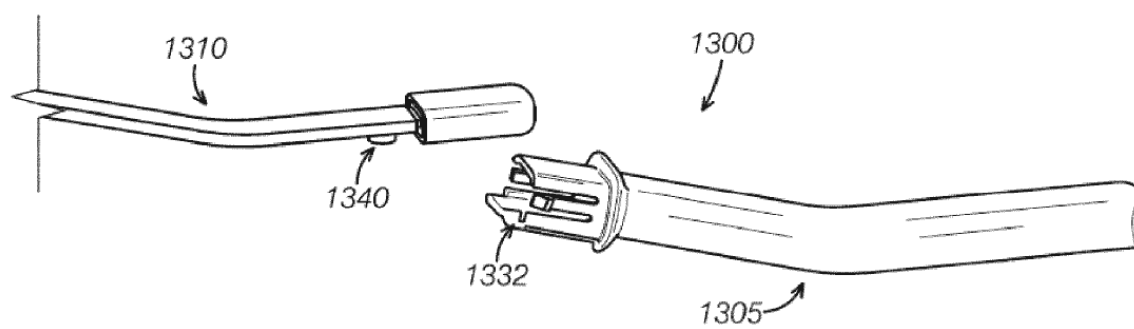
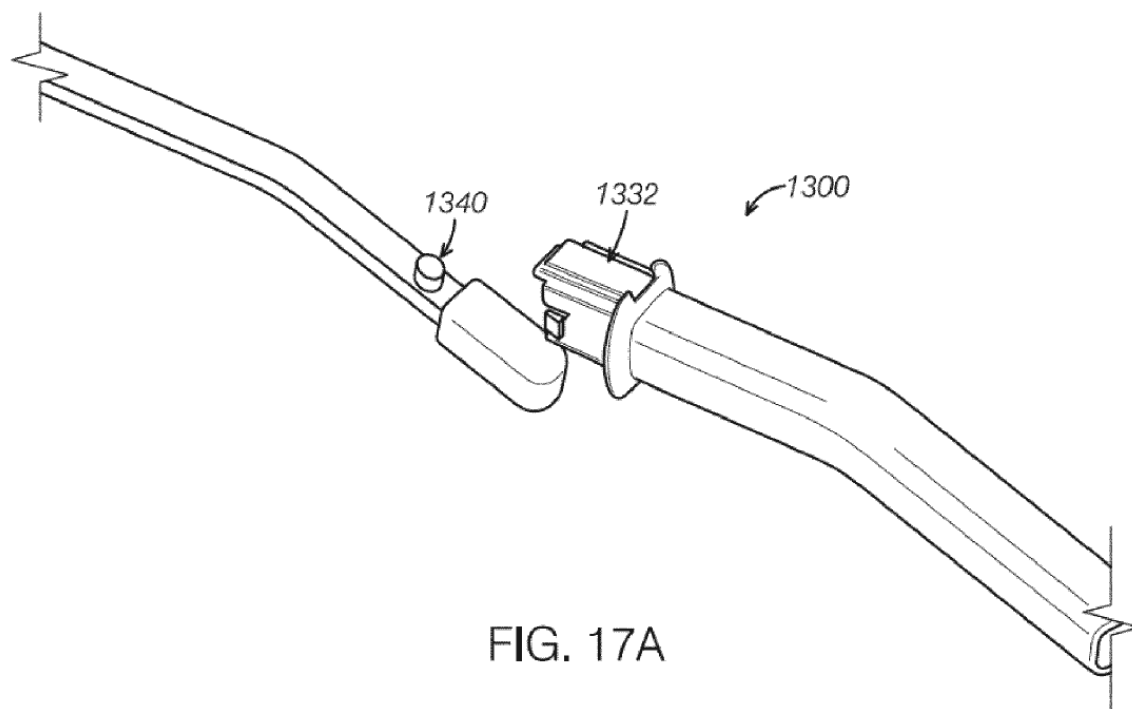
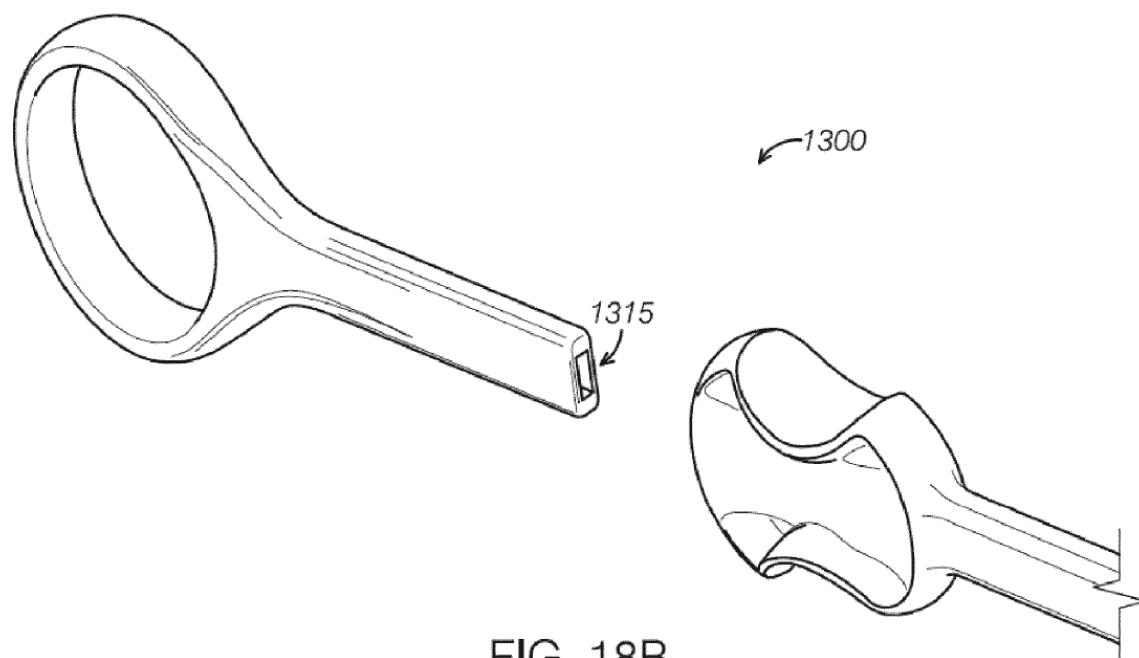
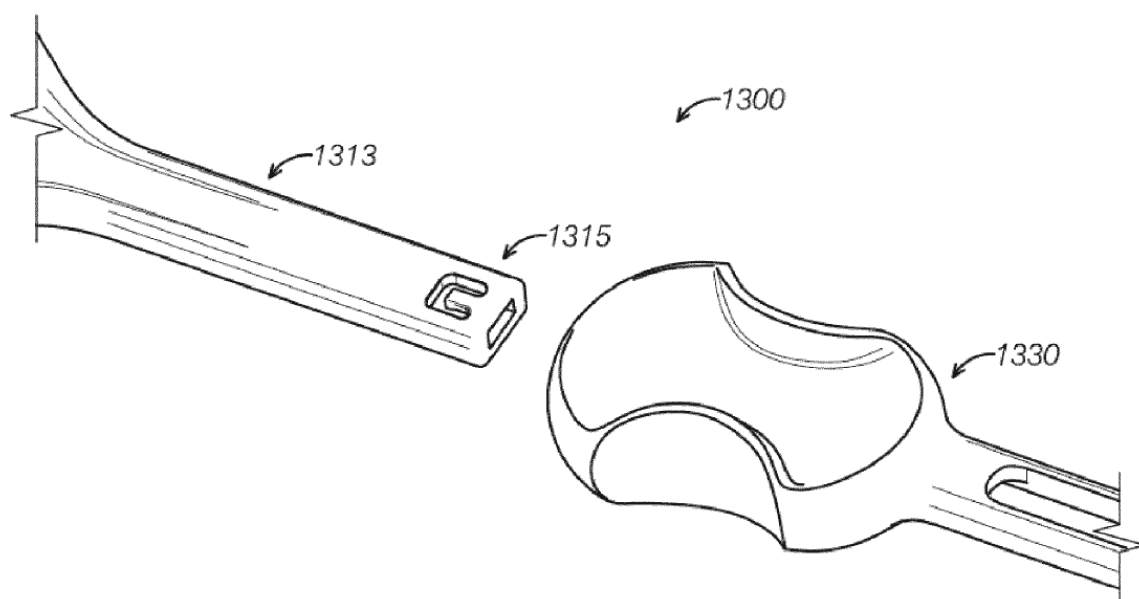


FIG. 15D





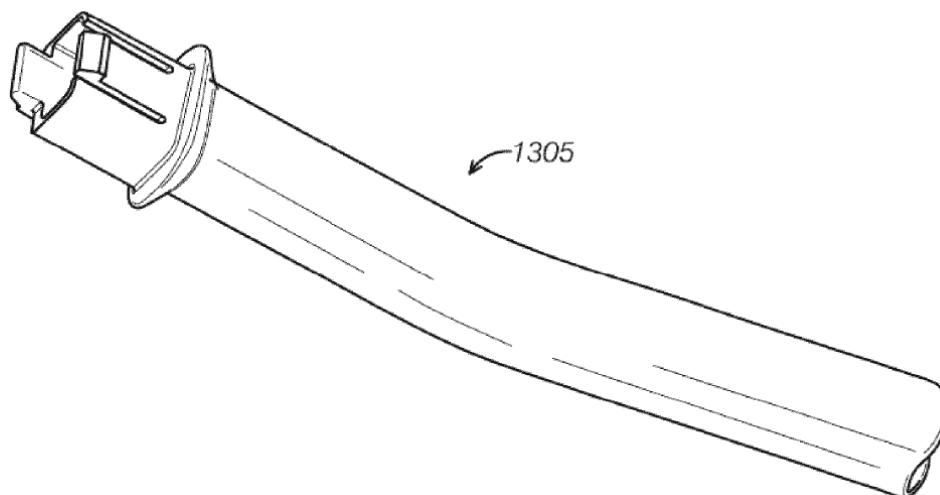


FIG. 19

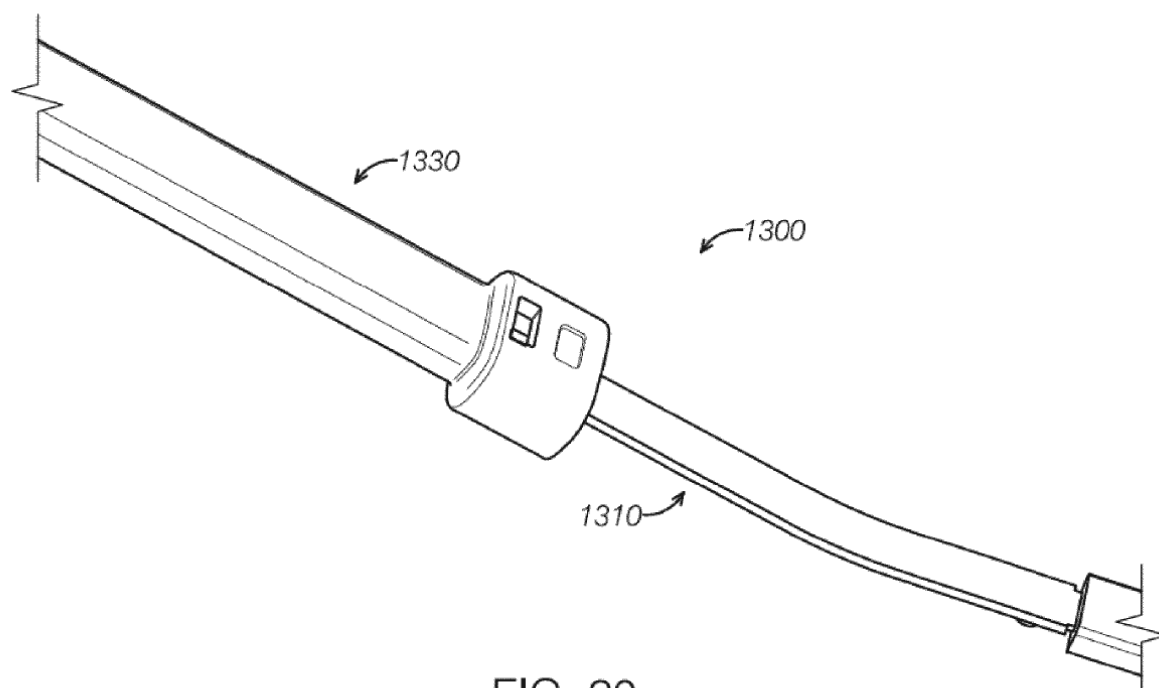
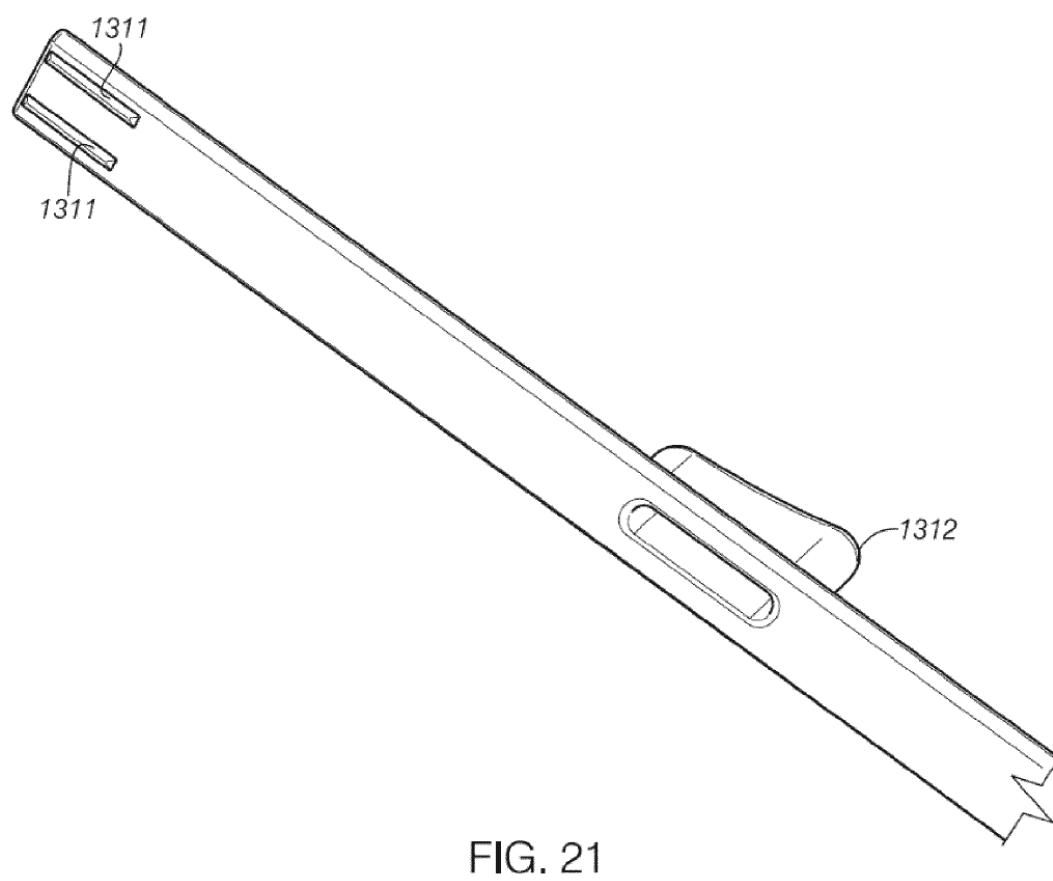
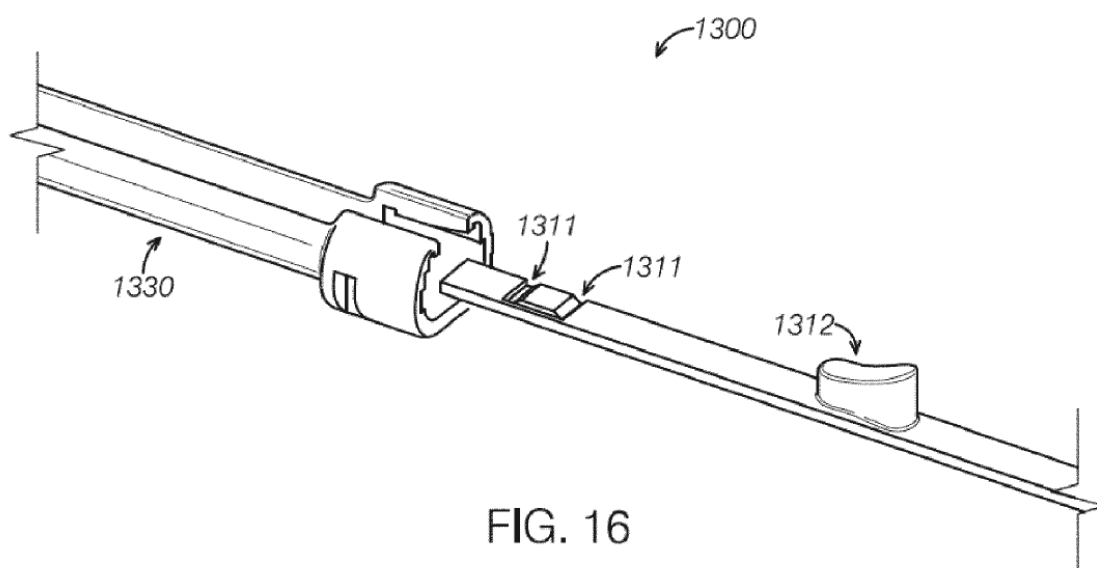


FIG. 20



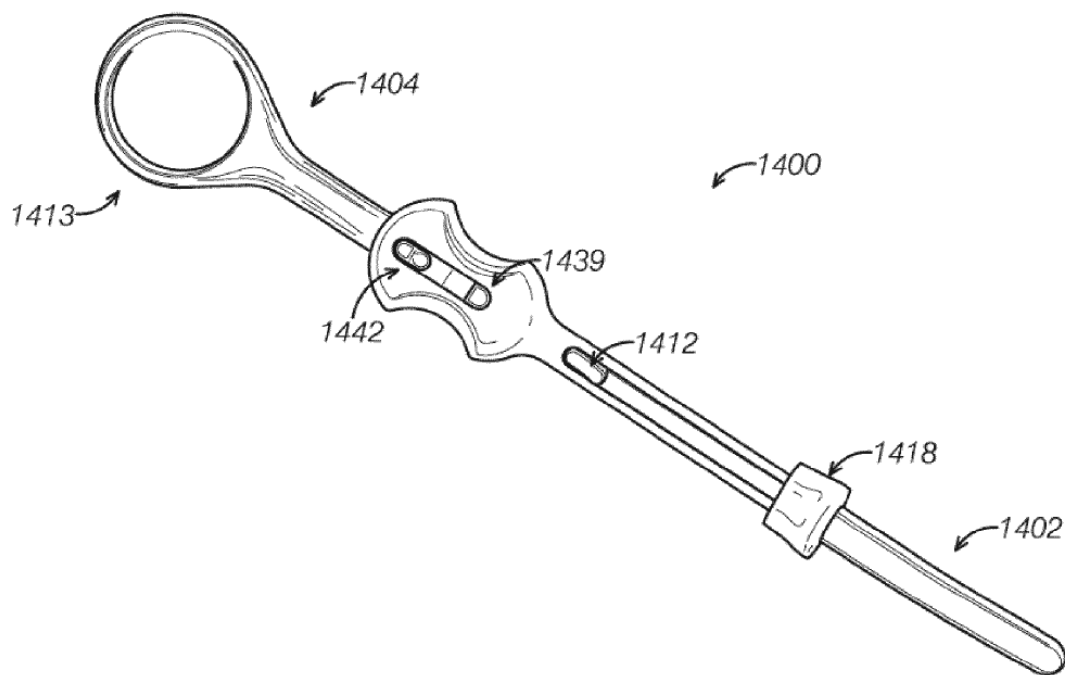


FIG. 22

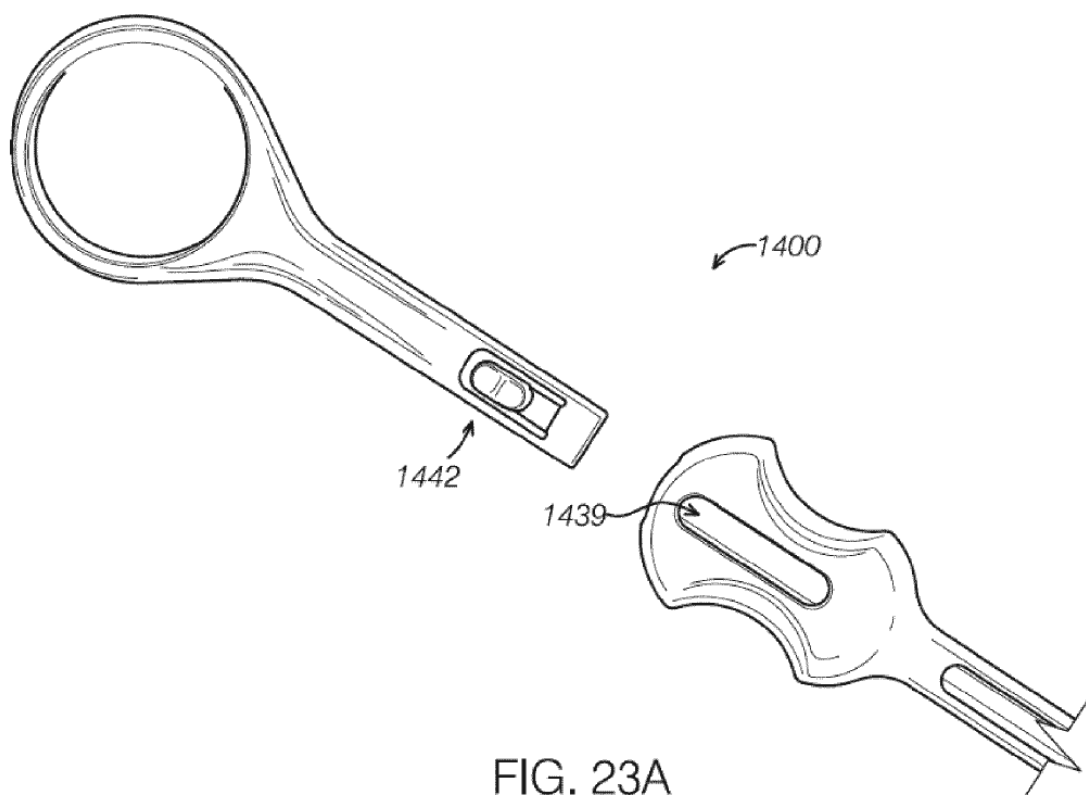


FIG. 23A

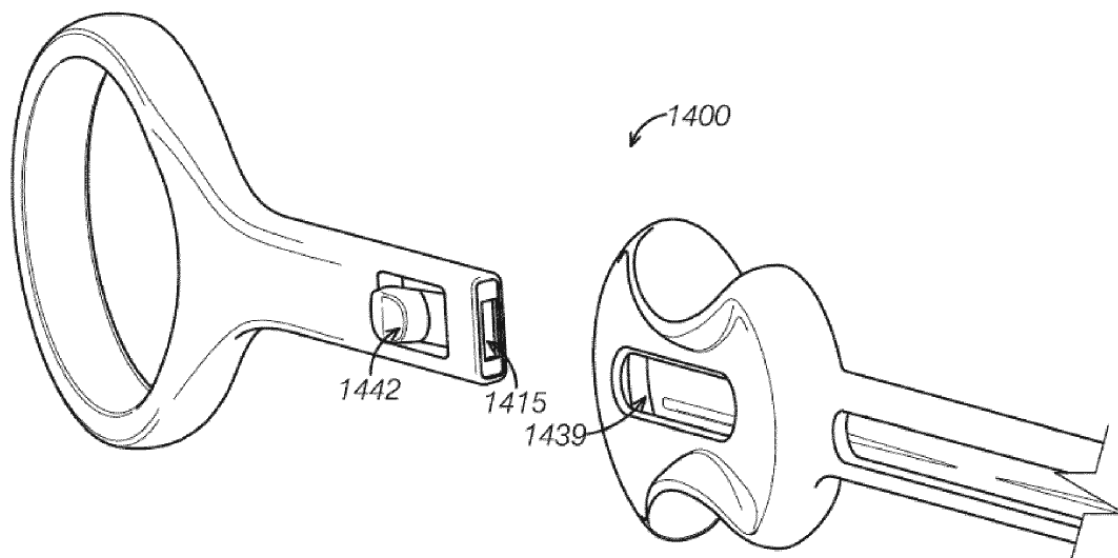


FIG. 23B

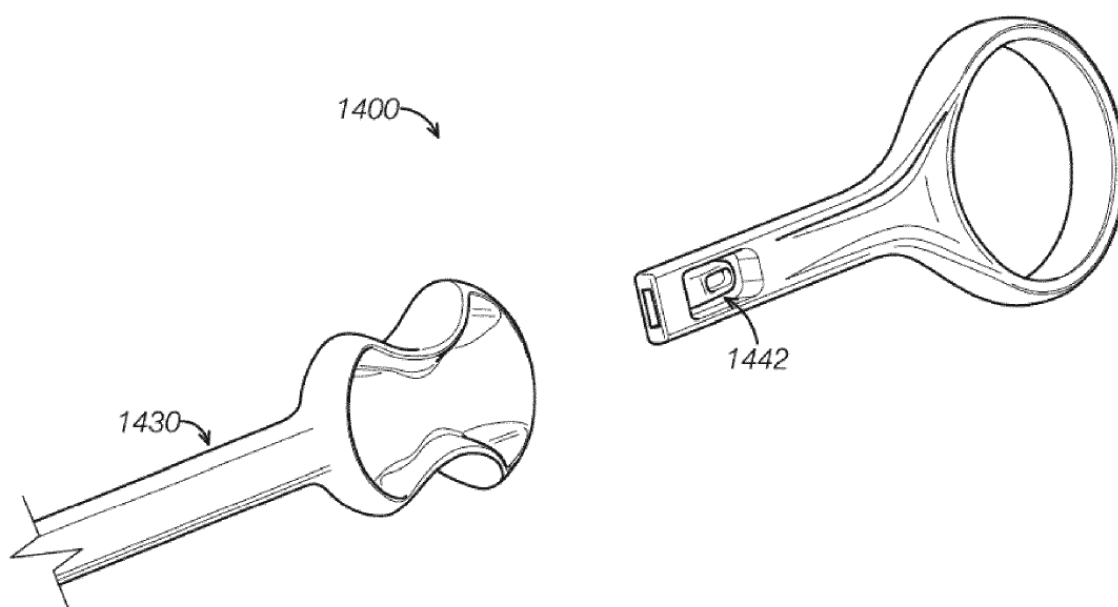


FIG. 23C

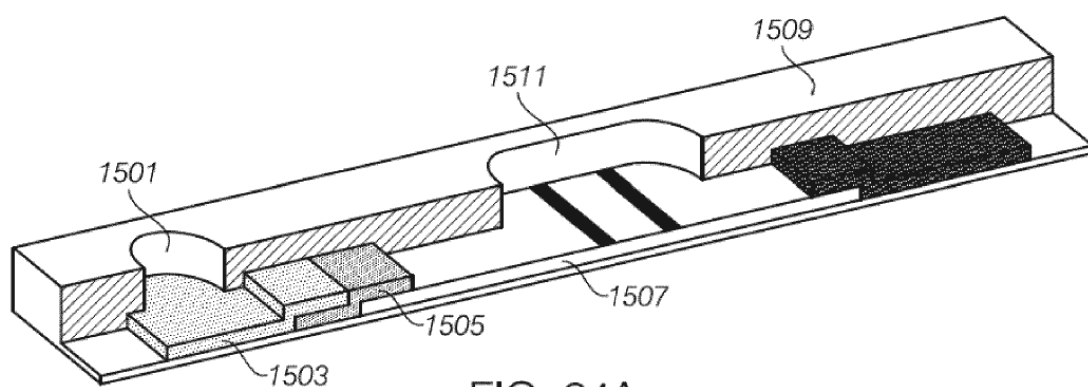


FIG. 24A



FIG. 24B

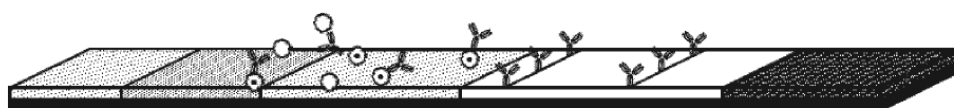


FIG. 24C

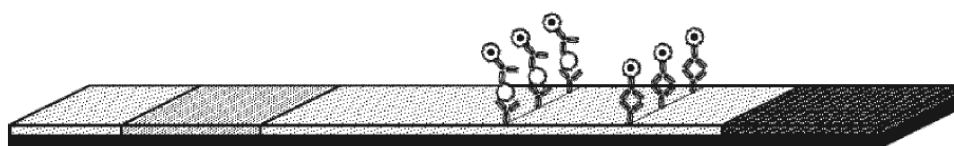


FIG. 24D

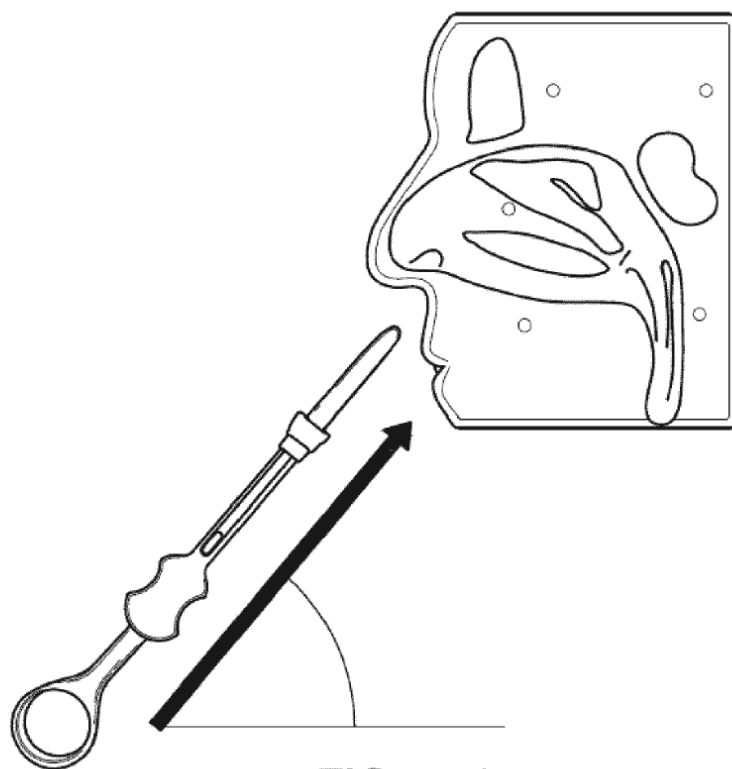


FIG. 25A

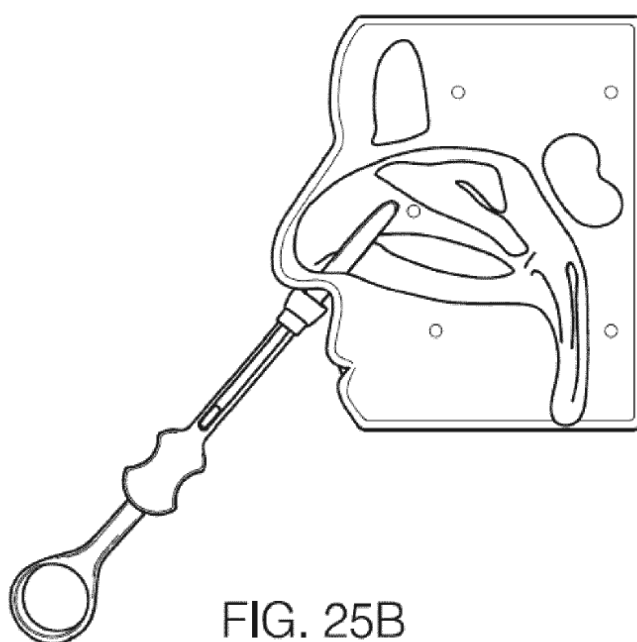


FIG. 25B

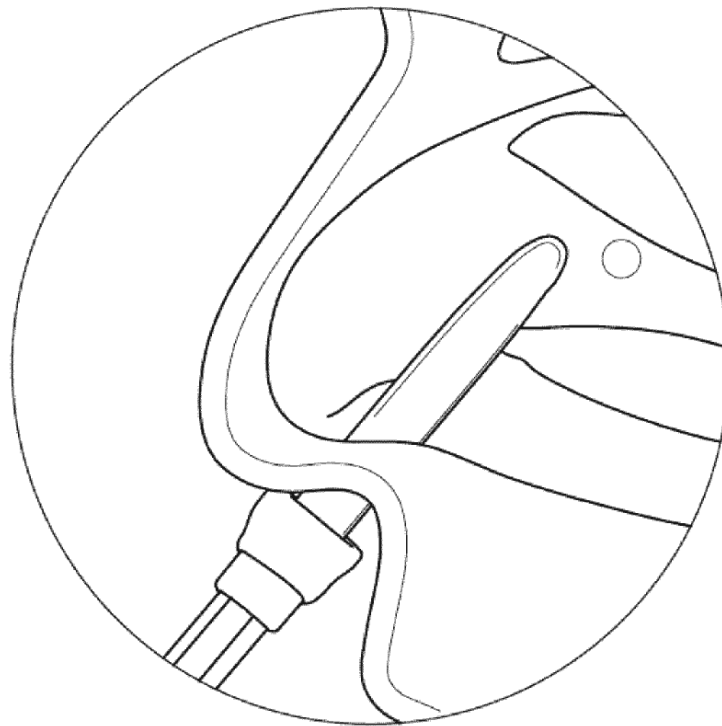


FIG. 25C

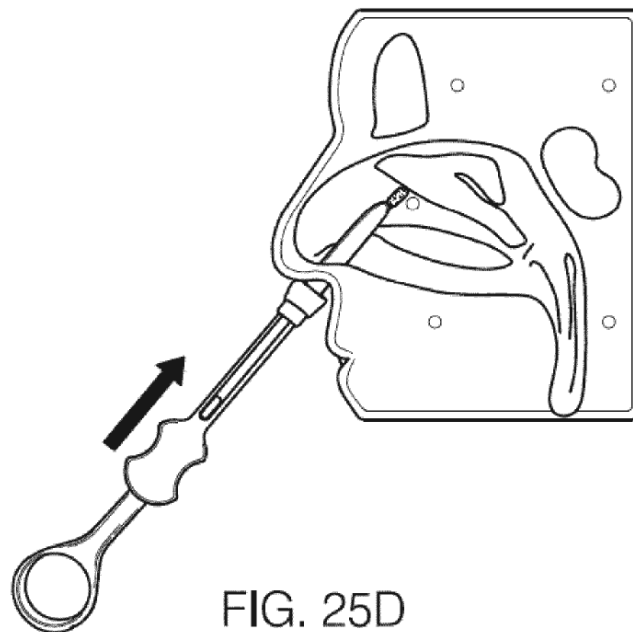


FIG. 25D

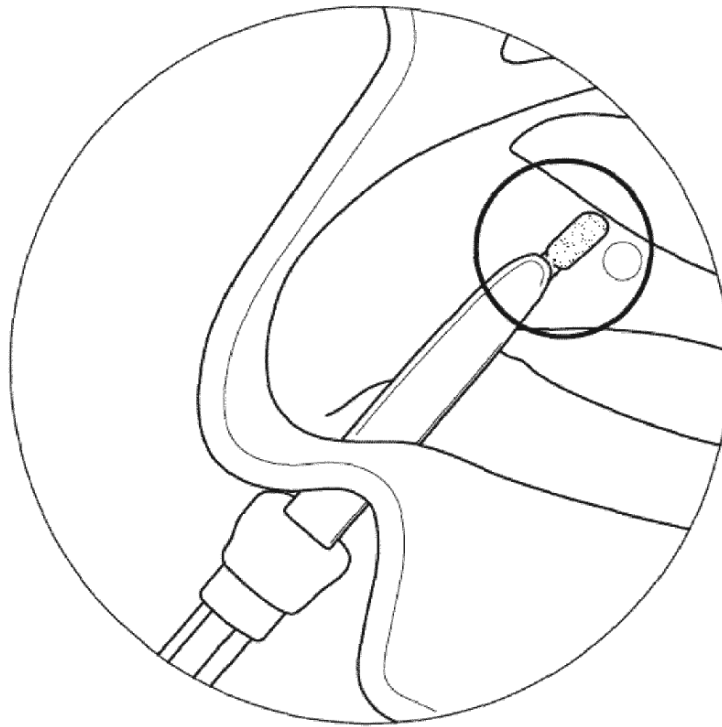


FIG. 25E

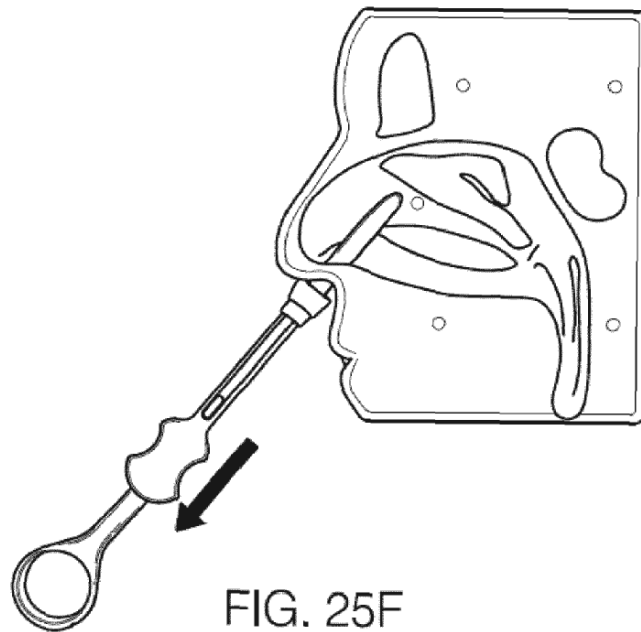


FIG. 25F

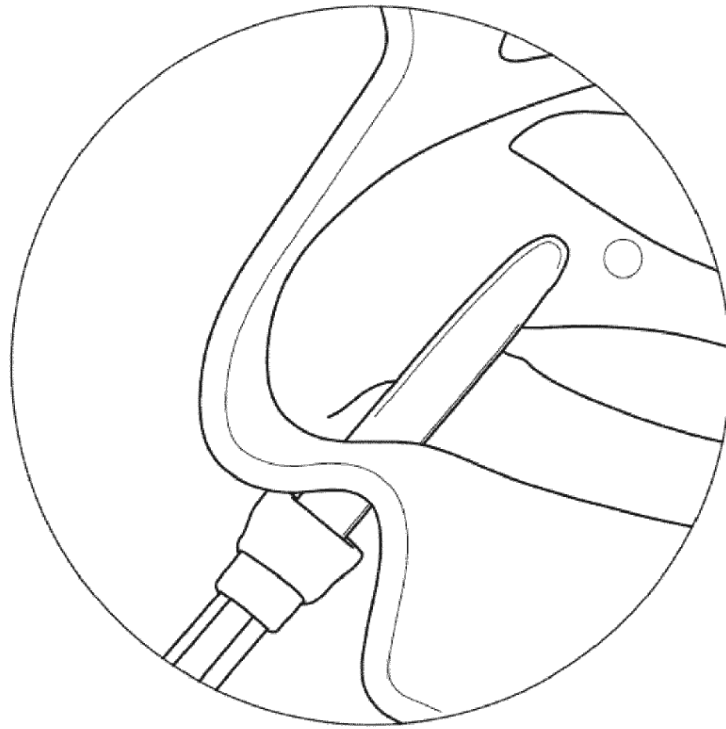


FIG. 25G

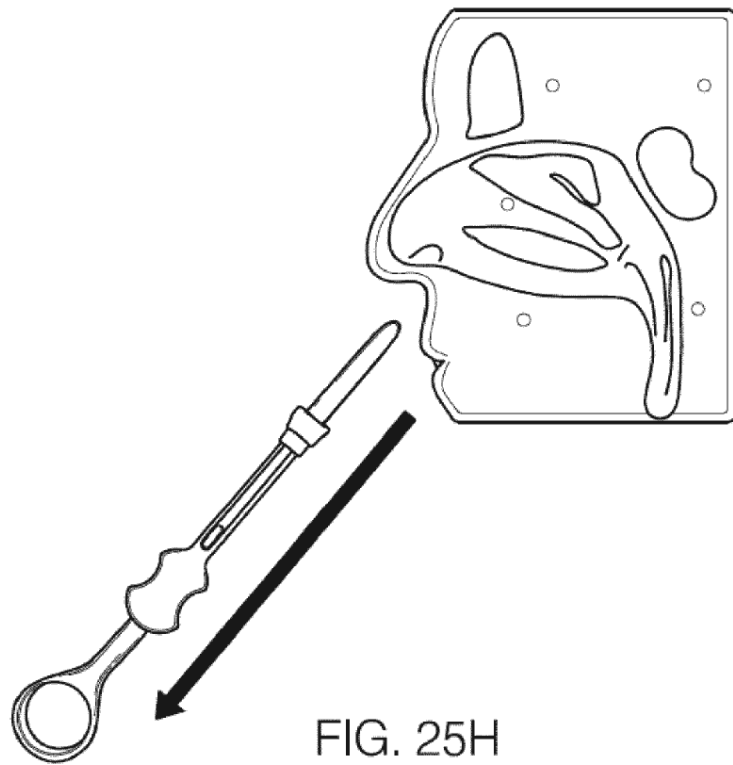


FIG. 25H

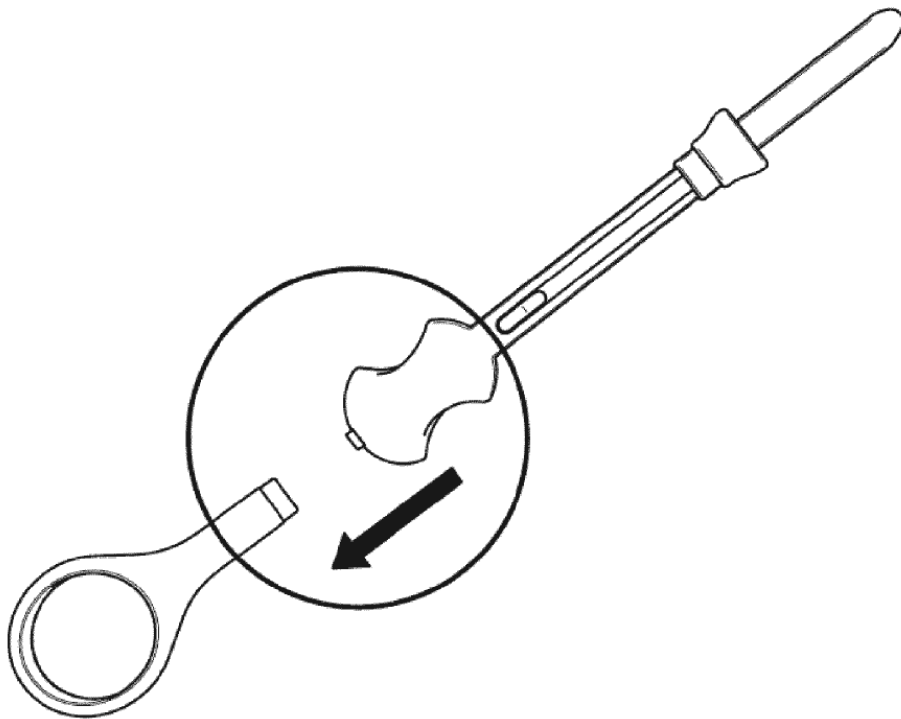


FIG. 25i

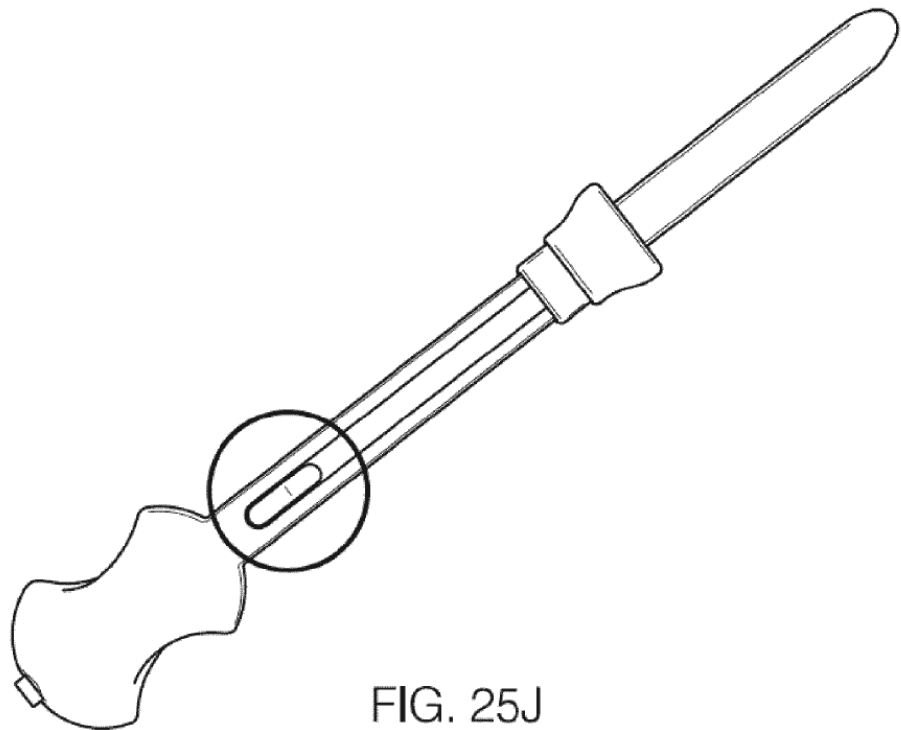


FIG. 25J

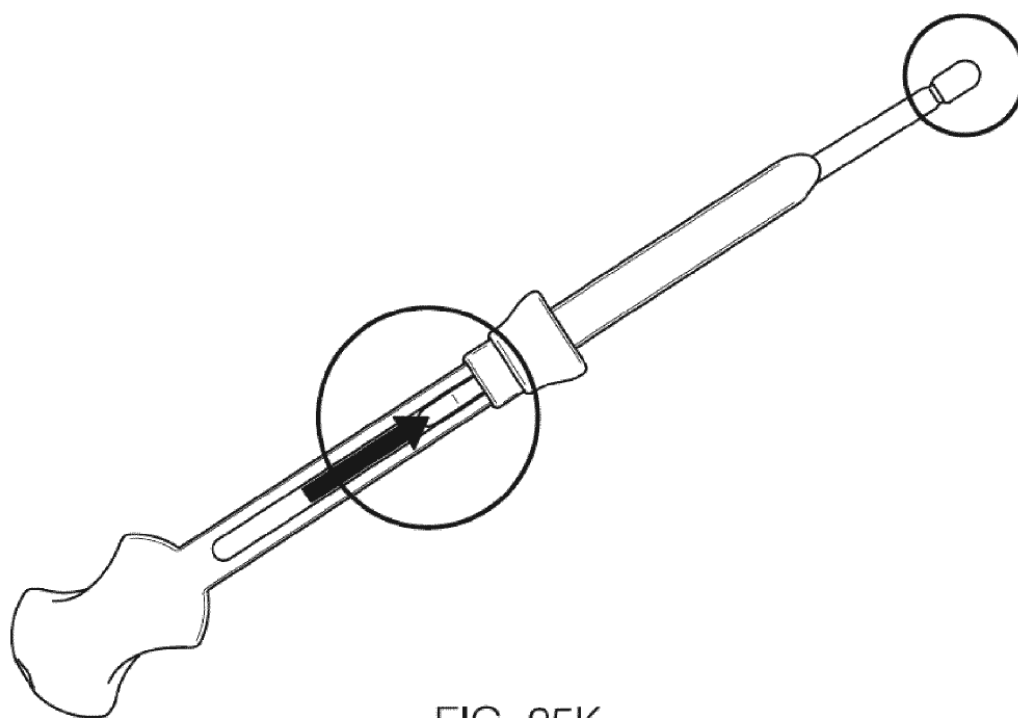


FIG. 25K

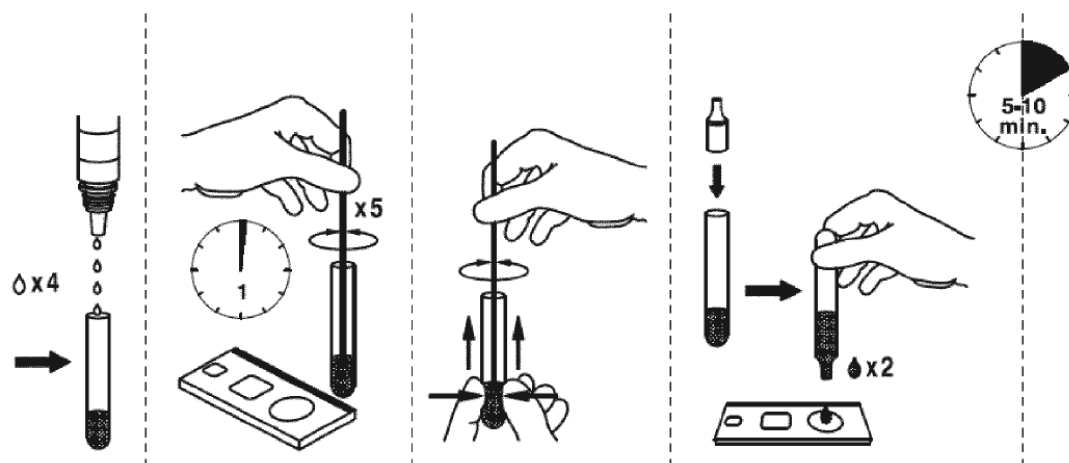


FIG. 26

Componente activo principal	M.cat	S.pneumo	H.flu	Comentarios
Reactivo B-PER	-	-	-	Ruptura de la pared celular
Triton X-100 al 0,1 % sin lisozima	-	-	-	Lisis con detergente
Triton X-100 al 0,1 % con lisozima	+	-	-	Lisozima que rompe la pared celular
Tampón RIPA	-	-	-	Detergente iónico y no iónico que rompe la pared celular
Tween 20 al 0,1 %	-	-	-	Ruptura por detergente no iónico
IGEPAL al 0,1 %	-	-	-	Ruptura por detergente no iónico
Tergitol al 0,1 %	-	-	-	Ruptura por detergente no iónico
Brij 35 al 0,1 %	-	-	-	Ruptura por detergente no iónico
Sarkosyl al 1 %	-	-	+	Ruptura por detergente aniónico
Sacarosa al 7 %	+	+	+	Detergente osmótico y aniónico que rompe la pared celular
**Sacarosa al 3,5 % con lauroil sarcosinato sódico al 1,3 %	+	+	+	Detergente osmótico y aniónico que rompe la pared celular
Sacarosa al 1,75 % con lauroil sarcosinato sódico al 0,325 %	+	+	+	Detergente osmótico y aniónico que rompe la pared celular

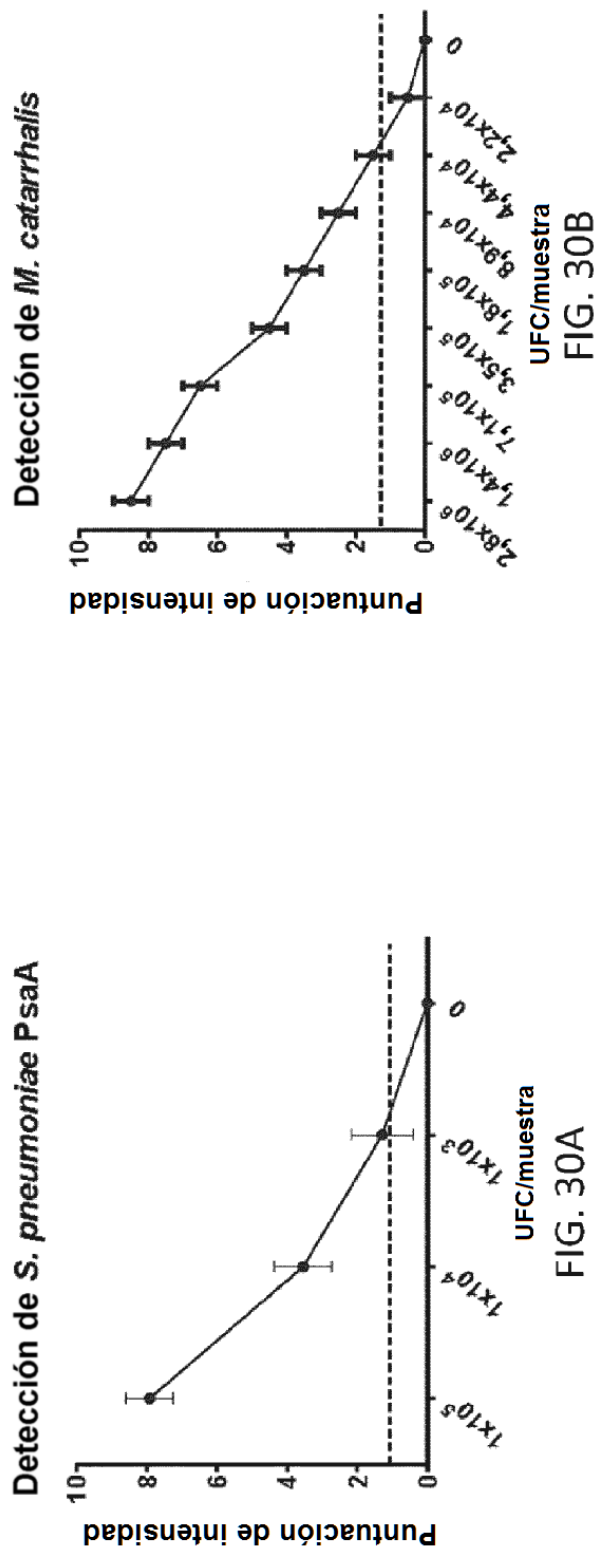
FIG. 27

Tampón de lisis ENTV N.º 1	Tampón de lisis ENTV N.º 2
Tris 25 mM	
	NaCl 137 mM
	KCl 2,7 mM
	Na ₂ HPO ₄ 12 mM
EDTA 15,5 mM	EDTA 15,5 mM
PMSF 500 mM	PMSF 500 mM
Sacarosa 100 mM	Sacarosa 100 mM
Lauroil sarcosinato sódico 22 mM	Lauroil sarcosinato sódico 22 mM
pH 8,0	pH 7,4

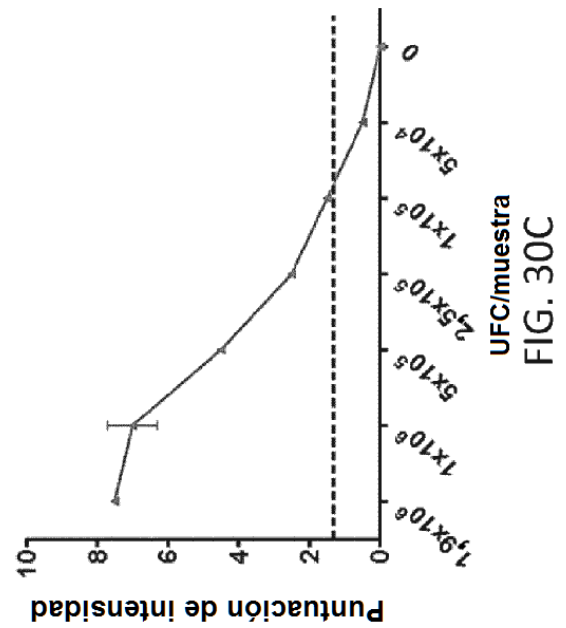
FIG. 28

Tampón de dilución ENTV N.º 1	Tampón de dilución ENTV N.º 2
Tris 100 mM	
	NaCl 137 mM
	KCl 2,7 mM
	Na ₂ HPO ₄ 12 mM
Triton X-100 al 0,1 %	Triton X-100 al 0,1 %
Tween 20 al 0,1 %	Tween 20 al 0,1 %
pH 9,4	pH 7,4

FIG. 29



Detección de *H. influenzae*



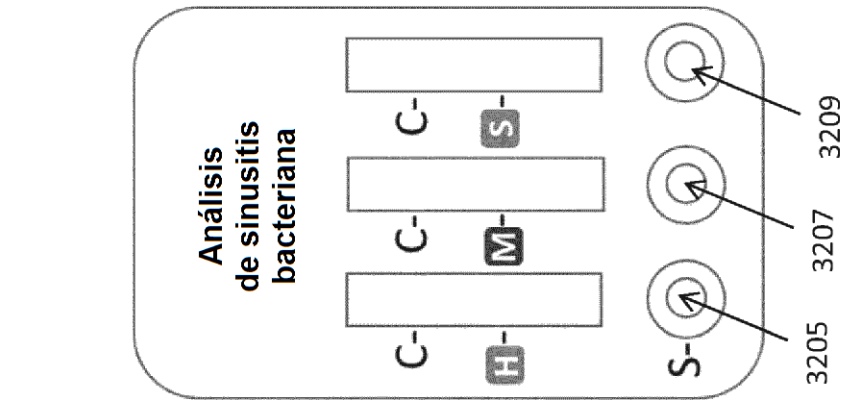


FIG. 32

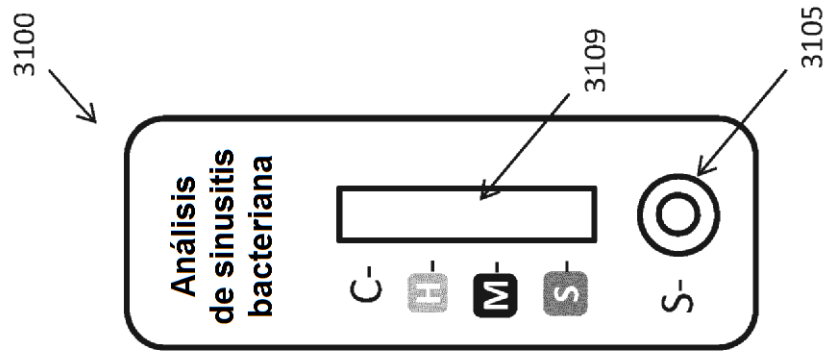


FIG. 31

