

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2019-164143

(P2019-164143A)

(43) 公開日 令和1年9月26日(2019.9.26)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/573 (2006.01)	GO 1 N 33/573	A
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53	X
GO 1 N 33/569 (2006.01)	GO 1 N 33/569	G

審査請求 有 請求項の数 4 O L 外国語出願 (全 62 頁)

(21) 出願番号 特願2019-80579 (P2019-80579)  
 (22) 出願日 平成31年4月20日 (2019.4.20)  
 (62) 分割の表示 特願2015-561486 (P2015-561486) の分割  
 原出願日 平成26年3月3日 (2014.3.3)  
 (31) 優先権主張番号 13/788, 616  
 (32) 優先日 平成25年3月7日 (2013.3.7)  
 (33) 優先権主張国・地域又は機関 米国 (US)  
 (31) 優先権主張番号 13/790, 125  
 (32) 優先日 平成25年3月8日 (2013.3.8)  
 (33) 優先権主張国・地域又は機関 米国 (US)

(71) 出願人 511012204  
 ラビッド パトゲン スクリーニング、インク。  
 アメリカ合衆国 34240 フロリダ州  
 サラソタ ディレイニー・シーティー、  
 7227  
 (74) 代理人 100082072  
 弁理士 清原 義博  
 (72) 発明者 ザンプルスキー, ロバート ピー。  
 アメリカ合衆国 34202 フロリダ州  
 ブラデントン ウッド・ダック・サークル 13946

最終頁に続く

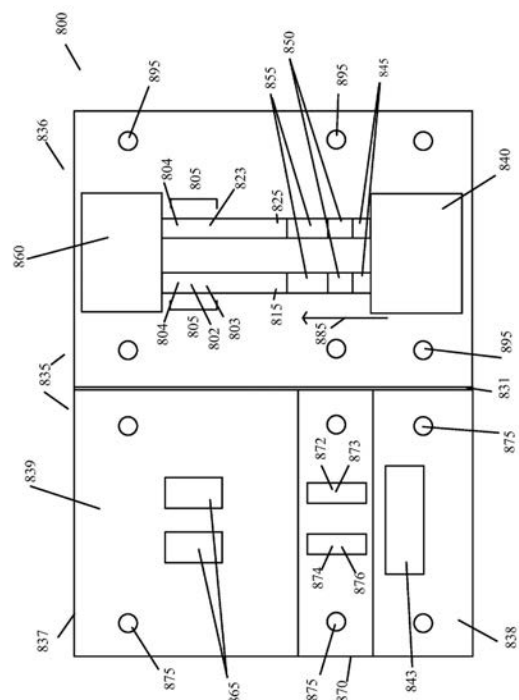
(54) 【発明の名称】 ウイルス感染及び細菌感染の一体検出のための方法及び装置

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 ウイルス感染及び細菌感染の一体検出のための方法及び装置を提供する。

【解決手段】 組み合わされたポイントオブケア診断装置は、ウイルス感染及び細菌感染の迅速な区別に効果的に役立てるために、ウイルス感染のマーカーと細菌感染のマーカーとを検査する。二峰性の方法及び装置は、感染がウイルス性及び/又は細菌性であるかどうかを判定する。デュアルユーズの2つのストリップのサンプル分析装置は、M x A及び低レベルのC反応性タンパク質を検出するための第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ815と、高レベルのC反応性タンパク質を検出するための第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ825とを含む。サンプルはフィンガースティックの血液サンプルである。

【選択図】 図 8 A



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

感染が細菌性及び / 又はウイルス性であるかどうかを判定する方法であって、該方法は

：

a) サンプルを採取する工程；

b) サンプルをサンプル分析装置に移す工程であって、該サンプル分析装置が：

i) サンプル圧縮機であって：

A) 第 1 のレベルの C 反応性タンパク質に特異的な少なくとも 1 つの第 1 の試薬と M x A に特異的な少なくとも第 2 の試薬とを含む第 1 の試薬領域であって、サンプルが第 1 の試薬と接触すると、第 1 のレベルの C 反応性タンパク質がサンプルに存在する場合に第 1 の標識化した複合体が形成され、サンプルが第 2 の試薬と接触すると、M x A がサンプルに存在する場合に第 2 の標識化した複合体が形成される、第 1 の試薬領域；及び

B) 第 2 のレベルの C 反応性タンパク質に特異的な少なくとも 1 つの第 3 の試薬を含む第 2 の試薬領域であって、第 3 の試薬は、第 1 の試薬によって検出された第 1 のレベルの C 反応性タンパク質より高い第 2 のレベルの C 反応性タンパク質を検出するだけであり、サンプルが第 3 の試薬と接触すると、第 2 のレベルの C 反応性タンパク質がサンプルに存在する場合に第 3 の標識化した複合体が形成される、第 2 の試薬領域を含むサンプル圧縮機；

i i) 第 1 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップであって：

A) 第 1 の検出領域であって、第 1 の標識化した複合体に結合する第 1 の結合パートナーと、第 2 の標識化した複合体に結合する第 2 の結合パートナーとを含む、第 1 の検出領域；及び

B) 側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ上の第 1 の検出領域の上流に位置する第 1 の分岐領域であって、第 1 の分岐領域は、第 1 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ上で側方流動を阻止する、第 1 の分岐領域を含む第 1 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ；及び

i i i) 第 1 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップへの側方流動方向と平行な、第 2 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップであって：

A) 第 3 の標識化した複合体に結合する第 3 の結合パートナーを含む第 2 の検出領域；及び

B) 第 2 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ上の第 2 の検出領域の上流に位置する第 2 の分岐領域であって、該分岐領域は、第 2 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ上で側方流動を阻止する、第 2 の分岐領域を含む第 2 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ；

i v) 第 1 のサンプル適用領域であって、サンプルはサンプル分析装置の上に置かれ、第 1 のサンプル適用領域は、i) 検出領域の上流にある第 1 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの上、及び、i i) サンプル圧縮機の第 1 の試薬領域の上から成る群から選択された場所に位置する、第 1 のサンプル適用領域；及び

v) 第 2 のサンプル適用領域であって、サンプルはサンプル分析装置の上に置かれ、第 2 のサンプル適用領域は、i) 検出領域の上流にある第 2 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの上、及び、i i) サンプル圧縮機の第 2 の試薬領域の上から成る群から選択された場所に位置する、第 2 のサンプル適用領域を含み；

ここで、サンプル圧縮機は、第 1 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ、及び第 2 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップとは異なる面にあり；

ここで、サンプル圧縮機の第 1 の試薬領域は、第 1 の分岐領域にわたり橋を作成し、サンプル圧縮機の第 2 の試薬領域は、第 2 の分岐領域にわたり橋を作成し、これらの橋は、サンプル圧縮機上に流れを分岐し、第 1 の分岐領域と第 2 の分岐領域の端部にある第 1 のクロマトグラフィ検査ストリップと第 2 のクロマトグラフィ検査ストリップに流れを戻す、工程；及び

10

20

30

40

50

c) 第1のレベルのC反応性タンパク質、M x A、及び第2のレベルのC反応性タンパク質の存在のためサンプルを分析する工程

を含む、感染が細菌性及び/又はウイルス性であるかどうかを判定する方法

【請求項2】

サンプル分析装置は更に、サンプル圧縮機の第1の試薬領域と第2の試薬領域の各々の上に位置する第1の対照結合パートナーと、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップと第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの各々の対照領域に固定される第2の対照結合パートナーとを含み、第1の対照結合パートナーは、第2の対照結合パートナーの結合パートナーである、ことを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項3】

第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの検出領域中の第1のレベルのC反応性タンパク質に対して陽性の結果を得るための閾値濃度は、C反応性タンパク質のおよそ6 - 15 mg / Lの血清相当物に等しいか、又はそれよりも高い、ことを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項4】

第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの検出領域中の第1のレベルのC反応性タンパク質に対して陽性の結果を得るための閾値濃度は、C反応性タンパク質のおよそ10 mg / Lの血清相当物に等しいか、又はそれよりも高い、ことを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項5】

第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの検出領域中の第2のレベルのC反応性タンパク質に対して陽性の結果を得るための閾値濃度は、およそ60 - 100 mg / Lの血清相当物に等しいか、又はそれよりも高い、ことを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項6】

第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの検出領域中の第2のレベルのC反応性タンパク質に対して陽性の結果を得るための閾値濃度は、およそ80 mg / Lの血清相当物に等しいか、又はそれよりも高い、ことを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項7】

第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの検出領域中のM x Aに対して陽性の結果を得るための閾値濃度は、およそ40 ng / mlに等しいか、又はそれよりも高い、ことを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項8】

第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの検出領域中のM x Aに対して陽性の結果を得るための閾値濃度は、およそ15 - 250 ng / mlに等しいか、又はそれよりも高い、ことを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項9】

第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの検出領域中の第1のレベルのC反応性タンパク質に対して陽性の結果を得るための第1の閾値濃度は、C反応性タンパク質のおよそ6 - 15 mg / Lの血清相当物に等しいか又はそれよりも高く、第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの検出領域中の第2のレベルのC反応性タンパク質に対して陽性の結果を得るための第2の閾値濃度は、およそ60 - 100 mg / Lの血清相当物に等しいか又はそれよりも高く、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの検出領域中のM x Aに対して陽性の結果を得るための第3の閾値濃度は、およそ15 - 250 ng / mlに等しいか又はそれよりも高い、ことを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項10】

第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの検出領域中の第1のレベルのC反応性タンパク質に対して陽性の結果を得るための第1の閾値濃度は、C反応性タンパク質のおよそ10 mg / Lの血清相当物に等しいか又はそれよりも高く、第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの検出領域中の第2のレベルのC反応性タンパク質に対して陽

10

20

30

40

50

性の結果を得るための第2の閾値濃度は、およそ80 mg/Lの血清相当物に等しいか又はそれよりも高く、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの検出領域中のM x Aに対して陽性の結果を得るための第3の閾値濃度は、およそ40 ng/mlに等しいか又はそれよりも高い、ことを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項11】

前記工程c)は、

i) サンプル分析装置上のサンプルを溶出するサブ工程；及び

ii) 検出領域からの結果を視覚的に判定するサブ工程

を含む、ことを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項12】

M x Aの存在は、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの検出領域に位置する第1の検査ラインによって表示され、第1のレベルのCRPの存在は、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの検出領域に位置する第2の検査ラインによって表示される、ことを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項13】

第1の検査ラインは陽性の際に第1の色を表示し、第2の検査ラインは陽性の際に第1の色とは異なる第2の色を表示する、ことを特徴とする請求項12に記載の方法。

【請求項14】

第1の検査ラインと第2の検査ラインの両方は、サンプル分析装置上の同じ空間内に位置し、それにより、第3の色は、第1の検査ラインと第2の検査ラインの両方が陽性の際に形成される、ことを特徴とする請求項13に記載の方法。

【請求項15】

第1の検査ラインは、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ上の第2の検査ラインから空間的に分離される、ことを特徴とする請求項12に記載の方法。

【請求項16】

サンプルは血液サンプルである、ことを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項17】

サンプルは白血球を含む、ことを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項18】

サンプルにおける分析物を検知するための側方流動装置であって、該装置は：

a) サンプル圧縮機であって：

i) 第1のレベルのC反応性タンパク質に特異的な少なくとも1つの第1の試薬とM x Aに特異的な少なくとも第2の試薬とを含む第1の試薬領域であって、サンプルが第1の試薬と接触すると、第1のレベルのC反応性タンパク質がサンプルに存在する場合に第1の標識化した複合体が形成され、サンプルが第2の試薬と接触すると、M x Aがサンプルに存在する場合に第2の標識化した複合体が形成される、第1の試薬領域；及び

ii) 第2のレベルのC反応性タンパク質に特異的な少なくとも1つの第3の試薬を含む第2の試薬領域であって、第3の試薬は、第2の試薬によって検出された第1のレベルのC反応性タンパク質より高い第2のレベルのC反応性タンパク質を検出するだけであり、サンプルが第3の試薬と接触すると、第2のレベルのC反応性タンパク質がサンプルに存在する場合に第3の標識化した複合体が形成される、第2の試薬領域を含む、サンプル圧縮機；

b) 第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップであって：

i) 第1の検出領域であって、第1の標識化した複合体に結合する第1の結合パートナーと、第2の標識化した複合体に結合する第2の結合パートナーとを含む、第1の検出領域；及び

ii) 側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ上の第1の検出領域の上流に位置する第1の分岐領域であって、第1の分岐領域は、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ上で側方流動を阻止する、第1の分岐領域を含む、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ；及び

10

20

30

40

50

c) 第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップへの側方流動方向と平行な、第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップであって：

i) 第3の標識化した複合体に結合する第3の結合パートナーを含む第2の検出領域；及び

ii) 側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ上の第1の検出領域の上流に位置する第2の分岐領域であって、第2の分岐領域は、第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ上で側方流動を阻止する、第2の分岐領域を含む、第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ；及び

d) 第1のサンプル適用領域であって、サンプルはサンプル分析装置の上に置かれ、第1のサンプル適用領域は、i) 検出領域の上流にある第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの上、及び、ii) サンプル圧縮機の第1の試薬領域の上から成る群から選択された場所に位置する、第1のサンプル適用領域；及び

e) 第2のサンプル適用領域であって、サンプルはサンプル分析装置の上に置かれ、第2のサンプル適用領域は、i) 検出領域の上流にある第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの上、及び、ii) サンプル圧縮機の第2の試薬領域の上から成る群から選択された場所に位置する、第2のサンプル適用領域を含み；

ここで、サンプル圧縮機は、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ、及び第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップとは異なる面にあり；

ここで、サンプル圧縮機の第1の試薬領域は、第1の分岐領域にわたり橋を作成し、サンプル圧縮機の第2の試薬領域は、第2の分岐領域にわたり橋を作成し、これらの橋は、サンプル圧縮機上に流れを分岐し、第1の分岐領域と第2の分岐領域の端部にある第1のクロマトグラフィ検査ストリップと第2のクロマトグラフィ検査ストリップに流れを戻すことを特徴とする、サンプルにおける分析物を検知するための側方流動装置。

#### 【請求項19】

前記装置は更に、サンプル圧縮機の第1の試薬領域と第2の試薬領域の各々の上に位置する第1の対照結合パートナーと、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップと第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの各々の対照領域に固定される第2の対照結合パートナーとを含み、第1の対照結合パートナーは、第2の対照結合パートナーの結合パートナーである、ことを特徴とする請求項18に記載の装置。

#### 【請求項20】

第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの第1の検出領域中の第1のレベルのC反応性タンパク質に対して陽性の結果を得るための閾値濃度は、C反応性タンパク質のおよそ6 - 15 mg / Lの血清相当物に等しいか、又はそれよりも高い、ことを特徴とする請求項18に記載の装置。

#### 【請求項21】

第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの第1の検出領域中の第1のレベルのC反応性タンパク質に対して陽性の結果を得るための閾値濃度は、C反応性タンパク質のおよそ10 mg / Lの血清相当物に等しいか、又はそれよりも高い、ことを特徴とする請求項18に記載の装置。

#### 【請求項22】

第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの第2の検出領域中の第2のレベルのC反応性タンパク質に対して陽性の結果を得るための閾値濃度は、およそ60 - 100 mg / Lの血清相当物に等しいか、又はそれよりも高い、ことを特徴とする請求項18に記載の装置。

#### 【請求項23】

第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの第2の検出領域中の第2のレベルのC反応性タンパク質に対して陽性の結果を得るための閾値濃度は、およそ80 mg / Lの血清相当物に等しいか、又はそれよりも高い、ことを特徴とする請求項18に記載の装置。

。

10

20

30

40

50

## 【請求項 24】

第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの第1の検出領域中のM x Aに対して陽性の結果を得るための閾値濃度は、およそ40 ng/mlに等しいか、又はそれよりも高い、ことを特徴とする請求項18に記載の装置。

## 【請求項 25】

第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの第1の検出領域中のM x Aに対して陽性の結果を得るための閾値濃度は、およそ15 - 250 ng/mlに等しいか、又はそれよりも高い、ことを特徴とする請求項18に記載の装置。

## 【請求項 26】

第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの第1の検出領域中の第1のレベルのC反応性タンパク質に対して陽性の結果を得るための第1の閾値濃度は、C反応性タンパク質の6 - 15 mg/Lの血清相当物に等しいか又はそれよりも高く、第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの第2の検出領域中の第2のレベルのC反応性タンパク質に対して陽性の結果を得るための第2の閾値濃度は、およそ60 - 100 mg/Lの血清相当物に等しいか又はそれよりも高く、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの第1の検出領域中のM x Aに対して陽性の結果を得るための第3の閾値濃度は、およそ15 - 250 ng/mlに等しいか又はそれよりも高い、ことを特徴とする請求項18に記載の装置。

10

## 【請求項 27】

第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの第1の検出領域中の第1のレベルのC反応性タンパク質に対して陽性の結果を得るための第1の閾値濃度は、C反応性タンパク質のおよそ10 mg/Lの血清相当物に等しいか又はそれよりも高く、第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの第2の検出領域中の第2のレベルのC反応性タンパク質に対して陽性の結果を得るための第2の閾値濃度は、およそ80 mg/Lの血清相当物に等しいか又はそれよりも高く、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの第1の検出領域中のM x Aに対して陽性の結果を得るための第3の閾値濃度は、およそ40 ng/mlに等しいか又はそれよりも高い、ことを特徴とする請求項18に記載の装置。

20

## 【請求項 28】

第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの第1の検出領域は、サンプル中のM x Aに対して陽性の結果を検出するための第1の検査ラインと、サンプル中の第1のレベルのCRPに対して陽性の結果を検出するための第2の検査ラインとを含む、ことを特徴とする請求項18に記載の装置。

30

## 【請求項 29】

第1の検査ラインは陽性の際に第1の色を表示し、第2の検査ラインは陽性の際に第1の色とは異なる第2の色を表示する、ことを特徴とする請求項28に記載の装置。

## 【請求項 30】

第1の検査ラインと第2の検査ラインの両方は、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ上の同じ空間内に位置し、それにより、第3の色は、第1の検査ラインと第2の検査ラインの両方が陽性の際に形成される、ことを特徴とする請求項29に記載の装置。

40

## 【請求項 31】

第1の検査ラインは、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ上の第2の検査ラインから空間的に分離される、ことを特徴とする請求項28に記載の装置。

## 【請求項 32】

第1の検出領域と第2の検出領域は各々、デバイスが作動する際に肉眼で見ることが可能な対照ラインを含む、ことを特徴とする請求項18に記載の装置。

## 【請求項 33】

第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップは更に、第1試薬領域の、第2試薬領域の、及び第1の検出領域の上流にある第1のサンプル適用領域を含み、第1の検出領域は第1の試薬領域と第2の試薬領域の下流にある、ことを特徴とする請求項18に記載の

50

装置。

【請求項 34】

第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップは更に、第3の試薬領域及び第2の検出領域の上流にある第2のサンプル適用領域を含み、第2の検出領域は第3の試薬領域の下流にある、ことを特徴とする請求項18に記載の装置。

【請求項 35】

第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップは更に、少なくとも1つの溶解剤を含む溶解領域を含み、溶解剤は、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ上でサンプルと接触する、ことを特徴とする請求項18に記載の装置。

【請求項 36】

第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップは更に、少なくとも1つの溶解剤を含む溶解領域を含み、溶解剤は、第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ上でサンプルと接触する、ことを特徴とする請求項18に記載の装置。

【請求項 37】

第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップは更に、第1の試薬領域と第2の試薬領域の下流にあり、且つ第1の検出領域の上流にある第1のサンプル適用領域を含む、ことを特徴とする請求項18に記載の装置。

【請求項 38】

第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップは更に、第3の試薬領域の下流にあり、且つ第2の検出領域の上流にある第2のサンプル適用領域を含む、ことを特徴とする請求項18に記載の装置。

【請求項 39】

サンプルは血液サンプルである、ことを特徴とする請求項18に記載の装置。

【請求項 40】

サンプルは白血球を含む、ことを特徴とする請求項18に記載の装置。

【請求項 41】

感染が細菌性及び/又はウイルス性であるかどうかを判定する方法であって、該方法は：

a) サンプルを採取する工程；

b) サンプルをサンプル分析装置に移す工程であって、該サンプル分析装置は：

i) 第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップであって：

第1のレベルのC反応性タンパク質に特異的な少なくとも1つの第1の試薬を含む第1の試薬領域であって、サンプルが第1の試薬に接触すると、第1のレベルのC反応性タンパク質がサンプルに存在する場合に第1の標識化した複合体が形成される、第1の試薬領域；

M x Aに特異的な少なくとも1つの第2の試薬を含む第2の試薬領域であって、サンプルが第2の試薬に接触すると、M x Aがサンプルに存在する場合に第2の標識化した複合体が形成される、第2の試薬領域；及び

第1の標識化した複合体に結合する第1の結合パートナーと第2の標識化した複合体に結合する第2の結合パートナーとを含む検出領域

を含む、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ；及び

ii) 第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップへの側方流動方向と平行な、第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップであって：

少なくとも1つの第3の試薬領域であって：

第2のレベルのC反応性タンパク質に特異的な少なくとも1つの第3の試薬であって、第3の試薬は、第1の試薬によって検出された第1のレベルのC反応性タンパク質より高い第2のレベルのC反応性タンパク質を検出するだけであり、サンプルが第3の試薬と接触すると、第2のレベルのC反応性タンパク質がサンプルに存在する場合に第3の標識化した複合体が形成される、少なくとも1つの第3の試薬；及び

第3の標識化した複合体に結合する第3の結合パートナーを含む検出領域

10

20

30

40

50

を含む少なくとも1つの第3の試薬領域

を含む第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ；及び

c) 第1のレベルのC反応性タンパク質、M x A、及び第2のレベルのC反応性タンパク質の存在のためサンプルを分析する工程

を含む、感染が細菌性及び/又はウイルス性であるかどうかを判定する方法。

【請求項42】

第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの検出領域中の第1のレベルのC反応性タンパク質に対して陽性の結果を得るための閾値濃度は、C反応性タンパク質のおよそ6 - 15 mg / Lの血清相当物に等しいか、又はそれよりも高い、ことを特徴とする請求項41に記載の方法。

10

【請求項43】

第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの検出領域中の第1のレベルのC反応性タンパク質に対して陽性の結果を得るための閾値濃度は、C反応性タンパク質のおよそ10 mg / Lの血清相当物に等しいか、又はそれよりも高い、ことを特徴とする請求項41に記載の方法。

【請求項44】

第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの検出領域中の第2のレベルのC反応性タンパク質に対して陽性の結果を得るための閾値濃度は、およそ60 - 100 mg / Lの血清相当物に等しいか、又はそれよりも高い、ことを特徴とする請求項41に記載の方法。

20

【請求項45】

第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの検出領域中の第2のレベルのC反応性タンパク質に対して陽性の結果を得るための閾値濃度は、およそ80 mg / Lの血清相当物に等しいか、又はそれよりも高い、ことを特徴とする請求項41に記載の方法。

【請求項46】

第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの検出領域中のM x Aに対して陽性の結果を得るための閾値濃度は、およそ40 ng / mlに等しいか、又はそれよりも高い、ことを特徴とする請求項41に記載の方法。

【請求項47】

第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの第1の検出領域中のM x Aに対して陽性の結果を得るための閾値濃度は、およそ15 - 250 ng / mlに等しいか、又はそれよりも高い、ことを特徴とする請求項41に記載の方法。

30

【請求項48】

第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの検出領域中の第1のレベルのC反応性タンパク質に対して陽性の結果を得るための第1の閾値濃度は、C反応性タンパク質のおよそ6 - 15 mg / Lの血清相当物に等しいか又はそれよりも高く、第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの検出領域中の第2のレベルのC反応性タンパク質に対して陽性の結果を得るための第2の閾値濃度は、およそ60 - 100 mg / Lの血清相当物に等しいか又はそれよりも高く、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの検出領域中のM x Aに対して陽性の結果を得るための第3の閾値濃度は、およそ15 - 250 ng / mlに等しいか又はそれよりも高い、ことを特徴とする請求項41に記載の方法。

40

【請求項49】

第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの検出領域中の第1のレベルのC反応性タンパク質に対して陽性の結果を得るための第1の閾値濃度は、C反応性タンパク質のおよそ10 mg / Lの血清相当物に等しいか又はそれよりも高く、第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの検出領域中の第2のレベルのC反応性タンパク質に対して陽性の結果を得るための第2の閾値濃度は、およそ80 mg / Lの血清相当物に等しいか又はそれよりも高く、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの検出領域中のM x Aに対して陽性の結果を得るための第3の閾値濃度は、およそ40 ng / mlに等しいか又はそれよりも高い、ことを特徴とする請求項41に記載の方法。

50

## 【請求項 5 0】

前記工程 c ) は、

i ) サンプル分析装置上のサンプルを溶出するサブ工程 ; 及び

i i ) 検出領域からの結果を視覚的に判定するサブ工程

を含む、ことを特徴とする請求項 4 1 に記載の方法。

## 【請求項 5 1】

M x A の存在は、第 1 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの検出領域に位置する第 1 の検査ラインによって表示され、第 1 のレベルの C R P の存在は、第 1 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの検出領域に位置する第 2 の検査ラインによって表示される、ことを特徴とする請求項 4 1 に記載の方法。

10

## 【請求項 5 2】

第 1 の検査ラインは陽性の際に第 1 の色を表示し、第 2 の検査ラインは陽性の際に第 1 の色とは異なる第 2 の色を表示する、ことを特徴とする請求項 5 1 に記載の方法。

## 【請求項 5 3】

第 1 の検査ラインと第 2 の検査ラインの両方は、サンプル分析装置上の同じ空間内に位置し、それにより、第 3 の色は、第 1 の検査ラインと第 2 の検査ラインの両方が陽性の際に形成される、ことを特徴とする請求項 5 2 に記載の方法。

## 【請求項 5 4】

第 1 の検査ラインは、第 1 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ上の第 2 の検査ラインから空間的に分離される、ことを特徴とする請求項 5 1 に記載の方法。

20

## 【請求項 5 5】

サンプルは血液サンプルである、ことを特徴とする請求項 4 1 に記載の方法。

## 【請求項 5 6】

サンプルは白血球を含む、ことを特徴とする請求項 4 1 に記載の方法。

## 【請求項 5 7】

サンプルにおける細菌マーカー及び / 又はウイルスマーカーの検出のための装置であって、該装置は :

a ) 第 1 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップであって :

第 1 のレベルの C 反応性タンパク質に特異的な少なくとも 1 つの第 1 の試薬を含む第 1 の試薬領域であって、サンプルが第 1 の試薬に接触すると、第 1 のレベルの C 反応性タンパク質がサンプルに存在する場合に第 1 の標識化した複合体が形成される、第 1 の試薬領域 ;

30

M x A に特異的な少なくとも 1 つの第 2 の試薬を含む第 2 の試薬領域であって、サンプルが第 2 の試薬に接触すると、M x A がサンプルに存在する場合に第 2 の標識化した複合体が形成される、第 2 の試薬領域 ; 及び

第 1 の標識化した複合体に結合する第 1 の結合パートナーと第 2 の標識化した複合体に結合する第 2 の結合パートナーとを含む第 1 の検出領域を含む、第 1 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ ; 及び

b ) 第 1 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップへの側方流動方向と平行な、第 2 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップであって :

40

第 2 のレベルの C 反応性タンパク質に特異的な少なくとも 1 つの第 3 の試薬を含む少なくとも 1 つの第 3 の試薬領域であって、第 3 の試薬は、第 1 の試薬によって検出された第 1 のレベルの C 反応性タンパク質より高い第 2 のレベルの C 反応性タンパク質を検出するだけであり、サンプルが第 3 の試薬と接触すると、第 2 のレベルの C 反応性タンパク質がサンプルに存在する場合に第 3 の標識化した複合体が形成される、少なくとも 1 つの第 3 の試薬領域 ; 及び

第 3 の標識化した複合体に結合する第 3 の結合パートナーを含む第 2 の検出領域を含む、第 2 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップを含む、サンプルにおける細菌マーカー及び / 又はウイルスマーカーの検出のための装置

50

## 【請求項 5 8】

第 1 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの第 1 の検出領域中の第 1 のレベルの C 反応性タンパク質に対して陽性の結果を得るための閾値濃度は、C 反応性タンパク質のおよそ 6 - 15 mg / L の血清相当物に等しいか、又はそれよりも高い、ことを特徴とする請求項 5 7 に記載の装置。

## 【請求項 5 9】

第 1 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの第 1 の検出領域中の第 1 のレベルの C 反応性タンパク質に対して陽性の結果を得るための閾値濃度は、C 反応性タンパク質のおよそ 10 mg / L の血清相当物に等しいか、又はそれよりも高い、ことを特徴とする請求項 5 7 に記載の装置。

10

## 【請求項 6 0】

第 2 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの第 2 の検出領域中の第 2 のレベルの C 反応性タンパク質に対して陽性の結果を得るための閾値濃度は、およそ 60 - 100 mg / L の血清相当物に等しいか、又はそれよりも高い、ことを特徴とする請求項 5 7 に記載の装置。

## 【請求項 6 1】

第 2 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの第 2 の検出領域中の第 2 のレベルの C 反応性タンパク質に対して陽性の結果を得るための閾値濃度は、およそ 80 mg / L の血清相当物に等しいか、又はそれよりも高い、ことを特徴とする請求項 5 7 に記載の装置。

20

## 【請求項 6 2】

第 1 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの第 1 の検出領域中の M x A に対して陽性の結果を得るための閾値濃度は、およそ 40 ng / ml に等しいか、又はそれよりも高い、ことを特徴とする請求項 5 7 に記載の装置。

## 【請求項 6 3】

第 1 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの第 1 の検出領域中の M x A に対して陽性の結果を得るための閾値濃度は、およそ 15 - 250 ng / ml に等しいか、又はそれよりも高い、ことを特徴とする請求項 5 7 に記載の装置。

## 【請求項 6 4】

第 1 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの第 1 の検出領域中の第 1 のレベルの C 反応性タンパク質に対して陽性の結果を得るための第 1 の閾値濃度は、C 反応性タンパク質のおよそ 6 - 15 mg / L の血清相当物に等しいか又はそれよりも高く、第 2 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの第 2 の検出領域中の第 2 のレベルの C 反応性タンパク質に対して陽性の結果を得るための第 2 の閾値濃度は、およそ 60 - 100 mg / L の血清相当物に等しいか又はそれよりも高く、第 1 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの第 1 の検出領域中の M x A に対して陽性の結果を得るための第 3 の閾値濃度は、およそ 15 - 250 ng / ml に等しいか又はそれよりも高い、ことを特徴とする請求項 5 7 に記載の装置。

30

## 【請求項 6 5】

第 1 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの第 1 の検出領域中の第 1 のレベルの C 反応性タンパク質に対して陽性の結果を得るための第 1 の閾値濃度は、C 反応性タンパク質のおよそ 10 mg / L の血清相当物に等しいか又はそれよりも高く、第 2 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの第 2 の検出領域中の第 2 のレベルの C 反応性タンパク質に対して陽性の結果を得るための第 2 の閾値濃度は、およそ 80 mg / L の血清相当物に等しいか又はそれよりも高く、第 1 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの第 1 の検出領域中の M x A に対して陽性の結果を得るための第 3 の閾値濃度は、およそ 40 ng / ml に等しいか又はそれよりも高い、ことを特徴とする請求項 5 7 に記載の装置。

40

## 【請求項 6 6】

第 1 の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの第 1 の検出領域は、サンプル中の M x A に対して陽性の結果を検出するための第 1 の検査ラインと、サンプル中の第 1 のレベ

50

ルのCRPに対して陽性の結果を検出するための第2の検査ラインとを含む、ことを特徴とする請求項57に記載の装置。

【請求項67】

第1の検査ラインは陽性の際に第1の色を表示し、第2の検査ラインは陽性の際に第1の色とは異なる第2の色を表示する、ことを特徴とする請求項66に記載の装置。

【請求項68】

第1の検査ラインと第2の検査ラインの両方は、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ上の同じ空間内に位置し、それにより、第3の色は、第1の検査ラインと第2の検査ラインの両方が陽性の際に形成される、ことを特徴とする請求項67に記載の装置。

10

【請求項69】

第1の検査ラインは、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ上の第2の検査ラインから空間的に分離される、ことを特徴とする請求項66に記載の装置。

【請求項70】

第1の検出領域と第2の検出領域は各々、デバイスが作動する際に肉眼で見ることが可能な対照ラインを含む、ことを特徴とする請求項57に記載の装置。

【請求項71】

第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップは更に、第1試薬領域の、第2試薬領域の、及び第1の検出領域の上流にある第1のサンプル適用領域を含み、第1の検出領域は第1の試薬領域と第2の試薬領域の下流にある、ことを特徴とする請求項57に記載の装置。

20

【請求項72】

第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップは更に、第3の試薬領域及び第2の検出領域の上流にある第2のサンプル適用領域を含み、第2の検出領域は第3の試薬領域の下流にある、ことを特徴とする請求項57に記載の装置。

【請求項73】

第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップは更に、少なくとも1つの溶解剤を含む溶解領域を含み、溶解剤は、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ上でサンプルと接触する、ことを特徴とする請求項57に記載の装置。

【請求項74】

第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップは更に、少なくとも1つの溶解剤を含む溶解領域を含み、溶解剤は、第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ上でサンプルと接触する、ことを特徴とする請求項57に記載の装置。

30

【請求項75】

第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップは更に、第1の試薬領域と第2の試薬領域の下流にあり、且つ第1の検出領域の上流にある第1のサンプル適用領域を含む、ことを特徴とする請求項57に記載の装置。

【請求項76】

第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップは更に、第3の試薬領域の下流にあり、且つ第2の検出領域の上流にある第2のサンプル適用領域を含む、ことを特徴とする請求項57に記載の装置。

40

【請求項77】

サンプルは血液サンプルである、ことを特徴とする請求項57に記載の装置。

【請求項78】

サンプルは白血球を含む、ことを特徴とする請求項57に記載の装置。

【請求項79】

サンプルにおけるM×Aタンパク質とC反応性タンパク質を検出する方法であって、該方法は：

a) 第1の標識に結合したM×Aタンパク質に対する抗体と、第1の標識と異なる第2の標識に結合したC反応性タンパク質に対する抗体との混合物に、サンプルを加える工程

50

;

b) M x A タンパク質に対する抗体が凝集したかを判定することにより M x A タンパク質の存在を検出する工程 ; 及び

c) C 反応性タンパク質に対する抗体が凝集したかを判定することにより C 反応性タンパク質の存在を検出する工程

を含む、サンプルにおける M x A タンパク質と C 反応性タンパク質を検出する方法。

【請求項 80】

前記工程 a) の前に、

d) 第 1 の標識に、M x A タンパク質に対する抗体を結合させる工程 ;

e) 第 2 の標識に、C 反応性タンパク質に対する抗体を結合させる工程

を更に含む、請求項 79 に記載の方法。

【請求項 81】

未知のウイルス感染の存在を検出する方法であって、該方法は :

a) サンプルを採取する工程 ;

b) サンプルを、サンプル分析装置のサンプル適用領域に移す工程であって、該サンプル分析装置は :

i) ナノミセルの内部に標識を含むシアル酸ナノミセルを含む結合領域 ; 及び

ii) シアル酸同族体ナノ粒子を含むサンプル適用領域から横方向で下流にある検出領域

を含む、工程 ;

c) 検出領域における陽性の結果に関してサンプルを分析する工程

を含む、未知のウイルス感染の存在を検出する方法。

【請求項 82】

特異的なウイルス感染の存在を検出する方法であって、該方法は :

a) サンプルを採取する工程 ;

b) サンプルを、サンプル分析装置のサンプル適用領域に移す工程であって、該サンプル分析装置は :

i) ウイルス感染を引き起こす特異的なウイルスの結合パートナーと標識とを含むナノミセル、及び、ナノミセルの内部に標識を含むシアル酸同族体ナノミセルから成る群から選択された分子を含む接合領域 ; 及び

ii) サンプル適用領域から横方向で下流にある検出領域であって、サンプル適用領域は、ウイルス感染を引き起こすウイルスに対して特異的なナノ粒子を含む、検出領域を含む、工程

c) 検出領域における陽性の結果に関してサンプルを分析する工程

を含む、特異的なウイルス感染の存在を検出する方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

< 関連出願への参照 >

本出願は、以下の係属中の特許出願 : 2013 年 3 月 7 日出願の米国特許出願第 13 / 788, 616 号、表題「MULTIPLANAR LATERAL FLOW ASSAY WITH DIVERTING ZONE」; 2013 年 3 月 8 日出願の米国特許出願第 13 / 790, 125 号、表題「METHOD AND DEVICE FOR COMBINED DETECTION OF VIRAL AND BACTERIAL INFECTIONS」; 2013 年 3 月 8 日出願の米国特許出願第 13 / 790, 160 号、表題「METHOD AND DEVICE FOR COMBINED DETECTION OF VIRAL AND BACTERIAL INFECTIONS」からの優先権を主張するものである。

【背景技術】

【0002】

10

20

30

40

50

< 発明の分野 >

本発明は側方流動イムノアッセイの分野に属する。より具体的に、本発明は、ウイルス感染と細菌感染を迅速に検出する、側方流動イムノアッセイに属する。

【 0 0 0 3 】

< 関連技術の詳細 >

発熱は、幼児期に家庭医療及び小児科施設の双方の応急手当センターを訪れる一般的な原因である。最も一般的に、これは、呼吸器感染症又は胃腸炎のいずれかに関係する。小児期における発熱の高い発生率と不必要な抗生物質の慎重な投与とが、ウイルス感染及び/又は細菌感染を示すバイオマーカーのための迅速なスクリーニング検査を開発する理由である。

【 0 0 0 4 】

ウイルス感染を細菌感染と区別することが困難なときが頻繁にある。これは特に、自分の症状を言語化できない幼い子どもや、検査診断の利用が高額且つ時間を消費し、結果を得るまでに数日を要する外来診療の場において真実である。最近になって、多くの新しい診断マーカーが知られてきた。このようなマーカーの幾つかは、ウイルス感染を細菌感染と区別するのに大いに有望である。2つのこのようなタンパク質は、M x A と C 反応性タンパク質 (CRP) を含む。ほとんどの呼吸器感染は咽頭炎に関し、咽頭炎の40%はウイルスによって引き起こされ、25 - 50%はA群 溶血性連鎖球菌によって引き起こされる。少ないほうの原因は、急性細気管支炎と肺炎である。

【 0 0 0 5 】

重篤な市中肺炎は約60%のケースで細菌感染によって引き起こされ、患者の約10%が集中治療室 (ICU) への入院を必要とする。残りの30%は、呼吸系ウイルスに関係する。

【 0 0 0 6 】

全ての抗菌剤の約80%はプライマリケアで処方され、このような抗菌剤の最大で80%までが気道の適用のためのものである。気道感染は、一次医療において、咳の非常に最多の一般的な原因である。広域スペクトル抗生物質は、急性気管支炎を含む咳のために頻繁に処方され、このような処方箋の多くは、仮にあるとしても、患者にはごくわずかに有効なだけで、副作用を引き起こして、抗生物質に対する耐性を強化しかねない。医師に抗生物質を与えさせる要因は、細菌感染の適切な診断マーカーの欠如、患者の経過観察を行っていないことへの懸念、及び、時間的制約 (time pressure) を含む。

【 0 0 0 7 】

M x タンパク質は、高分子量のGTPアーゼの上科のメンバーである。従って、これらのGTPアーゼは、I型アルファ/ベータ又はII型インターフェロン (IFN) によって上方制御される。M x GTPアーゼは、IFNアルファ/ベータ・インターフェロンでもっぱら発現されるが、IFNガンマ処理細胞では発現されない。I型インターフェロンは先天性免疫応答に重要な役割を果たし、免疫調節性の、抗増殖性の、及び抗ウイルス性の作用を有する。ヒトM x Aの78 kDaタンパク質は、IFN処理細胞の細胞質で蓄積するが、様々なウイルスの複製を阻害する。M x Aタンパク質は、基礎濃度が低く、半減期が長く (2 - 3日)、且つ誘導が速いため、ウイルス感染のためのマーカーとしては、2', 5'-オリゴアデニル酸シンセターゼなどの他の誘導タンパク質を上回る特定の利点を提供することができる。M x AのmRNAは、IFN誘導の1 - 2時間以内にIFNで刺激した、分離した末梢血管の白血球細胞中で検出可能であり、M x Aタンパク質はその後まもなく蓄積し始める。

【 0 0 0 8 】

諸研究によって、末梢血中でのM x Aタンパク質の発現は、ウイルス感染のための感受性マーカー、及び、特異的マーカーであることが分かっている。細菌感染群と比較して、ウイルス感染群でM x Aレベルが高いのは、M x Aタンパク質がI型IFNによってもっぱら誘導され、IFNガンマ、IL - 1、TNF - アルファ、又は、細菌感染による他のサイトカインのいずれかによっては誘導されないという事実から説明することができる。

10

20

30

40

50

血清の I 型 I F N レベルは、重度の細菌感染を患う患者においてさえ、正常限界内に残る。

#### 【 0 0 0 9 】

同様に、ほとんどのウイルス感染は、急性の位相応答をあまり引き起こさないことが報告されており、低い C 反応性タンパク質 ( C R P ) 濃度が、ウイルス性由来の病気と細菌性病因の病気を区別するために使用されてきた。 C R P の血漿濃度が刺激後に急速に増加し、半減期が短いために急速に減少することから、 C R P は感染と炎症性疾患とを診断及び監視するのに非常に役に立つ道具であり得る。スカンジナビアにおいて、ポイントオブケア C R P 検査は、一般診療における呼吸器感染症患者の日常的な評価の一部であり、その使用は費用効率が良いことが証明されている。一般診療において、 C R P は細菌性疾患の診断において有用であり、及び、細菌感染とウイルス感染を区別するのにも有用であることが分かっている。しばしば、 C R P の診断値は、赤血球沈降速度 ( E S R ) の診断値よりも優れていることが分かっており、白血球数 ( W B C ) の診断値と同等であるか、又は、それよりも優れている。

10

20

30

40

50

#### 【 0 0 1 0 】

臨床的に、特定の全身性のウイルス感染と細菌感染を区別することは困難になりかねない。肺炎などの重篤な感染の場合、又は、誤った診断の結果が連鎖球菌性咽頭炎などの重篤な合併症につながりかねない場合、細菌の培養が通常は行われる。多くの場合、培養物を得るのは困難である。残念なことに、ウイルス培養は、結果を知る時間が著しく遅れてしまうために日常的には行われない。新しいウイルススクリーニング P C R パネルは役に立つが、高価であり、ポイントオブケアで情報を提供できない。故に、ウイルス感染と細菌感染を区別することができる診断検査を容易に使用しやすくすることが依然として必要とされている。

#### 【 発明の概要 】

#### 【 0 0 1 1 】

本発明は、ウイルス感染と細菌感染を検出し且つ区別することができる、側方流動アッセイを提供する。組み合わされたポイントオブケア診断装置は、ウイルス感染及び細菌感染の迅速な区別に効果的に役立てるために、ウイルス感染のマーカーと細菌感染のマーカーとを検査する。1つの好ましい実施形態において、細菌マーカーは C R P である。別の好ましい実施形態において、ウイルスマーカーは M x A である。本発明の幾つかの実施形態において、装置に適用する前にサンプル中で細胞を溶解する必要はない。

#### 【 0 0 1 2 】

1つの好ましい実施形態において、方法は、最初にサンプルを採取することにより、感染が細菌性及び / 又はウイルス性であるかどうかを判定する。その後、サンプルは、デュアルユーズの2つのストリップのサンプル分析装置 ( dual use two strip sample analysis device ) に移される。サンプル分析装置は、第1の試薬領域と第2の試薬領域を伴う、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップを含む。第1の試薬領域は、低レベルの C 反応性タンパク質に特異的な少なくとも1つの第1の試薬を含み、サンプルが第1の試薬に接触すると、低レベルの C 反応性タンパク質がサンプルに存在する場合に第1の標識化した複合体が形成される。第2の試薬領域は、 M x A に特異的な少なくとも1つの第2の試薬を含み、サンプルが第2の試薬に接触すると、 M x A がサンプルに存在する場合に第2の標識化した複合体が形成される。第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップはまた、第1の標識化した複合体に結合する第1の結合パートナーと、第2の標識化した複合体に結合する第2の結合パートナーとを含む、第1の検出領域を含む。2つのストリップの側方流動アッセイ装置はまた、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップへの側方流動方向と平行な、第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップを含む。第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップは、高レベルの C 反応性タンパク質に特異的な少なくとも1つの第3の試薬を含む少なくとも1つの第3の試薬領域を含み、サンプルが第3の試薬に接触すると、高レベルの C 反応性タンパク質がサンプルに存在する場合に第3の標識化した複合体が形成される。第

2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ上の第3の試薬は、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ上の第2の試薬により検出されるC反応性タンパク質のレベルよりも高い、C反応性タンパク質のレベルを検出するのみである。第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップはまた、第3の標識化した複合体に結合する第3の結合パートナーを伴う第2の検出領域を含む。サンプルはまた、低レベルのC反応性タンパク質、M×A、及び高レベルのC反応性タンパク質の存在のために分析される。

【0013】

別の好ましい実施形態において、デュアルユーズの2つのストリップの側方流動アッセイ装置は、サンプル中の細菌マーカー及び/又はウイルスマーカーを検出する。前記装置は、第1の試薬領域と第2の試薬領域を伴う、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップを含む。第1の試薬領域は、低レベルのC反応性タンパク質に特異的な少なくとも1つの第1の試薬を含み、サンプルが第1の試薬に接触すると、低レベルのC反応性タンパク質がサンプルに存在する場合に第1の標識化した複合体が形成される。第2の試薬領域は、M×Aに特異的な少なくとも1つの第2の試薬を含み、サンプルが第2の試薬に接触すると、M×Aがサンプルに存在する場合に第2の標識化した複合体が形成される。第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップはまた、第1の標識化した複合体に結合する第1の結合パートナーと、第2の標識化した複合体に結合する第2の結合パートナーを含む、第1の検出領域を含む。2つのストリップの側方流動アッセイ装置はまた、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップへの側方流動方向と平行な、第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップを含む。第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップは、高レベルのC反応性タンパク質に特異的な少なくとも1つの第3の試薬を含む少なくとも1つの第3の試薬領域を含み、サンプルが第3の試薬に接触すると、高レベルのC反応性タンパク質がサンプルに存在する場合に第3の標識化した複合体が形成される。第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ上の第3の試薬は、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ上の第2の試薬により検出されるC反応性タンパク質のレベルよりも高い、C反応性タンパク質のレベルを検出するのみである。第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップはまた、第3の標識化した複合体に結合する第3の結合パートナーを伴う第2の検出領域を含む。

【0014】

別の好ましい実施形態において、感染が細菌性及び/又はウイルス性であるかどうかを判定する方法は、サンプルを採取する工程を含む。その後、サンプルは、サンプル分析装置に移される。サンプル分析装置はサンプル圧縮機を含み、該圧縮機は、第1試薬領域と第2試薬領域とを備え、第1試薬領域は、低レベルのC反応性タンパク質に特異的な少なくとも1つの第1の試薬であって、サンプルが第1の試薬に接触すると、低レベルのC反応性タンパク質がサンプルに存在する場合に第1の標識化した複合体が形成される、少なくとも1つの第1の試薬と、M×Aに特異的な少なくとも1つの第2の試薬であって、サンプルが第2の試薬に接触すると、M×Aがサンプルに存在する場合に第2の標識化した複合体が形成される、少なくとも1つの第2の試薬とを含み、第2の試薬領域は、高レベルのC反応性タンパク質に特異的な少なくとも1つの第3の試薬を含み、第3の試薬は、第2の試薬によって検知されたC反応性タンパク質のレベルよりも高いC反応性タンパク質のレベルを検出するのみであり、サンプルが第3の試薬に接触すると、高レベルのC反応性タンパク質がサンプルに存在する場合に第3の標識化した複合体が形成される。前記装置はまた、第1の検出領域と第1の分岐領域とを含む第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップを含み、第1の検出領域は、第1の標識化した複合体に結合する第1の結合パートナーと、第2の標識化した複合体に結合する第2の結合パートナーとを含み、第1の分岐領域は、側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ上の第1の検出領域の上流に位置する。第1の分岐領域は、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ上で側方流動を阻止する。前記装置はまた、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップへの側方流動方向と平行な、第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップを含む。第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップは、第3の標識化した複合体に結合する第3の

10

20

30

40

50

結合パートナーを含む第2の検出領域と、側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ上の第1の検出領域の上流に位置する第2の分岐領域とを含む。第2の分岐領域は、第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ上で側方流動を阻止する。前記装置はまた、サンプルがサンプル分析装置の上に置かれる第1のサンプル適用領域を含む。第1のサンプル適用領域は、次のものから成る群から選択された場所に位置する：i) 検出領域の上流にある第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの上、及び、ii) サンプル圧縮機の第1の試薬領域の上。前記装置はまた、サンプルがサンプル分析装置の上に置かれる第2のサンプル適用領域を含む。第2のサンプル適用領域は、次のものから成る群から選択された場所に位置する：i) 検出領域の上流にある第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの上、及び、ii) サンプル圧縮機の第2の試薬領域の上。サンプル圧縮機は、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ、及び第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップとは異なる面にある。サンプル圧縮機の第1の試薬領域は、第1の分岐領域にわたり橋 (bridge) を作成し、サンプル圧縮機の第2の試薬領域は、第2の分岐領域にわたり橋を作成し、これらの橋は、サンプル圧縮機上に流れを分岐し、第1の分岐領域と第2の分岐領域の端部にある第1のクロマトグラフィ検査ストリップと第2のクロマトグラフィ検査ストリップに流れを戻す。サンプルは、低レベルのC反応性タンパク質、MxA、及び高レベルのC反応性タンパク質の存在のために分析される。

10

## 【0015】

別の好ましい実施形態は、サンプルにおける分析物を検知するための側方流動装置である。該装置はサンプル圧縮機を含み、該圧縮機は、第1試薬領域と第2試薬領域とを備え、第1試薬領域は、低レベルのC反応性タンパク質に特異的な少なくとも1つの第1の試薬であって、サンプルが第1の試薬に接触すると、低レベルのC反応性タンパク質がサンプルに存在する場合に第1の標識化した複合体が形成される、少なくとも1つの第1の試薬と、MxAに特異的な少なくとも1つの第2の試薬であって、サンプルが第2の試薬に接触すると、MxAがサンプルに存在する場合に第2の標識化した複合体が形成される、少なくとも1つの第2の試薬とを含み、第2の試薬領域は、高レベルのC反応性タンパク質に特異的な少なくとも1つの第3の試薬を含み、ここで、第3の試薬は、第2の試薬によって検知されたC反応性タンパク質のレベルよりも高いC反応性タンパク質のレベルを検知するのみであり、サンプルが第3の試薬に接触すると、高レベルのC反応性タンパク質がサンプルに存在する場合に第3の標識化した複合体が形成される。前記装置はまた、第1の検出領域と第1の分岐領域とを含む第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップを含み、第1の検出領域は、第1の標識化した複合体に結合する第1の結合パートナーと、第2の標識化した複合体に結合する第2の結合パートナーとを含み、第1の分岐領域は、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ上の第1の検出領域の上流に位置する。第1の分岐領域は、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ上で側方流動を阻止する。前記装置はまた、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップへの側方流動方向と平行な、第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップを含む。第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップは、第3の標識化した複合体に合する第3の結合パートナーを含む第2の検出領域と、側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ上の第1の検出領域の上流に位置する第2分岐領域とを含む。第2の分岐領域は、第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ上で側方流動を阻止する。前記装置はまた、サンプルがサンプル分析装置の上に置かれる第1のサンプル適用領域を含む。第1のサンプル適用領域は、次のものから成る群から選択された場所に位置する：i) 検出領域の上流にある第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの上、及び、ii) サンプル圧縮機の第1の試薬領域の上。前記装置はまた、サンプルがサンプル分析装置の上に置かれる第2のサンプル適用領域を含む。第2のサンプル適用領域は、次のものから成る群から選択された場所に位置する：i) 検出領域の上流にある第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップの上、及び、ii) サンプル圧縮機の第2の試薬領域の上。サンプル圧縮機は、第1の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップ、及び第2の側方流動クロマトグラフィ検査ストリップとは異なる面にある。サンプル圧縮機の第1の試薬領域は、第1の分岐領域にわ

20

30

40

50

り橋 ( b r i d g e ) を作成し、サンプル圧縮機の第 2 の試薬領域は、第 2 の分岐領域にわたり橋を作成し、これらの橋は、サンプル圧縮機上に流れを分岐し、第 1 の分岐領域と第 2 の分岐領域の端部にある第 1 のクロマトグラフィ検査ストリップと第 2 のクロマトグラフィ検査ストリップに流れを戻す。

【 0 0 1 6 】

別の好ましい実施形態において、方法は、サンプルを採取してサンプル分析装置にサンプルを移すことにより、少なくとも 1 つの細胞外の分析物と、少なくとも 1 つの細胞内の分析物とを同時に検出する。サンプルはまた溶解され、細胞外の分析物と細胞内の分析物は、同じサンプル分析装置上で同時に検出される。1 つの好ましい実施形態において、細胞外の分析物は C 反応性タンパク質であり、細胞内の分析物は M x A タンパク質である。

10

【 0 0 1 7 】

別の好ましい実施形態において、サンプルにおける M x A タンパク質と C 反応性タンパク質を検出する方法は、第 1 の標識に結合した M x A タンパク質に対する抗体と、第 1 の標識とは異なる第 2 の標識に結合した C 反応性タンパク質に対する抗体との混合物にサンプルを加える工程、M x A タンパク質に対する抗体が蓄積したかどうかを判定することにより M x A タンパク質の存在を検出する工程、及び、C 反応性タンパク質に対する抗体が蓄積したかどうかを判定することにより C 反応性タンパク質の存在を検出する工程を含む。

【 0 0 1 8 】

別の好ましい実施形態において、サンプルにおける未知のウイルス感染の存在を検出する方法は、最初にサンプルを採取する。その後、サンプルは、サンプル分析装置のサンプル適用領域に移される。サンプル分析装置は、ナノミセルの内部に標識を伴うシアル酸ナノミセルを含む結合領域と、シアル酸同族体ナノ粒子を含むサンプル適用領域から横方向で下流にある検出領域とを含む。サンプルは、検出領域における陽性の結果に関して分析される。

20

【 0 0 1 9 】

別の好ましい実施形態において、サンプルにおける未知のウイルス感染の存在を検出する方法は、最初にサンプルを採取する。その後、サンプルは、サンプル分析装置のサンプル適用領域に移される。サンプル分析装置は、次のものから成る群から選択された分子を備えた結合領域を含む：ウイルス感染を引き起こす特定のウイルスに対する結合パートナーと標識を含むナノミセル、及び、ナノミセルの内部にラベルを含むシアル酸同族体ナノミセル。サンプル分析装置はまた、ウイルス感染を引き起こすウイルスに対して特異的なナノ粒子を備える、サンプル適用領域から横方向で下流にある検出領域を含む。サンプルは、検出領域における陽性の結果に関して分析される。

30

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 2 0 】

【 図 1 】ウイルス感染と細菌感染を識別するための迅速なスクリーニング検査ウィンドウの目視検査結果とその結果の解釈を示す。

【 図 2 】様々な色の検査ラインを備えた 3 つのカセットを示す。

【 図 3 】ともに同じ色をしたライン検出器と、2 つのラインが異なる超高感度のライン検出器との比較を示す。

40

【 図 4 A 】本発明の実施形態において、ウイルスマーカの存在に対応する検査ラインと、細菌マーカの存在を検出する第 2 の別の検査ラインとを備えた装置を示す。

【 図 4 B 】本発明の別の実施形態において、ウイルスマーカの存在に対応する検査ラインと、細菌マーカの存在を検出する第 2 の別の検査ラインとを備えた装置を示す。

【 図 5 A 】本発明の実施形態において、サンプル適用領域と試薬領域との間に位置する溶解領域を含む、サンプル分析装置を示す。

【 図 5 B 】本発明の実施形態において、サンプル適用領域に重なる溶解領域を含む、サンプル分析装置を示す。

【 図 5 C 】本発明の実施形態において、試薬領域に重なる溶解領域を含む、サンプル分析

50

装置を示す。

【図 5 D】本発明の実施形態において、サンプル適用領域と試薬領域に重なる溶解領域を含む、サンプル分析装置を示す。

【図 6 A】本発明の実施形態において、高 CRP レベルなどの細菌マーカーの存在に対応する検査ラインを備えた装置を示す。

【図 6 B】本発明の別の実施形態において、高 CRP レベルなどの細菌マーカーの存在に対応する検査ラインを備えた装置を示す。

【図 7 A】本発明の実施形態において、サンプル適用領域と試薬領域との間に位置する溶解領域を含む、サンプル分析装置を示す。

【図 7 B】本発明の実施形態において、サンプル適用領域に重なる溶解領域を含む、サンプル分析装置を示す。

【図 7 C】本発明の実施形態において、試薬領域に重なる溶解領域を含む、サンプル分析装置を示す。

【図 7 D】本発明の実施形態において、サンプル適用領域と試薬領域に重なる溶解領域を含む、サンプル分析装置を示す。

【図 8 A】本発明の実施形態において、デュアル検査ストリップを備える完全に開いたサンプル分析装置を示し、同様に、検査ストリップから分離される平面にあるサンプル圧縮機上の結合領域とサンプル適用領域を示す。

【図 8 B】閉じられたハウジングの一部を備えた図 8 A のサンプル分析装置を示すが、結合領域は、装置の左側で視認可能なままである。

【図 8 C】検査を開始した後の、図 8 A のサンプル分析装置を示す。

【図 9 A】本発明の実施形態において、M x A と CRP の両方に陰性の検査結果を示す。

【図 9 B】本発明の実施形態において、M x A に陽性の検査結果を示す。

【図 9 C】本発明の実施形態において、M x A に陽性の検査結果を示す。

【図 9 D】本発明の実施形態において、CRP に陽性の検査結果を示す。

【図 9 E】本発明の実施形態において、CRP に陽性の検査結果を示す。

【図 9 F】本発明の実施形態において、同時感染を示す、CRP と M x A の両方に陽性の検査結果を示す。

【図 10 A】本発明の実施形態において、デュアル検査ストリップを備える完全に開いたサンプル分析装置を示し、及び、検査ストリップから分離される平面にあるサンプル圧縮機上の結合領域を示す。

【図 10 B】閉じられたハウジングの一部を備えた図 10 A のサンプル分析装置を示すが、結合領域は、装置の左側で視認可能なままである。

【図 10 C】検査を開始した後の、図 10 A のサンプル分析装置を示す。

【図 11】本発明の実施形態において、サンプル分析装置を使用するサンプル分析のためのキットを示す。

【図 12】本発明の別の実施形態において、デュアル検査ストリップを備えたサンプル分析装置を示す。

【発明を実施するための形態】

【0021】

本発明は、ウイルス感染と細菌感染を区別することができる側方流動アッセイを提供する。特定の細菌感染又はウイルス感染に特有の分析物について検査する代わりに、本明細書に記載される側方流動アッセイは、一般的な無指定の細菌感染と一般的な無指定のウイルス感染に反応した宿主において明確に作られる、診断のマーカーについて検査する。診断マーカーは好ましくは、細菌由来又はウイルス由来の、無指定の及び/又は未知のマーカーである。好ましい実施形態において、診断マーカーは、無指定の及び/又は未知の細菌感染及び/又はウイルス感染に対する免疫応答のための特異的マーカーである。

【0022】

組み合わせられたポイントオブケア診断装置は、ウイルス感染と細菌感染の両方のマーカーを検査し、例えば、外来患者診療室で、又は、応急手当外来の間に、ウイルス感染と細菌

10

20

30

40

50

菌感染とを迅速に区別するのに効果的に役立つ。この能力は、誤診とその後の抗生物質の過剰使用とを制限することによって、医療費を劇的に削減することができる。上記を実践することで、抗生物質アレルギー、有害な事象、及び抗生物質耐性を制限することができる。検査から結果がすぐに得られることで、患者が従事者の検査をまだ受けている間に診断を下すことも可能となる。好ましい実施形態において、検査結果は、装置にサンプルを適用して10分後には得られ、好ましくは約10分で読み取られる。高い陽性のサンプルにおいて、検査ラインは約1乃至5分以内に視認可能である。

#### 【0023】

本発明の好ましい実施形態において、本発明の側方流動イムノアッセイ装置は、サンプルを輸送する液体を含み、この液体は緩衝液でもよい。該装置は、サンプルが流れる毛細管の特徴を備えた1以上のフリース素材又は膜を包含するクロマトグラフィ検査ストリップを含む。検査ストリップのための幾つかの好ましい材料又は膜には、Dacron（登録商標）繊維などのポリエチレンテレフタレート（PET）繊維、ニトロセルロース、ポリエステル、ナイロン、酢酸セルロース、ポリプロピレン、ガラス繊維、及び、このような材料及び裏当て材（backings）の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。本発明の幾つかの実施形態において、サンプルを検査ストリップに適用する前に、任意の方法でサンプル中の細胞を溶解させるか、又はサンプルを処理する必要はない。

10

#### 【0024】

本発明の1つの好ましい方法は、感染が細菌性かウイルス性かどうかを判定するために、例えば、クロマトグラフィ検査ストリップなどのサンプル分析装置を用いる。この方法において、サンプルが採取され、クロマトグラフィ検査ストリップに移される。好ましい実施形態において、サンプルは白血球を含むサンプルである。検査ストリップは試薬領域を含む。試薬領域は、好ましくは、細菌マーカーに特異的な少なくとも1つの第1の試薬を含み、サンプル中に存在する細菌マーカーがこの第1の試薬に接触すると、第1の標識化した複合体が形成される。試薬領域は、好ましくは、ウイルスマーカーに特異的な少なくとも1つの第2の試薬も含み、サンプル中に存在するウイルスマーカーがこの第2の試薬に接触すると、第2の標識化した複合体が形成される。検出領域は、第1の標識化した複合体に結合する細菌マーカーの結合パートナーと、第2の標識化した複合体に結合するウイルスマーカーの結合パートナーを両方含む。サンプルはその後、ウイルスマーカー及び/又は細菌マーカーの存在について分析される。

20

30

#### 【0025】

本発明の装置の好ましい実施形態は、サンプル適用領域を含む。本装置は試薬領域も含み、該領域は細菌マーカーに特異的な少なくとも1つの第1の試薬を含み、サンプル中に存在する細菌マーカーが第1の試薬に接触すると、第1の標識化した複合体が形成され、該領域は、細菌マーカーに特異的な少なくとも1つの第2の試薬を含み、サンプル中に存在するウイルスマーカーが第2の試薬に接触すると、第2の標識化した複合体が形成される。装置上の検出領域は、第1の標識化した複合体と結合する細菌マーカーと、第2の標識化した複合体と結合するウイルスマーカーとを含む。使用可能な装置の一例は、クロマトグラフィ検査ストリップである。他の好ましい実施形態において、装置の領域の幾つかは1以上のクロマトグラフィ検査ストリップ上にあり、一方で他の領域（例えば、試薬領域、サンプル適用領域、及び/又は、対照結合パートナー）は、サンプル圧縮機上にあり、互いに離れ、及び、クロマトグラフィ検査ストリップとは異なる平面にある。

40

#### 【0026】

好ましい実施形態において、ウイルスマーカー又は細菌マーカーの存在は、肉眼で見える検査ラインによって示される。ウイルスマーカーの存在は、第1の検査ラインによって示され得、その一方で、細菌マーカーは第2の検査ラインによって示される。幾つかの実施形態において、第1の検査ラインは陽性の際に第1の色を表示し、第2の検査ラインは陽性の際に第1の色とは異なる第2の色を表示する。第1の検査ラインと第2の検査ラインの両方がサンプル分析装置上の同じ空間内に位置する実施形態において、第3の色は、第1の検査ラインと第2の検査ラインの両方が陽性の際に好ましくは形成される。他の実

50

施形態において、2つの検査ラインは装置上で互いから空間的に離れている。

【0027】

ウイルス感染と細菌感染は非常に伝染性であり、そして、全身性の抗生物質の過剰処方、及び抗生物質抵抗性の促進へと頻繁に通じる、兆候と症状における著しい重複のため、臨床的に区別するのが困難なものである。先進国において、急性呼吸器感染症は、医療相談の20%、研究欠席 (absences from work) の30%、及び全ての抗生物質処方の75%を占める、罹患率の主要原因である。米国において、急性呼吸器感染症に関して毎年、およそ7600万の医師の来院が存在する。感染に対する免疫応答を検出する能力は、ウイルスの病因及び/又は細菌の病因から結果として生じる感染を区別するための臨床診断能力を補助する。

10

【0028】

1つの好ましい実施形態において、細菌マーカーはCRPである。別の好ましい実施形態において、ウイルスマーカーはMxAである。幾つかの好ましい実施形態において、検出領域は、装置が作動している際に、肉眼で見える対照ラインを同様に含む。

【0029】

1つの好ましい実施形態において、ウイルス感染のためのマーカーはMxAであり、細菌感染のためのマーカーはC反応性タンパク質 (CRP) である。高MxAタンパク質レベルは、全身性ウイルス感染と強く関連し、CRPの増加は細菌感染に多く関連する。本発明は、サンプル中のMxAとCRPとを識別するための、迅速な感染のスクリーニング検査を含む。MxAは白血球 (leukocyte, white blood cells) 中に存在する。したがって、サンプルは、白血球が利用可能な場所で、例えば、末梢血サンプル、鼻咽頭吸引物、涙、髄液、及び、中耳吸引物において、採取され得る。

20

【0030】

CRPとMxAを含有する単一の検査ストリップを伴う幾つかの好ましい実施形態において、陽性の結果を誘発するために必要とされるサンプル中のCRPの閾値濃度は、およそ6 - 15 mg/Lである。他の好ましい実施形態において、陽性の結果を誘発するサンプル中のMxAの閾値濃度は、およそ15ナノグラム/mlほどの低さでもよい；しかし、閾値濃度は、およそ20 ng/ml乃至およそ250 ng/mlまでの範囲よりも高いか、又はその範囲内にあってもよい。適用可能な場合、閾値濃度は、検査ストリップに適用されるサンプルの大きさ、同様に、その希釈度にも依存してもよい。

30

【0031】

幾つかの実施形態において、本明細書に記載される装置及び方法は、辺縁の全血から直接MxAとCRPの両方を、迅速に、視認可能に、定質的にインビトロで検知することを可能にする。1つの好ましい実施形態において、検査は、呼吸器疾患と一致する呼吸器症状、及び急性咽頭炎又は市中感染性肺炎の推定診断と共に、熱の発症の7日以内に存在する、1歳より高齢の患者における疑わしいウイルス感染及び/又は細菌感染に対する免疫応答を測定する。陰性の結果は必ずしも呼吸器感染症を妨げるものではなく、診断、処置、又は他の管理の決定に関する唯一の基準として使用されるべきでない。幾つかの実施形態において、追加の実験室検査 (例えば、細菌培養及びウイルス培養、免疫蛍光、ウイルスポリメラーゼ連鎖反応、及びX線撮影法) と臨床像 (clinical presentation) の使用は、特異的な低度の呼吸器及び咽頭の病原菌が存在するかどうかを確認するために追加で使用されるのが好ましい。

40

【0032】

加えて、誤った偽陽性又は偽陰性に通じる幾つかの疾病が存在する。これらは、限定されないが、サンプルを提供する患者による免疫抑制薬の現在の使用、サンプルを提供する患者による経口抗感染薬の現在の使用、サンプルを提供する患者によるインターフェロン療法 (例えば、多発性硬化症、HIV、HBV、HCVのため) の現在の使用、及び、サンプルを提供する患者による過去30日以内の生きたウイルスの免疫化を含む。レベルが治療により変動し得るため、偽陰性と偽陽性の両方が可能である。

【0033】

50

好ましい実施形態において、装置及び方法は、外来患者診療室又は応急手当臨床における専門的使用を意図したものであり、他の臨床的（実験室又はX線写真術）及び疫学の情報と共に使用されねばならない。

#### 【0034】

好ましい実施形態において、デュアルユーズのデュアルクロマトグラフィ検査ストリップのアッセイは、結果の多重化したパターンを使用して、患者におけるウイルス感染及び/又は細菌感染に対する身体の免疫応答を検出する。1つの特異的な好ましい実施形態において、前記アッセイは、ミクソウイルス抵抗性A（MxA）、低レベルのC反応性タンパク質（「低」CRP）、及び高レベルのC反応性タンパク質（「高」CRP）を検査する。2つの検査ストリップが好ましくは使用される。幾つかの実施形態において、クロマトグラフィ検査ストリップとは異なる面にあるサンプル圧縮機も、使用される。第1の検査ストリップは、MxAと低レベルのC反応性タンパク質をアッセイし、第2の検査ストリップは、高レベルのC反応性タンパク質のアッセイである。第1の検査ストリップ及び/又はサンプル圧縮機は、MxAタンパク質と低レベルのC反応性タンパク質を検出するための試薬を含む。第2の検査ストリップ及び/又はサンプル圧縮機は、高レベルのC反応性タンパク質を検出するための試薬を含む。2つの検査ストリップは好ましくは、並行して実行され、各ストリップは好ましくは対照ラインも含む。対照試薬は好ましくは、検査ストリップ又はサンプル圧縮機上にある。これらの検査は、生物感染を検出し、それをウイルス、細菌、又はウイルスと細菌の同時感染として分類する。幾つかの好ましい実施形態において、デュアルユーズのデュアルクロマトグラフィ検査ストリップのアッセイは、発熱性の呼吸器疾患の患者からのサンプルを検出するために使用される。

10

20

#### 【0035】

2つの検査ストリップを伴う幾つかの好ましい実施形態において、第1の検査ストリップ上で、サンプル中のおよそ6 - 15 mg/L（血清カットオフ値）のCRP（「低」CRPレベル）の閾値濃度は、陽性の結果を誘発するために必要とされ、サンプル中の少なくとも15 ng/mlのMxAの閾値濃度は、陽性の結果を誘発するために必要とされる。他の好ましい実施形態において、MxAの閾値濃度は、陽性の結果を誘発するために、およそ15 ng/ml乃至およそ250 ng/mlの範囲にあってもよい。適用可能な場合、閾値濃度は、検査ストリップに適用されるサンプルの大きさ、同様に、その希釈度にも依存してもよい。1つの好ましい実施形態において、例えば血液サンプルからの細胞外の血清中の低CRPの閾値濃度は、血清カットオフ値に関して10 mg/Lと同等である、指穿刺カットオフ値に関して7 mg/Lである。1つの好ましい実施形態において、例えば血液サンプルからの末梢血単核細胞中のMxAの閾値濃度は、40 ng/mlの静脈血カットオフ値と同等である、指穿刺カットオフ値に関して40 ng/mlである。第2の検査ストリップ上で、サンプル中のおよそ60 - 100 mg/LのCRP（「高」CRPレベル）の閾値濃度が、幾つかの好ましい実施形態において陽性の結果を誘発するために必要とされる。1つの特に好ましい実施形態において、第2の検査ストリップ上の高CRPの閾値濃度は、フィンガープリントのカットオフ値に関しておよそ80 mg/Lである。

30

#### 【0036】

他の実施形態において、ウイルス感染及び/又は細菌感染のための他のマーカーが使用されてもよい。例えば、宿主遺伝子のおよそ12%が、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス（LCMV）感染後にそれらの発現を変更し、これら遺伝子の亜群が、悪性LCMV感染と非悪性LCMVを区別することが可能となる。主要な転写の変化は、定量PCRとタンパク質研究とによって予備確認を与えられ、アレナウイルス性疾患のためのバイオマーカーとして潜在的に価値のある候補である。細菌感染のための他のマーカーには、プロカルシトニン、尿性トリプシンインヒビター（uTi）、リポ多糖類、IL-1、IL-6、IL-8、IL-10、ESR、及び、白血球数の上昇（結合（band）の増加）、乳酸、トロポニン、血管内皮増殖因子、血小板由来増殖因子、コルチゾール、プロアドレノメデュリン、マクロファージ遊走阻止マーカー、活性化タンパク質C、CD4、8、13、

40

50

14、又は64、カスパーゼ、胎盤由来増殖因子、カルシトニン遺伝子関連ペプチド、高移動度群1、コペプチン、ナトリウム利尿ペプチド(natrietic peptide)、リポ多糖結合タンパク質、腫瘍壊死因子、循環血管内皮前駆細胞、補体3a、及び、骨髄系細胞(trem-1)上で発現した誘発受容体が挙げられるが、これらに限定されない。

【0037】

1つの好ましい実施形態において、区別される感染は呼吸器感染である。他の実施形態において、細菌性又はウイルス性の他の感染の種類は、本発明のシステムを用いて区別される。幾つかの実施例には、脳炎、髄膜炎、胃腸炎、発熱性呼吸器疾患(気管支炎、咽頭炎、肺炎を含む)、副鼻腔炎、中耳炎、尿路感染、及び結膜炎が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0038】

側方流動装置は既知のものであり、例えば、米国公開特許出願第2005/0175992号及び同第2007/0059682号に記載されている。これらの出願の両方の内容は、参照により本明細書に組み込まれる。当該技術分野で知られている他の側方流動装置は、本発明のシステム及び方法とともに交互に使用することができる。

【0039】

米国公開特許第2007/0059682号は、分析物と、1以上の妨害物質を包含可能なサンプルとを検出することを開示している。この公報は、クロマトグラフィ担体上で妨害物質を捕捉することによって妨害物質と分析物とを区別すること、妨害物質から分離された担体上の分析物を検出することを教示している。

20

【0040】

米国公開特許出願第2007/0175992号は、ヒトの体液サンプルが綿棒部材などの採取装置によって採取される場合に、ヒトの体液において標的(例えば、病原体及び/又はアレルギー関連成分など)を検出する方法を開示している。サンプルは綿棒部材からサンプル分析装置へと移され、その装置上で、標的の分析を免疫化学的手段又は酵素的手段によって行うことができる。検査結果は非常に短時間で表示することができ、ユーザーによって直接読み取られ得る。このことは、患者の訪問の間に結果を入手できるポイントオブケア検査を可能にする。この同時係属出願において開示される発明は、結膜炎の診断に特に有利である。

30

【0041】

本発明の方法において、分析されるサンプルはクロマトグラフィ担体上に適用される。担体は、1つの単一のクロマトグラフィ材料で作ることができるか、又は好ましくは、同じ材料又は異なる材料から作られ且つ担体裏打ち材(carrier backing)上に固定される、様々な毛細管の活性物質で作ることができる。これらの材料は互いに密接に接触することによって輸送経路を形成し、この輸送経路に沿って、毛細管力によって運ばれる液体が、適用領域から試薬領域を通して、1以上の検出領域と任意で担体の他の端部にある廃棄領域へと流れる。他の実施形態において、液体は、サンプル適用領域に流れ込む前に試薬領域を通過する。特に好ましい実施形態において、担体はクロマトグラフィ検査ストリップである。他の好ましい実施形態において、サンプルは、クロマトグラフィ検査ストリップとは異なる面にあるサンプル圧縮機に適用され、その後、サンプル圧縮機によってクロマトグラフィ検査ストリップに移されてもよい。

40

【0042】

幾つかの実施形態において、サンプルは、担体の適用領域をサンプルに浸すことによって担体に直接適用される。代替的に、サンプルの担体への適用は、乾燥したふき取り要素又は濡れたふき取り要素でサンプルを採取することによって行うことができ、サンプルは前記要素から、任意で湿潤後に、担体の適用領域に移され得る。通常は、ふき取り要素は無菌であり、乾燥しているか、又は、採取工程の前に流体によって事前に処理されてもよい。本発明に係るふき取り要素に適切な材料は、合成材料、織布、又は繊維ウェブを含んでもよい。そのようなふき取り要素の幾つかの例は、ドイツ特許DE4439429号と

50

同DE19622503号に記載され、それらは参照により本明細書に組み込まれる。他の実施形態において、サンプルは、ピペットなどの採取容器によって採取され、担体に直接移されてもよい。

#### 【0043】

検出方法の種類に依存して、様々な試薬が担体の試薬領域に存在し、幾つかの実施形態において、試薬領域は好ましくは、適用領域と検出領域との間に位置し、又は、他の実施形態において、好ましくは適用領域の前に位置する。また他の実施形態において、試薬は、検出領域を含む担体から離れたサンプル圧縮機上にあり、及び該担体とは異なる面にあってもよい。

#### 【0044】

サンドイッチ免疫測定法において、検出される各々の細菌マーカー及びウイルスマーカーに特異的な試薬領域中に、標識化した非固定化試薬を有するのが好ましい。故に、サンプル中に存在するウイルスマーカー又は細菌マーカーが、試薬領域中に存在する対応する標識化したウイルス試薬又は細菌試薬に触れると、標識化した複合体がマーカーと対応する標識化した試薬との間に形成される。標識化した複合体は、次に、検出領域内の検査ラインにて、固定化されたウイルス又は細菌マーカーの結合パートナーを備えた更なる複合体を形成することができる。競合イムノアッセイにおいて、試薬領域は、好ましくは、標識化した非固定化マーカーアナログを含み、該アナログは、検出領域内の固定化されたマーカー結合パートナーのためのマーカーと競合する。試薬領域及び検出領域中のマーカー結合パートナーは、好ましくは、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、又は、組み換え抗体、或いは、対応するマーカーに特異的に結合することができる抗体のフラグメントである。

#### 【0045】

好ましい実施形態において、本発明は、検査されるサンプル中に存在する妨害物質を減少させる。妨害物質、例えば、ヒトの抗マウス抗体(HAMA)は、試薬領域の標識化した非固定化された試薬と検出領域の固定化された結合パートナーとを備えた複合体を形成することもでき、故にイムノアッセイでは陽性の検査結果を示すため、担体は少なくとも1つの捕捉領域を更に備えることができる。各々の捕捉領域は、特定の妨害物質に特異的に結合する固定化された捕捉試薬を含み、これによって、捕捉領域中の妨害物質を固定化する。捕捉領域は空間によって検出領域から離れており、サンプルは担体の検出領域に到達する前に、試薬領域と捕捉領域上で移動し始めるため、本方法は、妨害物質を所望の分析物から分離することができる。好ましくは、捕捉領域は試薬領域と検出領域の間に位置する。しかしながら、捕捉領域は適用領域と試薬領域の間に配することもできる。

#### 【0046】

マーカーの検出は検出領域で達成され得る。結合分子は、検出領域内の免疫反応又は他の反応によって、標識化した複合体又は標識化したマーカーアナログを固定化することで、プロセス中に検出領域内で視認可能な検査ラインを構築する。好ましくは、標識は光学的に検出が可能な標識である。検査ラインにて複合体を形成することで、標識を集中させて固定化し、検査ラインが肉眼で見えるようになり、陽性の検査結果を示す。特に好ましいのは直接標識であり、より具体的には、肉眼でもっとも認識されやすい金標識が好ましい。付加的に、電子読み出し装置(例えば、測光トランスデューサー、音響トランスデューサー、インピーダンス変換器(*impedimetric al transducer*)、電位差変換器、及び/又は電流測定変換器に基づく)は、より正確な結果と分析物の半定量化を得るために使用することができる。他の標識は、ラテックス、フルオロフォア、又はホスホロフォア(*phosphorophore*)でもよい。

#### 【0047】

1つの実施形態において、視覚的に読み取られる側方流動イムノアッセイ検査の感度は、少量の蛍光染料又は蛍光ラテックスビーズ接合体を、最初の接合体材料に加えることによって高められる。可視スペクトル検査ラインが視認可能に存在すると、検査結果が観察され、記録される。しかしながら、明白に目に見える検査ラインを生じさせるものではな

10

20

30

40

50

い弱陽性の場合、UVスペクトルなどの適切なスペクトルの光線が、検査ラインに投げかけられることによって、検査ラインにて視認可能な色を鮮やかにするために検査ラインで結合される蛍光ラテックスビーズを励起するとともに、該蛍光ラテックスビーズの蛍光を発する。

#### 【0048】

好ましい実施形態において、ウイルスマーカの存在に対応する視認可能な検査ラインが細菌マーカの存在に対応する検査ラインから分離するように、試薬が形成される。したがって、検出領域中の検査ラインの展開位置だけにより、サンプルが細菌マーカ又はウイルスマーカ（或いはその両方）を含んでいたかどうかをすぐに判定することができる。別の好ましい実施形態において、様々な色の検査ラインが展開されるように、試薬が

10

#### 【0049】

図4A及び図4Bは、ウイルスマーカの存在に対応する検査ライン(402)と、細菌マーカの存在を検出する第2の別の検査ライン(403)とを備えた、クロマトグラフィ検査ストリップ(400)を示す。サンプルは、クロマトグラフィ検査ストリップ(400)の適用領域(401)に適用される。図4Aに示されるように、サンプルはその後、少なくとも1つの標識化したウイルス結合パートナーと、少なくとも1つの標識化した細菌結合パートナーとを含む試薬領域(460)を通過し、該結合パートナーは、サンプル輸送液体(例えば、緩衝溶液)によって溶出され、その後、該サンプル輸送液体とともに移動することができる。代替的に、図4Bに示されるように、試薬領域中の標識化した結合パートナーがサンプル輸送液体によって溶出されてサンプルへと移動するように、試薬領域(460)はサンプル適用領域(401)の上流に位置する。標識化したウイルス結合パートナーは、対象のウイルスマーカと特異的に結合することができ、検出領域内の別の特定の試薬又は結合パートナーと交互に特異的に結合することが可能な複合体を

20

30

#### 【0050】

検査ストリップ(400)は、例えば、検査ライン(402)などのウイルスマーカの検出のための少なくとも1つの第1区域を含む検出領域(405)を更に含み、該区域は、ウイルスマーカによって形成されたウイルス試薬複合体に相補的な固定化された特定の結合パートナーと、その標識化した結合パートナーとを含む。したがって、検査ライン(402)にて、検出領域結合パートナーは、結合されたウイルスマーカとともに、試薬領域(460)から標識化したウイルス結合パートナーを捕捉する。標識化した結合パートナーによるウイルスマーカのこの局在化によって、検査ライン(402)にて表示が生じる。検査ライン(402)にて、ウイルスマーカの存在は、標識化した結合パートナーの蓄積に起因する検査ライン(402)の表示の、質的な及び/又は量的な読み出しによって判定される。

40

#### 【0051】

検出領域(405)は、例えば、検査ライン(403)などの、細菌マーカの検出の

50

ための少なくとも1つの第2区域も含み、該区域は、細菌マーカーによって形成された細菌試薬複合体に相補的な、固定化された特定の結合パートナーと、その標識化した結合パートナーとを含む。したがって、検査ライン(403)にて、検出領域結合パートナーは、結合された細菌マーカーとともに、試薬領域(460)から標識化した細菌結合パートナーを捕捉する。標識化した結合パートナーによる細菌マーカーのこの局在化によって、検査ライン(403)にて表示が生じる。検査ライン(403)にて、細菌マーカーの存在は、標識化した結合パートナーの蓄積に起因する検査ライン(403)の表示の、質的な及び/又は量的な読み出しによって判定される。検査ライン(402)が図中の流れ(408)の方向に対して検査ライン(403)の上流にある一方で、代替的な実施形態では、検査ライン(403)は検査ライン(402)の上流にある。また他の実施形態において、検査ライン(402)と(403)は、検査ストリップ上の同じ位置に位置する。

10

**【0052】**

任意に、検出領域(405)は、対照ライン(404)と同様に、他のウイルスマーカー及び/又は細菌マーカーを検出するための更なる検査ラインを含むことができる。対照ライン(404)は、標識化した特異的な結合パートナーがどのウイルスマーカー又は細菌マーカーも結合させていないかもしれないにもかかわらず、アッセイの長さにならって移動したことを示しており、したがって、アッセイの適切な操作を確認している。図4A乃至4Bに示されるように、対照ライン(404)は、好ましくは、検査領域(402)と(403)の下流にある。しかしながら、他の実施形態において、対照ライン(404)は、検査領域(402)と(403)の何れか又は両方の上流に位置してもよい。

20

**【0053】**

好ましい実施形態において、対照ライン(404)は、検査で用いられている溶出培地の成分又は他の組成物と結合する抗体又は他の組み換えタンパク質を含む。核酸が標的である実施形態において、対照ライン(404)は、好ましくは、標的核酸のための結合パートナーとして用いられる標識化した核酸に相補的な核酸を含む。

**【0054】**

ウイルスおよび細菌のマーカーの各々に対する図面において、1つの検査ラインのみが示されるが、ウイルスおよび細菌のマーカーの両方またはいずれかに対する複数の検査ラインが、本発明の精神内で使用されてもよい。複数の細菌の及び/又はウイルスの標的がある幾つかの実施形態では、各標的の存在は、好ましくは、別々の検査ライン(402)または(403)に対応する。他の実施形態では、細菌マーカーおよびウイルスマーカーの両方は、単一の検査ライン上で検出される。これら実施形態では、同じ検査ライン上の細菌マーカーおよびウイルスマーカーの両方の存在は、細菌マーカーまたはウイルスマーカーのいずれかの存在とは異なる特徴を有する。例えば、同じ検査ライン上の細菌マーカーおよびウイルスマーカーの両方の存在は、細菌マーカーまたはウイルスマーカーのいずれか単独の存在とは異なる色によって視覚的に示され得る。

30

**【0055】**

ウイルス感染(インフルエンザ様症状および $>100.5^{\circ}\text{F}$ の熱)の症状を示す患者の新鮮な全血サンプルを、どれほどのレベルの血中のMxAが、本明細書に記載される側方流動検査によって検出され得るかを測定するために検査した。これらの実験で使用される側方流動アッセイは、細菌マーカーの存在に対する第2検査ラインなしで、上に記載される図4Bで示される装置と類似する構成を有していた。より具体的には、検査ストリップは、サンプル適用領域の上流に試薬領域を含んだ。試薬領域は、コロイド金で標識化されたMxA(協和発酵キリン株式会社、東京、日本)に対する可動性の(mobilizable)抗体を含んだ。検査ストリップはまた、検出領域に検査ラインを含んだ。検査ラインは、MxA(協和発酵キリン株式会社、東京、日本)に対する固定化抗体を含んだ。検出領域での対照ラインは、青色ラテックスビーズで標識化された可動性のニワトリIgYに結合する、(追加の安定効果のための)ウサギ抗ニワトリ抗体+ウサギIgを含んだ。

40

**【0056】**

50

全血サンプルを、抗凝血薬としてのEDTAで採取した。これらの検査では、血液サンプル中のMxAタンパク質の量を、MxAタンパク質ELISA試験キット（協和発酵キリン株式会社、東京、日本）を使用して測定した。血液を、検査ストリップに適用される前に、キットに提供される溶解液によって1：10に溶解した。溶解した血液の100 $\mu$ lを、ELISA試験で試験した。溶解した血液の10 $\mu$ lを、MxAの側方流動検査でサンプルとして使用した。

【0057】

溶解した血液サンプルを、検査ストリップの適用領域に適用した。試薬中の標識化したMxA抗体を、サンプル輸送液体によって溶出し、血液サンプルに移動させた。検査ラインでは、固定化MxA抗体が、MxAに結合した試薬領域から任意の標識化MxA抗体を捕捉した。MxAの、その標識化抗体によるこの局在化によって、十分な濃度のMxAがあった場合に、検査ラインで赤色の視覚表示が生じた。

【0058】

【表1】

標準物質濃度 (ng/ml)	OD	側方流動 MxA検査
24	2.223	+
12	1.259	陰影
6	0.700	検査されず
3	0.391	検査されず
1.5	0.220	検査されず
.75	0.140	検査されず
0.38	0.102	検査されず

【0059】

表1は、検査命令につき実行されたMxA ELISAキット基準を示す。表1に示されるように、24 ng/mlのMxA濃度は、側方流動検査で陽性の結果をもたらした。キット基準を、標準曲線を生成するために使用し、そこからMxA濃度を測定した。

【0060】

表2は、ウイルス感染（インフルエンザ様症状および $> 100.5^{\circ}$ Fの熱）の症状を示す患者の臨床的な新鮮な全血サンプルの結果を示す。

【0061】

【表 2】

サンプル	OD	濃度 (ng/ml)	濃度 x 希釈 (10x) (ng/ml)	側方流動 M x A 検査
A	0.008	0	0	-
B	0.123	0.591	5.911	-
C	1.125	10.489	104.894	+
D	0.111	0.487	4.872	-
E	0.068	0.121	1.211	-
F	0.300	2.177	21.77	+
G	0.027	0	0	-

10

## 【0062】

サンプル中の M x A 濃度を測定するために、OD (光学密度) 値を、キットの標準からの標準曲線と組み合わせて使用した。濃度 (ng/ml) の列は、溶解剤で希釈された濃度であった。濃度 x 希釈 (10x) (ng/ml) の列は、全血サンプル中の有効濃度であった。表で示されるように、側方流動検査は、サンプル C および F 中の M x A に対して陽性の結果をもたらし、それぞれ、サンプル中で、およそ 105 ng/ml の M x A およびおよそ 22 ng/ml の M x A を有した。

20

## 【0063】

表 3 は、テネシー血液バンクからの正常な個体から凍結された全血サンプルの結果を示す。血液サンプルはどれも、識別可能な量の M x A を有しておらず、すべてが側方流動検査で陰性であった。

30

## 【0064】

【表 3】

サンプル	OD	濃度 (ng/ml)	濃度 x 希釈 (10X)(ng/ml)	側方流動 M x A 検査
1	0.0	0	0	-
2	0.0	0	0	-
3	0.0	0	0	-
4	0.0	0	0	-
5	0.0	0	0	-
6	0.0	0	0	-
7	(0.	0	0	-
8	(0.	0	0	-
9	0.0	0	0	-
10	0.0	0	0	-
11	0.0	0	0	-
12	0.0	0	0	-
13	0.0	0	0	-
14	0.0	0	0	-
15	0.0	0	0	-
16	0.0	0	0	-
17	0.0	0	0	-
18	0.0	0	0	-
19	0.0	0	0	-
20	0.0	0	0	-
21	0.0	0	0	-
22	0.1	1.163	11.631	-
23	0.0	0	0	-
24	0.0	0	0	-
25	0.0	0	0	-

10

20

30

## 【 0 0 6 5 】

表 4 は、ウイルス感染（インフルエンザ様症状および  $> 100.5^{\circ}\text{F}$  の熱）の明らかな症状を示す患者の BioReclamation（BioReclamation, Hicksville, NY）からの新たに凍結された全血サンプルを示す。これらの患者は誰も、およそ  $8\text{ ng/ml}$  より高い M x A レベルに対応する OD を有していなかった。これらのサンプルはすべて、側方流動検査で陰性であった。

## 【 0 0 6 6 】

40

【表 4】

サンプル	OD	濃度 (ng/ml)	濃度 x 希釈 (10X)(ng/ml)	側方流動 M x A 検査
26	0.029	0	0	-
27	0.026	0	0	-
28	0.018	0	0	-
29	0.146	0.792	7.92	-
30	0.004	0	0	-
31	0.128	0.635	6.35	-

10

## 【0067】

これらの検査の結果は、本明細書に記載される側方流動検査が、10  $\mu$ l サンプル (1 : 10 に希釈した) 中に少なくともおよそ 20 ng / ml もの低 M x A レベルを検出することができることを示している。

20

## 【0068】

ウイルスと細菌の感染を識別するための迅速なスクリーニングテストの一例を、図 1 に示す。上で議論されるように、M x A は、ウイルス感染に対する診断マーカーであり、一方で CRP は、細菌感染に対する診断マーカーである。本例では、青色ライン (図の A - D における「対照ライン」) は、対照を表わす。緑色ラインは、C 反応性タンパク質 (CRP) レベル > 15 mg / L であることを表わす (図の A - D における「CRP 検査」)。赤色ラインは、M x A レベル > 20 ng / ml であることを表わす (図の A - D における「M x A 検査」)。CRP タンパク質に対する陰性の結果を有する、M x A タンパク質に対する陽性の結果は、ウイルス感染のみを示す (視覚検査結果 A)。M x A タンパク質に対する陰性の結果を有する、(CRP) に対する陽性の結果は、細菌感染のみを示す (視覚検査結果 B)。M x A および CRP の両方に対する陽性の結果は、同時感染 (細菌およびウイルスの両方による感染) を示す (視覚検査結果 C)。M x A および CRP の両方に対する陰性の結果によって、細菌またはウイルスの感染は示されていない (視覚検査結果 D)。特定色のラインが本例で議論されているが、ウイルスまたは細菌のマーカーを示す、他の色、または検査ストリップ上の異なる位置での同じ色は、本発明の精神内にある。

30

## 【0069】

異なる色のラインの開発が利用されるときに、そのラインは、空間によって分離されてもされなくてもよい。後者の例では、両方のマーカーが存在するときに見られる色が、個々のマーカーが存在するときに見られる色とは異なるように、標識が選択される。例えば、ウイルスマーカーの存在は、赤色ラインによって示されてもよく、細菌マーカーの存在は、青色ラインによって示されてもよく、および両方の存在は、紫色ライン (赤色と青色の組み合わせ) によって示されてもよい。

40

## 【0070】

急性感染症と慢性感染症を識別するための二色の使用は、図 2 に示される。第 1 カセットでは、IgM 抗体のみが存在し、これは急性感染症を示す。このカセットでは、検査ラインは赤色である。第 2 カセットでは、免疫グロブリンが IgG であるため、検査ラインは青色である。第 3 カセットは、IgM 抗体および IgG 抗体の両方が存在する、中間の事例を示す。結果的に、検査ラインは紫色である。本例は、IgM および IgG に対して

50

検査するように示されているが、同じ概念が、感染に対するウイルスおよび細菌のマーカの両方を検出する単一のラインを用いて代替的に使用される。

【0071】

別の好ましい実施形態では、検査ストリップはまた、検査ストリップの機能性を示す対照部分 (control section) を含んでもよい。図1は、対照ラインを示す。図2は、すべての3つのカセットに対して対照部分がある例を示す。対照部分は、存在する場合、装置が作動しているというシグナルをユーザーに伝えるように設計され得る。例えば、対照部分は、試薬領域から標識化した試薬に結合する試薬 (例えば、抗体) を含み得る。1つの好ましい実施形態では、ウサギ抗ニワトリIgYは、対照ラインとして使用され、標識、例えば、青色ラテックスビーズに結合したニワトリIgYは、対照の結合体 (control conjugate) である。代替的に、対照部分は、湿らされたときに、色変化または色形成をもたらす無水試薬、例えば、水性のサンプルによって湿らされたときに青色になる無水硫酸銅を含む。さらなる代替案として、対照部分は、試薬領域からの超過の標識化された試薬と反応する、固定化されたウイルスおよび細菌のマーカを含み得る。対照部分は、検出領域から上流にまたは下流に位置し得る。陽性対照の指標は、サンプルが検査装置を介して必要とされる距離に浸透したことをユーザーに伝えている。

10

【0072】

図3は、2枚の検査ストリップ、「アデノ (Adeno) 1」と「アデノHS」を比較し、両方とも対照ラインを含む。アデノ1では、対照ライン (各カセット上の上部のライン) および検査ライン (各カセット上の上部のライン) の両方は赤色である。アデノHSでは、対照ラインは青色であり、検査ラインは赤色である。対照ラインが検査ラインとは異なる色である実施形態では、2本のラインを識別し、検査が機能していることを確かめることはより容易である。

20

【0073】

幾つかの好ましい実施形態では、本発明の装置および方法は、ウイルスおよび細菌の感染を識別するのに有用である溶解領域を含む。これらの実施形態では、採取されたサンプルは、サンプル分析装置への採取および移動の前に溶解されない。これによって、分析のためにサンプルを採取且つ準備するために必要とされる工程の数が減少される。溶解剤がアッセイ効率を向上させる1つの状況は、MxAの存在をアッセイする際にある。本明細書で議論されるように、このタンパク質の存在は、熱のある子供において細菌およびウイルスの感染を識別するのに助けとなり得る。溶解剤として1%乃至6%の重量/体積のCHAPSと0.5%乃至2%の重量/体積のNP40の組み合わせを使用する、インサイツでの溶解は、新鮮な又は凍結した全血中のMxAの検出を向上させる。

30

【0074】

溶解剤を利用する実施形態では、サンプル充填 (sample loading) 後に、輸送液体 (緩衝液) によって移動するサンプルは、溶解剤に遭遇する。溶解剤は、好ましくは、検査ストリップ上へと予め充填され、輸送液体によって溶出される。いくつかの好ましい実施形態では、溶解剤は、検査ストリップへと乾燥させられる。代替的に、溶解剤は、冷凍乾燥または凍結乾燥によって予め乾燥させられ得、その後、検査ストリップへと予め充填され得る。他の実施形態では、溶解剤は、検査ストリップ上で吸収され得る、吸着され得るか、組み込まれ得るか、または捕捉され得る。最初に乾燥した溶解剤は、好ましくは、サンプル適用領域と試薬領域との間で局在化される。試薬領域がサンプル適用領域の上流にある実施形態では、溶解領域は、サンプル適用領域の下流にある。溶解剤は、好ましくは、サンプル輸送液体中で可溶性であり、サンプル輸送液体との接触で、可溶化および活性化される。その後、サンプル輸送液体は、溶液または懸濁液中の溶解剤および懸濁液中のサンプル成分の両方を含有している。その後、懸濁液中で溶解剤にさらされている、サンプル中のあらゆる溶解感受性の成分は、それら自体がインサイツで溶解される。その後、泳動用 (running) 緩衝液は、あらゆる溶解感受性の成分を含む分析物を、検出領域に運ぶ。

40

【0075】

50

溶解剤が予め充填および乾燥される位置は、必要に応じて様々であり得る。サンプルが溶解剤と相互作用しなければならない時間を最大限にするために、および検出領域に達する溶解剤の量を最小限にするために、乾燥されたか、吸収されたか、吸着されたか、組み込まれたか、または捕捉された溶解剤は、サンプル適用領域に、またはそのちょうど下流に位置され得る。あるいは、溶解生成物が試薬領域に達する前に移動しなければならない距離を最小限にするために、乾燥した溶解剤は、試薬領域により接近して位置され得る。他の実施形態では、溶解剤は、泳動用緩衝液に含まれてもよい。

#### 【0076】

検査ストリップ上に予め充填された溶解剤の濃度は、好ましくは、0.001%から5%重量/体積の間である。予め充填された体積は、溶解剤がどこで予め充填されるかに依存する。適正範囲は、サンプルコレクターのフリース (sample collector free) (サンプル適用領域) に予め充填されたときに、1乃至10マイクロリットル、あるいは吸収パッドまたは検査ストリップ内の他の位置に予め充填されたときに、5乃至50マイクロリットルである。理想的には、予め充填された量は、サンプルコレクターのフリースに予め充填されたおよそ3マイクロリットル、または吸収パッドまたは検査ストリップ内の他の位置に予め充填されたおよそ10マイクロリットルであるべきである。

10

#### 【0077】

特定の溶解環境および溶解剤の選択、ウイルスおよび細菌のマーカおよびアッセイに依存する。pHおよびイオン強度は、溶解環境の鍵となる。溶解剤によって設定されたpHに関して、4.0未満のpHは、物質、特にタンパク質を沈殿させる傾向がある。およそ10.0を超える、より高いpHは、タンパク質および細胞壁などの物質を溶解する傾向がある。それ故、およそ10.0以上のpHは、多くの用途に好ましい。代替的に、より低いpHは、核酸標的に好ましいかもしれない。

20

#### 【0078】

溶解剤によって設定されたイオン強度に関して、高いイオン強度および低いイオン強度の両方が、溶解に使用され得る。例えば、より低いイオン強度 (低張性) は、赤血球を分解する傾向がある。例えば、水は、単独で赤血球を溶解することができる。より高いイオン強度環境が、特定の細胞壁および細胞膜を破裂させるために使用され得る。

#### 【0079】

特定の溶解剤に関して、それらは、グループ化され、それらの以下の特性に基づいて選択され得る：塩、両性およびカチオン性の薬剤、イオン性および非イオン性の界面活性剤。塩 (塩化アンモニウム ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) は、赤血球を溶解する。限定されないが、高濃度の塩化ナトリウム ( $\text{NaCl}$ ) および塩化カリウム ( $\text{KCl}$ ) を含む、他の塩は、特定の細胞壁および細胞膜を破裂させ得る。他の溶解剤は、限定されないが、LysoPC、CHAPS、および Zwittergent を含む、両性薬剤である。代替的に、限定されないが、C16TAB および塩化ベンザルコニウムを含む、カチオン性薬剤は、溶解剤として使用され得る。イオン性および非イオン性の界面活性剤の両方は、しばしば、リポタンパク質および糖タンパク質などの、細胞壁または細胞膜の成分を破壊または溶解するために使用される。一般的なイオン性界面活性剤は、限定されないが、SDS、コール酸塩、およびデオキシコール酸塩を含む。イオン性界面活性剤は、優れた可溶化剤である。抗体は、0.1%以下のSDS中でそれらの活性を保持する。一般的な非イオン性界面活性剤は、限定されないが、オクチルグルコシド、ジギトニン、C12E8、ルブロール、トリトンX-100、ノニドット (Nonidet) P-40、トゥイーン20、およびトゥイーン80を含む。非イオン性界面活性剤および軽度のイオン性界面活性剤は、より弱い変性剤であり、しばしば、ウイルス表面タンパク質などの膜タンパク質を可溶性にするために使用される。追加の溶解剤は、限定されないが、尿素および酵素を含む。異なる溶解剤の組み合わせが、溶解環境を最適化するために使用されてもよい。

30

40

#### 【0080】

界面活性剤は、一般に、湿潤剤であり、液体の表面張力を低下させる。これによって、

50

その後、液体間の界面張力を低下させることによる、より容易な展着が可能となる。そのため、界面活性剤は、抗原と抗体またはリガンドと受容体の自然な結合を妨害することができる。その濃度は、それ故、溶解剤の各クラスに応じて実験的に選択される。一旦溶解が生じると、所望の結合反応が妨害されないことが重要である。一般に、0.001%の溶解剤濃度が、下限と考えられ、上限はおよそ1%である。溶解剤の組み合わせが使用されるときに、相加効果または相乗効果がある。これは、およそ0.001%乃至1%から実行する濃度の使用範囲を拡張している。最終的に、トゥーン20の5%の濃度で、幾つかの望ましくない非特異的結合が予防され得る。すべての場合において、個々の検査ストリップのすべての位置上に予め充填された溶解剤の総量は、免疫検出に対する障壁を溶解して、検査ストリップの実際の操作を可能にするのに十分な量でなければならない。

10

**【0081】**

溶解剤自体は、あらゆる他のアッセイ検出器または指標の薬剤を妨害すべきではなく、アッセイの実際の操作を防ぐ程度まで、あらゆる他のアッセイの相互作用および反応を妨害しない。溶解剤は、ポイントオブケア検査での検査ストリップの使用前に、製造、分配および保管を可能にするのに十分な貯蔵寿命を有しているべきである。

**【0082】**

M x Aがウイルスマーカである好ましい実施形態において、溶解剤として1%乃至6%の重量/体積のCHAPSと0.5%乃至2%の重量/体積のNP40の組み合わせを使用する、インサイトでの溶解が、好ましくは使用される。より具体的な例として、150mMの塩化ナトリウム、0.1%のBSA、および0.1%のアジ化ナトリウムとともに、5%のCHAPSおよび2%のNP-40を含有している、2マイクロリットルの100mM HEPES緩衝液(pH8.0)(すべてのパーセンテージが重量/体積)が、検査ストリップの溶解領域上で乾燥させられる。

20

**【0083】**

好ましい実施形態では、図5Aから図5Dに示されるように、サンプルは、クロマトグラフィの検査ストリップ(200)上の適用領域(201)に適用される。サンプルは溶解領域(250)を通過し、ここで、溶解剤は、好ましくは、検査ストリップ上に予め充填され、輸送液体によって溶出される。溶解剤は、インサイトでサンプル中のあらゆる溶解感受性の成分を溶解する。

**【0084】**

クロマトグラフィの検査ストリップは、サンプル適用領域(201)、溶解剤を含む溶解領域(250)、およびサンプル輸送液体(例えば緩衝液)によって溶出され、その後それと遊走することができる、ウイルスマーカに結合する少なくとも1つの標識化された結合パートナーおよび細菌マーカに結合する少なくとも1つの標識化された結合パートナーを含む試薬領域(260)、を含む。試薬領域(260)は、これらの図においてサンプル適用領域の下流に示されるが、代替的な実施形態において、試薬領域(260)は、サンプルが溶解領域に達して、効果的に溶解された後のある時点で、試薬がサンプルに遭遇する限り、サンプル適用領域(図4Bを参照)の上流にあり得る。標識化された結合パートナーは、対象のウイルスまたは細菌のマーカに特異的に結合することができ、次に検出領域で別の具体的な試薬または結合パートナーに結合することができる複合体を形成する。これらの図に示されていないが、吸収パッド、さらに、限定されないが、読み出される結果のための、廃棄領域、キャリア基材、ハウジング、およびハウジングにおける開口部を含む、他の既知の側方流動の免疫学的アッセイの構成要素は、随意に、これらの実施形態において、検査ストリップ(200)の構成要素でもあり得る。

30

40

**【0085】**

好ましい実施形態では、溶解剤は、サンプル適用領域(201)と試薬領域(260)との間の溶解領域(250)で局在化される。溶解剤は、好ましくは、サンプル輸送液体中で可溶性または混和性であり、溶解剤は、サンプル輸送液体との接触で可溶化および活性化される。その後、サンプル輸送液体は、溶液または懸濁液中に溶解剤および懸濁液中にサンプル成分の両方を含む。その後、懸濁液中で溶解剤にさらされている、サンプル中

50

のあらゆる溶解感受性の成分は、それら自体がインサイトで溶解される。その後、泳動用緩衝液は、あらゆる溶解のない成分を含むサンプルを検出領域（205）に運ぶ。

【0086】

溶解領域（250）は、好ましくは、図5Aで示されるように、サンプル適用領域（201）と試薬領域（260）との間に位置する。他の実施形態では、溶解領域（250）は、図5B、5C、および5Dで示されるように、それぞれ、サンプル適用領域（201）、試薬領域（260）、またはサンプル適用領域（201）および試薬領域（260）の両方に重なる。図が概要であり、寸法が合わせられていないことに留意。（図5Bから図5Dに示されるような）異なる領域間の重なり量は、非常に変わり易い。

【0087】

検査ストリップ（200）はまた、細菌マーカーおよびその標識化された結合パートナーによって形成された細菌の結合体に相補的である、固定化された特異的結合パートナーを含む、少なくとも1つの細菌マーカーの検出のための第1部分、例えば検査ライン（203）を含む、検出領域（205）を含む。したがって、検査ライン（203）では、検出領域を結合するパートナーは、細菌の標識化された結合パートナーを、試薬領域（260）から、その結合された細菌マーカーに沿って捕捉する。その標識化された結合パートナーによる細菌マーカーのこの局在化は、検査ライン（203）での表示を生じさせる。検査ライン（203）では、細菌マーカーの存在は、標識化された結合パートナーの蓄積から結果として生じる、検査ライン（203）の表示の質的及び/又は量的な読み出しによって測定される。

【0088】

検出領域（205）はまた、ウイルスマーカーおよびその標識化された結合パートナーによって形成されたウイルスの結合体に相補的である、固定化された特異的結合パートナーを含む、少なくとも1つのウイルスマーカーの検出のための第2部分、例えば検査ライン（202）を含む。したがって、検査ライン（202）では、検出領域を結合するパートナーは、ウイルスの標識化された結合パートナーを、試薬領域（260）から、その結合されたウイルスマーカーに沿って捕捉する。その標識化された結合パートナーによるウイルスマーカーのこの局在化は、検査ライン（202）での表示を生じさせる。検査ライン（202）では、ウイルスマーカーの存在は、標識化された結合パートナーの蓄積から結果として生じる、検査ライン（202）の表示の質的及び/又は量的な読み出しによって測定される。検査ライン（203）は、図面において流れ方向（208）に対する検査ライン（202）の上流にあり、一方で、代替的な実施形態において、検査ライン（202）は、検査ライン（203）の上流にある。さらに他の実施形態では、検査ライン（202）および（203）は、検査ストリップ上の同じ位置に位置付けられる。

【0089】

随意に、検出領域（205）は、他の細菌及び/又はウイルスのマーカーを検出するための更なる対照ライン（204）に加えて、検査ラインも含み得る。対照ライン（204）は、標識化された特異的結合パートナーが、マーカーに結合しなくても、アッセイの期間にわたって移動し、それ故、アッセイの適切な操作を確証したことを示している。図5Aから図5Dに示されるように、対照領域（204）は、好ましくは、検査ライン（203）および（202）の下流にある。しかしながら、他の実施形態では、対照領域（204）は、検査ライン（203）および（202）のいずれか又はその両方の上流に位置し得る。

【0090】

好ましい実施形態では、対照ライン（204）は、検査で使用されている溶出培地または他の組成物の成分に結合する抗体または他の組換え型タンパク質を含む。核酸が標的である実施形態では、対照ライン（204）は、好ましくは、標的核酸のための結合パートナーとして使用されている標識化された核酸に相補的な、核酸を含む。

【0091】

1つの検査ラインだけが図面で示されているが、複数の検査ラインが、本発明の精神内

10

20

30

40

50

にある。複数の標的がある幾つかの実施形態では、各標的の存在は、好ましくは、別々の検査ライン(202)に対応する。複数の標的がある他の実施形態では、複数の標的の存在は、1つを超える標的の存在が、単一の標的の存在とは異なる特性を有する検査ラインと同じ検査ライン上で示され得る。例えば、同じ検査ライン上の複数の標的の存在は、標的単独の各々の存在とは異なる色によって、視覚的に示され得る。

#### 【0092】

他の実施形態では、泳動用緩衝液自体において1つ以上の軽度の溶解剤を有することは可能である。これらの実施形態では、下流となる試薬領域に対する悪影響はなく、サンプルは、試薬領域の上流または下流のいずれかに存在することができる。泳動用緩衝液中の溶解酵素は、その基質を「標的とする」ことができ、それを切断して、細胞膜または細胞壁を開くことができる。例として、ペニシリンは、感受性の細菌において切除することができるか又は「孔を開ける(punch a hole)」ことができる。他の実施形態では、溶解剤は、サンプル採取物質(sample collection material)に適用され、その後、試薬領域は、サンプル適用領域の上流にあり得る。

10

#### 【0093】

例として、1つ以上の溶解剤は、側方流動ストリップのサンプル適用領域上に乾燥させられる。ストリップごとに基づいて、溶解剤は、150mMの塩化ナトリウム、0.1%のBSA、および0.1%のアジ化ナトリウムとともに、5%のCHAPSおよび2%のNP-40を含有している、およそ2マイクロリットルの100mM HEPES緩衝液(pH8.0)(すべてのパーセンテージが重量/体積)で作られる。その後、最大10マイクロリットルの全血は、サンプル適用領域に加えられ、インサイトで溶解される。MxAタンパク質は、白血球の内部から放出され、ビジュアルタグ(コロイド金または可視性のラテックスビーズ)上でMxAモノクローナル抗体と反応する。この複合体は、トリトンX-100を含有している泳動用緩衝液により横断し(traverses with)、ニトロセルロース膜の検査ラインに固定化されたMxAモノクローナル抗体によって捕捉される。検査ラインでのこの結合は、視覚表示を生じさせる。

20

#### 【0094】

二峰性のデュアル検査ストリップ(Bimodal Dual Test strips)を用いるサンプル分析装置

MxAは、ウイルス感染の存在下で高められる(elevated)が、特定のタイプのウイルスに特異的ではない、インターフェロナルファ/ベータ細胞の誘導体である。末梢血中のMxAタンパク質発現は、ウイルス感染に対する感受性および特定のマーカーである。

30

#### 【0095】

MxAは、広範囲のウイルスの複製を阻害する。MxAは、低い基礎濃度[50ng/ml]未満および速い誘発[1-2時間]を有する。それは、16時間でピークに達し、高まったインターフェロンの存在下で高い状態を維持する。MxAはまた、インターフェロネミア(interferonemia)の存在下で、長い半減期[2.3日]および一定の力価を有する。ウイルス感染は、CRPレベルの適度な増加を有するだけで、MxAレベルを高める。

40

#### 【0096】

ELISAを使用する1つの予期される臨床試験(Towbin H et al. J Interferon Res 1992; 12: 67-74、引用によって本明細書に組み込まれる)において、試験には、87人の正常な健康な成人が登録された。MxAレベルは、成人の66%において<5ng/ml、成人の29%において5-50ng/ml、および成人の5%において50ng/ml以上であると測定された。

#### 【0097】

ELISAを使用する別の予期される臨床試験(Chieux V et al, J Virol Methods 1998; 70: 183-191、引用によって本明細書に組み込まれる)には、174人の子供が登録された。これらの子供たちのうち45人は、

50

急性発熱（呼吸器感染症及び／又は胃腸炎）を有しており、30の年齢が一致した対照がいた。M x A値は、30の年齢が一致した対照において7 ng / ml ± 7 ng / mlの±だった。M x A値は、13の確認された細菌感染において6 ng / ml ± 10 ng / mlであった。

#### 【0098】

E L I S Aを使用する別の予期される臨床試験には、60人の患者が登録された（Kawamura M et al. J Clin Lab Anal 2012; 26: 174 - 183、引用によって本明細書に組み込まれる）。患者のうちの42人は、急性発熱（呼吸器感染症及び／又は胃腸炎）を有しており、18の年齢が一致した対照がいた。中間のM x A値は、31の確認されたウイルス感染において110.0 ng / mlであった。中間のM x A値は、11の確認された細菌感染において10.6 ng / mlであった。中間のM x A値は、18の年齢が一致した対照において2.0 ng / mlであった。E L I S A試験は、ウイルス感染と細菌感染を識別するために、87.1%の感受性および90.9%の特異性を有していたが、この決定を下すためにM x A値を試験しただけであった。ウイルス感染を有する患者を、100%の感受性および特異性を有する健康な対照とはっきり区別した。36.7 ng / mlのM x Aのカットオフを、この研究においてE L I S Aによってウイルス感染を測定するために使用した。

10

#### 【0099】

E L I S Aを使用する別の予期される臨床試験には、174人の子供が登録された（Nakabayashi M et al, Pediatr Res 2006; 60: 770 - 774、引用によって本明細書に組み込まれる、再較正されたE L I S A標準のために訂正されたデータ）。子供のうちの122人は、急性発熱（呼吸器感染症及び／又は胃腸炎）を有しており、52の年齢が一致した対照がいた。平均のM x A値は、95の確認されたウイルス感染において123.7 ng / ml ± 83.0 ng / mlであった。平均のM x A値は、27の確認された細菌感染において12.3 ng / ml ± 10.0 ng / mlであった。平均のM x A値は、52の年齢が一致した対照において14.5 ng / ml ± 11.0 ng / mlであった。試験は、ウイルス感染を正確に識別するために、92.6%の特異性および13.1の陽性の尤度比を示した。36.7 ng / mlのM x Aのカットオフを、この研究においてE L I S Aによってウイルス感染を測定するために使用した。

20

30

#### 【0100】

E L I S A試験でのカットオフは、人工的であり、陽性と陰性を区別するために選ばれる。それ故、このカットオフから10%のCVを定期的に割り当てることが好ましい。医療検査の時点で、100%の人が、> 40 ng / mlで検査ラインを目で確かめることができるが、より低いレベルで陽性の結果を確かめることができるのは数人であった。

#### 【0101】

C R Pは、細菌感染の存在下で高まるが、特定のタイプの細菌には特異的ではない。C R Pは、急性炎症の存在に対する非特異的な指標であり、細菌感染の存在下で高められる。C R Pは、肝臓によって合成された急性期タンパク質である。I L - 6は、C R P産生の主要なメディエータである。細菌感染は、著しいC R P上昇の強力な刺激である。抗生物質治療後に、C R Pレベルは急速に低下する。細菌感染は、C R Pレベルを劇的に高めるが、M x Aレベルは低いままである。細菌感染は、数時間以内に生じる血清C R Pレベルの著しい上昇を有するC R Pの強力な刺激である。C R Pレベルは、刺激後の4 - 6時間以内に高まり、36時間後にピークに達する。C R Pの血清濃度は、通常、3 mg / L未満である。重度の感染または炎症により、C R Pは、500 mg / Lを超えて上昇する。

40

#### 【0102】

肺炎は、血清C R Pレベルを高めた（> 10 mg / L）。血清C R Pレベルは、重度の肺炎に対して、典型的に100 mg / L以上である。肺炎球菌性菌血症を有する患者の32%は、60 mg / L未満の血清C R Pを有した。血清C R Pは、通常、ウイルス感染に

50

において10mg/Lを超えて高まることはない。侵襲性のアデノウイルスおよびインフルエンザは、CRPを10-80mg/Lまで高め得る。非常に希ではあるが、CRPレベルは、ウイルス感染において60mg/Lを超える。

#### 【0103】

細菌性疾患に対するカットオフとして使用される、血清CRPに対する単一の値を注目した、10の研究のメタ分析(Aouifi et al, Crit Care Med. 2000, 28:3171-6; Hatherill et al, Arch Dis Child 1999: 81: 417-21; Muller et al, Crit Care Med. 2000, 28: 977-83; Penel et al, Rev Med Interne 2001:22: 706-714; Rothenberger et al, Clin Chem Lab Med, 1999, 37: 275-9; Schwarz et al, Crit Care Med 2000, 28: 1828-32; Selberg et al, Crit Care Med 2000, 28: 2793-8; Suprin et al, Intensive Care Med 2000, 26: 1232-8; Ugarte et al, Crit Care Med 1999, 27: 498-504; Viallon et al, Intensive Care Med 2000, 26: 1082-8、すべては引用によって本明細書に組み込まれる)は、結果的に二峰性の結果をもたらした。研究の3つ(Aouifi et al, Crit Care Med. 2000, 28:3171-6; Penel et al, Rev Med Interne 2001:22: 706-714; Schwarz et al, Crit Care Med 2000, 28: 1828-32)が、CRPカットオフ値を、6-15mg/Lに設定するように推奨した一方で、他の7つの研究(Hatherill et al, Arch Dis Child 1999: 81: 417-21; Muller et al, Crit Care Med. 2000, 28: 977-83; Rothenberger et al, Clin Chem Lab Med, 1999, 37: 275-9; Selberg et al, Crit Care Med 2000, 28: 2793-8; Suprin et al, Intensive Care Med 2000, 26: 1232-8; Ugarte et al, Crit Care Med 1999, 27: 498-504; Viallon et al, Intensive Care Med 2000, 26: 1082-8)は、60-100mg/Lのカットオフを推奨した。

#### 【0104】

孤立して、MxAまたはCRP単独は、ウイルスおよび細菌の感染の両方の識別に感受性も特異性もない。CRPの低いカットオフ値は、細菌感染の検出に高い感受性および低い特異性を示す。CRPの高いカットオフ値は、細菌感染の検出に低い感受性および高い特異性を示す。MxAは、ウイルス感染の特定に特異的であるが、細菌感染には感受性はない。低CRP、高CRP、およびMxAの医療的判断のポイントを反映したカットオフレベルを含む結果の多重化したパターンは共に、ウイルス及び/又は細菌の感染に対する免疫反応を特定する、感受性の及び特異的な方法を提供する。

#### 【0105】

多重化した側方流動免疫学的アッセイの1つの好ましい実施形態では、検査結果のフィンガースティックの血液パターンは、およそ10mg/Lの低CRPレベルのカットオフに対する血清相当物、およそ80mg/Lの高CRPレベルのカットオフに対する血清相当物、およびおよそ40ng/mlのMxAカットオフを有する、陽性の結果を示している。これらの好ましい値を、表5に示す。

#### 【0106】

10

20

30

40

【表 5】

バイオマーカー	位置	フィンガースティック のカットオフ値
MxA	細胞内 (末梢血単核細胞)	40 ng/ml
CRP-低	細胞外 (血清)	7 mg/L
CRP-高	細胞外 (血清)	80 mg/L

10

20

## 【0107】

検査の特異性は、意図した用途の制限によってさらに高められる。例えば、好ましい実施形態では、特定年齢の患者集団のみが検査され（好ましくは1歳以上）、及び/又は交絡因子につながり得る特定の基礎症状を有する患者が検査されないことが好ましい。

## 【0108】

表6に示されるように、迅速な、ポイントオブケアのMxA免疫学的アッセイを開発し、発熱性呼吸器疾患を有する患者からの25の末梢血サンプル中のMxA ELISAと比較した。表7は、ELISA試験での最も低い量のMxAから最も高い量のMxAからの同じデータを分類している。

30

## 【0109】

MxA ELISAのカットオフ値は、 $36.7 \text{ ng/ml}$  ( $+/- 10\% \text{ CV} = 33 \text{ ng/ml}$  から  $40.5 \text{ ng/ml}$ ) であった。患者19は、たとえELISAの結果が  $40 \text{ ng/ml}$  よりかなり低くても ( $15 \text{ ng/ml}$ )、MxAの迅速なポイントオブケア検査において陽性の結果を有した。しかしながら、MxA免疫学的アッセイは、100% ( $9/9$ ) の感受性および94% ( $15/16$ ) の特異性を実証した。

## 【0110】

【表 6】

番号	MxA 迅速検査 (40 ng/ml)	MxA EIA
1	陰性	32.9
2	陰性	5.9
3	陰性	18.8
4	陰性	5.9
5	陰性	19.2
6	陰性	0.0
7	陰性	6.0
8	陰性	4.0
9	陰性	7.0
10	陽性	42.0
11	陰性	21.3
12	陽性	49.0
13	陽性	58.1
14	陰性	7.3
15	陰性	3.8
16	陰性	15.0
17	陰性	0.0
18	陽性	47.2
19	陽性	15.9
20	陽性	89.5
21	陽性	67.4
22	陰性	19.4
23	陽性	36.0
24	陽性	57.0
25	陽性	47.6

10

20

30

【 0 1 1 1 】

【表 7】

番号	MxA 迅速検査 (40 ng/ml)	MxA EIA	
15/16	陰性	0.0	
	陰性	0.0	
	陰性	3.8	
	陰性	4.0	
	陰性	5.9	
	陰性	5.9	
	陰性	6.0	
	陰性	7.0	
	陰性	7.3	
	陽性	15.0	
	陰性	15.9	
	陰性	18.8	
	陰性	19.2	
	陰性	19.4	
	陰性	21.3	
	陰性	32.9	
	9/9	陽性	36.0
		陽性	42.0
陽性		47.2	
陽性		47.6	
陽性		49.0	
陽性		57.0	
陽性		58.1	
陽性		67.4	
陽性		89.5	

10

20

30

## 【0112】

迅速な、ポイントオブケアの低CRPレベルおよび高CRPレベルの免疫学的アッセイを開発し、発熱性呼吸器疾患を有する患者からの25の末梢血サンプル中のCRPELISAと比較した。これらの患者は、表6および表7においてMxAに関して検査した患者と同じ患者である。結果を表8に示す。

## 【0113】

【表 8】

番号	高CRPの迅速検査 (80 mg/L)	低CRPの迅速検査 (10 mg/L)	CRP EIA
1	陰性	陽性	10.8
2	陰性	陽性	45.1
3	陰性	陽性	56.0
4	陰性	陽性	37.6
5	陰性	陽性	27.8
6	陽性	陽性	67.0
7	陰性	陽性	16.2
8	陽性	陽性	59.0
9	陰性	陰性	40.7
10	陰性	陽性	43.0
11	陰性	陽性	13.3
12	陰性	陽性	6.2
13	陰性	陽性	16.1
14	陰性	陽性	36.2
15	陰性	陽性	28.4
16	陰性	陽性	11.4
17	陽性	陽性	110.0
18	陰性	陽性	43.7
19	陰性	陽性	15.3
20	陽性	陽性	110.0
21	陰性	陽性	44.0
22	陰性	陽性	20.0
23	陰性	陽性	80.0
24	陰性	陽性	28.0
25	陰性	陽性	32.0

10

20

30

## 【0114】

患者番号6および8は、たとえELISAの結果が80 mg/L未満であっても、陽性のCRPの結果を示した。患者23は、ELISAの結果がたとえ80 mg/Lであっても、陰性の結果を示した。患者番号9は、たとえその患者に対するELISAの結果が10 mg/Lを超えていても、陰性の低CRPの検査結果を示した。しかし、全体として、CRP値は、両方のカットオフ値でCRP ELISAと十分に相互関連があった。

## 【0115】

MxAおよびCRP ELISAを使用して、RPSは、高まったMxAおよびCRPの存在または欠如に対する25の健康で、正常な血液バンクサンプルを分析した。血漿中の平均CRP濃度は、1.6 mg/Lであることが示された。CRP濃度は、0.1乃至3.7 mg/Lの範囲であることが示された。結果を表9に示す。

40

## 【0116】

【表 9】

サンプル	MxA ELISA 濃度 (ng/ml)	CRP ELISA 濃度 (mg/L)	MxA 迅速検査
1	0	1.8	-
2	0	1.5	-
3	0	1.0	-
4	0	1.8	-
5	0	3.0	-
6	0	0.8	-
7	0	2.9	-
8	0	0.8	-
9	0	1.5	-
10	0	0.2	-
11	0	1.5	-
12	0	1.2	-
13	0	3.7	-
14	0	0.1	-
15	0	0.4	-
16	0	2.3	-
17	0	2.4	-
18	0	3.1	-
19	0	0.9	-
20	0	0.5	-
21	0	2.3	-
22	11.631	1.8	-
23	0	1.7	-
24	0	3.2	-
25	0	0.5	-

10

20

30

## 【0117】

二峰性のデュアル検査ストリップが、ヒトにおいて細菌感染とウイルス感染を識別するために使用され得るが、動物のための獣医学的な適用にも使用されてもよい。CRPが種によって異なるため、種間にCRPに対する共通の抗体はない。それ故、獣医学的検査は、検査されている特定の種に特異的なCRPを含む必要がある。MxAは、種間でよく保存されており、そのため、獣医学的検査でヒトMxAを使用することが可能である。しかしながら、特定の種に対するMxAが、特異性をさらに増加させるために代替的に使用され得る。本明細書に記載される二峰性のデュアル検査ストリップを使用する獣医学的検査が、限定されないが、猫、イヌ、ウサギ、ブタ、ヒツジ、馬、雌ウシ、サル、チンパンジー、ヒヒ、およびオランウータンを含む、特定の種のために開発され得る。

40

## 【0118】

MxAおよび低CRPによる検査ストリップが、任意の構成、例えば、図4A、図4B、または図5A乃至図5Dで示される構成によって作られ、ここでMxAは検出されているウイルスマーカであり、比較的レベルのCRPは検出されている細菌マーカである。他の実施形態では、MxAの検査ラインおよびCRPの検査ラインは、検査ストリップ上で重なり得るか、または同じ位置にあり得る。これらの実施形態では、同じ検査ライン上の低CRPおよびMxAの存在は、細菌マーカまたはウイルスマーカのいずれか単独の存在とは異なる特徴を有する。例えば、同じ検査ライン上の低CRPおよびMxAの両方の存在は、MxAまたは低CRPのいずれか単独の存在とは異なる色によって視覚

50

的に示され得る。これらの実施形態では、M x A に対する陽性の結果は、低CRP に対する陽性の結果とは異なる色または表示を与え、その結果、アッセイを読む人は、M x A に対する完全に陰性の結果、M x A に対する陽性の結果、低CRP に対する陽性の結果、およびM x A および低CRP の両方に対する陽性の結果を識別することができるだろう。例えば、M x A に対する陽性の結果は、赤色の検査ラインを結果としてもたらし、低CRP に対す陽性の結果は、青色の検査ラインを結果としてもたらし得る。そのため、サンプルがM x A および低CRP の両方に対して陽性であるときに、その検査ラインは目に見えて紫色である。

#### 【0119】

高レベルのCRP を検出する側方流動アッセイ装置に対する幾つかの実施形態を、図6A - 図6B および図7A - 7D に示す。これらの構成は、ウイルスマーカ-に対する検査ラインのない、図4A - 図4B および図5A - 図5D で示される構成に類似しており、検査ストリップ(600)、(700)の同じ構成要素に対して、同じ参照符号を使用する。

10

#### 【0120】

図6A および図6B は、高レベルのCRP などの細菌マーカ-の存在を検出する検査ライン(623)を有するクロマトグラフィの検査ストリップ(600)を示す。サンプルは、クロマトグラフィの検査ストリップ(600)の適用領域(401)に適用される。その後、図6A で示されるように、サンプルは、サンプル輸送液体(例えば緩衝液)によって溶出され、その後、それと遊走することができる、少なくとも1つの標識化された細菌結合パートナーを含む試薬領域(660)を通過する。代替的に、図6B で示されるように、試薬領域における標識化された結合パートナーが、サンプル輸送液体によって溶出されて、サンプルに移動するように、試薬領域(660)は、サンプル適用領域(401)の上流に位置する。標識化された細菌結合パートナーは、対象の細菌マーカ-、例えば、高レベルのCRP に特異的に結合することができ、次に、検出領域で別の特異的な試薬または結合パートナーに特異的に結合することができる、複合体を形成する。これらの図面に示されていないが、吸収パッド、さらに、限定されないが、読み出される結果のための、廃棄領域、キャリア基材、ハウジング、およびハウジングにおける開口部を含む、他の既知の側方流動の免疫学的アッセイの構成要素は、随意に、これらの実施形態において、検査ストリップ(600)の構成要素でもあり得る。

20

30

#### 【0121】

検査ストリップ(600)はまた、細菌マーカ-およびその標識化された結合パートナーによって形成された細菌の試薬結合体に相補的である、固定化された特異的結合パートナーを含む、細菌マーカ-の検出のための部分、例えば検査ライン(623)を含む、検出領域(605)を含む。したがって、検査ライン(623)では、検出領域を結合するパートナーは、標識化された細菌結合パートナーを、試薬領域(660)から、その結合された細菌マーカ-に沿って捕捉する。その標識化された結合パートナーによる細菌マーカ-のこの局在化は、検査ライン(623)での表示を生じさせる。検査ライン(623)では、細菌マーカ-の存在は、標識化された結合パートナーの蓄積から結果として生じる、検査ライン(623)の表示の質的及び/又は量的な読み出しによって測定される。

40

#### 【0122】

随意に、検出領域(605)は、他の細菌及び/又はウイルスのマーカ-を検出するための更なる検査ラインに加えて、対照ラインも含み得る。対照ライン(404)は、標識化された特異的結合パートナーが、細菌マーカ-に結合しなくても、アッセイの期間にわたって移動し、それ故、アッセイの適切な操作を確証したことを示している。図6A から図6B で示されるように、対照領域(404)は、好ましくは、検査ライン(623)の下流にある。しかしながら、他の実施形態では、対照領域(404)は、検査ライン(623)の上流に位置し得る。

#### 【0123】

好ましい実施形態では、対照ライン(404)は、検査で使用されている溶出培地また

50

は他の組成物の成分に結合する抗体または他の組換え型タンパク質を含む。核酸が標的である実施形態では、対照ライン（404）は、好ましくは、標的核酸のための結合パートナーとして使用されている標識化された核酸に相補的な、核酸を含む。

【0124】

高CRPレベルなどの細菌マーカーに対して検査するための他の好ましい実施形態では、図7Aから図7Dで示されるように、サンプルは溶解領域（250）を通過し、ここで、溶解剤は、好ましくは、検査ストリップ上に予め充填され、輸送液体によって溶出される。溶解剤は、インサイトでサンプル中のあらゆる溶解感受性の成分を溶解する。

【0125】

クロマトグラフィの検査ストリップ（700）は、サンプル適用領域（201）、溶解剤を含む溶解領域（250）、およびサンプル輸送液体（例えば緩衝液）によって溶出され、その後それと遊走することができる、細菌マーカー、例えば、高レベルのCRPに結合する少なくとも1つの標識化された結合パートナーを含む試薬領域（260）、を含む。試薬領域（760）は、これらの図においてサンプル適用領域の下流に示されるが、代替的な実施形態において、試薬領域（760）は、サンプルが溶解領域に達して、効果的に溶解された後のある時点で、試薬がサンプルに遭遇する限り、サンプル適用領域（図6Bを参照）の上流にあり得る。標識化された結合パートナーは、対象の細菌マーカー、例えば、高レベルのCRPに特異的に結合することができ、次に、検出領域で別の特異的な試薬または結合パートナーに特異的に結合することができ、複合体を形成する。これらの図面に示されていないが、吸収パッド、さらに、限定されないが、読み出される結果のための、廃棄領域、キャリア基材、ハウジング、およびハウジングにおける開口部を含む、他の既知の側方流動の免疫学的アッセイの構成要素は、随意に、これらの実施形態において、検査ストリップ（700）の構成要素でもあり得る。

【0126】

好ましい実施形態では、溶解剤は、サンプル適用領域（201）と試薬領域（760）との間の溶解領域（250）で局在化される。溶解剤は、好ましくは、サンプル輸送液体中で可溶性または混和性であり、溶解剤は、サンプル輸送液体との接触で可溶化および活性化される。その後、サンプル輸送液体は、溶液または懸濁液中に溶解剤および懸濁液中にサンプル成分の両方を含む。その後、懸濁液中で溶解剤にさらされている、サンプル中のあらゆる溶解感受性の成分は、それら自体がインサイトで溶解される。その後、泳動用緩衝液は、あらゆる溶解のない成分を含むサンプルを検出領域（705）に運ぶ。

【0127】

溶解領域（250）は、好ましくは、図7Aで示されるように、サンプル適用領域（201）と試薬領域（760）との間に位置する。他の実施形態では、溶解領域（250）は、図7B、7C、および7Dで示されるように、それぞれ、サンプル適用領域（201）、試薬領域（760）、またはサンプル適用領域（201）および試薬領域（260）の両方に重なる。図が概要であり、寸法が合わせられていないことに留意。（図7Bから図7Dに示されるような）異なる領域間の重なり量は、非常に変わり易い。

【0128】

検査ストリップ（700）はまた、細菌マーカーおよびその標識化された結合パートナーによって形成された細菌の結合体に相補的である、固定化された特異的結合パートナー、例えば、高レベルのCRPに対する特異的結合パートナーを含む、少なくとも1つの細菌マーカーの検出のための部分、例えば検査ライン（723）を含む、検出領域（705）を含む。したがって、検査ライン（723）では、検出領域を結合するパートナーは、細菌の標識化された結合パートナーを、試薬領域（760）から、その結合された細菌マーカーに沿って捕捉する。その標識化された結合パートナーによる細菌マーカーのこの局在化は、検査ライン（723）での表示を生じさせる。検査ライン（723）では、細菌マーカーの存在は、標識化された結合パートナーの蓄積から結果として生じる、検査ライン（723）の表示の質的及び/又は量的な読み出しによって測定される。

【0129】

10

20

30

40

50

随意に、検出領域（705）は、他の細菌及び／又はウイルスのマーカ－を検出するための更なる検査ラインに加えて、対照ライン（204）も含み得る。対照ライン（204）は、標識化された特異的結合パートナーが、マーカ－に結合しなくても、アッセイの期間にわたって移動し、それ故、アッセイの適切な操作を確認したことを示している。図7Aから図7Dで示されるように、対照領域（204）は、好ましくは、検査ライン（723）の下流にある。しかしながら、他の実施形態では、対照領域（204）は、検査ライン（723）の上流に位置し得る。

#### 【0130】

好ましい実施形態では、対照ライン（204）は、検査で使用されている溶出培地または他の組成物の成分に結合する抗体または他の組換え型タンパク質を含む。核酸が標的である実施形態では、対照ライン（204）は、好ましくは、標的核酸のための結合パートナーとして使用されている標識化された核酸に相補的な、核酸を含む。

10

#### 【0131】

二峰性のデュアル検査ストリップのサンプル分析装置のための1つの好ましい構成を、図8Aから図8Cに示す。サンプル分析装置またはテストカード（test card）（800）は、2つの側面（836）、（837）および脊柱（spine）または蝶着部（831）を有する、閉鎖可能なハウジング（835）を含む。1つの好ましい実施形態では、テストカード（800）は、2つの側面（836）、（837）が閉じられているときに、およそ11.5cmの長さ（L）×7cmの幅（W）である。しかしながら、構成要素のすべてを収容する、あらゆるサイズのテストカード（800）が使用されてよい。ハウジング（835）の第1側面（836）内に、2つの検査ストリップ（815）、（825）があり、その各々が、受信パッド（845）、分岐領域（850）、移動パッド（855）および検出領域（805）を含む。第1側面（836）はまた、吸収パッド（840）および好ましくは廃棄パッド（860）を含む。第1検査ストリップ（815）は、好ましくは、M×Aの検査ライン（802）、低CRPの検査ライン（803）および対照ライン（804）を有する検出領域（805）を含む。第2検査ストリップ（825）は、好ましくは、高CRPの検査ライン（823）および対照ライン（804）を有する検出領域（805）を含む。検査ラインはすべて、ハウジング（835）が閉じているときに、ハウジング（835）の第2側面（837）上の窓（865）を介して視認することができる。吸収パッド（840）は、好ましくは、側方流動を始めるために、泳動用緩衝液が加えられる単一のパッドである。同様に、廃棄パッド（860）は、好ましくは、検査の終わりに過剰な泳動用緩衝液を採取する単一のパッドである。しかしながら、他の実施形態では、各ストリップは、別々の吸収パッド（840）及び／又は廃棄パッド（860）を有し得る。

20

30

#### 【0132】

ハウジング（835）の第2側面（837）は、3つの別々の部分（838）、（839）および（870）を含む。中央の部分である、サンプル圧縮機またはフラップ（870）は、好ましくは、2つの結合領域（872）、（874）を含み、その各々は、少なくとも1つの分析物に対する標識化した結合パートナー、および標識化した対照を含む。ハウジングの第2側面（837）の下部部分（838）に窓（843）が位置付けられ、それによって、ハウジング（835）が閉じているときに、吸収パッド（840）に緩衝液が加えられ得る。検出領域（805）に対する視界窓（865）は、ハウジング（835）の第2側面（837）の上部部分（839）上にある。

40

#### 【0133】

ハウジング（835）の第2側面（837）の上部部分（839）および下部部分（838）は各々、好ましくは、1つ以上の穴部（895）と対である少なくとも1つのノブ、ペグまたは突部（875）を含み、それによって、上部部分（839）および下部部分（838）は、ハウジング（835）の第1側面（836）上に容易に固定され得る。好ましい実施形態では、ハウジング（835）の第1側面（836）上の吸収パッド（840）に隣接する（flanking）2つの穴部（895）と対である、下部部分（83

50

8) 上の2つのペグ(875)、およびハウジング(835)の第1側面(836)上の廃棄パッド(860)に隣接する2つの穴部(895)と対である、上部部分(839)上の2つのペグ(875)がある。他の実施形態では、穴部(895)は、ハウジング(835)の第2側面(837)上にあり、ペグ(875)は、ハウジング(835)の第1側面(836)上にある。さらに他の実施形態では、ハウジング(835)の第2側面(837)の上部部分(839)及び/又は下部部分(838)を、ハウジング(835)の第1側面(836)に固定するために、他の可逆的な固定機構が使用され得る。他の実施形態では、上部部分(839)および下部部分(838)は、使用前に、例えば接着剤を使用して、恒久的に閉じられる。

#### 【0134】

ハウジングの第2側面(837)上の、サンプル圧縮機としても知られている、フラップ(870)は、2つの結合領域(872)、(874)および2つのサンプル適用領域(873)、(876)を含み、容易に開閉され得る。フラップ(870)はまた、好ましくは、1つ以上の穴部(895)と対である少なくとも1つのノブ、ペグまたは突部(875)を含み、それによって、サンプルがサンプル適用領域(873)、(876)に加えられた後、フラップ(870)は、ハウジング(835)の第1側面(836)上に、容易に正しく閉じられる。他の実施形態では、穴部(895)は、ハウジング(835)の第2側面(837)上にあり、ペグ(875)は、ハウジング(835)の第1側面(836)上にある。さらに他の実施形態では、フラップ(870)をハウジング(835)の第1側面(836)に固定するために、他の可逆的な固定機構が使用され得る。

#### 【0135】

結合領域(872)、(874)およびサンプル適用領域(873)、(876)は、好ましくは、重なる。好ましい実施形態では、結合領域(872)、(874)は、サンプルの結合体およびサンプルの対照における色素によって色づけされ、サンプルは、フラップ(870)の色づけした部分に直接置かれる。1つの好ましい実施形態では、第1検査ストリップ(815)に使用される結合領域(872)は、赤色色素で標識化されるMxA結合パートナー、黒色色素で標識化される低CRP結合パートナー、および青色色素で標識化される対照結合パートナーを含む。本実施形態では、結合領域(872)は、紫色がかったように現われる。もう一方の結合領域(874)は、黒色色素で標識化される高CRP結合パートナー、および青色色素で標識化される対照結合パートナーを含む。本実施形態では、結合領域(874)は、青色がかったように現われる。

#### 【0136】

分岐領域(850)は、好ましくは、側方流動を妨害する間隙または障壁を含み、泳動用緩衝液を、結合領域(872)、(874)およびサンプル適用領域(873)、(876)を含むフラップ(870)へと分岐する。

#### 【0137】

操作中に、ハウジング(835)の第2側面(837)の上部部分(839)および下部部分(838)は、好ましくは、ペグ(875)を穴部(895)に固定することによって、使用前にしっかりと(snap)閉じられる。サンプル分析装置、またはテストカード(800)は、好ましくは、平面上に置かれる。フラップ(870)が既に開いていないときに、ユーザーは、サンプル適用領域(873)、(876)にアクセスするためにそれを開く。検査される血液サンプルは、患者から得られる。サンプルは、当該技術分野に既知の任意の処置によって得られ得る。好ましい実施形態では、血液の5 $\mu$ lのサンプルが、サンプル適用領域(873)、(876)の各々に加えられ、その後、フラップ(870)が閉じられる。5 $\mu$ lのサンプルの各々は、好ましくは、互いに別々に採取される。血液サンプルは、好ましくは、前処理なしで、装置(800)に直接加えられる。

#### 【0138】

サンプル圧縮機またはフラップ(870)が正確に閉じられていることを確かなものとするために、圧力は、好ましくは、ペグ(875)上のハウジング(835)に加えられて、ペグ(875)をしっかりと閉じる。検査を適切に行うために、フラップ(870)

10

20

30

40

50

の上部は、ハウジング(835)の第2側面(837)の残りの上部と同一平面上にある(flush with)必要がある。泳動用緩衝液が、吸収パッド(840)に加えられ、側方流動(885)を開始する。好ましい実施形態では、泳動用緩衝液は、血液サンプルを溶解し、サンプル中に細胞内MxAをさらすために、1つ以上の溶解剤、例えば洗浄剤を含む。泳動用緩衝液は、分岐領域(850)に達するときに、フラップ(870)へと分岐される。それは、結合領域(872)、(874)を通して移動し、対照の結合体と同様に、サンプル中のMxA結合パートナーとMxAとの間、サンプル中の低CRP結合パートナーと低レベルのCRPとの間、およびサンプル中の高CRP結合パートナーと高レベルのCRPとの間で形成された、あらゆる複合体を採取する。

#### 【0139】

結合領域(872)、(874)が、側方流動の検査ストリップ(815)、(825)上の分岐領域(850)をつなげる(bridge)ため、ここで上に記載されるサンプル、結合体、および複合体を含む、泳動用緩衝液は、移動パッド(855)へと移動し、検査ストリップ(815)、(825)の各々の上の検出領域(805)に移動する。MxAがサンプル中に存在する場合、第1検査ストリップ(815)上のMxAの検査ライン(802)は赤色になる。低い閾値レベルのCRPがサンプル中に存在する場合、第1検査ストリップ(815)上の低CRPの検査ライン(803)は黒色になる。高い閾値レベルのCRPがサンプル中に存在する場合、第2検査ストリップ(825)上の高CRPの検査ライン(823)は黒色になる。検査が正確に実行されると、両方の第1検査ストリップ(815)および第2検査ストリップ(825)の両方の上の対照ライン(804)は青色になる。好ましい実施形態では、検出のレベルは、MxAに対して40ng/ml、第1検査ストリップ(815)上の低CRPに対して10mg/L、および第2検査ストリップ(825)上の高CRPに対して80mg/Lである。検査の結果は、およそ5-20分後に、好ましくは約10分以内に、視認できるはずである。

#### 【0140】

対照結合パートナーが、検査ストリップ(815)、(825)のいずれかの上ではなく、サンプル圧縮機またはフラップ(870)上にあるため、この構成に対する真の手順制御(procedural control)が存在する。フラップ(870)が適切に閉じられていない場合、検出領域(805)には何も現われず、これは、検査が不適当に実行されたことを示している。

#### 【0141】

図9Aから図9Fは、2枚の検査ストリップ(815)、(825)が並んだ、図8Aから図8Cに示される装置(800)を使用する検査結果を示し、ここで、第1検査ストリップ(815)は、MxAおよび低レベルのCRPの両方の存在に対して検査し、第2検査ストリップ(825)は、高レベルのCRPに対して検査する。

#### 【0142】

図9Aは、第1検査ストリップ(815)上のMxAの検査ライン(802)での陰性の結果および低CRPの検査ライン(803)での陰性の結果、および第2検査ストリップ(825)上の高CRPの検査ライン(823)での陰性の結果を示す。より具体的には、側方流動アッセイ(800)の検出領域(805)における可視性のラインは、2つの青色の対照ライン(804)だけである。この結果は、サンプルが、ウイルスおよび細菌の感染の両方に対して陰性であることを示している。

#### 【0143】

図9Bおよび図9Cは、ウイルス感染に対して陽性である。図9Bでは、2つの青色の対照ライン(804)および赤色のMxAライン(802)の存在は、ウイルス感染を示す。図8Cでは、2つの青色の対照ライン(804)および赤色のMxAライン(802)の存在は、ウイルス感染を示す。図9Cにおいて黒色の低CRPライン(803)もあるため、細菌の同時感染の可能性はあるが、高CRPライン(823)は存在しない。

#### 【0144】

図9Dおよび図9Eは、細菌感染に対して陽性である。図9Dでは、2つの青色の対照

10

20

30

40

50

ライン(804)および1つの黒色の低CRPライン(803)の存在は、細菌感染を示す。図9Eでは、2つの青色の対照ライン(804)、1つの黒色の低CRPライン(803)、および1つの黒色の高CRPライン(823)の存在もまた、細菌感染を示す。MxAラインは、図9Dおよび図9Eの両方において存在せず、これは、ウイルス感染が存在しないことを示している。

【0145】

図9Fは、同時感染(細菌およびウイルスの両方の感染)を示す。2の青色の対照ライン(804)、1つの赤色のMxAライン(802)、1つの黒色の低CRPライン(803)、および1つの黒色の高CRPライン(823)の存在は、ウイルスのおよび細菌の感染の両方の存在を示している。

10

【0146】

二峰性のデュアル検査ストリップのサンプル分析装置(1000)のための別の好ましい構成は、図10Aから図10Cに示される。この構成は、図8Aから図8Cに示される構成(800)に類似しているが、サンプル適用領域(1073)、(1076)は、分岐領域(850)の下流の、検査ストリップ(1015)、(1025)の各々の上に位置付けられる。サンプル分析装置またはテストカード(1000)は、2つの側面(836)、(837)および脊柱または蝶着部(831)を有する閉鎖可能なハウジング(835)を含む。1つの好ましい実施形態では、テストカード(1000)は、2つの側面(836)、(837)が閉じられているときに、およそ11.5cmの長さ(L)×7cmの幅(W)である。しかしながら、構成要素のすべてを収容する、あらゆるサイズのテストカード(1000)が使用されてよい。ハウジング(835)の第1側面(836)内に、2つの検査ストリップ(1015)、(1025)があり、その各々が、受信パッド(845)、分岐領域(850)、移動パッド(1055)および検出領域(805)を含む。第1側面(836)はまた、吸収パッド(840)および好ましくは廃棄パッド(860)を含む。第1検査ストリップ(1015)は、好ましくは、MxAの検査ライン(802)、低CRPの検査ライン(803)および対照ライン(804)を有する検出領域(805)を含む。第2検査ストリップ(1025)は、好ましくは、高CRPの検査ライン(823)および対照ライン(804)を有する検出領域(805)を含む。検査ラインはすべて、ハウジング(835)が閉じているときに、ハウジング(835)の第2側面(837)上の窓(865)を介して視認することができる。吸収パッド(840)は、好ましくは、側方流動を始めるために、泳動用緩衝液が加えられる単一のパッドである。同様に、廃棄パッド(860)は、好ましくは、検査の終わりに過剰な泳動用緩衝液を採取する単一のパッドである。しかしながら、他の実施形態では、各ストリップは、別々の吸収パッド(840)及び/又は廃棄パッド(860)を有し得る。

20

30

【0147】

ハウジング(835)の第2側面(837)は、3つの別々の部分(838)、(839)および(1070)を含む。中央の部分である、サンプル圧縮機またはフラップ(1070)は、好ましくは、2つの結合領域(872)、(874)を含み、その各々は、少なくとも1つの分析物に対する標識化した結合パートナー、および標識化した対照を含む。ハウジングの第2側面(837)の下部部分(838)に窓(843)が位置付けられ、それによって、ハウジング(835)が閉じているときに、緩衝液が加えられ得る。検出領域(805)に対する視界窓(865)は、ハウジング(835)の第2側面(837)の上部部分(839)上にある。

40

【0148】

ハウジング(835)の第2側面(837)の上部部分(839)および下部部分(838)は各々、好ましくは、1つ以上の穴部(895)と対である少なくとも1つのノブ、ペグまたは突部(875)を含み、それによって、上部部分(839)および下部部分(838)は、ハウジング(835)の第1側面(836)上に容易に固定され得る。好ましい実施形態では、ハウジング(835)の第1側面(836)上の吸収パッド(840)に隣接する2つの穴部(895)と対である、下部部分(838)上の2つのペグ(

50

875)、およびハウジング(835)の第1側面(836)上の廃棄パッド(860)に隣接する2つの穴部(895)と対である、上部部分(839)上の2つのペグ(875)がある。他の実施形態では、穴部(895)は、ハウジング(835)の第2側面(837)上にあり、ペグ(875)は、ハウジング(835)の第1側面(836)上にある。さらに他の実施形態では、ハウジング(835)の第2側面(837)の上部部分(839)及び/又は下部部分(838)を、ハウジング(835)の第1側面(836)に固定するために、他の可逆的な固定機構が使用され得る。他の実施形態では、上部部分(839)および下部部分(838)は、使用前に、例えば接着剤を使用して、恒久的に閉じられる。

#### 【0149】

ハウジングの第2側面(837)上のフラップ(1070)は、2つの結合領域(872)、(874)を含み、容易に開閉され得る。フラップ(1070)はまた、好ましくは、1つ以上の穴部(895)と対である少なくとも1つのノブ、ペグまたは突部(875)を含み、それによって、サンプルが検査ストリップ(1015)、(1025)上のサンプル適用領域(1073)、(1076)に加えられた後、フラップ(1070)は、ハウジング(835)の第1側面(836)上に、容易に正しく閉じられる。他の実施形態では、穴部(895)は、ハウジング(835)の第2側面(837)上にあり、ペグ(875)は、ハウジング(835)の第1側面(836)上にある。さらに他の実施形態では、フラップ(1070)をハウジング(835)の第1側面(836)に固定するために、他の可逆的な固定機構が使用され得る。

#### 【0150】

好ましい実施形態では、結合領域(872)、(874)は、サンプルの結合体および対照の結合体における色素によって色づけされる。1つの好ましい実施形態では、第1検査ストリップ(1015)に使用される結合領域(872)は、赤色色素で標識化されるM×A結合パートナー、黒色色素で標識化される低CRP結合パートナー、および青色色素で標識化される対照結合パートナーを含む。本実施形態では、結合領域(872)は、紫色がかったように現われる。もう一方の結合領域(874)は、黒色色素で標識化される高CRP結合パートナー、および青色色素で標識化される対照結合パートナーを含む。本実施形態では、結合領域(874)は、青色がかったように現われる。

#### 【0151】

好ましくは間隙または障壁を含む、分岐領域(850)は、側方流動を妨害し、泳動用緩衝液を、結合領域(872)、(874)を含むフラップ(1070)へと分岐する。

#### 【0152】

操作中に、ハウジング(835)の第2側面(837)の上部部分(839)および下部部分(838)は、好ましくは、ペグ(875)を穴部(895)に固定することによって、使用前にしっかりと閉じられる。サンプル分析装置、またはテストカード(1000)は、好ましくは、平面上に置かれる。フラップ(1070)が既に開いていないときに、ユーザーは、サンプル適用領域(1073)、(1076)にアクセスするためにそれを開く。サンプル適用領域(1073)、(1076)は、移動パッド(1055)の任意の部分に位置付けられ得る。検査される血液サンプルは、患者から得られる。サンプルは、当該技術分野に既知の任意の処置によって得られ得る。好ましい実施形態では、血液の5 $\mu$ lのサンプルが、サンプル適用領域(1073)、(1076)の各々に加えられ、その後、フラップ(1070)が閉じられる。5 $\mu$ lのサンプルの各々は、好ましくは、互いに別々に採取される。血液は、好ましくは、前処理なしで、装置(1000)に直接加えられる。好ましい実施形態では、矢印(1002)または(図10Aで示される)他の表示、例えば用語は「ここにサンプルを加える(add sample here)」は、検査ストリップ(1015)、(1025)上のサンプルをどこに置くべきかをユーザーに示している。

#### 【0153】

フラップ(1070)が正確に閉じられていることを確かなものとするために、圧力は

10

20

30

40

50

、好ましくは、ペグ(875)上のハウジング(835)に加えられて、ペグ(875)をしっかりと閉じる。検査を適切に行うために、フラップ(1070)の上部は、ハウジング(835)の第2側面(837)の残りの上部と同一平面上にある必要がある。泳動用緩衝液が、吸収パッド(840)に加えられ、側方流動(885)を開始する。好ましい実施形態では、泳動用緩衝液は、血液サンプルを溶解し、サンプル中に細胞内MxAをさらすために、1つ以上の溶解剤、例えば洗浄剤を含む。泳動用緩衝液は、分岐領域(850)に達するときに、フラップ(870)へと分岐される。それは、結合領域(872)、(874)を通して移動し、対照の結合体と同様に、MxA結合パートナー、低CRP結合パートナー、および高CRP結合パートナーを採取する。

#### 【0154】

結合領域(872)、(874)が、側方流動の検査ストリップ(1015)、(1025)上の分岐領域(850)をつなげるため、ここで結合体を含む、泳動用緩衝液は、移動パッド(1055)へと移動し、検査ストリップ(1015)、(1025)の各々の上の検出領域(805)に移動する。MxAがサンプル中に存在する場合、第1検査ストリップ(1015)上のMxAの検査ライン(802)は赤色になる。低い閾値レベルのCRPがサンプル中に存在する場合、第1検査ストリップ(1015)上の低CRPの検査ライン(803)は黒色になる。高い閾値レベルのCRPがサンプル中に存在する場合、第2検査ストリップ(1025)上の高CRPの検査ライン(823)は黒色になる。好ましい実施形態では、検出のレベルは、MxAに対して40ng/mL、第1検査ストリップ(1015)上の低CRPに対して10mg/L、および第2検査ストリップ(1025)上の高CRPに対して80mg/Lである。検査の結果は、およそ5-20分後に、好ましくは約10分以内に、視認できるはずである。検査が正確に実行されると、第1検査ストリップ(815)および第2検査ストリップ(825)の両方の上の対照ライン(804)は青色になる。

#### 【0155】

対照結合パートナーが、検査ストリップ(1015)、(1025)のいずれかの上ではなく、フラップ(1070)上にあるため、この構成に対する真の手順制御が存在する。フラップ(1070)が適切に閉じられていない場合、検出領域(805)には何も現われず、これは、検査が不適当に実行されたことを示している。

#### 【0156】

代替的な実施形態では、サンプル適用領域(1073)、(1076)は、分岐領域(850)の前に、受信パッド(845)上に位置付けられる。本実施形態では、泳動用緩衝液は、サンプル適用領域(1073)、(1076)を通して移動し、その後、フラップ(1070)へと分岐される。

#### 【0157】

図8Aから図8Cおよび図10Aから図10Cに示される構成の好ましい実施形態では、およそ1.2mL以上の泳動用緩衝液が、吸収パッド(840)に入れられる。分岐領域(850)が間隙である実施形態に1.0mL未満が加えられる場合、間隙がおよそ1.0mLを保持するために、緩衝液は、間隙で止められる(gets stalled)。

#### 【0158】

図11に示されるように、1つの好ましい実施形態では、キット(1100)は、サンプル分析装置(800)、(1000)、ランセット(1102)、1つ以上のピペット(1101)、および泳動用緩衝液(1103)を含む。ランセット(1102)は、皮膚に穴を開けるために使用され、1つ以上のピペット(1101)は、穴部位から血液を採取するために使用される。好ましい実施形態では、血液の5 $\mu$ Lは、第1ピペット(1101)から第1結合領域(872)に移され、血液の別の5 $\mu$ Lは、第2ピペット(1101)から移され、第2結合領域(874)に加えられる。図8Aから図8Cおよび図10Aから図10Cで記載されるように、フラップ(870)は閉じられ、泳動用緩衝液(1103)が吸収パッド(840)に加えられる。

10

20

30

40

50

## 【 0 1 5 9 】

分岐領域（ 8 5 0 ）は、好ましくは、流れが生じる面における流れを阻止する少なくとも1つの特徴を含む。分岐領域は、障壁、間隙、溝、またはこれらの特徴の任意の組み合わせを含み得る。障壁は、好ましくは、液体の流れが同じ面において流れ続けることを防ぐ任意の材料で作られ得る、不透膜（または略不透な膜）である。障壁のための幾つかの材料は、限定されないが、不活性材料、半透過性材料、プラスチック、炭化水素、金属、疎水性材料、セファデックス、セファロース、アセテート、吸湿性材料（例えば  $\text{CaCl}_2$ 、 $\text{CaSO}_4$  またはシリカゲル）、またはヒドロゲルを含む。間隙または溝は、流れを止めるのに十分な深さまで及び側方流動の検査ストリップの面における任意の切れ目（break）である。1つの好ましい実施形態では、間隙は、好ましくは、少なくともおよそ0.1mmの深さである。

10

## 【 0 1 6 0 】

図 8 A から図 8 C および図 1 0 A から図 1 0 C における分岐領域（ 8 5 0 ）は、サンプル圧縮機 / フラップ（ 8 7 0 ）、（ 1 0 7 0 ）が装置の残りとは接触させられるまで、流れを遅らせるか又は完全に止め、流体が流れることができる橋を作り出す。サンプル圧縮機（ 8 7 0 ）、（ 1 0 7 0 ）は、橋として作用し、流れを異なる面へと再び配向する。流れは、サンプル圧縮機（ 8 7 0 ）、（ 1 0 7 0 ）へと分岐される。これは、サンプル圧縮機（ 8 7 0 ）、（ 1 0 7 0 ）上の試薬の採取を増加させる。例えば、結合体がサンプル圧縮機（ 8 7 0 ）、（ 1 0 7 0 ）上にある実施形態では、結合体の採取は、分岐領域（ 8 5 0 ）を有する装置において増加する。サンプル適用領域（ 8 7 3 ）、（ 8 7 6 ）、（ 1 0 7 3 ）、（ 1 0 7 6 ）および結合体の両方が、サンプル圧縮機（ 8 7 0 ）、（ 1 0 7 0 ）上にある実施形態では、サンプルおよび結合体の両方は、サンプル圧縮機（ 8 7 0 ）、（ 1 0 7 0 ）へと分岐されるときに泳動用緩衝液に遭遇し、分析物がサンプルの中にある場合に泳動用緩衝液が分岐されて検査ストリップに戻される前に、（分析物のための第2結合パートナーがサンプル分析装置上のどこに位置付けられるかによって）1/2のサンドイッチまたは完全なサンドイッチが形成される。分岐領域（ 8 5 0 ）およびサンプル圧縮機（ 8 7 0 ）（ 1 0 7 0 ）（ 1 0 7 0 ）を有する実施形態では、速度が増加し、結合体とサンプルのより優れた相互作用が可能となり、およびより多くの結合体が流体に入れられるために、より一層の感受性が可能となる。これらの実施形態では、流体のすべてが、好ましくは、結合体と相互作用する。これは、流体のおよそ20 - 30%が結合体と相互作用する、再配向のない圧縮機の実施形態よりも著しい改善である。

20

30

## 【 0 1 6 1 】

二峰性のデュアル検査ストリップのサンプル分析装置（ 1 2 0 0 ）のための別の好ましい構成を、図 1 2 に示す。この構成は、ハウジング（ 1 2 3 5 ）の第2部分（ 8 3 7 ）または分岐領域（ 8 5 0 ）のない、図 8 A から図 8 C および図 1 0 A から図 1 0 C に示される構成（ 8 0 0 ）、（ 1 0 0 0 ）に類似している。代わりに、検査の構成要素のすべては、同じ面に位置し、流れは、吸収パッド（ 8 4 0 ）から廃棄パッド（ 8 6 0 ）に横方向に進む。本実施形態が、吸収パッド（ 8 4 0 ）への緩衝液の適用を促進する窓、サンプルを装置（ 1 2 0 0 ）に適用するための各サンプル適用領域（ 1 2 7 3 ）、（ 1 2 7 6 ）上に位置する窓、および検出領域（ 8 0 5 ）のための視界窓とを備える、ハウジングも含み得ることに留意されたい。1つの好ましい実施形態では、サンプル分析装置（ 1 2 0 0 ）は、およそ11.5cmの長さ（L）×7cmの幅（W）である。しかしながら、構成要素のすべてを収容する、あらゆるサイズのテストカード（ 1 2 0 0 ）が使用されてよい。2つの検査ストリップ（ 1 2 1 5 ）、（ 1 2 2 5 ）があり、その各々が、受信パッド（ 8 4 5 ）、結合領域（ 1 2 7 2 ）、（ 1 2 7 4 ）、サンプル適用領域（ 1 2 7 3 ）、（ 1 2 7 6 ）を含む移動パッド（ 1 2 4 0 ）、検出領域（ 8 0 5 ）、および廃棄パッド（ 8 6 0 ）、を含む。装置（ 1 2 0 0 ）はまた、好ましくは、吸収パッド（ 8 4 0 ）および廃棄パッド（ 8 6 0 ）を含む。結合領域（ 1 2 7 2 ）、（ 1 2 7 4 ）が、この図でサンプル適用領域（ 1 2 7 3 ）、（ 1 2 7 6 ）の上流に示されるが、他の実施形態において、結合領域（ 1 2 7 2 ）、（ 1 2 7 4 ）の1つまたは両方が、サンプル適用領域（ 1 2 7 3 ）、（ 1 2

40

50

76) に下流に位置する。第1検査ストリップ(1215)の検出領域(805)は、好ましくは、M×A検査ライン(802)、低CRP検査ライン(803)および対照ライン(804)を含む。第2検査ストリップ(1225)上の検出領域(805)もまた、好ましくは、高CRP検査ライン(823)および対照ライン(804)を含む。吸収パッド(840)は、好ましくは、側方流動を始めるために、泳動用緩衝液が加えられる単一のパッドである。同様に、廃棄パッド(860)は、好ましくは、検査の終わりに過剰な泳動用緩衝液を採取する単一のパッドである。しかしながら、他の実施形態では、各ストリップは、別々の吸収パッド(840)及び/又は廃棄パッド(860)を有し得る。

【0162】

好ましい実施形態では、結合領域(1272)、(1274)は、サンプルの結合体および対照の結合体における色素によって色づけされる。1つの好ましい実施形態では、第1検査ストリップ(1215)に使用される結合領域(1272)は、赤色色素で標識化されるM×A結合パートナー、黒色色素で標識化される低CRP結合パートナー、および青色色素で標識化される対照結合パートナーを含む。本実施形態では、結合領域(1272)は、紫色がかったように現われる。もう一方の結合領域(1274)は、黒色色素で標識化される高CRP結合パートナー、および青色色素で標識化される対照結合パートナーを含む。本実施形態では、結合領域(1274)は、青色がかったように現われる。

【0163】

操作中に、検査される血液サンプルは、患者から得られる。サンプルは、当該技術分野に既知の任意の処置によって得られ得る。好ましい実施形態では、血液の5 $\mu$ lのサンプルが、サンプル適用領域(1273)、(1276)の各々に加えられ、5 $\mu$ lのサンプルの各々は、好ましくは、互いに別々に採取される。好ましい実施形態では、矢印(1002)または(図10Aで示される)他の表示、例えば用語は「ここにサンプルを加える」は、検査ストリップ(1215)、(1225)上のサンプルをどこに置くべきかをユーザーに示している。

【0164】

血液は、好ましくは、前処理なしで、装置(1200)に直接加えられる。泳動用緩衝液が、吸収パッド(840)に加えられ、側方流動(1285)を開始する。好ましい実施形態では、泳動用緩衝液は、血液サンプルを溶解し、サンプル中に細胞内M×Aをさらすために、1つ以上の溶解剤、例えば洗浄剤を含む。それは、結合領域(1272)、(1274)を通過して移動し、対照の結合体と同様に、M×A結合パートナー、低CRP結合パートナー、高CRP結合パートナーを採取する。

【0165】

ここで結合体を含む、泳動用緩衝液は、サンプル適用領域(1273)、(1276)を含む、移動パッド(1255)へと移動し、検査ストリップ(1015)、(1025)の各々の上の検出領域(805)に移動する。M×Aがサンプル中に存在する場合、第1検査ストリップ(1215)上のM×Aの検査ライン(802)は赤色になる。低い閾値レベルのCRPがサンプル中に存在する場合、第1検査ストリップ(1215)上の低CRPの検査ライン(803)は黒色になる。高い閾値レベルのCRPがサンプル中に存在する場合、第2検査ストリップ(1225)上の高CRPの検査ライン(823)は黒色になる。好ましい実施形態では、検出のレベルは、M×Aに対して40ng/ml、第1検査ストリップ(1215)上の低CRPに対して10mg/L、および第2検査ストリップ(1225)上の高CRPに対して80mg/Lである。検査の結果は、およそ5-20分後に、好ましくは約10分以内に、視認できるはずである。検査が正確に実行されると、第1検査ストリップ(1215)および第2検査ストリップ(1225)の両方の上の対照ライン(804)は青色になる。

【0166】

代替的な実施形態では、サンプル適用領域(1273)、(1276)は、結合領域(1272)、(1274)の上流に位置付けられる。本実施形態では、泳動用緩衝液は、サンプル適用領域(1273)、(1276)を通過して移動し、その後、結合領域(12

10

20

30

40

50

72)、(1274)に移動する。さらに他の実施形態では、結合領域(1272)、(1274)は、サンプル適用領域(1273)、(1276)に重なる。さらに他の実施形態では、結合領域(1272)、(1274)、及び/又はサンプル適用領域(1273)、(1276)は、受信パッド(845)に位置付けられ得る。

【0167】

図4Aから図8C、図10Aから図10Cおよび12で示される構成の好ましい実施形態では、対照は、ウサギ抗ニワトリであり、対照の結合体は、ニワトリIgYに結合された青色ラテックスビーズである。他の好ましい実施形態では、少なくとも1つの溶解剤、好ましくは、泳動用緩衝液中の洗浄剤がある。

【0168】

細胞内タンパク質および細胞外タンパク質の同時検出

細胞外の分析物および細胞内の分析物がある。各々の検出は、しばしば、別々の事象である。内在化された分析物が外在化されて、検査で利用可能となるように、細胞を溶解することによって、細胞内の分析物は、抽出されなければならない。

【0169】

本明細書で開示される方法は、少なくとも1つの細胞外の分析物および少なくとも1つの細胞内の分析物を同時に検出する。「細胞内の」標的または分析物は、本実施形態に記載されるように、細胞の内部にあり、細胞内のもの(表面タンパク質、細胞壁、または内表面など)に接触しない、分析物である。「細胞外の」標的または分析物は、本実施形態に記載されるように、細胞外のものに接触しない、完全に細胞外の分析物である。例えば、細胞外の分析物は、細胞を含まない、血漿に存在する。細胞は、完全に取り除かれ得、細胞外の分析物は、それでも採取され得る。

【0170】

対照法的に、ウイルス粒子は、細胞外にしながら、細胞壁に付けられる。細胞内の結合画分および表面の結合画分を検出するために抗体のカクテルを混合することは、当該技術分野に周知である。しかし、本明細書に記載される方法は異なり、溶解された、細胞内の部分および分離された血清タンパク質を検出する。

【0171】

1つの好ましい実施形態では、細胞外の分析物はC反応性タンパク質であり、細胞内の分析物はMxAタンパク質である。これは、CRPおよびMxAの抗原の検出のための血清学的検査である。MxAは、白血球の内部の細胞内タンパク質である。CRPは、全血、血漿および血清に見られる細胞外タンパク質である。

【0172】

1つの好ましい方法では、WatmanGDのフィルターなどのグラスファイバーは、赤血球を物理的に捕捉する。特異的な赤血球結合性レクチン及び/又は抗体が、グラスファイバーのマトリックスにおいて、赤血球に物理的に結合するために加えられる。白血球を溶解して、細胞内のMxAを放出する、白血球溶解性の溶液は、グラスファイバーのフィルターに組み込まれ得る。

【0173】

幾つかの好ましい実施形態では、全血サンプルは、グラスファイバーのフィルターに加えられ得る。液体の血液は、白血球を溶解する、組み込まれた溶解剤を溶かす。側方流動の免疫クロマトグラフィは、泳動用緩衝液を加えることによって開始される。その後、泳動用緩衝液は、細胞外のCRPおよび新たに放出された細胞内のMxAに結合する適切な抗体の結合体を運ぶ。固定化された特異抗体がそれぞれの複合体を捕捉する検出領域へと、複合体全体が移動し、サンドイッチを形成される。異なる検査ラインが、MxAおよびCRPを用いて形成される。これらの検査ラインは、ビジュアル、蛍光、リン光、化学発光、常磁性、またはこれらの任意の組み合わせであり得る。MxAおよびCRPの検査ラインを識別するために、異なる色素が組み込まれ得る。本明細書に記載される側方流動アッセイおよび構成のいずれかが、MxAおよびCRPまたは他の細胞内および細胞外の分析物を検出するために使用され得る。

10

20

30

40

50

## 【0174】

## M x A および C R P の凝集

幾つかの実施形態は、血中の M x A および C R P に対する簡単な凝集検査を含む。類似点として、本発明の発明者は、レンガ壁中のセメントが、レンガと一緒に保持する代わりに、レンガを別々に保持すると考えている。その根拠は、セメントが除去されると、レンガは、合体して、塊となって一緒に落ちる (fall together into a heap) からである。それ故、セメントが「不活性化される」または除去されると、個々のレンガは合体する。

## 【0175】

金の結合体およびラテックスビーズは、互いに反発するコロイド粒子であり、それ故、懸濁液と一緒に集められる。反発力が除去されるか、または個々のコロイド粒子がともに交差結合されると、それらは合体し、凝集した粒子を視覚化することができる。この自然な反発作用に打ち勝つ交差結合は、問題の抗原分析物の存在によって達成される。

10

## 【0176】

1つの好ましい実施形態では、M x A のモノクローナルの K M 1 1 2 4 及び / 又は K M 1 1 3 5 が、赤色のコロイド金粒子に結合する。抗 C R P モノクローナル抗体は、適切なサイズの緑色ラテックスビーズに結合される。M x A の存在下では、モノクローナル抗体 K M 1 1 2 4 及び / 又は K M 1 1 3 5 が結合し、K M 1 1 2 4 及び / 又は K M 1 1 3 5 によって認識されたエピトープの多様性があるために、コロイド金の自然な交差結合は起こり、赤色のコロイド金粒子の凝集を確認できる。このプロセスは、抗原依存性であって、かなり急速であり、一般に1分または2分以内に生じる。同じ現象が、C R P 分析物の存在下で、適切なモノクローナル抗体でコーティングされた緑色のコロイド状のラテックスビーズとともに生じる。

20

## 【0177】

赤色の金粒子の凝集は、M x A の少なくとも閾値量がサンプルにあることを意味し、これはウイルス感染を示している。緑色のビーズの凝集は、C R P の少なくとも閾値量がサンプルにあることを意味し、これは細菌感染を示している。赤色の粒子および緑色の粒子の凝集は、同時感染、または不確定な結果の暗示を意味する。凝集の欠如は、サンプルがウイルスおよび細菌の感染に対して陰性であることを示す。

## 【0178】

1つの好ましい実施形態では、C 反応タンパク質の閾値濃度は、およそ 6 - 15 mg / L の C 反応性タンパク質と等しいか又はそれより高く、M x A タンパク質の閾値濃度は、およそ 15 - 250 ng / ml の血清相当物と等しいか又はそれより高い。M x A が、細胞内のバイオマーカーであるため、血液サンプルは、好ましくは、白血球を溶解し、M x A 抗原を外在化するアッセイ中に溶解される。他の実施形態では、サンプルは、アッセイを行う前に溶解される。当該技術分野で既知の任意の免疫学的アッセイのフォーマットが、凝集アッセイに使用され得る。試薬が加えられ、その後、ユーザーは、試薬がサンプルの存在下で凝集するかどうかを観察する。

30

## 【0179】

## ウイルスの診断におけるナノ粒子

M x A レベルは、かなり多数ではあるがすべてではないウイルス感染において高まる。感染中の高まった M x A レベルに対する幾つかの例外は、B 型肝炎、および恐らく H I V および C 型肝炎を含む慣性的なウイルス感染である。シアル酸は数多くのウイルス上に存在する。しかし、シアル酸は、コックスウイルスなどの少数のウイルス上にはない。

40

## 【0180】

上に記載される M x A - C R P の組み合わせの検出器装置は、好ましくは、ウイルスおよび細菌の感染を区別するために、熱を有する人において使用される。シアル酸のナノ粒子検査は、好ましくは、慣性的なウイルス感染を含む、すべての他の疑われるウイルス感染 (発熱を伴うまたは伴わない) で使用される。しかしながら、幾つかの好ましい実施形態では、シアル酸は、本明細書に記載される方法および装置において M x A に取って代わ

50

る。

【0181】

別の好ましい実施形態では、検査は、MxA、CRP、およびシアル酸同族体のナノ粒子を含む。

【0182】

1つの好ましい実施形態では、検査ラインは、特定のウイルスに特異的なナノ粒子である。幾つかの例は、限定されないが、鳥インフルエンザ、およびHIVまたはC型肝炎などの慢性感染症を引き起こすウイルスを含む。結合体は、a)である、色素を中に有するウイルス特異的なナノミセル、またはb)色素を中に有するシアル酸同族体のナノミセルのいずれかである。

10

【0183】

例えば、*Nanoviricides, Inc.* (West Haven, Connecticut)には鳥インフルエンザに特異的なナノ粒子を所持している。そのナノ粒子は、検査ラインおよび鳥インフルエンザを検出するための結合体としてのシアル酸同族体のナノミセルで使用され得る。

【0184】

別の実施形態は、広域スペクトルのウイルス検出器を含む。本実施形態では、検査ラインは、すべてのウイルスを捕らえるシアル酸同族体のナノ粒子であり、結合体は、色素を中に有するシアル酸のナノミセルである。

【0185】

20

好ましい実施形態では、検査ラインは、ナノ粒子を含むナノミセルではなく、ナノ粒子で構成される。一方で結合体は、好ましくは、ミセル内に色素を占めるナノミセル(シャボン玉に類似している)である。ミセルの脂質部分は、ミセルの「スライミング(sliming)」特性の要因である。

【0186】

シアル酸の実施形態は、図4-8および図10-12に示されるものを含む、本明細書に記載される、または当該技術分野に既知の検査ストリップ構成いずれか、あるいは当該技術分野に既知の他のアッセイ構成を使用し得る。

【0187】

30

したがって、本明細書に記載される本発明の実施形態が、本発明の原理の適用の例証にすぎないことを理解されたい。本明細書での例証される実施形態の詳細に対する参照は、請求項の範囲を限定するようには意図されておらず、それら自体は、本発明にとって不可欠であると考えられるこれらの特徴を詳述している。

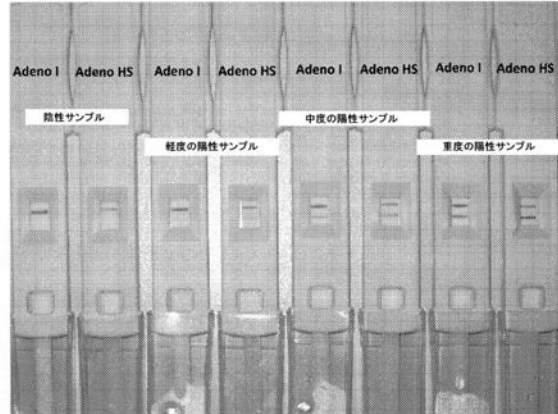
【 図 1 】

疾患状態	複角検査の結果	C反応性タンパク質 (> 15mg/L)	MxA (> 235 ng/ml)
ウイルス感染	A	陰性	陽性
細菌感染	B	陽性	陰性
同時感染	C	陽性	陽性
感染していない	D	陰性	陰性

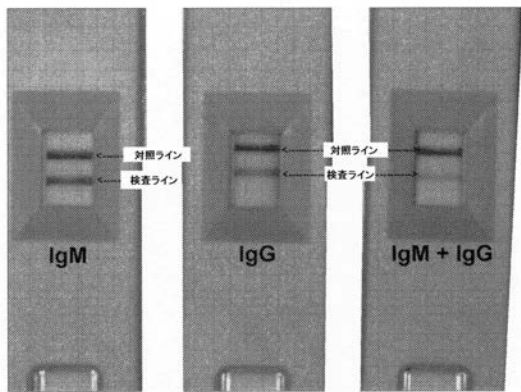
  

	対照ライン	CRP検査	MAA検査	
A	有	無	有	ウイルス感染
B	有	有	無	細菌感染
C	有	有	有	同時感染
D	有	無	無	感染していない

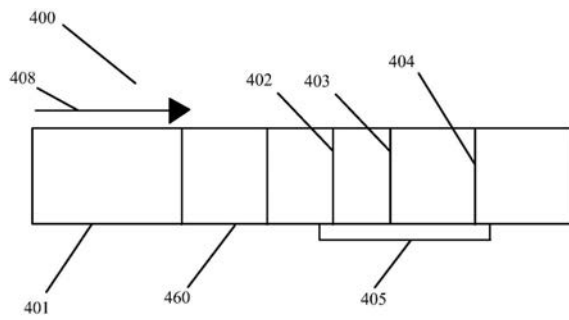
【 図 3 】



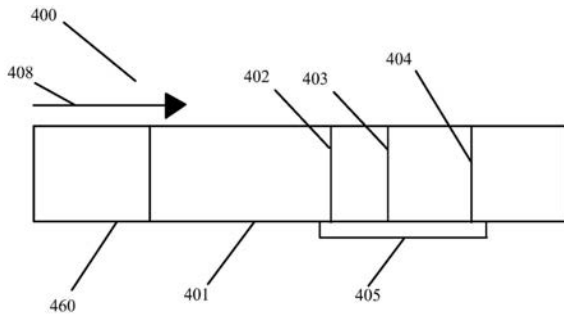
【 図 2 】



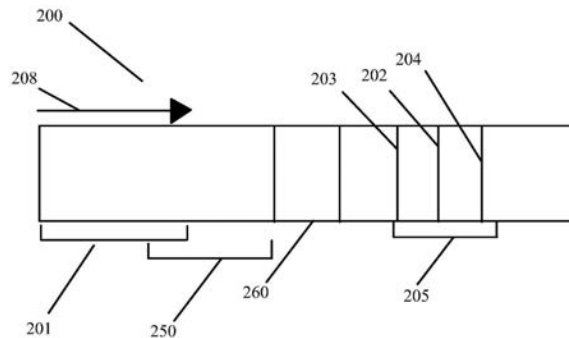
【 図 4 A 】



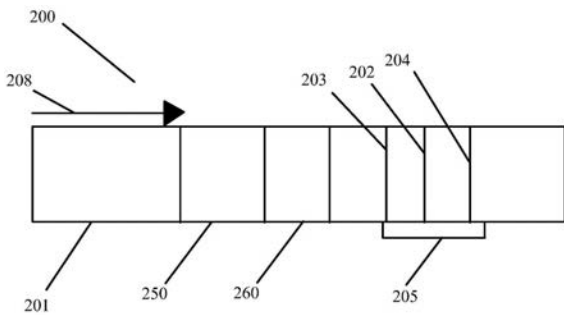
【 図 4 B 】



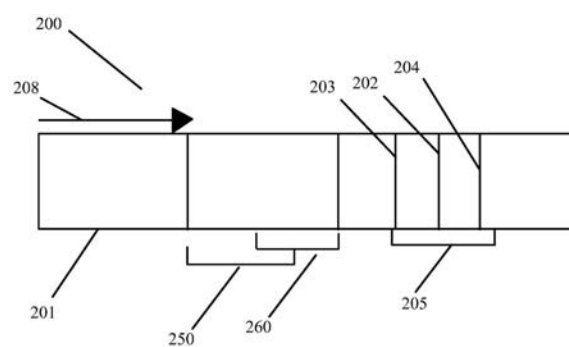
【 図 5 B 】



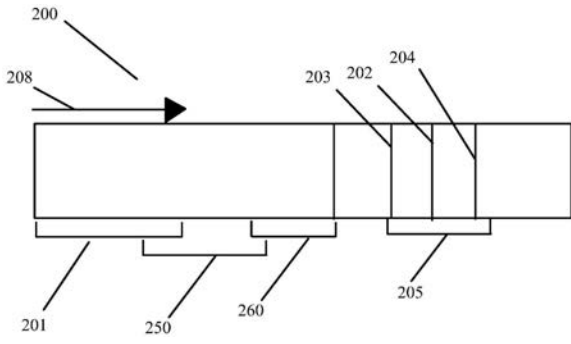
【 図 5 A 】



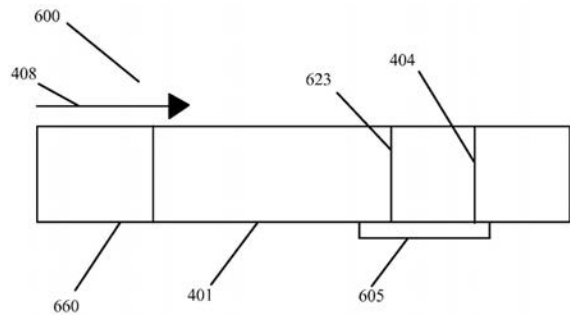
【 図 5 C 】



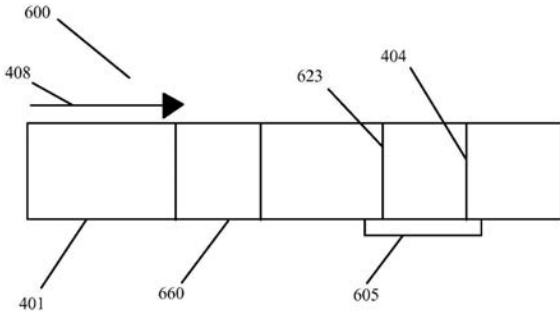
【図 5 D】



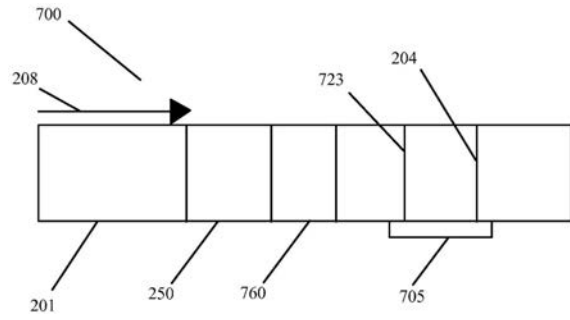
【図 6 B】



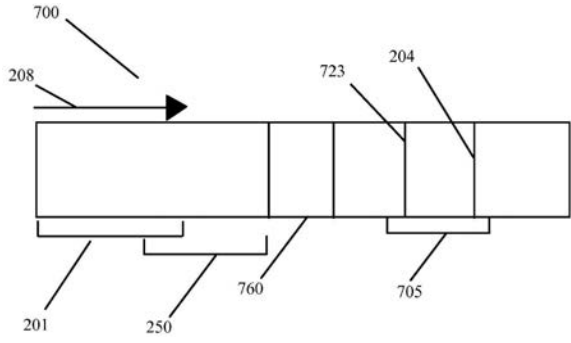
【図 6 A】



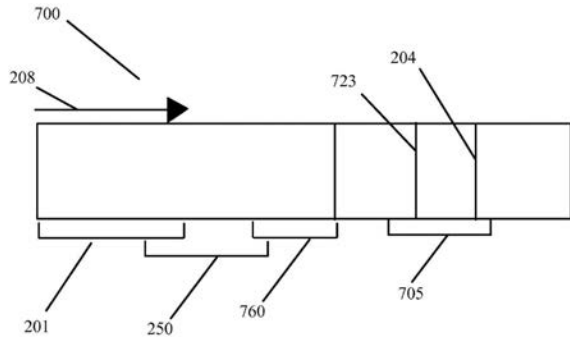
【図 7 A】



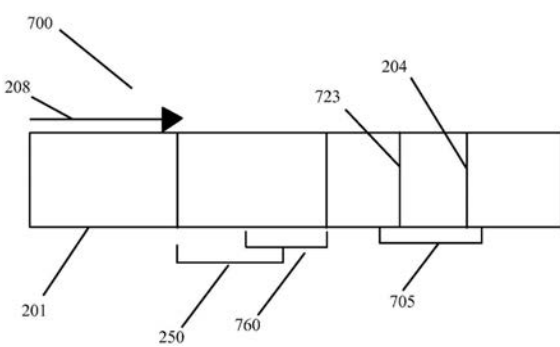
【図 7 B】



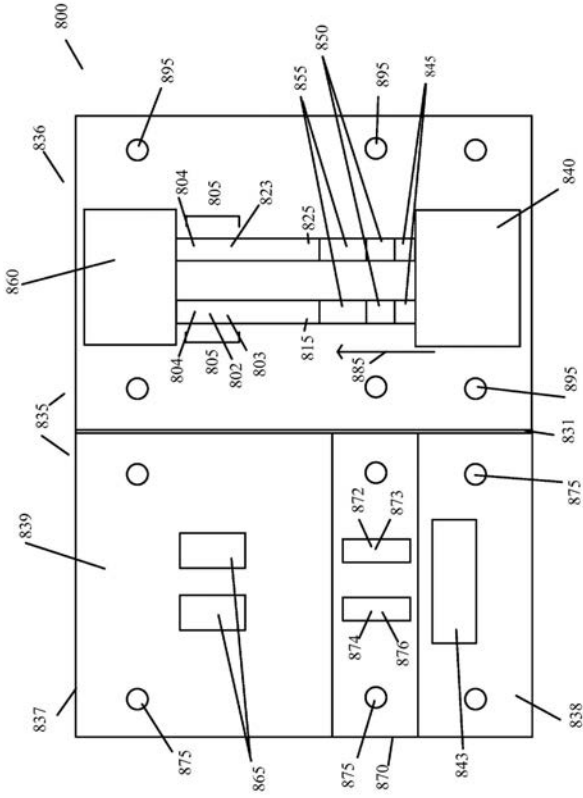
【図 7 D】



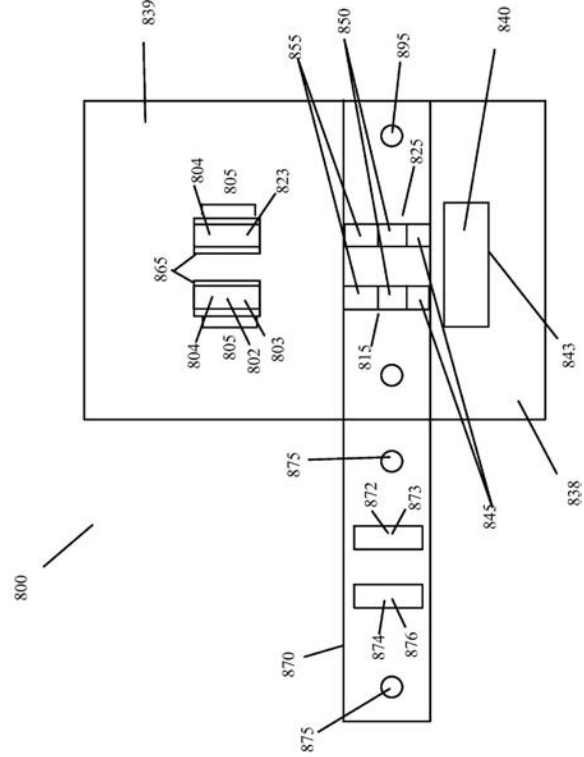
【図 7 C】



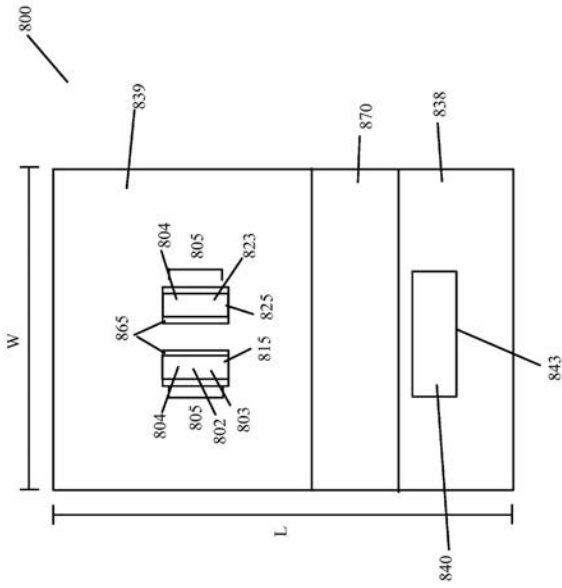
【 図 8 A 】



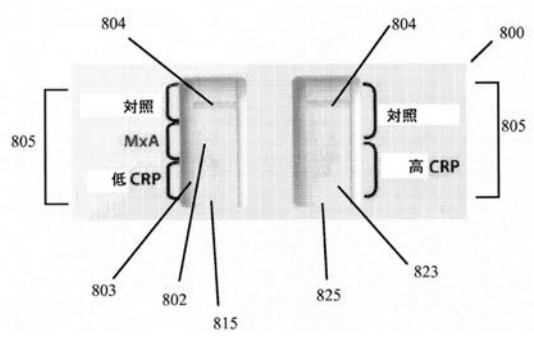
【 図 8 B 】



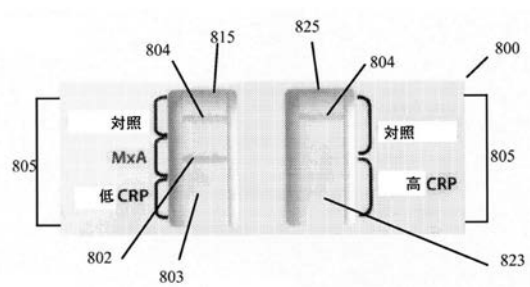
【 図 8 C 】



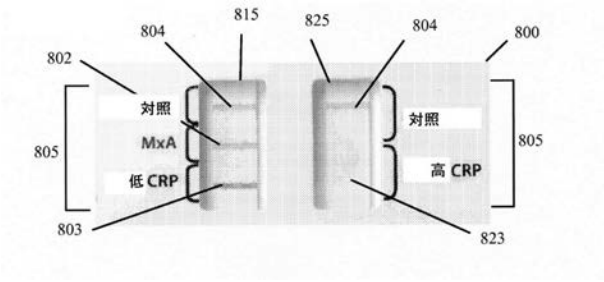
【 図 9 A 】



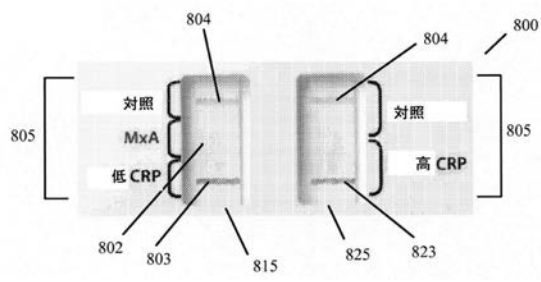
【 図 9 B 】



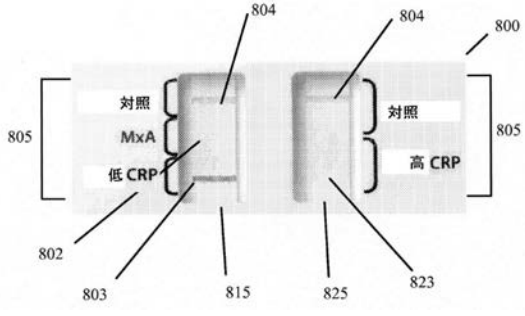
【図 9 C】



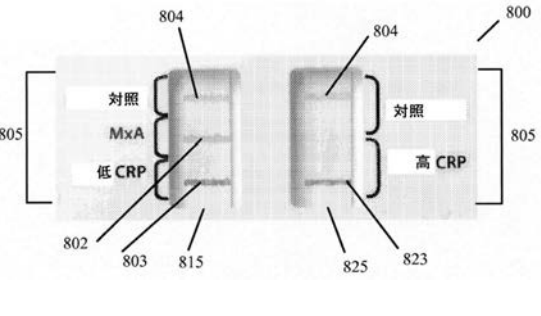
【図 9 E】



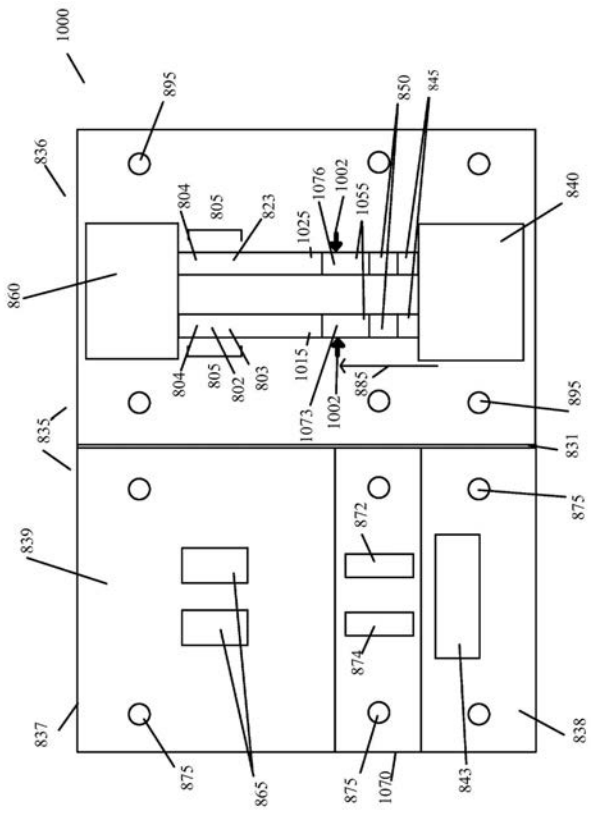
【図 9 D】



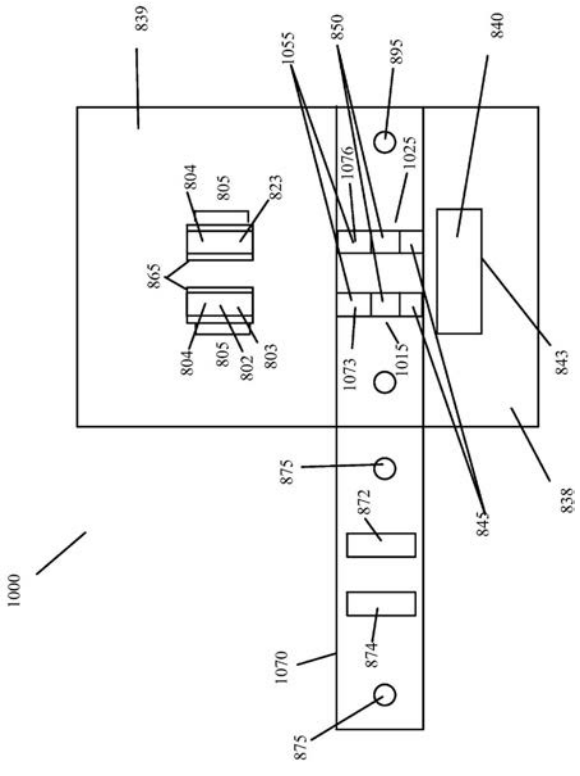
【図 9 F】



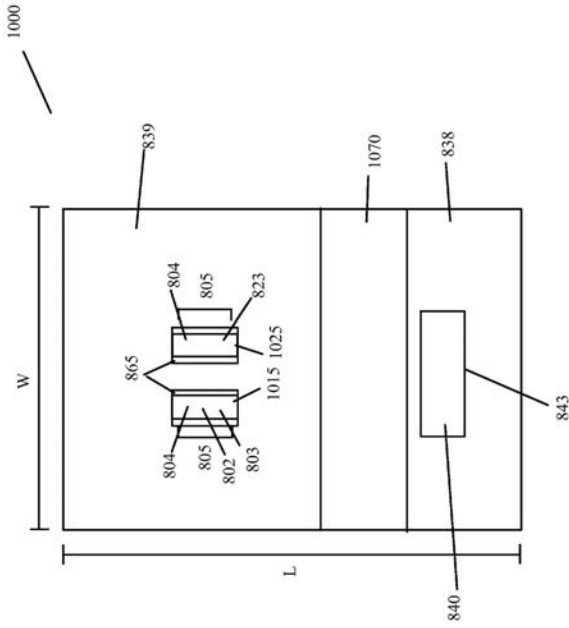
【図 10 A】



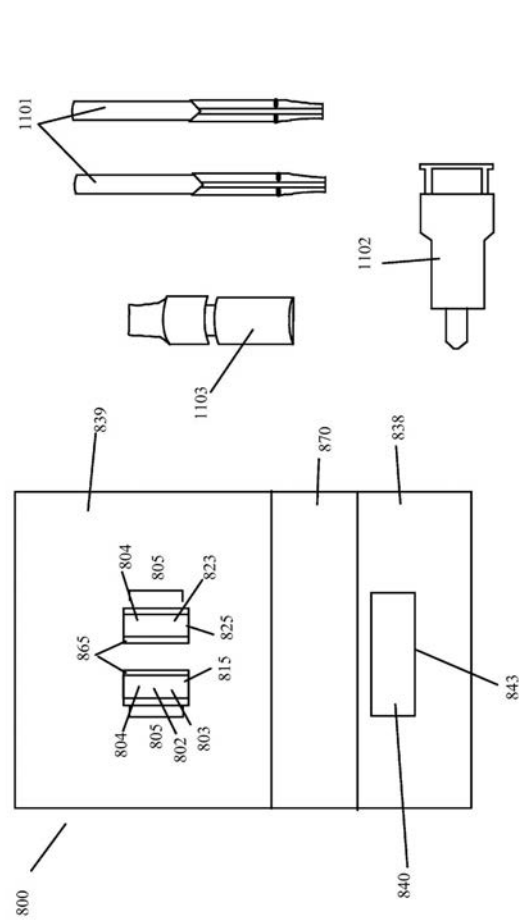
【図 10 B】



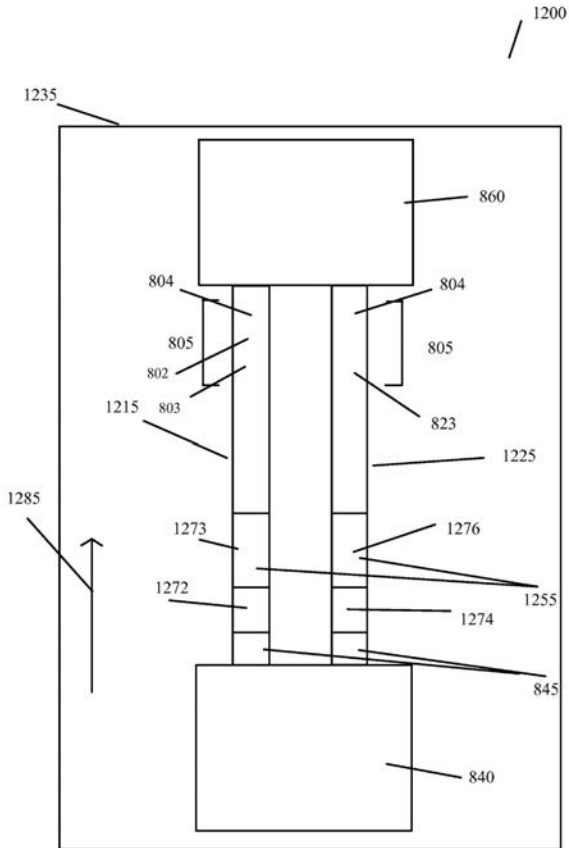
【 図 1 0 C 】



【 図 1 1 】



【 図 1 2 】



## 【手続補正書】

【提出日】令和1年5月3日(2019.5.3)

## 【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

サンプルにおけるM×Aタンパク質とC反応性タンパク質を検出する方法であって、該方法は：

a) 第1の標識に結合したM×Aタンパク質に対する抗体と、第1の標識と異なる第2の標識に結合したC反応性タンパク質に対する抗体との混合物に、サンプルを加える工程；

b) M×Aタンパク質に対する抗体が凝集したかを判定することによりM×Aタンパク質の存在を検出する工程；及び

c) C反応性タンパク質に対する抗体が凝集したかを判定することによりC反応性タンパク質の存在を検出する工程

を含む、サンプルにおけるM×Aタンパク質とC反応性タンパク質を検出する方法。

## 【請求項2】

前記工程a)の前に、

d) 第1の標識に、M×Aタンパク質に対する抗体を結合させる工程；

e) 第2の標識に、C反応性タンパク質に対する抗体を結合させる工程

を更に含む、請求項1に記載の方法。

## 【請求項3】

未知のウイルス感染の存在を検出する方法であって、該方法は：

a) サンプルを採取する工程；

b) サンプルを、サンプル分析装置のサンプル適用領域に移す工程であって、該サンプル分析装置は：

i) ナノミセルの内部に標識を含むシアル酸ナノミセルを含む結合領域；及び

i i) シアル酸同族体ナノ粒子を含むサンプル適用領域から横方向で下流にある検出領域

を含む、工程；

c) 検出領域における陽性の結果に関してサンプルを分析する工程

を含む、未知のウイルス感染の存在を検出する方法。

## 【請求項4】

特異的なウイルス感染の存在を検出する方法であって、該方法は：

a) サンプルを採取する工程；

b) サンプルを、サンプル分析装置のサンプル適用領域に移す工程であって、該サンプル分析装置は：

i) ウイルス感染を引き起こす特異的なウイルスの結合パートナーと標識とを含むナノミセル、及び、ナノミセルの内部に標識を含むシアル酸同族体ナノミセルから成る群から選択された分子を含む接合領域；及び

i i) サンプル適用領域から横方向で下流にある検出領域であって、サンプル適用領域は、ウイルス感染を引き起こすウイルスに対して特異的なナノ粒子を含む、検出領域を含む、工程

c) 検出領域における陽性の結果に関してサンプルを分析する工程を含む、特異的なウイルス感染の存在を検出する方法。

## フロントページの続き

(31)優先権主張番号 13/790,160

(32)優先日 平成25年3月8日(2013.3.8)

(33)優先権主張国・地域又は機関  
米国(US)

(72)発明者 ヴァンダイン, ロバート ダブリュー .

アメリカ合衆国 1 7 7 5 4 ペンシルベニア州 モントゥアズビル ヴァンダイン・ロード 4  
1 6

(72)発明者 バブ, ウマ マヘシュ

アメリカ合衆国 3 4 2 1 2 フロリダ州 ブラデントン デイジー・ブレイス 1 2 4 2 0

(72)発明者 コンドン, ピーター

アメリカ合衆国 3 4 2 2 8 フロリダ州 ロングポート・キー ボギー・レーン 1 0 0 0

【外国語明細書】

2019164143000001.pdf

专利名称(译)	病毒和细菌感染联合检测的方法和装置		
公开(公告)号	<a href="#">JP2019164143A</a>	公开(公告)日	2019-09-26
申请号	JP2019080579	申请日	2019-04-20
[标]申请(专利权)人(译)	帕托的快速筛查代墨		
申请(专利权)人(译)	快速Patogen筛选, 墨水.		
[标]发明人	ザンブルスキーロバートピー ヴァンダインロバートダブリュー バブウママヘシュ コンドンピーター		
发明人	ザンブルスキー,ロバート ピー. ヴァンダイン,ロバート ダブリュー. バブ,ウマ マヘシュ コンドン,ピーター		
IPC分类号	G01N33/573 G01N33/53 G01N33/569		
CPC分类号	G01N33/558 G01N33/569 G01N2333/4737 G01N2333/914		
FI分类号	G01N33/573.A G01N33/53.X G01N33/569.G		
优先权	13/788616 2013-03-07 US 13/790125 2013-03-08 US 13/790160 2013-03-08 US		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

提供一种组合检测病毒和细菌感染的方法和设备。解决方案：组合式护理点诊断设备测试病毒感染的标记物和细菌感染的标记物，以有效地帮助快速区分病毒和细菌感染。双峰方法或装置确定感染是否是细菌和/或病毒。两用两用样品分析装置包括用于检测MxA和低水平的C反应蛋白的第一侧向流动色谱测试条815和用于检测高水平的C反应蛋白的第二侧向流动色谱测试条825。样本是指尖的血液样本。选定的图：图8A

