

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 982 958**

51 Int. Cl.:

B01L 3/00 (2006.01)

B01L 7/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.07.2021 PCT/EP2021/070215**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.02.2022 WO22023114**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.07.2021 E 21746476 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.06.2024 EP 4188600**

54 Título: **Dispositivo de separación y/o conservación de un biofluido en un punto de atención, kit y procedimiento para identificar una enfermedad**

30 Prioridad:

29.07.2020 EP 20188456

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

21.10.2024

73 Titular/es:

**MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR
FÖRDERUNG DERWISSENSCHAFTEN E.V.
(100.0%)
Hofgartenstraße 8
80539 München, DE**

72 Inventor/es:

**GOMEZ VARELA, DAVID;
STÜHMER, WALTER;
KROHN, MARKUS y
BASSU, MARGUERITA**

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 982 958 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Dispositivo de separación y/o conservación de un biofluido en un punto de atención, kit y procedimiento para identificar una enfermedad

Antecedentes de la invención

5 La presente invención se refiere a un dispositivo de separación y/o conservación de un biofluido en un punto de atención (por ejemplo, para la separación de plasma o suero de una muestra de sangre y/o para la separación de componentes celulares de la saliva), un kit que incluye dicho dispositivo y un procedimiento para identificar una enfermedad.

10 Un dispositivo y un procedimiento anteriores que permiten recibir una muestra en un punto de atención han sido descritos por el inventor en el documento del solicitante WO 2018/202622 A1.

Sin embargo, existe una necesidad continua de dispositivos y procedimientos mejorados.

Se conocen otros dispositivos de los documentos US 7,459,125 B1, US 2007/134810 A1, WO 2009/050435 A1 y US 5.766.962 A.

15 La raza humana se enfrenta actualmente al reto de la rápida propagación del coronavirus SARS-CoV-2 que causa la COVID-19 (Enfermedad COronaVirus 2019). A pesar de la aplicación de estrategias de confinamiento similares a las del SRAS (causado por el SARS-CoV-1) que surgió en julio de 2003, la COVID-19 se ha convertido en la mayor pandemia mundial del siglo.

20 La PCR cuantitativa en tiempo real (RT-qPCR) es el estándar de oro actual para la detección clínica del SARS-CoV-2. Este procedimiento de análisis se realiza en esputo o en muestras recogidas en el tracto respiratorio superior mediante hisopos nasales o faríngeos, que suelen ser tomados por personal cualificado. No obstante, las pruebas RT-qPCR en individuos infectados basadas en frotis nasales y faríngeos adolecen de una reproducibilidad relativamente baja, que podría explicarse por la necesidad de un título viral elevado en la mucosidad acumulada del tracto superior, junto con la variación en el procedimiento de muestreo (Zou et.al., SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients, N Engl J Med 2020; 382:1177-1179). Estos inconvenientes explican probablemente el elevado número de falsos negativos de las pruebas RT-qPCR (sensibilidad en torno al 60-70%; Ai et.al., id.).

25 Además, se ha informado de que hasta el 90% de los pacientes infectados presentan lesiones pulmonares (diagnosticadas mediante TC) antes del resultado positivo inicial de la prueba RT-qPCR (Ai et.al., Correlation of Chest CT and RT-PCR Testing in Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in China: A Report of 1014 Cases, Radiology, publicado en línea el 26 de febrero de 2020).

30 Así pues, la pandemia de COVID-19 pone de manifiesto la necesidad de dispositivos y procedimientos que permitan mejorar los procedimientos de muestreo y análisis en el punto de atención, aplicables a Sars-CoV-2, pero también de forma más general a otras enfermedades.

Sumario de la invención

35 Sin querer estar limitado por la teoría, el inventor prevé que la detección clínica de Sars-CoV-2, así como la detección clínica de otras enfermedades, podría mejorarse mediante un análisis multinivel de muestras de biofluidos (por ejemplo, sangre, saliva). Una ventaja de las muestras de sangre o saliva es que pueden tomarse y procesarse de forma altamente reproducible. Además, pequeñas cantidades de estas muestras (por ejemplo, saliva o sangre capilar) pueden tomarse sin dificultades en un punto de atención y sin conocimientos médicos particulares. En concreto, dichas muestras podrían ser tomadas incluso por el propio usuario. El dispositivo, el kit y el procedimiento según la invención permiten realizar dicho análisis multinivel en muestras de sangre y saliva tomadas en un punto de atención.

40 Por ejemplo, de nuevo sin querer estar atado por la teoría, se cree que una posible alternativa al uso de hisopos nasales o de garganta para la detección de Sars-CoV-2 sería utilizar el análisis RT-qPCR en una muestra enriquecida originalmente en SARS-CoV-2. Al ser un virus ARN, el SARS-CoV-2 penetra en las células y utiliza su maquinaria de replicación celular. Las dianas celulares del virus relacionado SARS-CoV-1 son las células epiteliales del tracto respiratorio inferior y los linfocitos de la sangre (Wang et.al., Detection and Monitoring of SARS Coronavirus in the Plasma and Peripheral Blood Lymphocytes of Patients with Severe Acute Respiratory Syndrome, Clinical Chemistry, 50:7, 1237-1240). Debido a las similitudes entre estos dos virus relacionados (por ejemplo, ambos virus causan linfopenia en la mayoría de los pacientes), el inventor supone que los linfocitos (o incluso el plasma sanguíneo libre de células) representarían una muestra superior para las pruebas que el esputo o los hisopos. También se sabe que el SARS-CoV-2 puede detectarse en la saliva (Lalli et al., Rapid and extraction-free detection of SARS-CoV-2 from saliva with colorimetric LAMP, <https://doi.org/10.1101/2020.05.07.20093542>).

50 El inventor prevé (de nuevo, sin querer ceñirse a la teoría) que una estrategia adicional podría ser analizar los linfocitos con PCR digital de gotitas (dd-PCR), que ha demostrado ser más sensible al SARS-CoV-2 en muestras de frotis

faringeo (Suo et al., ddPCR: a more sensitive and accurate tool for SARS-CoV-2 detection in low viral load specimens, Emerging Microbes & Infections, <https://doi.org/10.1101/2020.02.29.20029439>).

Además, se cree que el análisis de otras fracciones sanguíneas proporcionará información adicional sobre el estadio y el desarrollo de la enfermedad.

5 Como se apreciará, dicho análisis multinivel no sólo es útil para la detección de Sars-CoV-2, sino que también es ventajoso para la detección de otras enfermedades (por ejemplo, mutaciones genéticas, por ejemplo mutaciones genéticas que causan una síntesis anormal de proteínas) y/u otros patógenos. Dichos patógenos incluyen bacterias, un parásito, un hongo o un tipo diferente de virus, como otro coronavirus (por ejemplo, Sars-CoV-1 o MERS) o la gripe.

10 Con el dispositivo y el procedimiento según la presente invención, se puede tomar una muestra de sangre (por ejemplo, sangre capilar) o una muestra de saliva en un punto de atención y se pueden separar inmediatamente en el dispositivo. Si es necesario, se pueden emplear uno o más conservantes y/o uno o más desecantes para la conservación adecuada de una o más fracciones separadas (es decir, suero o plasma o componentes celulares presentes en la sangre y la saliva), permitiendo así el envío del dispositivo a un laboratorio donde se pueda realizar un análisis multinivel.

15 Más específicamente, el dispositivo según la invención es un dispositivo para la separación y/o conservación de componentes no celulares de un biofluido (por ejemplo, para la separación de plasma o suero de una muestra de sangre o para la separación de los componentes no celulares de la saliva) en un punto de atención, en el que dicho dispositivo comprende una carcasa, al menos un miembro de separación configurado para separar los componentes no celulares del biofluido (por ejemplo, el plasma o suero de la muestra de sangre o los componentes no celulares de la saliva) conservando los componentes celulares, y al menos un miembro de extracción configurado para extraer los componentes no celulares (por ejemplo, el plasma o suero de la muestra de sangre o los componentes no celulares de la saliva) del miembro de separación.

Los componentes no celulares también pueden denominarse fracción líquida no celular de la muestra en el contexto de la presente divulgación.

25 El procedimiento según la invención sirve para identificar una enfermedad (por ejemplo, un patógeno o una mutación genética) y comprende las siguientes etapas:

30 (a) una etapa en la que se proporciona un dispositivo de separación y/o conservación de componentes no celulares de una muestra de biofluido (por ejemplo, para la separación de plasma o suero de una muestra de sangre y/o para la separación de componentes no celulares de la saliva) en un punto de atención, en el que dicho dispositivo comprende una carcasa, al menos un miembro de separación configurado para separar los componentes no celulares de la muestra y retener los componentes celulares, y al menos un miembro de extracción configurado para extraer los componentes no celulares del miembro de separación;

(b) una etapa de aplicación de la muestra, en la que se aplica la muestra al miembro de separación en el punto de atención;

35 (c) una etapa de separación que consiste en separar, mediante el miembro de separación, los componentes no celulares de los componentes celulares, en la que los componentes no celulares se extraen del miembro de separación mediante el miembro de extracción;

(d) una etapa de análisis de los componentes celulares y/o no celulares separados.

40 La enfermedad puede ser una infección, en particular una infección vírica, una infección bacteriana o una infección por un parásito. La enfermedad también puede ser una mutación genética, en particular una mutación genética que influya en la síntesis de una o más proteínas. Como se ha señalado anteriormente, el virus puede ser Sars-CoV-2, pero también podría ser otro virus, como otro coronavirus o la gripe.

Como observará el lector experto, las características del dispositivo descritas en lo sucesivo son aplicables al procedimiento y viceversa.

45 Según la invención, el procedimiento comprende preferentemente una etapa de adición de un conservante para preservar los componentes moleculares retenidos en el miembro de separación. En particular, dicho conservante puede preservar componentes moleculares retenidos en el miembro de separación, como ARN, ADN, una o más proteínas y/o uno o más metabolitos retenidos en el miembro de separación. Dicho conservante puede comprender fenol y/o guanidina. Por ejemplo, el conservante puede comprender TRIzol y/o detergentes (por ejemplo, SDS).

50 El conservante se añade preferentemente después de la etapa (c) y antes de la etapa (d), en particular al miembro de separación. El conservante es preferiblemente líquido y puede añadirse gota a gota.

Preferiblemente, el dispositivo está configurado para pasar de una primera configuración a una segunda configuración.

55 En la primera configuración, el dispositivo está configurado para recibir la muestra (por ejemplo, la muestra de sangre o la muestra de saliva) y/o extraer los componentes no celulares (por ejemplo, plasma o suero de la muestra de sangre o los componentes no celulares de la muestra de saliva) del miembro de separación mediante el miembro de

extracción. Esto puede lograrse acoplado en comunicación de fluidos el miembro de separación y el miembro de extracción entre sí en dicha primera configuración.

En la segunda configuración, el miembro de separación y el miembro de extracción están desacoplados de la comunicación de fluidos entre sí. Esto permite que el dispositivo reciba de forma ventajosa el conservante, en particular un conservante líquido. Al desacoplar de la comunicación de fluidos el miembro de separación del miembro de extracción se impide que el conservante llegue al miembro de extracción y/o a un ensayo de flujo previsto en el dispositivo. Sin querer estar atado por la teoría, se cree que el conservante que alcanza los componentes no celulares (por ejemplo, el plasma o suero de la muestra de sangre o los componentes no celulares de la muestra de saliva) recogidos en el miembro de extracción puede ser perjudicial para el análisis posterior de los componentes no celulares en un análisis multinivel. De este modo, el cambio del dispositivo entre la primera y la segunda configuración puede ayudar a prevenir dicha contaminación.

El miembro de separación puede comprender al menos una primera superficie del miembro de separación (por ejemplo, una superficie superior del miembro de separación) sobre la que se aplica la muestra y al menos una segunda superficie del miembro de separación (por ejemplo, una superficie inferior del miembro de separación) de la que se extraen los componentes no celulares (por ejemplo, el plasma o suero de la muestra de sangre o los componentes no celulares de la muestra de saliva). En la primera configuración, la segunda superficie del miembro de separación (por ejemplo, la superficie inferior del miembro de separación) está preferiblemente en contacto (por ejemplo, contacto directo) con el miembro de extracción, en particular con una superficie superior del miembro de extracción. En la segunda configuración, la segunda superficie del miembro de separación (por ejemplo, la superficie inferior del miembro de separación) se aleja y/o no está en contacto con el miembro de extracción (por ejemplo, con la superficie superior del miembro de extracción). Esto puede conseguirse, por ejemplo, alejando entre sí el miembro de separación y el miembro de extracción. Como alternativa, podría utilizarse un elemento de barrera impermeable a los líquidos que interrumpa la conexión de fluidos. Por ejemplo, dicho elemento de barrera podría insertarse entre el miembro de separación y el miembro de extracción, en particular entre la superficie inferior del miembro de separación y la superficie superior del miembro de extracción.

El dispositivo comprende preferiblemente un mecanismo para cambiar el dispositivo entre la primera configuración y la segunda configuración. Este mecanismo puede estar configurado para girar y/o trasladar el miembro de separación y el miembro de extracción alejándolos uno del otro cuando el dispositivo cambia de la primera configuración a la segunda configuración. Alternativa o adicionalmente, el mecanismo puede estar configurado para rotar y/o trasladar el elemento de barrera para colocarlo entre el miembro de separación y el miembro de extracción.

Más específicamente, la carcasa comprende preferiblemente una primera parte de carcasa y una segunda parte de carcasa. El miembro de separación puede estar configurado para moverse con la primera parte de la carcasa, mientras que el miembro de extracción puede estar configurado para moverse con la segunda parte de la carcasa. Por ejemplo, el miembro de separación puede fijarse y/o mantenerse en la primera parte de la carcasa, mientras que el miembro de extracción puede fijarse y/o mantenerse en la segunda parte de la carcasa. Para ello, la primera parte de la carcasa puede incluir un soporte para el miembro de separación, que podría estar provisto de un reborde y/o un rebaje en la primera parte de la carcasa. La segunda parte de la carcasa puede incluir un soporte para el miembro de extracción, que podría estar provisto de un borde y/o un rebaje en la segunda parte de la carcasa.

La primera parte de la carcasa y la segunda parte de la carcasa pueden estar conectadas de forma móvil entre sí a través del mecanismo para cambiar el dispositivo. En particular, el dispositivo puede moverse entre la primera configuración y la segunda configuración girando y/o trasladando la primera parte de la carcasa y la segunda parte de la carcasa entre sí.

Aún más específicamente, el mecanismo puede estar configurado para rotar el miembro de separación y el miembro de extracción alejándose uno del otro en un plano (por ejemplo, un plano horizontal). Por ejemplo, la primera parte de la carcasa puede girar con respecto a una segunda parte de la carcasa alrededor de un eje de rotación, siendo el miembro de separación y/o el miembro de extracción excéntricos con respecto a dicho eje. Alternativa o adicionalmente, el mecanismo puede estar configurado para desplazar el miembro de separación y el miembro de extracción alejándolos uno del otro (por ejemplo, en dirección vertical). En cualquier caso, los dos miembros se alejarán el uno del otro al realizar la rotación y/o la traslación.

El mecanismo puede estar provisto de diferentes maneras. Por ejemplo, puede haber una parte roscada en una de las partes de la primera carcasa y de la segunda carcasa, que se acopla con una parte roscada o con uno o más salientes en la otra parte de la primera carcasa y de la segunda carcasa. El mecanismo también podría estar provisto de una montura de bayoneta. Por ejemplo, una de las partes de la primera carcasa y de la segunda carcasa puede estar provista de uno o más salientes que encajen con una o más ranuras previstas en la otra parte de la primera carcasa y de la segunda carcasa. Cada protuberancia puede entonces moverse a lo largo de una ranura respectiva cuando el dispositivo cambia de la primera configuración a la segunda configuración.

La una o más ranuras pueden comprender al menos una porción circunferencial que se extiende a lo largo de una pared lateral periférica de la parte de carcasa respectiva alrededor del eje de rotación. La porción circunferencial puede comprender al menos un segmento que se extiende en una dirección que tiene un componente direccional a lo largo

- 5 del eje de rotación. Por ejemplo, al menos un segmento de la porción circunferencial puede extenderse oblicuamente al eje de rotación, por ejemplo, hacia arriba o hacia abajo. De este modo, un movimiento de uno o más salientes a lo largo del segmento circunferencial puede provocar una traslación de la primera parte de la carcasa con respecto a la segunda parte de la carcasa, por ejemplo una traslación que aleje el miembro de separación del miembro de extracción en una dirección axial. La porción circunferencial puede incluir una pluralidad de dichos segmentos. De este modo, la porción circunferencial puede estar formada, al menos en parte, a lo largo de una línea en zigzag u ondulada.
- La ranura puede incluir al menos otra porción que se extiende a lo largo del eje de rotación. De este modo, la ranura puede tener una forma general en L o en J.
- 10 Una vez que el dispositivo ha cambiado de la primera configuración a la segunda configuración, el mecanismo puede impedir que el dispositivo cambie de nuevo a la primera configuración. Esto puede ayudar a evitar que un usuario contamine inadvertidamente los componentes no celulares (por ejemplo, el plasma o suero de la muestra de sangre o los componentes no celulares de la muestra de saliva) en el miembro de extracción después de añadir conservante al miembro de separación.
- 15 Preferiblemente, el dispositivo comprende además al menos un ensayo de flujo, tal como al menos un ensayo de flujo lateral o al menos un ensayo de flujo vertical (por ejemplo, un inmunoensayo). Con dicho ensayo de flujo, el procedimiento puede comprender además al menos una etapa de ensayo de flujo en la que se aplica al menos una porción de la muestra al ensayo de flujo. Preferiblemente, la porción de la muestra es al menos una porción de los componentes no celulares (por ejemplo, el plasma o suero de la muestra de sangre o los componentes no celulares de la muestra de saliva) extraídos por el miembro de extracción. La etapa de ensayo de flujo puede realizarse al menos
- 20 parcialmente (y/o suficientemente para obtener un resultado) mientras los componentes no celulares se separan en la etapa de separación.
- El miembro de extracción preferentemente se acopla en comunicación de fluidos a dicho ensayo de flujo y/o forma una sección receptora de muestras de dicho ensayo de flujo cuando el dispositivo se proporciona en la primera y/o en la segunda configuración, de forma que al menos parte de los componentes no celulares recogidos en el miembro de
- 25 extracción se suministran al ensayo de flujo. La provisión de una conexión de fluidos entre el miembro de extracción y el ensayo de flujo, al menos cuando el dispositivo está dispuesto en la primera configuración, permite realizar el ensayo de flujo simultáneamente con la separación de los componentes no celulares. Esto puede reducir el tiempo total necesario para recibir un primer resultado de la prueba en el punto de atención. El miembro de extracción y el ensayo de flujo pueden estar formados como una estructura unitaria.
- 30 Sin querer estar limitado por la teoría, se cree que dicho ensayo de flujo puede ayudar aún más a evitar resultados falsos negativos en el análisis multinivel antes mencionado, por ejemplo, resultados falsos negativos al realizar diagnósticos basados en PCR. Dependiendo de las circunstancias, el uso de un ensayo de flujo también puede proporcionar una respuesta inmediata en el punto de atención que puede guiar una decisión con respecto al análisis posterior de la muestra (por ejemplo, qué procedimientos analíticos deben utilizarse o si se requiere un análisis posterior en absoluto).
- 35 El al menos un ensayo de flujo preferentemente está configurado para identificar una infección por el patógeno, por ejemplo, el virus, la bacteria, el parásito o el hongo. Esto puede lograrse identificando péptidos del patógeno, por ejemplo, mediante uno o más de los nanocuerpos, y/o anticuerpos y/o aptámeros y/o glicanos. Alternativa o adicionalmente, el al menos un ensayo de flujo puede identificar una respuesta serológica contra el patógeno, por ejemplo el virus, la bacteria, el parásito o el hongo, en particular anticuerpos IgA y/o IgM y/o IgG contra el patógeno. El agente patógeno puede ser un coronavirus o un virus de la gripe. Más concretamente, el virus puede ser Sars-CoV-1, Sars-CoV-2 o MERS.
- 40 Como es conocido en la técnica, el al menos un ensayo de flujo preferentemente está configurado para proporcionar al menos una respuesta visual, tal como una respuesta que incluye al menos una línea de prueba y al menos una línea de control. El dispositivo puede proporcionar, dependiendo del patógeno, al menos un ensayo de flujo que proporcione una primera línea de prueba, una segunda línea de prueba y una línea de control, o una primera línea de prueba, una segunda línea de prueba, una tercera línea de prueba y una línea de control.
- 45 Como también se conoce en la técnica, el ensayo de flujo puede comprender conjugados de un anticuerpo y una etiqueta de detección, preferentemente en los que la etiqueta de detección es un material coloreado (por ejemplo, Au) o un material bioluminiscente.
- 50 Para proporcionar una velocidad más homogénea de las moléculas (por ejemplo, anticuerpos) que se mueven a través del ensayo de flujo, el procedimiento puede incluir la aplicación de un tampón y/o un detergente al miembro de separación y/o al miembro de extracción y/o al ensayo de flujo. Esto puede evitar falsas lecturas negativas (y/o resultados) del ensayo de flujo.
- 55 Preferiblemente, el miembro de extracción está configurado para extraer los componentes no celulares del miembro de separación mediante acción capilar. El miembro de extracción puede comprender un material fibroso (por ejemplo, un material a base de celulosa). Por ejemplo, el ensayo de flujo y/o el miembro de extracción pueden comprender un

material a base de celulosa, por ejemplo, nitrocelulosa. Alternativamente, puede utilizarse un miembro de extracción microestructurado (es decir, no fibroso).

5 El miembro de separación preferentemente está configurado para separar los componentes no celulares de la muestra por gravedad y/o acción capilar. En particular, el miembro de separación preferiblemente está configurado para separar los componentes no celulares de la muestra sin aplicación de presión y/o succión y/o una fuerza centrífuga. Preferiblemente, no se requiere ninguna fuente externa de energía. Esto es favorable para realizar la separación en el punto de atención. Además, esto puede permitir una mejor conservación de los componentes celulares en el miembro de extracción y evitar que los componentes no celulares se contaminen con el contenido de las células lisadas.

10 El miembro de separación puede comprender o estar compuesto por un filtro (por ejemplo, un filtro de separación de suero/plasma). El filtro puede tener una naturaleza asimétrica en la que los componentes celulares de la muestra (por ejemplo, glóbulos rojos, glóbulos blancos y/o plaquetas) se capturan en poros más grandes de una primera porción del filtro (por ejemplo, una porción superior) mientras que los componentes no celulares (por ejemplo, el plasma o suero de la muestra de sangre o los componentes no celulares de la muestra de saliva) fluyen hacia abajo en poros más pequeños en una segunda porción de dicho filtro (por ejemplo, una porción inferior). Alternativamente, también puede emplearse un filtro simétrico que tenga un tamaño de corte definido para retener el componente celular, por ejemplo, con un tamaño de corte de 0,45 micrómetros. Los filtros preferidos son una membrana Vivid GR, una membrana de filtración Cobetter y una membrana Primecare™. La membrana Vivid GR y la membrana Primecare™ tienen una naturaleza asimétrica.

20 La separación de los componentes no celulares puede realizarse en el punto de atención. Para ello, la separación de los componentes no celulares se realiza preferentemente en menos de 30 minutos, en menos de 20 minutos, o incluso en menos de 15 minutos. Por ejemplo, los componentes no celulares suficientes para realizar el ensayo de flujo y/o para el análisis de los componentes no celulares en un laboratorio se separan preferiblemente en menos de 15 minutos, menos de 10 minutos o menos de 5 minutos. Esto permite minimizar el tiempo necesario en el punto de atención. Por ejemplo, al menos 100 microlitros o al menos 50 microlitros pueden ser separados por el miembro de separación para su extracción por el miembro de extracción en menos de 15 minutos, menos de 10 minutos o menos de 5 minutos. Sin querer atarse a la teoría, se cree que la rápida separación de las fracciones directamente en el punto de atención evita los artefactos de contaminación cruzada, como la contaminación de la fracción libre de células por ADN genómico (por ejemplo, cuando se mide la presencia de L1PA2, MSTN, TP53, Actina o GAPDH). Por el contrario, los formatos disponibles en el mercado, como el dot-blot-spot (DBS), el Volumetric Absorptive Microsampling (VAMS) o el Labonovum (sangre almacenada en forma líquida) conducen a la ruptura celular y, por tanto, a la contaminación de la fracción no celular.

El volumen total recogido en el miembro de extracción puede ser de 100 microlitros o menos, o incluso de 50 microlitros o menos. Se prevé que dichos volúmenes sean ya suficientes para realizar el análisis multinivel previsto.

35 La muestra de biofluido (por ejemplo, la muestra de sangre o la muestra de saliva) que puede emplearse en el dispositivo y el procedimiento según la presente invención puede tener un volumen de 300 microlitros o menos, 150 microlitros o menos, 100 microlitros o menos u 80 microlitros o menos. La muestra es preferentemente saliva o sangre entera, por ejemplo sangre capilar. La separación de los componentes no celulares (por ejemplo, plasma/suero) de los componentes celulares en dicha muestra de sangre total o saliva (como se divulga en el presente documento), que permite su conservación y/o secado por separado y eficaz en el dispositivo (como también se divulga en el presente documento), se considera un aspecto importante de la presente invención y particularmente ventajoso para el posterior análisis multinivel de las diversas fracciones de la muestra a realizar. De este modo, pueden evitarse los problemas de los dispositivos y procedimientos anteriores, como la contaminación cruzada de fracciones o la contaminación por células lisadas, etc., al tiempo que sigue siendo posible realizar un análisis adecuado de las diferentes fracciones. La muestra se aplica preferentemente en forma de gotas, por ejemplo, menos de 10 gotas o incluso menos de 5 gotas de sangre (por ejemplo, sangre capilar) o saliva.

Alternativamente, el dispositivo y el procedimiento según la presente divulgación también podrían utilizarse para analizar otros tipos de muestras biológicas, en particular una muestra de orina o una muestra de heces (en particular, una muestra de heces tamponada, como tamponada con PBS).

50 La primera parte de la carcasa comprende preferiblemente una porción de introducción de muestra a través de la cual se aplica la muestra al miembro de separación. Dicha porción de introducción de la muestra puede comprender un orificio pasante. El orificio pasante puede estar abierto en una superficie superior de la porción de introducción de la muestra y puede extenderse esencialmente en dirección vertical. Preferiblemente, el orificio pasante está configurado de tal manera que la muestra puede aplicarse a través del orificio pasante sobre el miembro de separación cuando el dispositivo está en la primera configuración. En particular, el agujero pasante puede estar dispuesto por encima del miembro de separación cuando el dispositivo está en dicha primera configuración. El orificio pasante puede permitir la aplicación directa, gota a gota, de sangre (por ejemplo, sangre capilar), saliva u otros biofluidos a través del mismo (por ejemplo, sin ningún otro medio como una aguja para extraer sangre y/o un tubo de conexión que conecte dicha aguja al orificio pasante).

Además, la primera parte de la carcasa puede estar configurada de manera que el conservante pueda aplicarse a través de ella al miembro de separación, por ejemplo, al menos cuando el dispositivo está en la segunda configuración. Preferiblemente, el conservante se aplica gota a gota.

- 5 Por ejemplo, la porción de introducción de la muestra puede configurarse de manera que el conservante pueda aplicarse a través de la porción de introducción de la muestra, por ejemplo a través del orificio pasante, sobre el miembro de separación cuando el dispositivo está en la segunda configuración. En particular, el orificio pasante puede estar configurado de tal manera que esté dispuesto por encima del miembro de separación cuando el dispositivo está en la primera configuración. No obstante, también podría preverse otra abertura para este fin, por ejemplo en la primera parte de la carcasa (en la porción de introducción de la muestra o en algún otro lugar).
- 10 La porción de introducción de la muestra también puede comprender uno o más orificios de aire. Uno o más orificios de ventilación pueden tener una sección transversal menor que el orificio pasante. Dicho(s) orificio(s) de aire puede(n) utilizarse para garantizar que el aire se evacua adecuadamente del orificio pasante y/o del miembro de separación cuando se aplica la muestra.
- 15 La carcasa (por ejemplo, la primera parte de la carcasa y/o la segunda parte de la carcasa) puede incluir además uno o más orificios pasantes para aplicar el detergente o el tampón al miembro de separación y/o al ensayo de flujo, por ejemplo cuando el dispositivo está en la segunda configuración. Como se ha indicado anteriormente, dicho tampón y/o detergente puede proporcionar una velocidad más homogénea de las moléculas (por ejemplo, anticuerpos) que se mueven a través del ensayo de flujo.
- 20 Como se ha mencionado anteriormente, la segunda parte de la carcasa puede sostener el miembro de extracción y/o el miembro de extracción puede fijarse en ella. Además, la segunda parte de la carcasa también puede contener el ensayo de flujo y/o el ensayo de flujo puede fijarse en ella. En particular, la segunda parte de la carcasa puede comprender un soporte del miembro de extracción para fijar la posición del miembro de extracción en el mismo (por ejemplo, cuando el dispositivo se transporta y/o se cambia entre la primera y la segunda configuración).
- 25 La primera parte de la carcasa y/o la segunda parte de la carcasa preferiblemente están configuradas de manera que el usuario y/o el paciente puedan identificar el resultado del ensayo de flujo en el punto de atención. En particular, es preferible que el usuario pueda ver el resultado del ensayo de flujo sin tener que abrir el dispositivo, en particular a través de la primera y/o segunda parte de la carcasa. Para ello, la primera o la segunda parte de la carcasa pueden estar hechas de un material transparente. Alternativa o adicionalmente, la primera parte de la carcasa y/o la segunda parte de la carcasa pueden comprender al menos una ventana a través de la cual el ensayo de flujo es visible cuando la primera y la segunda parte de la carcasa están ensambladas. Preferentemente, la ventana está formada en un fondo de la segunda parte de la carcasa, en particular una porción del fondo que se solapa con el ensayo de flujo. La ventana puede estar provista de una o más aberturas en o como una porción transparente de la parte respectiva de la carcasa, en particular en la parte inferior de la segunda parte de la carcasa. Una o más aberturas también podrían estar formadas como una malla. La parte inferior de la segunda parte de la carcasa también podría denominarse base.
- 30 Tales una o más aberturas (o, si se desea, una o más aberturas adicionales), aparte de permitir ver el resultado del ensayo de flujo, pueden proporcionar ventajas adicionales si se desea secar los componentes no celulares (por ejemplo, el plasma o el suero, o los componentes no celulares de la saliva) reunidos en el miembro de extracción y/o en el ensayo de flujo.
- 35 Más específicamente, un desecante puede ser utilizado para cubrir y/o ser insertado en tales una o más aberturas. Por ejemplo, el dispositivo puede comprender además una lámina desecante que se utiliza para cubrir una o más aberturas. La lámina puede adherirse a la parte de la carcasa que contiene una o más aberturas, por ejemplo, a la parte inferior de la segunda parte de la carcasa. Para ello, la lámina desecante y/o la parte inferior de la segunda parte de la carcasa pueden estar provistas de una porción adhesiva, por ejemplo, una porción que comprenda un adhesivo sensible a la presión. Alternativamente, el desecante podría proporcionarse como al menos un gránulo de desecante que se inserta en una o más aberturas.
- 40 De esta manera, los componentes no celulares (por ejemplo, el plasma o el suero) se reúnen en el miembro de extracción y/o en el ensayo de flujo serían secados por el desecante a través de la una o más aberturas. Como se ha indicado anteriormente, dichas una o más aberturas se solapan preferentemente con la posición del miembro de extracción y/o con la posición del ensayo de flujo. En particular, tales una o más aberturas pueden ser dispuestas debajo (por ejemplo, directamente debajo) el miembro de extracción y/o el ensayo de flujo. De este modo, los componentes no celulares extraídos (por ejemplo, el suero o el plasma) pueden secarse sin tener que secar todo el volumen de aire del dispositivo. Como se ha indicado anteriormente, dichas aberturas podrían proporcionarse junto con, pero también independientemente de, la inclusión de un ensayo de flujo en el dispositivo.
- 45 Si se desea, el desecante puede secar los componentes no celulares (por ejemplo, el plasma o el suero) en el miembro de extracción a través de la una o más aberturas y a través del ensayo de flujo, por ejemplo cuando el dispositivo comprende un ensayo de flujo vertical en el que el miembro de extracción se encuentra por encima del ensayo de flujo.
- 50
- 55

La carcasa del dispositivo puede comprender además una tapa. La tapa puede estar unida a la primera parte de la carcasa mediante una bisagra. Dicha tapa puede comprender al menos una primera protuberancia configurada para extenderse en el orificio pasante y/o una al menos una segunda protuberancia configurada para extenderse en el orificio de aire que puede estar provista en la porción de introducción de la muestra. Preferentemente, el primer y/o segundo saliente se extiende desde una superficie de la tapa orientada hacia la primera parte de la carcasa, en particular desde una superficie inferior de la tapa.

La primera parte de la carcasa y/o la segunda parte de la carcasa y/o la tapa pueden ser cada una un componente polimérico, preferiblemente en el que la primera parte de la carcasa y/o la segunda parte de la carcasa y/o la tapa son moldeadas por inyección.

El análisis de los componentes celulares separados y/o de los componentes no celulares separados (por ejemplo, el plasma o el suero) puede comprender una etapa de análisis de los componentes celulares y/o de los componentes no celulares (por ejemplo, el plasma o el suero o los componentes no celulares de la muestra de saliva) mediante tecnologías genómicas para identificar ADN y/o ARN del patógeno. Esto puede incluir, en particular, la identificación de ADN y/o ARN del patógeno mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR), en particular RT-qPCR y/o dd-PCR. La PCR puede utilizarse para identificar ARN y/o ADN tanto del hospedador como del patógeno.

Por ejemplo, la etapa de análisis puede incluir el análisis de los componentes celulares (por ejemplo, las células sanguíneas) retenidos en el miembro de separación mediante tecnologías genómicas, como la PCR, para identificar ADN o ARN del patógeno (por ejemplo, virus) en estas células. Por ejemplo, dependiendo del virus particular, se prevé que un análisis de linfocitos retenidos en el miembro de separación por PCR (RT-qPCR y/o dd-PCR) proporcionará una detección ventajosa.

La etapa de análisis puede incluir, además o alternativamente a la PCR, una etapa de amplificación térmica de ADN o ARN, como la amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP) o la amplificación isotérmica mediada por bucle de transcripción inversa (RT-LAMP).

La etapa de análisis puede incluir el análisis de los componentes celulares y/o los componentes no celulares (por ejemplo, el plasma o el suero o los componentes no celulares de la muestra de saliva) mediante un procedimiento basado en la proteómica, por ejemplo mediante espectrometría de masas (por ejemplo, espectrometría de masas por cromatografía líquida). Dicho análisis puede incluir, en particular, la detección de una síntesis proteica anormal o la detección de péptidos virales por espectrometría de masas. La espectrometría de masas por cromatografía líquida puede ser especialmente útil en este contexto, pero también podrían utilizarse otras técnicas, en función de la enfermedad concreta que se quiera identificar.

La etapa de análisis puede incluir la detección de una tormenta de citoquinas mediante procedimientos de inmunofluorescencia (por ejemplo, tecnología Luminex) en los componentes no celulares (por ejemplo, el plasma o el suero o los componentes no celulares de la muestra de saliva) y/o en los componentes celulares. Se cree que esto permitiría una detección precoz de dicha tormenta de citoquinas, que puede ser especialmente peligrosa para determinados pacientes (por ejemplo, en el contexto de Sars-CoV-2).

A fin de conservar los componentes no celulares (por ejemplo, el plasma o el suero o los componentes no celulares de la muestra de saliva) para dichas pruebas, se seca preferentemente con el desecante antes mencionado. A fin de preservar los componentes celulares para dichas pruebas, se conservan preferentemente con el conservante antes mencionado.

Preferiblemente, en la etapa de análisis se realiza un análisis multinivel. Dicho análisis multinivel puede incluir, en particular, el análisis de los componentes celulares retenidos en el miembro de separación (por ejemplo, mediante tecnologías genómicas y/o un procedimiento basado en la proteómica como la espectrometría de masas y/o mediante un procedimiento de inmunofluorescencia, como se ha comentado anteriormente) y el análisis de los componentes no celulares (por ejemplo, el suero o el plasma) recogidos en el miembro de extracción y/o en el ensayo de flujo (por ejemplo, mediante tecnologías genómicas y/o un procedimiento basado en la proteómica como la espectrometría de masas y/o mediante un procedimiento de inmunofluorescencia, como también se ha comentado anteriormente). En particular, la etapa de análisis puede comprender el análisis por separado de (i) los componentes celulares, preferentemente mediante una primera técnica (por ejemplo, PCR), y (ii) los componentes no celulares (por ejemplo, el plasma o el suero), preferentemente mediante una segunda técnica (por ejemplo, PCR y/o espectrometría de masas). La segunda técnica puede ser diferente de la primera (por ejemplo, un tipo diferente de PCR o PCR frente a espectrometría de masas).

Dado que la muestra se extrae en el punto de atención, pero se requerirá equipo de laboratorio para realizar los análisis antes mencionados, el procedimiento según la presente invención puede comprender además una etapa, después de la etapa (c) y antes de la etapa (d), de transferir el dispositivo y/o el miembro de separación y/o el miembro de extracción (preferentemente el dispositivo ensamblado con el miembro de extracción y el miembro de separación provistos en el mismo) a un laboratorio. Sin querer estar limitado por la teoría, se prevé, en vista del secado de los componentes no celulares (por ejemplo, el plasma o el suero) y/o la conservación de los componentes celulares antes mencionados, que esto pueda hacerse enviando el dispositivo sin refrigeración y/o calentamiento particulares (y/o un

entorno controlado de otro modo). La transferencia se realiza preferentemente después de añadir el conservante y/o el desecante al dispositivo.

Según otro aspecto, la invención se refiere a un kit que comprende dicho dispositivo y un conservante para la conservación de los componentes moleculares retenidos en el miembro de separación. El conservante puede preservar, en particular, el ARN, el ADN, las proteínas y/o los metabolitos contenidos en el miembro de separación. Como se ha indicado anteriormente, el conservante puede comprender fenol y/o guanidina. Por ejemplo, el conservante puede comprender TRIZOL y/o detergentes (por ejemplo, SDS).

El conservante incluido en el kit es preferiblemente un líquido. Por ejemplo, el líquido puede suministrarse en un recipiente desde el que pueda dispensarse un número determinado de gotas sin necesidad de otras herramientas. El conservante podría suministrarse, por ejemplo, en un vial cuentagotas, como un vial cuentagotas monodosis o un frasco con una pipeta o boquilla cuentagotas.

El kit puede comprender además el detergente y/o tampón antes mencionados para proporcionar una velocidad más homogénea de las moléculas que se mueven a través del ensayo de flujo. El detergente y/o el tampón son preferiblemente líquidos.

15 Breve descripción de los dibujos

La invención se describirá con más detalle haciendo referencia a las figuras siguientes. Estas figuras muestran realizaciones de la invención con fines meramente ilustrativos. En particular, la divulgación proporcionada por las figuras no pretende limitar el alcance de la protección conferida por la invención.

- Fig. 1 ilustra esquemáticamente un procedimiento según una realización de la divulgación;
- 20 Fig. 2A ilustra esquemáticamente un miembro de separación y un miembro de extracción en una primera configuración;
- Fig. 2B ilustra esquemáticamente el miembro de separación y el miembro de extracción de la Fig. 2A cambiándose a una segunda configuración moviéndolos lateralmente y/o rotacionalmente uno con respecto al otro;
- 25 Fig. 2C ilustra esquemáticamente el miembro de separación y el miembro de extracción de la Fig. 2A cambiándose a una segunda configuración moviéndolos verticalmente uno con respecto al otro;
- Fig. 2D ilustra esquemáticamente una segunda configuración conseguida desplazando un elemento de barrera impermeable a los líquidos entre el miembro de separación y el miembro de extracción de la Fig. 2A;
- 30 Fig. 3A ilustra esquemáticamente una vista en perspectiva de un dispositivo según una primera realización de la presente divulgación;
- Fig. 3B ilustra esquemáticamente una vista inferior de una primera parte de la carcasa del dispositivo de la Fig. 3A;
- Fig. 3C ilustra esquemáticamente una vista superior de una segunda parte de la carcasa del dispositivo de la Fig. 3A;
- 35 Fig. 3D ilustra esquemáticamente una vista inferior de la segunda parte de la carcasa del dispositivo de la Fig. 3A;
- Fig. 4A ilustra esquemáticamente una primera posibilidad de incorporar un desecante al dispositivo;
- Fig. 4B ilustra esquemáticamente una segunda posibilidad de incorporar el desecante al dispositivo;
- 40 Fig. 5A ilustra esquemáticamente una vista en perspectiva de una primera parte de la carcasa de un dispositivo según una segunda realización de la presente divulgación;
- Fig. 5B ilustra esquemáticamente una vista superior de la primera parte de la carcasa de la Fig. 5A;
- Fig. 5C ilustra esquemáticamente una sección transversal a lo largo de la línea B-B indicada en la Fig. 5B;
- Fig. 5D ilustra esquemáticamente una vista en perspectiva de una segunda parte de la carcasa del dispositivo según la segunda realización;
- 45 Fig. 5E ilustra esquemáticamente una vista lateral de la segunda parte de la carcasa de la Fig. 5D;
- Fig. 5F ilustra esquemáticamente una vista en perspectiva de la segunda parte de carcasa de las Fig. 5D y 5E desde abajo;
- Fig. 6 muestra gráficos que ilustran el rendimiento del dispositivo aquí divulgado para recoger plasma, glóbulos blancos y subtipos de glóbulos blancos;
- 50 Fig. 7 muestra un gráfico que ilustra los niveles de ADN L1PA2 en el dispositivo aquí divulgado y en otros procedimientos de muestreo de sangre capilar;
- Fig. 8 muestra un gráfico que ilustra la detección de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 en el suero de un paciente seroconvertido a COVID-19.

Descripción detallada

55 La Fig. 1 ilustra esquemáticamente un procedimiento 100 para identificar una enfermedad - por ejemplo, una infección con un patógeno (por ejemplo, una infección viral, como Sars-CoV-2, una infección bacteriana o una infección con un parásito) o una mutación genética (por ejemplo, una mutación genética que influye en la producción de una o más proteínas) - según la presente invención. El procedimiento 100 emplea preferentemente cantidades mínimas de un biofluido como muestra biológica (por ejemplo, 80 microlitros o menos), en particular cantidades mínimas de sangre o

5 saliva, para una separación rápida de componentes no celulares de una muestra biológica (por ejemplo, plasma o suero de una muestra de sangre o componentes no celulares de una muestra de saliva) y, preferentemente, para proporcionar un primer resultado de análisis mediante un ensayo de flujo (por ejemplo, en 15 minutos o menos). Al mismo tiempo, el procedimiento 100 permite una caracterización precisa de las alteraciones moleculares que se producen a diferentes niveles moleculares durante el curso de la enfermedad en un laboratorio.

10 El procedimiento 100 incluye una primera etapa 110 de proporcionar un dispositivo para la separación de componentes no celulares (por ejemplo, plasma o suero de la muestra de sangre) en un punto de atención. El dispositivo comprende una carcasa, al menos un miembro de separación configurado para separar los componentes no celulares (por ejemplo, el plasma o el suero) de la muestra y retener los componentes celulares, y al menos un miembro de extracción configurado para extraer los componentes no celulares (por ejemplo, el plasma o el suero) del miembro de separación. Los dispositivos adecuados y algunos de sus posibles principios funcionales se describen con más detalle a continuación con referencia a las Fig. 2 a 5. La muestra (por ejemplo, la muestra de sangre o saliva) puede aplicarse al dispositivo en forma de gotas, por ejemplo como menos de 10 gotas o menos de 5 gotas. La sangre puede ser capilar.

15 El procedimiento 100 incluye además al menos una etapa de aplicación de la muestra 120 de aplicación de la muestra al miembro de separación en el punto de atención. Una vez aplicada la muestra, se realiza una etapa de separación 130 que consiste en separar, mediante el miembro de separación, los componentes no celulares (por ejemplo, el plasma o el suero) de los componentes celulares. Esto se consigue extrayendo los componentes no celulares (por ejemplo, plasma o suero) separados por el miembro de separación mediante el miembro de extracción proporcionado en el dispositivo. La etapa de separación 130 se realiza preferentemente en el punto de atención.

20 Como se indica además en la Fig. 1, en esta etapa puede realizarse una etapa de ensayo de flujo 140. Para ello, se proporciona un ensayo de flujo en el dispositivo y se aplica al mismo al menos una porción de la muestra, preferiblemente al menos una porción de los componentes no celulares (por ejemplo, el plasma o el suero) separados por el miembro de separación. Los componentes no celulares pueden fluir hacia el ensayo de flujo desde el miembro de extracción. Como tal, la etapa 140 del ensayo de flujo puede realizarse mientras el plasma o suero todavía se está separando y extrayendo en la etapa 130 de separación. Una vez completada la etapa 140 del ensayo de flujo, el usuario y/o el paciente pueden leer inmediatamente el resultado del ensayo de flujo.

25 El procedimiento también puede comprender la adición de un tampón y/o un detergente al ensayo de flujo en la etapa 140 con el fin de proporcionar una velocidad más homogénea de los anticuerpos que se mueven a través del ensayo. Esto puede hacerse, por ejemplo, una vez finalizada la etapa de separación 130. El tampón y/o el detergente pueden añadirse en forma líquida, por ejemplo, gota a gota.

30 Posteriormente a la etapa de separación 130, el procedimiento 100 comprende una etapa 150 de adición de un conservante para conservar los componentes moleculares (como ADN y/o ARN, por ejemplo ADN viral y/o ARN viral, una o más proteínas y/o uno o más metabolitos). El conservante se añade preferentemente en forma líquida, gota a gota. Alternativa o adicionalmente, los componentes no celulares (por ejemplo, el plasma o el suero) recogidos en el miembro de extracción y/o en el ensayo de flujo pueden secarse en una etapa de secado 155, en el que se coloca un desecante adyacente al miembro de extracción y/o del ensayo de flujo.

35 Después de la etapa 150 y/o de la etapa 155, el miembro de separación y/o el miembro de extracción se transfieren del punto de atención a un laboratorio en la etapa 160. Se prevé que esto pueda hacerse en condiciones ambientales (por ejemplo, temperatura y/o humedad ambiente), pero esto puede depender del análisis que se vaya a realizar y/o de los analitos que se vayan a considerar. De este modo, la etapa de transferencia 160 podría realizarse, según las circunstancias, en condiciones ambientales. Por ejemplo, las moléculas de interés podrían detectarse incluso si el dispositivo se almacena hasta 1 semana o hasta 2 semanas a una temperatura de hasta 30 °C, evitando así la necesidad de un transporte refrigerado.

40 Como se ilustra adicionalmente en la Fig. 1, el procedimiento 100 comprende una etapa de análisis 170 de analizar los componentes celulares separados y/o los componentes no celulares (por ejemplo, el plasma o suero, o los componentes no celulares de la saliva). Para ello, los componentes celulares y/o los componentes no celulares pueden disolverse en una solución y/o lavarse del miembro de separación y del miembro de extracción, respectivamente. La solución puede ser acuosa. Como se desprende de lo anterior, la etapa de análisis 170 se realiza preferentemente después de la etapa de transferencia 160.

45 La etapa de análisis 170 comprende preferentemente un análisis multinivel en el que tanto los componentes celulares como los componentes no celulares (por ejemplo, el plasma o el suero, o los componentes no celulares de la saliva) se analizan mediante una o más técnicas analíticas.

50 En particular, la etapa de análisis 170 comprende preferiblemente al menos una primera etapa de análisis 180 en la que se analizan los componentes celulares, por ejemplo mediante una o más técnicas genómicas (por ejemplo, PCR y/o secuenciación de próxima generación). Dicha técnica de PCR permite identificar el ADN y/o ARN presente en los componentes celulares separados (por ejemplo, ADN y/o ARN de un virus). Por ejemplo, las células sanguíneas (por ejemplo, linfocitos) retenidas en el miembro de separación pueden analizarse mediante técnicas genómicas, como la

PCR. Dicho análisis PCR puede incluir RT-qPCR y/o dd-PCR. Alternativa o adicionalmente, la primera etapa de análisis 180 puede comprender el análisis de los componentes celulares retenidos en el miembro de separación mediante un procedimiento basado en la proteómica, como por espectrometría de masas (por ejemplo, espectrometría de masas por cromatografía líquida).

5 La etapa de análisis comprende preferentemente al menos una segunda etapa de análisis 190 en la que se analizan los componentes no celulares (por ejemplo, el plasma o el suero) extraídos por el miembro de extracción. Dicho análisis comprende preferentemente al menos un procedimiento basado en la proteómica, como la espectrometría de masas (por ejemplo, espectrometría de masas por cromatografía líquida). Este análisis puede proporcionar un perfil multiómico. Alternativa o adicionalmente, pueden realizarse una o más técnicas genómicas (por ejemplo, PCR, en particular RT-qPCR y/o dd-PCR, y/o secuenciación de próxima generación) en los componentes no celulares extraídos (por ejemplo, el plasma o el suero). Por ejemplo, puede detectarse ARN y/o ADN viral en el plasma o el suero, como ARN de Sars-CoV-2.

10 Los componentes celulares y/o los componentes no celulares (por ejemplo, el plasma o el suero) también pueden analizarse mediante uno o más procedimientos de inmunofluorescencia (por ejemplo, la tecnología Luminex), por ejemplo para detectar una tormenta de citoquinas.

15 Alternativa o adicionalmente, el dispositivo o partes del mismo (por ejemplo, el miembro de extracción y/o el miembro de separación) podrían utilizarse como biobanco para conservar los componentes celulares y/o los componentes no celulares (por ejemplo, el plasma o el suero) para su posterior análisis.

20 La Fig. 2A ilustra esquemáticamente un miembro de separación 50 y un miembro de extracción 60 de un dispositivo 1 según la invención (cuyos otros componentes se describen con más detalle en lo sucesivo con referencia a las Fig. 3A a 3D y Fig. 5) en una primera configuración A. En esta primera configuración A, el miembro de separación 50 está conectado en comunicación de fluidos con el miembro de extracción 60 de tal manera que el líquido (en particular, el líquido que comprende los componentes no celulares, como el suero o el plasma) puede fluir desde el miembro de separación 50 al miembro de extracción 60. Como se muestra en la Fig. 2A, esto se consigue, preferiblemente, poniendo en contacto una primera superficie inferior 52 del miembro 50 de separación con una primera superficie superior 61 del miembro 60 de extracción. De este modo, una muestra 2 (por ejemplo, sangre o saliva) aplicada a una segunda superficie superior 51 del miembro de separación 50 puede filtrarse en el miembro de separación 50 por gravedad y/o fuerzas capilares ejercidas por el miembro de extracción 60. Los componentes no celulares (por ejemplo, el plasma o el suero) proporcionados en la superficie inferior 52 del miembro de separación 50 son entonces extraídos por y al menos parcialmente reunidos en el miembro de extracción 60.

25 Como se ilustra adicionalmente mediante líneas discontinuas en la Fig. 2A, el miembro de extracción 60 puede acoplarse en comunicación de fluidos a un ensayo de flujo 70 (en la Fig. 2A, se ilustra de forma ejemplar un ensayo de flujo lateral. El ensayo de flujo recibe al menos una parte de los componentes no celulares (por ejemplo, el plasma o el suero) reunidos en el miembro de extracción 60. A continuación, se realiza una prueba de ensayo de flujo en dicha porción de los componentes no celulares para identificar al menos un patógeno u otra enfermedad, en particular para identificar uno o más de los nanocuerpos, y/o anticuerpos y/o aptámeros y/o glicanos. Por ejemplo, el ensayo de flujo puede identificar una respuesta serológica contra el patógeno (por ejemplo, contra un virus), en particular anticuerpos IgA y/o IgM y/o IgG.

30 El ensayo de flujo 70 puede estar formado como una estructura unitaria con el miembro de extracción 60. En particular, el miembro de extracción 60 puede formar una sección receptora de muestras del ensayo de flujo 70. El ensayo de flujo 70 puede incluir una almohadilla de conjugado (no mostrada; p. ej., de un material a base de celulosa) que se proporciona debajo del miembro de extracción 60.

35 Las Fig. 2B y 2C ilustran esquemáticamente una segunda configuración B del dispositivo en la que el miembro de separación 50 y el miembro de extracción 60 están desacoplados entre sí de la comunicación de fluidos, de manera que no puede fluir líquido desde el miembro de separación 50 al miembro de extracción 60. En la Fig. 2B, esto se consigue alejando el miembro de separación 50 del miembro de extracción 60 en una dirección lateral (por ejemplo, mediante un movimiento lateral y/o una rotación de los miembros 50, 60 entre sí). En la Fig. 2C, esto se consigue alejando el miembro de separación 50 del miembro de extracción 60 en dirección vertical. En la segunda configuración B, la superficie inferior 52 del miembro de separación 50 y la superficie superior 61 del miembro de extracción 60 ya no se tocan.

40 Como se ha comentado anteriormente, proporcionar el dispositivo en dicha segunda configuración B es ventajoso para aplicar un conservante 4 para preservar los componentes celulares reunidos en el miembro de separación 50. Además, puede aplicarse un detergente 6 y/o un tampón 8 al miembro de extracción 60 y/o al ensayo de flujo 70.

45 La Fig. 2D muestra una manera alternativa de cortar la conexión de fluido entre el miembro de separación 50 y el miembro de extracción 60. Como se muestra esquemáticamente en la Fig. 2D, puede disponerse un elemento de barrera 90 impermeable a los líquidos entre el miembro de separación 50 y el miembro de extracción 60 (en particular, entre la superficie inferior 52 del miembro de separación 50 y la superficie superior 61 del miembro de extracción 60) para interrumpir la conexión de líquidos y evitar que éstos pasen de un miembro al otro. Como apreciará el experto,

dicho elemento de barrera 90 podría emplearse en lugar de o en combinación con el movimiento relativo de los miembros 50, 60 descrito anteriormente.

Las Fig. 3A a 3D muestran diferentes vistas de un dispositivo 1 según una primera realización ejemplar de la presente invención. El dispositivo comprende una carcasa 10 con una primera parte de carcasa 20 y una segunda parte de carcasa 30.

Como se muestra en la Fig. 3A, la primera parte de la carcasa 20 comprende una porción de introducción de la muestra 25 que comprende un primer orificio pasante 28 a través del cual se puede introducir la muestra 2 en el dispositivo 1. Puede tratarse de sangre capilar que gotea, por ejemplo, de un dedo, saliva, esputo, orina u otro biofluido. La muestra 2 gotea sobre la primera superficie superior 51 del miembro de separación 50 cuando se aplica a través del orificio 28, en particular cuando el dispositivo 1 se proporciona en la primera configuración A (véase la Fig. 2A). La porción de introducción de la muestra puede incluir además un orificio de aire 29, que también termina en el miembro de separación 50 y mejora la evacuación del aire cuando la muestra 2 se introduce a través del orificio 28.

El orificio pasante 28 también puede estar dispuesto de modo que puedan aplicarse gotas de conservante 4 a través de él cuando el dispositivo 1 se encuentra en la segunda configuración B (véanse las Fig. 2B a 2D).

Como se muestra además en la Fig. 3A, el dispositivo 1 también puede comprender una tapa 40. La tapa 40 puede estar dispuesta para cerrarse y cubrir, en particular, la porción de introducción de la muestra 25. La tapa 40 puede comprender un primer saliente 48 configurado para sobresalir en el orificio pasante 28 cuando la tapa 40 está cerrada. Además, la tapa 40 puede comprender un segundo saliente 49 configurado para sobresalir en el orificio de ventilación 29 cuando la tapa 40 está cerrada. La tapa 40 puede estar conectada mediante una bisagra a la primera parte de la carcasa 20.

La Fig. 3B ilustra esquemáticamente una vista inferior de la primera parte de carcasa 20. Como puede verse en la Fig. 3B, la primera parte de carcasa 20 comprende un soporte de miembro de separación 21 que puede estar formado como un borde y/o una cavidad en la que se recibe el miembro de separación 50. De este modo, el miembro de separación 50 se sujeta y se desplaza con la primera parte de la carcasa 20.

El miembro de separación 50 puede estar adherido adhesivamente al soporte 21, en particular a lo largo de una periferia exterior de dicho miembro de separación 50. Esto puede evitar que el exceso de volumen de muestra (por ejemplo, sangre o saliva) de la muestra 2 fluya alrededor del miembro de separación 50 y contamine los componentes no celulares (por ejemplo, el plasma o suero) en el miembro de extracción 60.

La Fig. 3C ilustra esquemáticamente una vista superior de la segunda parte de carcasa 30. Como puede verse en la Fig. 3C, la segunda parte de carcasa 30 comprende un soporte de miembro de extracción 31 que puede estar formado como un borde y/o una cavidad en la que se recibe el miembro de extracción 60. De este modo, el miembro de extracción 60 se sujeta y se desplaza con la segunda parte de la carcasa 30. Como se muestra además en la Fig. 3C, también el ensayo de flujo 70 puede ser recibido en la segunda parte de carcasa 30. Preferiblemente, el soporte del miembro de extracción 31 está configurado de tal manera que el miembro de extracción puede extraerse del mismo sin destruirlo (por ejemplo, para lavar los componentes no celulares, como el plasma o el suero, en el laboratorio).

Las Fig. 3B y 3C ilustran además un mecanismo 23 para desplazar el dispositivo 1 entre la primera configuración A (como se ilustra esquemáticamente en la Fig. 2A), en la que el miembro de separación 50 está en contacto con el miembro de extracción 60, y la segunda configuración B (véase, por ejemplo, la Fig. 2B), en la que el miembro de separación 50 y el miembro de extracción 60 se alejan el uno del otro, de manera que se evita el contacto. En la realización del dispositivo 1 mostrado en las Fig. 3A a 3D, esto se consigue girando la primera parte de la carcasa 20 (en la que se sujeta el miembro de separación 50) con respecto a la segunda parte de la carcasa 60 (en la que se sujeta el miembro de extracción 60). De este modo, el miembro de separación 50 se desplaza desde una primera posición en la que está dispuesto por encima y en contacto con el miembro de extracción 60 hasta una segunda posición en la que el miembro de separación 50 ya no está situado por encima ni en contacto con el miembro de extracción 60.

Dicho mecanismo 23 que permite la rotación de la primera y segunda partes de la carcasa 20, 30 una con respecto a la otra se proporciona en la realización de las Fig. 3A a 3D por una pluralidad de salientes 24 situados en una superficie periférica interior de la primera parte de carcasa 20 que encajan con una pluralidad de ranuras 34 previstas a lo largo de una superficie periférica exterior de la segunda parte de carcasa 30. Cada una de las ranuras 34 comprende al menos un segmento que se extiende periféricamente alrededor de la segunda parte de carcasa 30. De este modo, cada saliente 24 puede moverse en la respectiva ranura 34 a lo largo de este segmento, permitiendo así al usuario girar la primera parte de la carcasa 20 con respecto a la segunda parte de la carcasa 30.

Dado que el miembro de separación 50 y/o el miembro de extracción 60 son excéntricos con respecto a un eje de rotación alrededor del cual las partes de carcasa primera y segunda 20, 30 giran una con respecto a la otra, el mecanismo 23 está configurado para girar el miembro de separación 50 y el miembro de extracción 60 alejándose uno del otro en un plano horizontal.

Como apreciará el experto en la materia, podría utilizarse una conexión de bayoneta alternativa, por ejemplo, con una o más ranuras proporcionadas en la primera parte de carcasa 20 y uno o más salientes respectivos proporcionados en la segunda parte de carcasa 30. Además, las partes de la carcasa 20, 30 también podrían conectarse y moverse entre sí mediante mecanismos alternativos, como una conexión roscada (no mostrada).

5 Preferiblemente, el mecanismo 23 está configurado de tal manera que un movimiento de las partes primera y segunda de la carcasa 20, 30 desde la segunda configuración B a la primera configuración A está restringido, por ejemplo, por un mecanismo de bloqueo que sólo puede superarse girando las partes 20, 30 con una fuerza mayor o que no puede superarse sin destrucción girando las partes 20, 30 hacia atrás. Esto puede evitar que un usuario vuelva a poner el dispositivo en la primera configuración por error.

10 Como se muestra además en la Fig. 3C, el ensayo de flujo 70 puede proporcionar una o más líneas de prueba (que aparecen cuando se detecta un analito respectivo) y al menos una línea de control 73 (que indica que se ha realizado el análisis de flujo), como se conoce en la técnica. Por ejemplo, una primera línea de prueba 71 y una segunda línea de prueba 72 pueden ser proporcionadas además de la línea de control 73. Con el fin de analizar varios analitos con un único dispositivo, el dispositivo también puede incluir un primer ensayo de flujo 70a y un segundo ensayo de flujo 15 70b, en el que cada uno de estos ensayos de flujo 70a, 70b está acoplado en comunicación de fluidos al miembro de extracción 60 al menos cuando el dispositivo está en la primera configuración A y/o en la segunda configuración B.

La Fig. 3D ilustra esquemáticamente una vista inferior de la segunda parte de carcasa 30. En la parte inferior o base 20 33 de dicha segunda parte de carcasa 30 se ha previsto una ventana 35. Esta ventana 35 permite al usuario y/o al paciente del dispositivo 1 ver el resultado del ensayo de flujo 70 sin tener que desmontar el dispositivo (lo que podría provocar una contaminación del miembro de separación 50 y/o del miembro de extracción 60). La ventana puede proporcionarse, por ejemplo, haciendo transparente la porción respectiva de la base 33 de la segunda parte de carcasa 30. Preferiblemente, la ventana 35 está provista de una o más aberturas en la base 33, que pueden ser útiles para secar los componentes no celulares (por ejemplo, el plasma o el suero), como se explica más adelante.

25 Como se muestra esquemáticamente en las Fig. 4A y 4B, el dispositivo 1 puede incluir al menos un desecante 80. El desecante 80 se acerca preferentemente al miembro de extracción 60 y/o al ensayo de flujo 70, en particular después de que se hayan extraído los componentes no celulares (etapa 130 en la Fig. 1) y/o después de que se haya realizado el ensayo de flujo (etapa 140 en la Fig. 1). De esta manera, los componentes no celulares (por ejemplo, el plasma o el suero) pueden secarse de manera eficiente, sin tener que secar todo el aire del dispositivo 1 y/o tener que hacer que la carcasa 10 sea hermética.

30 Una posibilidad, que se ilustra esquemáticamente en la Fig. 4A, consiste en disponer el desecante 80 por debajo del miembro de extracción 60 y/o por debajo del ensayo de flujo 70. Esto puede lograrse, por ejemplo, cubriendo al menos parte de la ventana 35 de la base 33 (si se proporciona como una o más aberturas) con el desecante 80. Para ello, el desecante 80 puede fijarse a una superficie inferior de la base 33, por ejemplo, mediante un adhesivo. Esta manera de proporcionar el desecante es particularmente sencilla cuando el dispositivo incluye una ventana 35 en la base 33, 35 por ejemplo para leer el resultado del ensayo de flujo 70, y/o cuando se utiliza un material fibroso (por ejemplo un material a base de celulosa) como miembro de extracción 60 y/o para el ensayo de flujo 70. Tal disposición es también particularmente ventajosa cuando el miembro de separación 50 y el miembro de extracción 60 se alejan el uno del otro en dirección vertical (véase la Fig. 2C).

40 Otra posibilidad, que se ilustra esquemáticamente en la Fig. 4B, es disponer el desecante 80 por encima del miembro de extracción. Esto puede lograrse disponiendo el desecante 80 en la primera parte de la carcasa 20 en una posición situada por encima del miembro de extracción 60 cuando el dispositivo 1 se cambia a la segunda configuración B (o, si se desea, cuando se alcanza una tercera configuración distinta de la primera). En particular, el desecante 80 puede mantenerse en la primera parte de la carcasa 20 con este fin, por ejemplo, en una cavidad y/o mediante un borde provisto en la primera parte de la carcasa 20. Dicha configuración se considera particularmente ventajosa cuando el 45 dispositivo 1 se cambia de la primera configuración A a la segunda configuración B girando la primera y la segunda parte de la carcasa 20, 30 una con respecto a la otra (véase la realización descrita con referencia a las Fig. 3A a 3D).

Las Fig. 5A a 5F ilustran esquemáticamente un dispositivo según una segunda realización de la presente divulgación. En esta realización, el dispositivo está configurado para cambiar entre una primera configuración y una segunda configuración moviendo el miembro de separación y el miembro de extracción lejos el uno del otro a lo largo de un eje 50 A.

En las Fig. 5A a 5C, se muestra una primera parte de la carcasa 20 del dispositivo. Como se ilustra en la misma, la primera parte de alojamiento 20 comprende una porción de introducción de la muestra 25 con al menos un primer orificio pasante 28 para introducir la muestra. Opcionalmente, se puede prever un segundo orificio pasante 29, por ejemplo para evacuar el aire.

55 Como se muestra mejor en la sección transversal según la Fig. 5C, la primera parte de carcasa 20 comprende un soporte 21 para recibir el miembro de separación (no mostrado). El soporte 21 puede formar una cavidad en la que se recibe el miembro de separación. El primer orificio pasante 28 puede estar abierto al miembro de separación y/o a la

cavidad del soporte 21. Cuando se proporciona, también el segundo orificio pasante 29 puede estar abierto al miembro de separación y/o a la cavidad del soporte 21.

5 Las Fig. 5D a 5F muestran una segunda parte de carcasa 30. La segunda parte de la carcasa 30 comprende un soporte 31 para un miembro de extracción y/o un ensayo de flujo (no mostrado). El ensayo de flujo en este caso puede ser, en particular, un ensayo de flujo vertical dispuesto debajo del miembro de extracción. Sin embargo, también podría emplearse un ensayo de flujo lateral si se desea.

10 Las Fig. 5C y 5D a 5F muestran además un mecanismo 23 mediante el cual la primera parte de la carcasa 20 y la segunda parte de la carcasa 30 se conectan entre sí cuando el dispositivo está montado. El mecanismo está configurado para alejar la primera parte de la carcasa 20 de la segunda parte de la carcasa 30 a lo largo del eje A, que en la realización ejemplar es la dirección vertical.

15 Como se aprecia claramente en las Fig. 5C y 5E, dicho movimiento puede estar provisto de uno o más salientes 24 en, por ejemplo, la primera parte de la carcasa 20, que encajan con una o más ranuras 34 en, por ejemplo, la segunda parte de la carcasa 30 (o viceversa). La una o más protuberancias 24 pueden estar formadas, por ejemplo, a lo largo de una superficie periférica interior de la segunda parte de carcasa 30, mientras que las ranuras 34 pueden estar formadas a lo largo de una superficie periférica exterior de la segunda parte de carcasa 30 (o viceversa).

20 Con el fin de proporcionar un movimiento de la primera parte de carcasa 20 con respecto a la segunda parte de carcasa 30 a lo largo del eje A, la una o más ranuras 34 pueden comprender al menos un segmento 34a que se extiende en una dirección que tiene un componente direccional a lo largo del eje A (por ejemplo, un componente direccional vertical), así como un componente direccional perpendicular y/o circunferencialmente alrededor del eje A (por ejemplo, un componente direccional horizontal). En otras palabras, la porción 34a puede extenderse oblicuamente con respecto al eje A y/u oblicuamente con respecto a la dirección vertical.

25 Cuando la primera parte de carcasa 20 se gira con respecto a la segunda parte de carcasa 30, la una o más protuberancias 24 se mueven a lo largo de la porción 34a de la ranura (por ejemplo, desde una primera posición 34b a una segunda posición 34c), alejando así la primera parte de carcasa 20 de la segunda parte de carcasa 30 a lo largo del eje A. En el ejemplo mostrado, la primera parte de carcasa 20 se moverá hacia arriba. De este modo, el miembro de separación del soporte 21 se aleja del miembro de extracción del soporte 31.

30 La primera posición 34b puede definir la primera configuración del dispositivo mientras que la segunda posición 34c puede definir la segunda configuración del dispositivo. El dispositivo puede estar configurado para proporcionar una respuesta táctil y/o audible que indique al usuario que se ha obtenido la primera configuración y/o la segunda configuración. Por ejemplo, una o más ranuras 34 pueden estar configuradas para bloquear el saliente 24 respectivo en la primera posición 34b y/o en la segunda posición 34c, proporcionando así una respuesta táctil y/o audible. Como se muestra en la Fig. 5E, esto puede lograrse proporcionando un rebaje 36 en la primera posición 34b y/o en la segunda posición 34c.

35 En términos más generales, la primera parte de la carcasa 20 puede ser giratoria con respecto a la segunda parte de la carcasa 30, en la que la rotación hace que la primera parte de la carcasa 20 se mueva con respecto a la segunda parte de la carcasa 30 a lo largo del eje A (o viceversa), alejando así el miembro de separación del miembro de extracción.

40 Como se muestra en las Fig. 5D a 5F, la segunda parte de carcasa 30 puede incluir una ventana 35 situada en la parte inferior o base 33 de la misma. Como se ha indicado anteriormente, esta ventana 35 puede permitir al usuario y/o al paciente del dispositivo ver el resultado del ensayo de flujo 70 sin tener que desmontar el dispositivo.

Dicha ventana puede proporcionarse, por ejemplo, haciendo transparente la porción respectiva de la base 33 de la segunda parte de carcasa 30. Preferiblemente, la ventana 35 está provista de una o más aberturas en la base 33. Dichas aberturas se encuentran preferentemente debajo del miembro de extracción y/o debajo del soporte 31.

45 La Fig. 6 ilustra el funcionamiento del dispositivo aquí divulgado (como se muestra en las Fig. 5). En la Fig. 6A, se muestra la cantidad de plasma recogida en el miembro de extracción en 3-5 minutos en relación con la cantidad de sangre introducida en el dispositivo. La Fig. 6B muestra la cantidad de glóbulos blancos (WBC) que fueron aislados y conservados en el miembro de separación durante la recolección del plasma. En la Fig. 6C, los glóbulos blancos aislados y conservados se han caracterizado por subtipos. Como se muestra, la distribución de los subtipos se correspondía estrechamente con la distribución en sangre total.

50 La Fig. 7 muestra los niveles de ADN L1PA2 obtenidos para el dispositivo según la presente divulgación (Fig. 5) en comparación con diferentes soluciones de muestreo de sangre capilar. El análisis se realizó inmediatamente después de la separación, 2 días después de la separación y 5 días después de la separación.

55 L1PA2 se utiliza como marcador de contaminación por ADN genómico (ADNg) en los perfiles de ADN libre de células a partir de muestras de suero, ya que su expresión es significativamente mayor en las células sanguíneas (cf. Zhao et al., Performance comparison of blood collection tubes as liquid biopsy storage system for minimizing cfDNA contamination from genomic DNA, Journal of Clinical Laboratory Analysis, 33(2), <https://doi.org/10.1002/jcla.22670>). A

este respecto, la Fig. 7 muestra los valores de Cp (RT-PCR) obtenidos tras la extracción del ADN de los dispositivos mencionados en el eje X. El miembro de extracción del dispositivo aquí divulgado demostró tener valores de L1PA2 similarmente bajos a los obtenidos tras la centrifugación de sangre capilar líquida utilizando tubos de muestreo Labonovum (obtenidos de Labnovum, Limmen, Países Bajos). Sin embargo, cuando la sangre total se almacenó en los tubos Labonovum 2 ó 5 días a temperatura ambiente (22 °C) antes de la centrifugación, se observó contaminación por ADN_g en el suero. Cuando se utilizó Micromuestreo Absortivo Volumétrico (VAMS) y VAMS y una tarjeta Whatman™ 903™ protectora de proteínas, la contaminación por ADN_g se produjo desde el principio. Se cree que esto se atribuye a la desecación y filtración de L1PA2 al suero. Esta hipótesis parece confirmarse por una contaminación similar observada en el miembro de separación del dispositivo inventivo, que recoge los componentes celulares de la sangre.

La Fig. 8 muestra un gráfico que ilustra la detección de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 en el suero de un paciente seroconvertido a COVID-19 mediante el dispositivo según la presente divulgación (véanse las Fig. 5). El suero se conservó en el miembro de extracción del dispositivo de muestreo durante 1 día a +22 °C. La luminiscencia se midió en una placa ELISA cubierta por 7 antígenos diferentes del virus SARS-CoV-2. Como se muestra en el gráfico, el suero de un paciente no infectado muestra una señal residual, mientras que el suero del paciente infectado por COVID-19 muestra una reacción muy fuerte a 5 antígenos diferentes.

Como también se indicó anteriormente, el uso de una o más aberturas de este tipo, puede ser ventajoso (independientemente de si se proporciona o no un ensayo de flujo) para secar los componentes no celulares (por ejemplo, el plasma o suero) reunidos en el miembro de extracción. En particular, podría aplicarse un desecante al dispositivo cubriendo la una o más aberturas y/o insertando el desecante en dicha una o más aberturas. Esto se ilustra esquemáticamente en la Fig. 5E en la que la segunda parte de la carcasa 20 se muestra apoyada y/o adherida a un desecante 80 de tal manera que la abertura de la base 33 queda cubierta. En este contexto se muestra una lámina desecante. Sin embargo, el desecante también podría suministrarse de otra manera (por ejemplo, como un gránulo insertado en la abertura o como un granulado sobre el que se apoya el dispositivo, por ejemplo, cuando se inserta en una caja de transporte correspondiente). Aunque la invención se ha ilustrado y descrito en detalle en los dibujos y en la descripción anterior, dicha ilustración y descripción deben considerarse ilustrativas o ejemplares y no restrictivas; la invención no se limita, por tanto, a las realizaciones divulgadas. Los expertos en la materia y en la práctica de la invención reivindicada pueden comprender y llevar a cabo variaciones de las realizaciones divulgadas a partir del estudio de los dibujos, la divulgación y las reivindicaciones adjuntas. En particular, podrían omitirse las características descritas en el contexto de determinadas realizaciones. Además, las características divulgadas para diferentes realizaciones podrían combinarse en una única realización. En las reivindicaciones, la palabra "que comprende" no excluye otros elementos o etapas, y el artículo indefinido "un" o "una" no excluye una pluralidad y puede significar "al menos uno o una".

REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo (1) de separación y/o conservación de componentes no celulares de una muestra de biofluido (2) en un punto de atención, en el que dicho dispositivo (1) comprende:

5 al menos un miembro de separación (50) configurado para separar los componentes no celulares de la muestra (2) y retener los componentes celulares;
 al menos un miembro de extracción (60) configurado para extraer los componentes no celulares del miembro de separación (50);
 al menos un ensayo de flujo (70) configurado para analizar los componentes no celulares extraídos por el miembro de extracción (50); y
 10 una carcasa (10) en la que están dispuestos el miembro de separación (50), el miembro de extracción (60) y el ensayo de flujo (70), incluyendo la carcasa (10) una primera parte de carcasa (20) y una segunda parte de carcasa (30), en la que el miembro de separación (50) está configurado para moverse con la primera parte de carcasa (10) y el miembro de extracción (60) está configurado para moverse con la segunda parte de carcasa (20);
 15 en el que la carcasa (10) está configurada para cambiar de una primera configuración (A) a una segunda configuración (B) mediante la rotación de la primera parte de la carcasa (10) y la segunda parte de la carcasa (20) entre sí;
 en el que, en la primera configuración (A), el miembro de separación (50) y el miembro de extracción (60) están acoplados en comunicación de fluidos entre sí de modo que el dispositivo (1) está configurado para extraer los componentes no celulares del miembro de separación (50) mediante el miembro de extracción (60); y
 20 en el que, en la segunda configuración (B), el miembro de separación (50) y el miembro de extracción (60) están desacoplados de la comunicación de fluidos entre sí para impedir que un conservante (4) añadido al miembro de separación (50) llegue al miembro de extracción (60) y/o al ensayo de flujo (70).

25 2. El dispositivo (1) según la reivindicación 1,

en el que el miembro de separación (50) comprende una superficie superior del miembro de separación (51) sobre la que se aplica la muestra (2) y una superficie inferior del miembro de separación (52) opuesta a la superficie superior del miembro de separación (51);
 en el que la superficie inferior del miembro de separación (52) está en contacto con el miembro de extracción (60) cuando el dispositivo (1) se proporciona en la primera configuración (A);
 30 en el que la superficie inferior del miembro de separación (52) se aleja del miembro de extracción (60) cuando el dispositivo (1) se proporciona en la segunda configuración (B).

3. El dispositivo (1) según la reivindicación 1 o 2,

35 en el que el dispositivo (1) comprende un mecanismo (23) para cambiar el dispositivo (1) entre la primera configuración (A) y la segunda configuración (B);
 en el que el mecanismo (23) está configurado para girar y/o desplazar el miembro de separación (50) y el miembro de extracción (60) alejándolos entre sí cuando el dispositivo (1) se desplaza desde la primera configuración (1) a la segunda configuración (2).

4. El dispositivo (1) según las reivindicaciones 1, 2 o 3,

40 en el que el dispositivo (1) comprende un mecanismo (23) para cambiar el dispositivo (1) entre la primera configuración (A) y la segunda configuración (B);
 en el que el mecanismo (23) está configurado de tal manera que un movimiento de la primera parte de la carcasa (20) y de la segunda parte de la carcasa (30) desde la segunda configuración (B) a la primera configuración (A) está restringido por un mecanismo de bloqueo que:

45 sólo puede superarse haciendo girar la primera y segunda partes de la carcasa (20, 30) hacia atrás con mayor fuerza; o bien
 no puede superarse girando hacia atrás las partes primera y segunda de la carcasa (20, 30) sin destruir el mecanismo (23) y/o al menos una de las partes primera y segunda de la carcasa (20, 30).

50 5. El dispositivo (1) según las reivindicaciones 3 ó 4,

en el que la carcasa (10) comprende una primera parte de carcasa (20) y una segunda parte de carcasa (30), en el que la primera parte de la carcasa (20) y la segunda parte de la carcasa (30) están conectadas entre sí de forma móvil a través del mecanismo (23) para cambiar el dispositivo (1) entre la primera configuración (A) y la segunda configuración (B);
 55 en el que el miembro de separación (50) se mantiene en la primera parte de la carcasa (20); y
 en el que el miembro de extracción (60) y el ensayo de flujo (70) se mantienen en la segunda parte de la carcasa (30).

6. El dispositivo (1) según cualquiera de las reivindicaciones anteriores,
- 5 en el que una primera de la primera parte de la carcasa (20) y la segunda parte de la carcasa (30) comprende al menos un saliente (24), en el que el al menos un saliente (24) encaja con al menos una ranura (34) prevista en una segunda de la primera parte de la carcasa (20) y la segunda parte de la carcasa (30), en el que el saliente (24) se desplaza a lo largo de la ranura (34) cuando el dispositivo (1) cambia de la primera configuración (A) a la segunda configuración (B); o bien
- 10 en el que una primera de la primera parte de la carcasa (20) y la segunda parte de la carcasa (30) comprende una pluralidad de salientes (24) que encajan con una pluralidad de ranuras (34) previstas en una segunda de la primera parte de la carcasa (20) y la segunda parte de la carcasa (30), en el que los salientes (24) se desplazan a lo largo de una respectiva de las ranuras (34) cuando el dispositivo (1) cambia de la primera configuración (A) a la segunda configuración (B).
7. El dispositivo (1) según cualquiera de las reivindicaciones anteriores,
- 15 en el que la primera parte de la carcasa (20) comprende un orificio pasante (28); en el que el orificio pasante (28) está dispuesto por encima del miembro de separación (50) cuando el dispositivo (1) está en la primera configuración (A), de modo que la muestra (2) puede aplicarse a través de él y/o en el que el orificio pasante (28) está dispuesto por encima del miembro de separación (50) cuando el dispositivo (1) está en la segunda configuración (B), de modo que el conservante (4) puede aplicarse a través de él.
8. El dispositivo (1) según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que una ventana (35) a través de la cual es visible el ensayo de flujo (70) está formada en un fondo de la segunda parte de carcasa (30).
9. El dispositivo (1) según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el miembro de separación (50) está configurado para separar los componentes no celulares de la muestra (2) por gravedad y/o una fuerza capilar del miembro de extracción (60).
10. El dispositivo (1) según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el ensayo de flujo (70) comprende:
- 25 al menos un primer ensayo de flujo (70a) para identificar péptidos relacionados con una enfermedad mediante uno o más de nanocuerpos, y/o anticuerpos y/o aptámeros y/o glicanos; y/o al menos un segundo ensayo de flujo (70b) para identificar una respuesta serológica contra la enfermedad, en particular para identificar anticuerpos IgA y/o IgM y/o IgG contra la enfermedad;
- 30 preferiblemente, cuando la enfermedad es un virus, más preferiblemente, cuando el virus es un coronavirus o un virus de la gripe; más preferiblemente, cuando el virus es Sars-CoV-1, Sars-CoV-2 o MERS.
11. Un kit que comprende el dispositivo (1) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 y un conservante (4) para la conservación de biomoléculas, preferentemente ARN, ADN, proteínas y/o metabolitos, reunidas en el miembro de separación (50).
12. Un procedimiento (100) para identificar una enfermedad, preferentemente una infección por un coronavirus o un virus de la gripe, más preferentemente una infección por Sars-CoV-1, Sars-CoV-2 o MERS, comprendiendo el procedimiento (100):
- 35 (a) una etapa (110) de proporcionar un dispositivo (1) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 en un punto de atención;
- 40 (b) una etapa de aplicación de la muestra (120) en la que se aplica la muestra (2) al miembro de separación (50) en el punto de atención;
- (c) una etapa de separación (130) en la que se separa, mediante el miembro de separación (50), los componentes no celulares de los componentes celulares, en la que los componentes no celulares se extraen del miembro de separación (50) mediante el miembro de extracción (60);
- 45 (d) una etapa de ensayo de flujo (140) en la que se aplica al menos una porción de los componentes no celulares separados por el miembro de separación (50) a un ensayo de flujo (70) para identificar péptidos de la enfermedad y/o para identificar una respuesta serológica contra la enfermedad;
- (e) una etapa de análisis (170) en la que se analizan por separado i) los componentes celulares separados y ii) los componentes no celulares mediante técnicas diferentes.
13. El procedimiento (100) según la reivindicación 12,
- 50 en el que el procedimiento (100) comprende además una etapa (150) de adición de un conservante líquido (4) para conservar la integridad molecular del ADN, ARN, proteínas y/o metabolitos en el miembro de separación (50), en el que el conservante (4) se añade después de la etapa (c), preferentemente en el punto de atención; y/o
- 55 en el que la etapa de análisis (170) comprende una etapa (180) de análisis de los componentes celulares retenidos en el miembro de separación (50) mediante una técnica genómica, preferentemente mediante reacción en cadena de la polimerasa, con el fin de identificar ADN o ARN tanto del huésped como de un

organismo infeccioso, preferentemente en el que los componentes celulares analizados mediante reacción en cadena de la polimerasa comprenden linfocitos retenidos en el miembro de separación (50).

14. El procedimiento (100) según las reivindicaciones 12 o 13,

5 en el que la etapa de análisis (170) comprende una etapa de detección de péptidos virales en los componentes celulares mediante espectrometría de masas, detección inmunológica y/o ELISA; y/o en el que la etapa de análisis (170) comprende una etapa (190) de detección de péptidos virales en los componentes no celulares mediante espectrometría de masas.

15. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14, en el que la muestra (2) es sangre capilar y en el que la sangre capilar se aplica gota a gota.

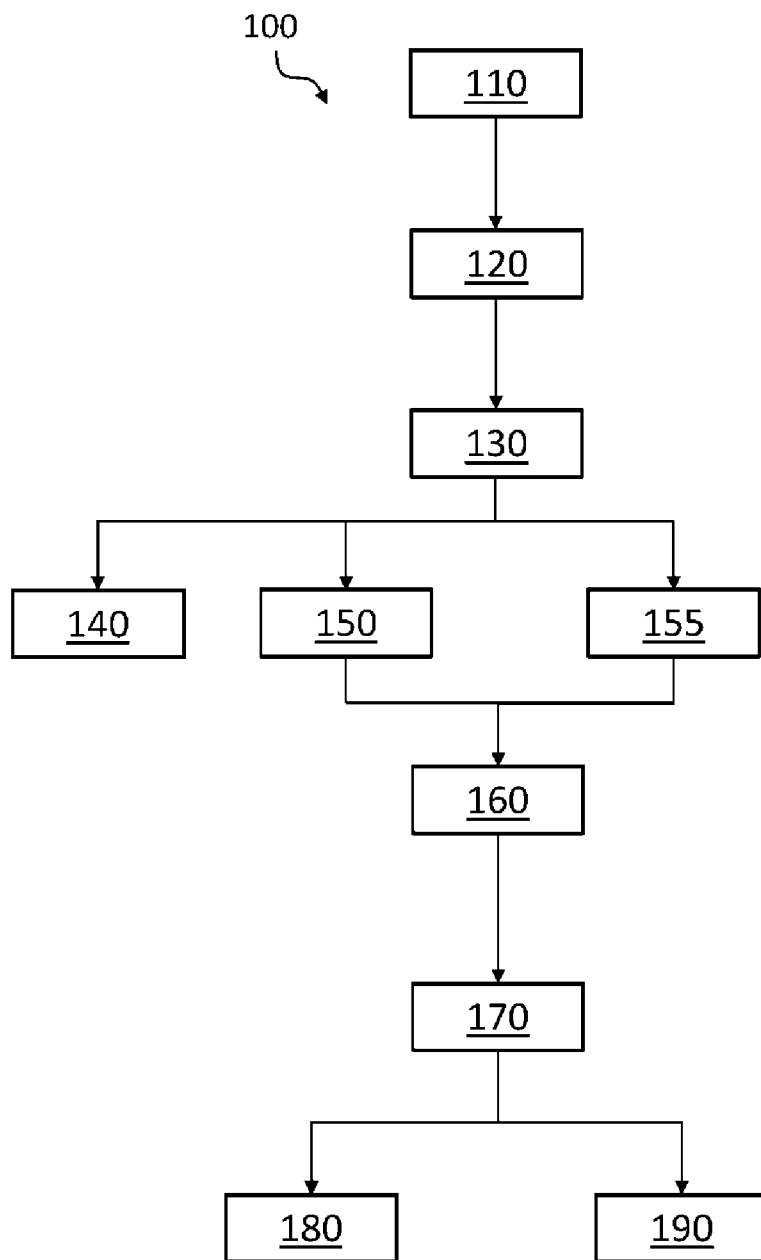


Fig. 1

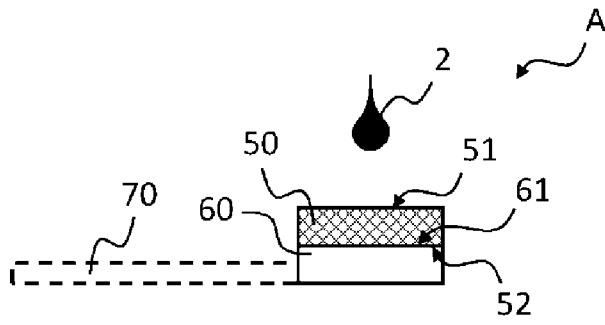


Fig. 2A

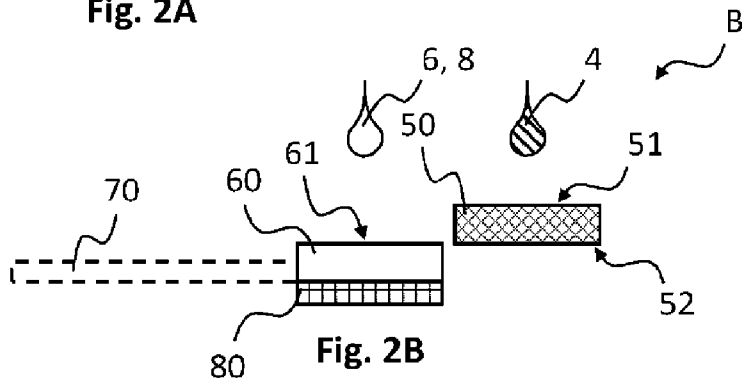


Fig. 2B

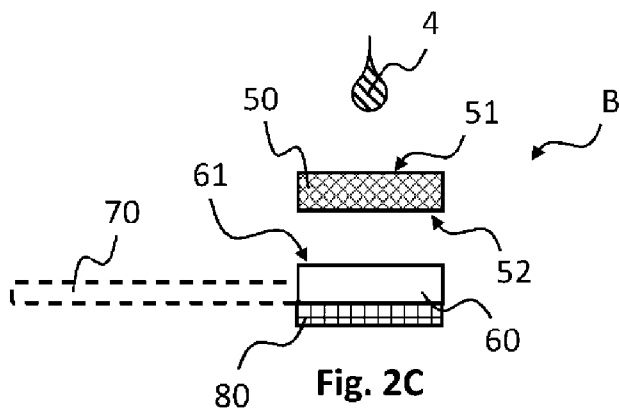


Fig. 2C

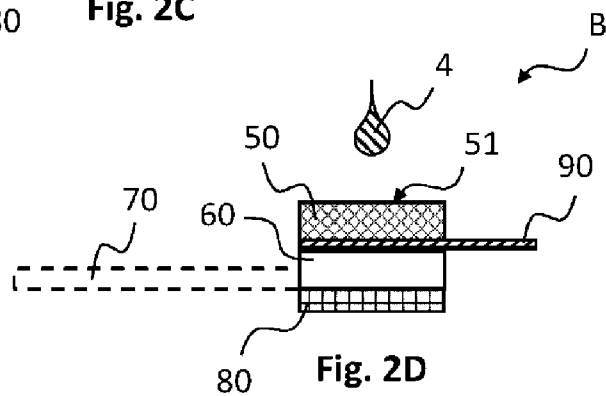


Fig. 2D

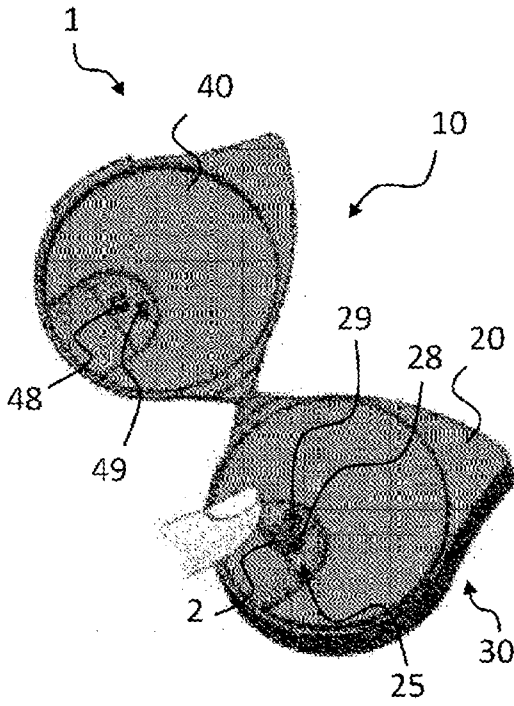


Fig. 3A

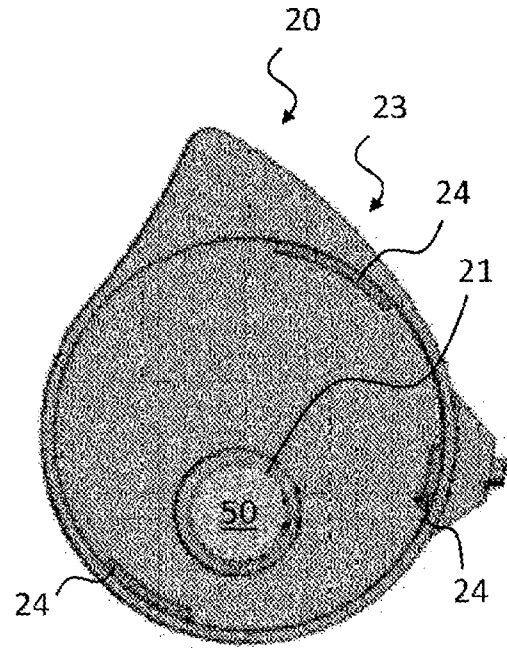


Fig. 3B

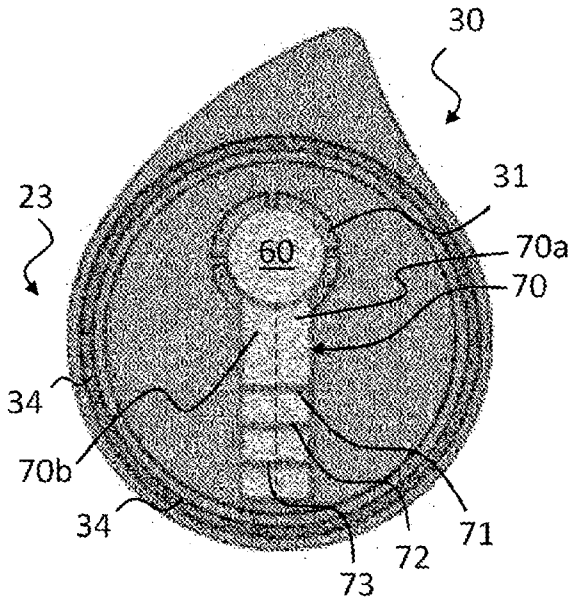


Fig. 3C

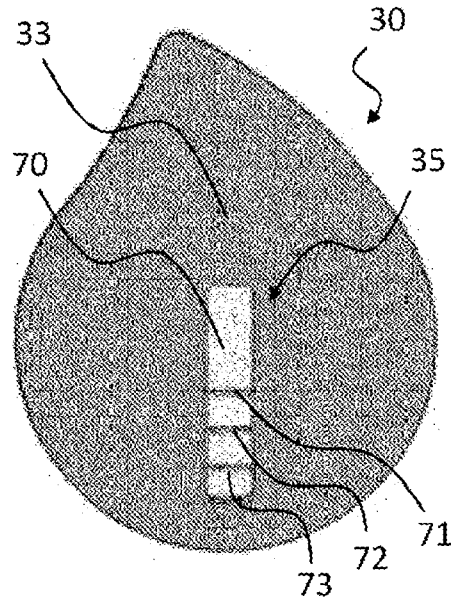


Fig. 3D

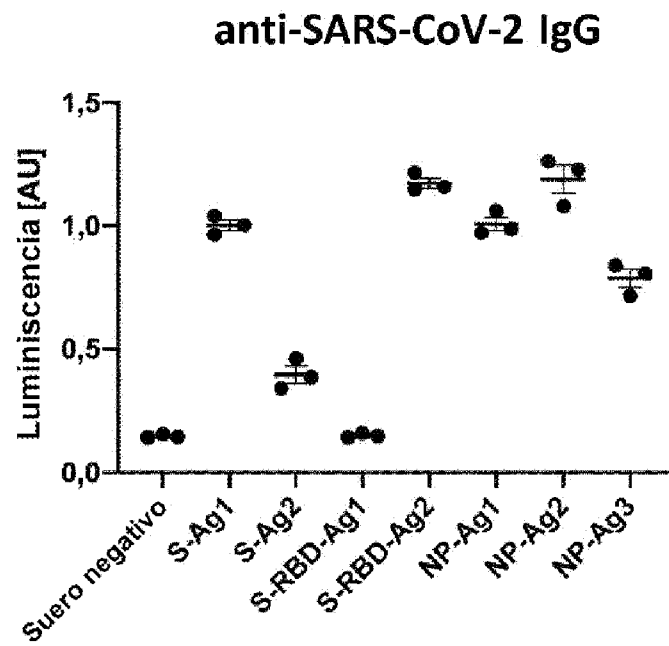
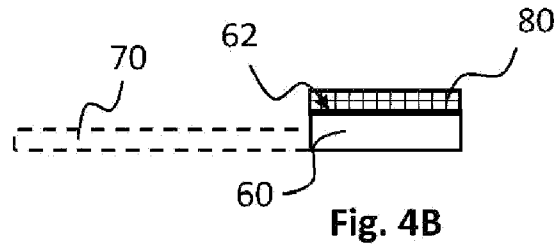
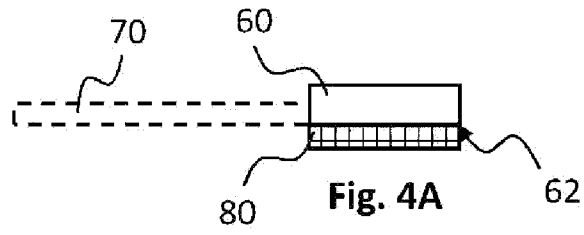


Fig. 8

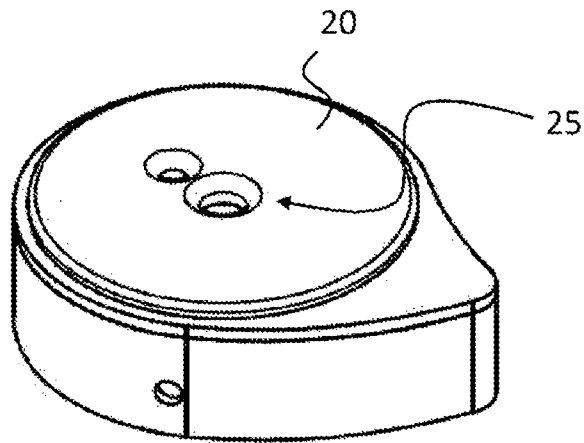


Fig. 5A

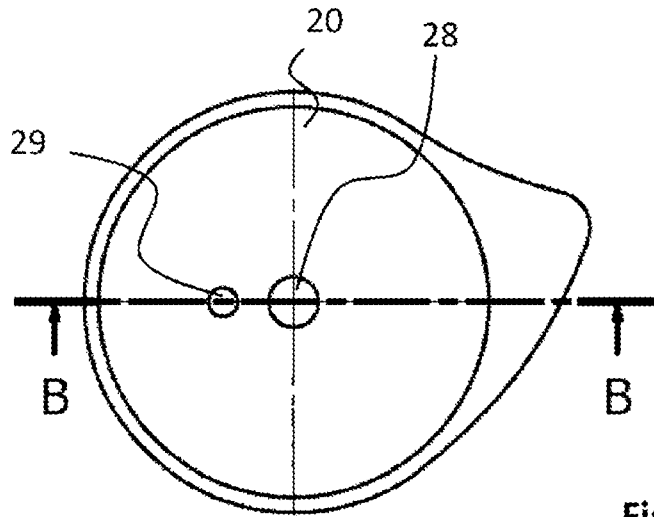


Fig. 5B

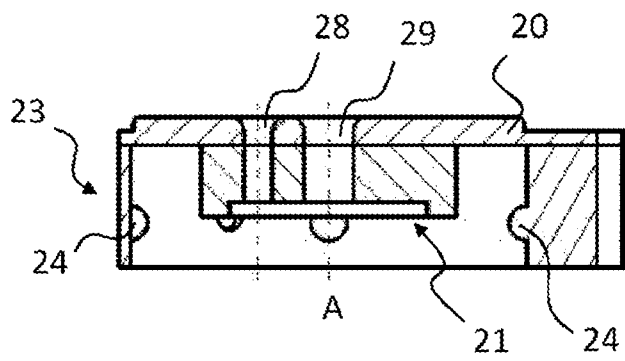


Fig. 5C

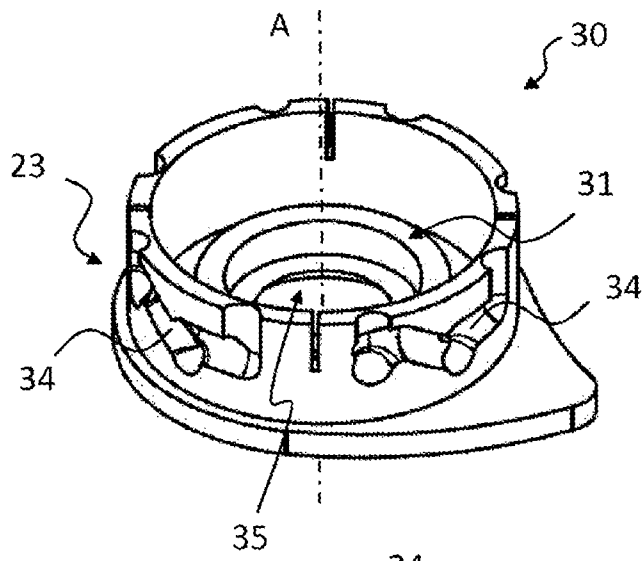


Fig. 5D

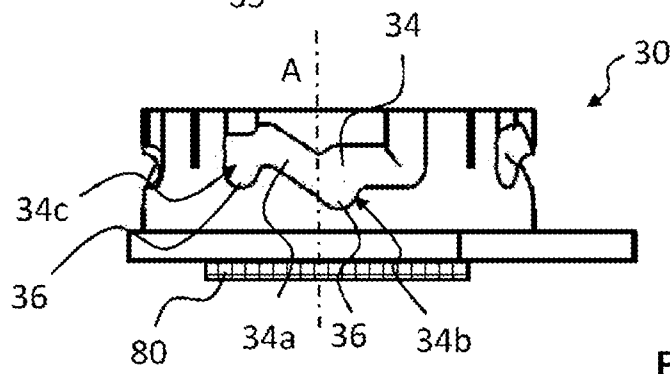


Fig. 5E

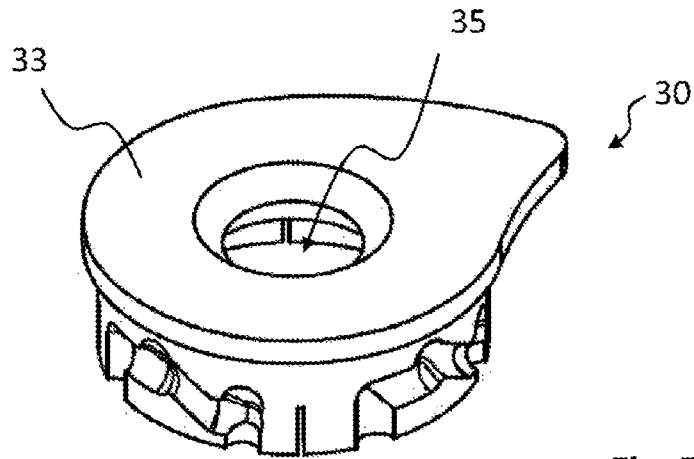


Fig. 5F

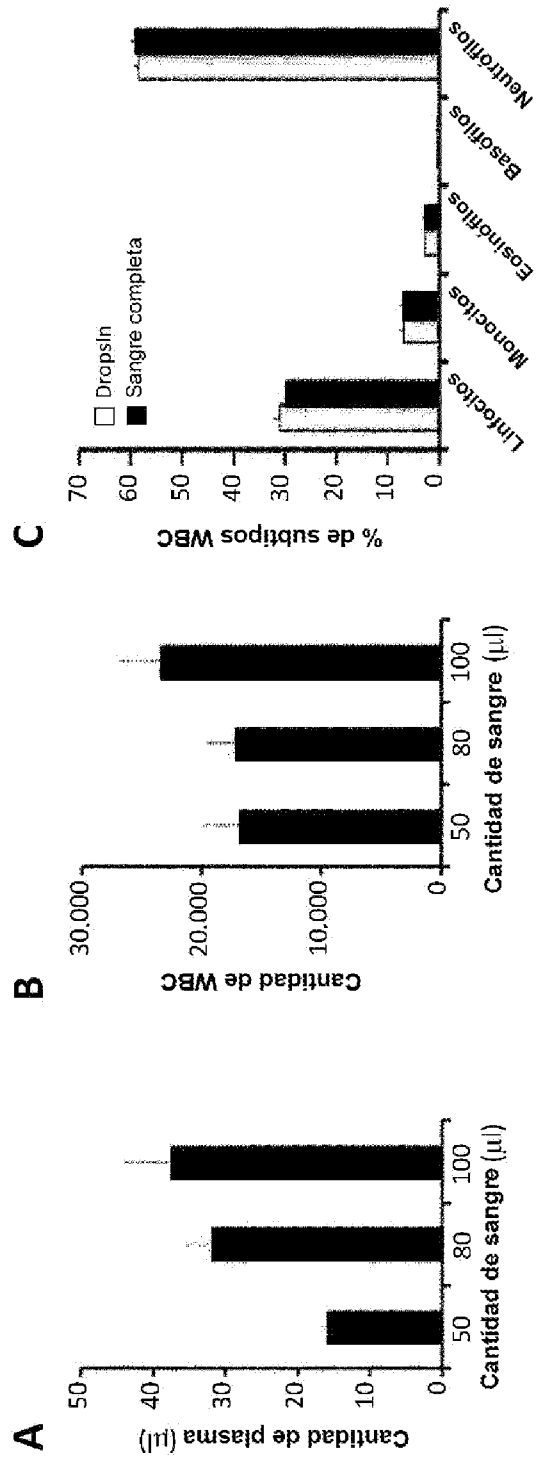


Fig. 6

L1PA2
(MSTN, Actin, GAPDH)

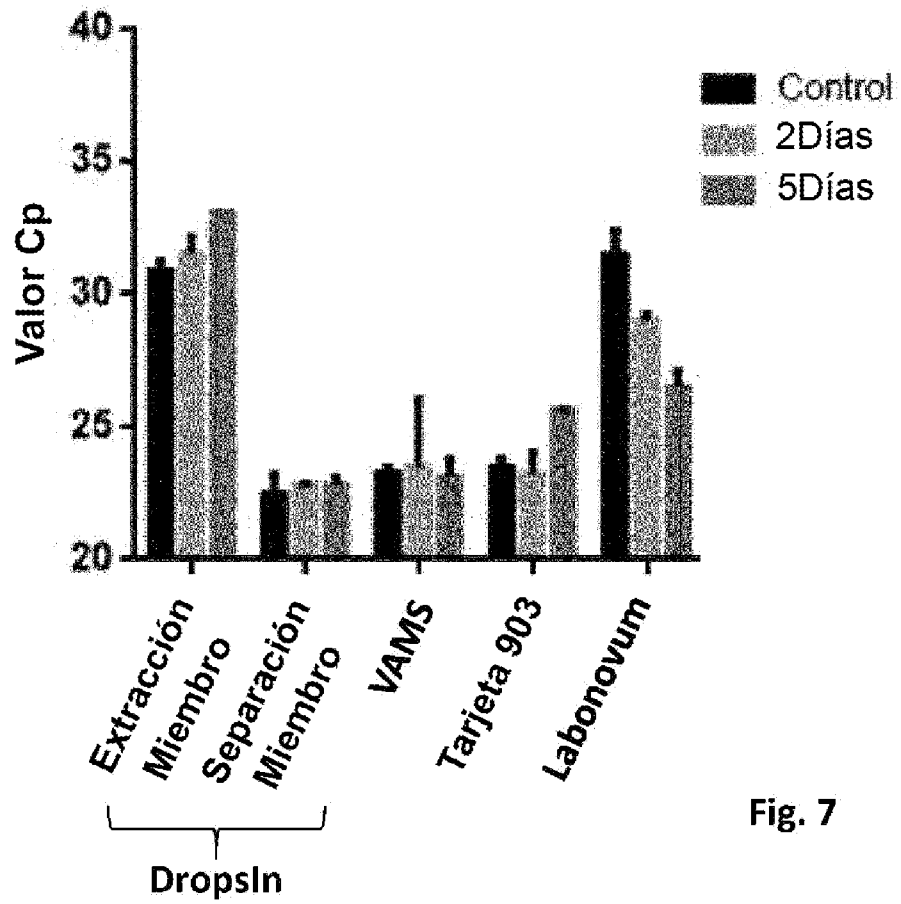


Fig. 7