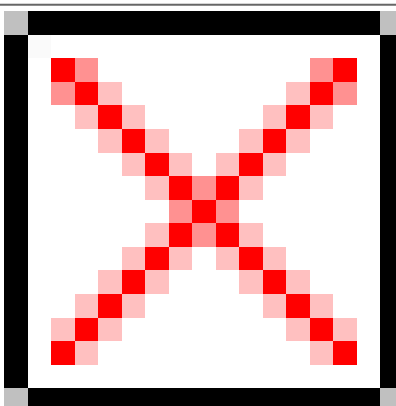


DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

SOLICITUD FASE NACIONAL - PCT



1	Título de la Invención (200 caracteres o espacios máximos)		
INDICADOR VAGINAL PARA DETECTAR BIOMARCADORES DE UNA BUENA SALUD			
2	Datos del Solicitante / Titular		
Nombre:	KIMBERLY-CLARK WORLDWIDE, INC.	Dirección Electrónica:	notificaciones.patentes@roclaw.co
Dirección:	2300 Winchester Rd. NEENAH, WISCONSIN 54956	Nacionalidad/País de constitución:	ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA - WISCONSIN - NEENAH
Identificación:			
☐ CEDULA DE CIUDADANIA ☒ EMPRESA EXTRANJERA ☐ PASAPORTE		☐ CEDULA DE EXTRANJERIA ☐ NIT	

Número:		51686176876225	
3	Solicitantes		
Apellidos - Nombres o Razón Social		Identificación	Tipo
1.	KIMBERLY-CLARK WORLDWIDE, INC.	51686176876225	NN
4	Datos del Inventor		
Nombre:		Stephanie M. MARTIN	Dirección Electrónica:
			notificaciones.patentes@roclaw.co
Dirección:		9740 Rod Road, Johns Creek, Georgia 30022	Nacionalidad/País de constitución:
			ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA - GEORGIA - JOHNS CREEK
Identificación:			
☐ CEDULA DE CIUDADANIA		☐ CEDULA DE EXTRANJERIA	
☐ EMPRESA EXTRANJERA		☐ NIT	
☐ PASAPORTE		☒ No Aplica	
Número:			
5	Inventor(es)		
Apellidos - Nombres		Nacionalidad	
1.	MARTIN Stephanie M.	ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA	
2.	PHILLIPS Ronnie L.	ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA	
3.	LEE SangWook	SINGAPUR	
4.	GIL JunMo	REPUBLICA DE COREA	
6	Datos Inventor(es)		
País de Residencia		Departamento/Estado	Ciudad
			Dirección

1.	ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA	GEORGIA	JOHNS CREEK	9740 Rod Road, Johns Creek, Georgia 30022
2.	ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA	GEORGIA	ATLANTA	1138 Citadel Drive, NE Atlanta, Georgia 30324
3.	SINGAPUR	SINGAPORE	CHOA CHU KANG	50 Choa Chu Kang North 7, #12-03 Tower A, Regent Grove 689527
4.	REPUBLICA DE COREA	HOSEO	YUSUNG-GU	EXPO apt. 101-dong, 702-ho, 464-1, JeonMin-dong, YuSung-gu, Deajeon 305-761

7	Datos del Representante Legal / Apoderado			
Nombre:		J. IAN RAISBECK	Dirección Electrónica:	notificaciones.patentes@roclaw.co
Dirección:		CALLE 90 NO. 19-41, OFC. 602	Nacionalidad/País de constitución:	COLOMBIA - BOGOTA D.C. - BOGOTA D.C.
Identificación: ☒ CEDULA DE CIUDADANIA ☐ CEDULA DE EXTRANJERIA ☐ EMPRESA EXTRANJERA ☐ NIT ☐ PASAPORTE Número: 79376996				
Presentación de Poder				
Año de Radicación				
Número de Radicación				
8	Datos Solicitud: PCT / WO			
Número Solicitud:		pct/ib2011/054598	Fecha Solicitud:	17/10/2011
Número Publicacion:		wo 2012/069941	Fecha Publicacion:	31/05/2012
9	Declaraciones de prioridad		☒ SI ☐ NO	
(33) País de origen		Codigo del país	(31) No. Solicitud	(32) Fecha _

1.	ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA	US	12/951,652	22/11/2010
10	Reducción de tasas.			
<i>Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.</i> ☐ SI ☒ NO Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.				
☐ Micro, pequeñas y medianas empresas ☐ Universidades públicas o privadas ☐ Entidades sin ánimo de lucro Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos				
11	Documentos Anexos			
☒ Reivindicaciones ☒ Descripción ☒ Dibujos y/o Figuras ☒ Resumen ☐ Certificado Depósito Material Biológico ☐ Uso de Conocimiento tradicional ☐ Listado de secuencias ☒ Artes finales 12 x 12 cm ☒ Poderes, si fuere el caso ☐ Copia de la primera solicitud si se reivindica prioridad ☐ Traducción simple de la primera solicitud, si se reivindica prioridad ☒ Otros Anexos				

In the United States Patent and Trademark Office

Applicants:	Martin et al.	Docket	KCX-1688 (64675900US01)
Serial No.:	Not Assigned Yet	Group:	Not Assigned Yet
Confirmation	Not Assigned Yet	Examiner:	Not Assigned Yet
Filed:	November 22, 2010		
For:	Vaginal Indicator to Detect Biomarkers of Good Health		
Express Mail	N / A		

Assignment – Joint Inventors

Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

Dear Sir:

WHEREAS Stephanie M. Martin residing at 9740 Rod Road, Johns Creek, Georgia 30022; Ronnie L. Phillips residing at 1138 Citadel Drive NE, Atlanta, Georgia 30324; SanWook Lee residing at 50 Choa Chu Kang North 7, #12-03 Tower A, Regent Grove, Singapore 689527 and JunMo Gil residing at EXPO apt. 101-dong 702-ho, 464-1, JeonMin-dong, YuSung-gu, Deajeon, South Korea, 305-761 (hereinafter collectively referred to as Assignors), have made an invention and have each either (1) previously executed an application for Letters Patent of the United States of America therefor or (2) are contemporaneously executing an application for Letters Patent of the United States of America for the invention which is entitled:

Vaginal Indicator to Detect Biomarkers of Good Health

AND WHEREAS Kimberly-Clark Worldwide, Inc., a corporation of the State of Delaware, having offices at 2300 Winchester Road, Neenah, Wisconsin 54956, United States of America, (hereinafter referred to as Assignee), is desirous of acquiring the entire right, title and interest in and to said invention and under said Letters Patent or similar legal protection to be obtained therefor in the United States and in any and all foreign countries.

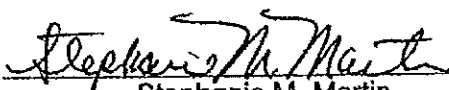
NOW, THEREFORE, TO ALL WHOM IT MAY CONCERN: Be it known that for good and valuable consideration, the receipt of which is hereby acknowledged, the Assignors hereby sell, assign and transfer to the Assignee the full and exclusive right, title and interest to said invention and in and to any and all Letters Patent or similar legal protection in the United States and its territorial possessions and in any and all foreign countries to be obtained for said invention by said application or any continuation, continuation-in-part, divisional, renewal, substitute, re-examination, conversion or reissue thereof, including all extensions thereof, or any legal equivalent thereof in any foreign country for the full term or terms for which the same may be granted, including any and all convention rights.

The Assignors hereby covenant that no assignment, sale, agreement or encumbrance has been or will be made or entered into which would conflict with this assignment and sale.

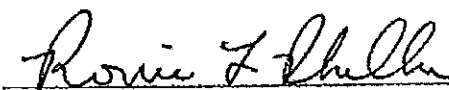
The Assignors further covenant that the Assignors will promptly provide, upon written request, Assignee with all pertinent facts and documents relating to said application, said invention and said Letters Patent and legal equivalents in foreign countries as may be known and accessible to the Assignors and that they will promptly execute and deliver to Assignee or its legal

representatives any and all papers, instruments or affidavits required to apply for, obtain, maintain, issue, extend and enforce said application, said invention and said Letters Patent and said equivalents thereof in any foreign country which may be necessary or desirable to carry out the purposes thereof.

IN WITNESS WHEREOF, the Assignors have executed this document on the date indicated below:


Stephanie M. Martin

November 29, 2010
Date


Ronnie L. Phillips

November 29, 2010
Date

SangWook Lee

Date

JunMo Gil

Date

representatives any and all papers, instruments or affidavits required to apply for, obtain, maintain, issue, extend and enforce said application, said invention and said Letters Patent and said equivalents thereof in any foreign country which may be necessary or desirable to carry out the purposes thereof.

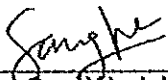
IN WITNESS WHEREOF, the Assignors have executed this document on the date indicated below:

Stephanie M. Martin

Date

Ronnie L. Phillips

Date


SangWook Lee

24th Nov, 2010
Date

JunMo Gil

Date

K-C Docket No.: 64675900US01

representatives any and all papers, instruments or affidavits required to apply for, obtain, maintain, issue, extend and enforce said application, said invention and said Letters Patent and said equivalents thereof in any foreign country which may be necessary or desirable to carry out the purposes thereof.

IN WITNESS WHEREOF, the Assignors have executed this document on the date indicated below:

Stephanie M. Martin

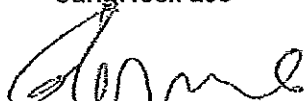
Date

Ronnie L. Phillips

Date

SangWook Lee

Date



JunMe Gil

Nov. 24, 2010

Date

Traducción oficial hecha por Jimena Escobar Uribe, traductora e intérprete oficial según resolución No. 0369 de 1995 del Ministerio de Justicia, hecha el día 14 de mayo de 2013 del documento correspondiente a una notificación de inscripción de cesión de una patente a favor de Kimberly-Clark Worldwide, Inc., domiciliada en Neenah, Wisconsin, Estados Unidos de América.

En la Oficina de Patentes y Marcas de los Estados Unidos

Solicitantes: Martin y otros

Número de expediente: KCX-1688 (64675900US01)

Número de serie: No ha sido asignado todavía

Grupo: No ha sido asignado todavía

Número de confirmación: No ha sido asignado todavía

Examinador: No ha sido asignado todavía

Presentada: 22 de noviembre de 2010

Para: INDICADOR VAGINAL PARA DETECTAR BIOMARCADORES DE BUENA SALUD

Correo expreso: No disponible

Cesión – Inventores Conjuntos

Comisionado para Patentes

P.O. Box 1450

Alexandria, Virginia 22313-1450

Señor:

CONSIDERANDO que Stephanie M. Martin, residente en Johns Creek, Georgia, Ronnie L. Phillis, residente en Atlanta, Georgia, SanWook Lee, residente en Regent Grove, Singapur y JunMo Gil, residente en Deajeon, Corea del Sur (*Nota del traductor:* se hace la traducción únicamente de la ciudad y del estado de residencia pues el número y el nombre propio de las calles no requieren de traducción) (de ahora en adelante colectivamente denominados como los Cedentes), hemos hecho un invento y cada uno ha (1) ejecutado previamente una solicitud para Título de Patente de los Estados Unidos de América o (2) estamos contemporáneamente ejecutando una solicitud para Título de Patente de los Estados Unidos de América para la invención que se titula:

INDICADOR VAGINAL PARA DETECTAR BIOMARCADORES DE BUENA SALUD

Y, CONSIDERANDO, que Kimberly-Clark Worldwide, Inc., una sociedad del Estado de Delaware, con oficinas en 2300 Winchester Rd., Neenah, Wisconsin 54956, Estados Unidos de América (de ahora en adelante denominada el "Cesionario") desea adquirir la totalidad de derecho, título e interés en y sobre dicha invención y bajo dicho Título de Patente o protección legal similar a ser obtenida después en los Estados Unidos y en cualquiera y todos los países extranjeros.

AHORA, POR LO TANTO, A TODOS AQUELLOS A QUIEN PUEDA INTERESAR: Que sea conocido que por una contraprestación onerosa, el recibo de la cual se reconoce por medio del presente, los Cedentes por medio del presente venden, ceden y transfieren al Cesionario la totalidad del derecho, título e interés exclusivos sobre dicha invención y en y sobre cualquier Título de Patente o protección legal similar en los Estados Unidos y sus posesiones territoriales y en cualquiera y todos los países extranjeros a ser obtenidos para dicha invención por dicha solicitud o cualquier continuación, continuación en parte, divisional, renovación, reexamen sustituto, conversión o reexpedición de la misma, incluyendo todas las prórrogas o cualquier equivalente legal de la misma en cualquier país extranjero por el término o términos completo(s) para los cuales la misma pueda ser otorgada, incluyendo cualquiera y todos los derechos de convención.

Los Cedentes por medio del presente afirman que ninguna cesión, venta, acuerdo o gravamen ha sido o será hecho o suscrito que pueda entrar en conflicto con esa cesión y venta.

Los Cedentes además se comprometen a que los Cedentes prontamente suministrarán, una vez les sea requerido por escrito, al cesionario todos los hechos y documentos pertinentes relacionados con dicha solicitud, dicha invención y dicho Título de Patente o equivalentes legales en países extranjeros que sean conocidos y accesibles para los cedentes y que ellos ejecutará prontamente y entregarán al Cesionario o sus representantes legales cualquiera y todos los documentos, instrumentos o declaraciones juramentadas requeridas para solicitar, obtener, mantener, expedir, prorrogar y ejecutar dicha solicitud, dicha invención y dicho Título de Patente y dichos equivalentes sobre los mismos en cualquier país extranjero que sean necesarios o deseables para llevar a cabo los propósitos de los mismos.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL, los Cedentes han ejecutado este documento en la fecha indicada a continuación:

Stephanie M. Martin – Fecha: 29 de noviembre de 2010

Ronnie L. Phillips – Fecha: 29 de noviembre de 2010

SangWook Lee – Fecha: 24 de noviembre de 2010

JunMo Gil – Fecha: 24 de noviembre de 2010

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference 64675900PC02	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/IB2011/054598	International filing date (<i>day/month/year</i>) 17 OCTOBER 2011 (17.10.2011)	(Earliest) Priority Date (<i>day/month/year</i>) 22 NOVEMBER 2010 (22.11.2010)
Applicant KIMBERLY-CLARK WORLDWIDE, INC. et al		

This International search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 3 sheets.

☐ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. **Basis of the report**

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

☒ the international application in the language in which it was filed

☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☐ This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6bis(a)).

c. ☐ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☐ **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (See Box No. III)

4. With regard to the **title**,

☒ the text is approved as submitted by the applicant.

☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract**,

☒ the text is approved as submitted by the applicant.

☐ the text has been established, according to Rule 38.2, by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.

6. With regard to the drawings,

a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. FIGURE 1

☒ as suggested by the applicant.

☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure.

☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention.

b. ☐ none of the figure is to be published with the abstract.

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER*C12Q 1/32(2006.01)i, C12Q 1/28(2006.01)i, G01N 33/68(2006.01)i*

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12Q 1/32

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean utility models and applications for utility models

Japanese utility models and applications for utility models

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS(KIPO internal) & Keywords: D-lactic acid, hydrogen peroxide, vaginal, Lactobacillus

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	GARG, K.B. et. al., 'Metabolic properties of lactobacilli in women experiencing recurring episodes of bacterial vaginosis with vaginal pH $\geq$ 5', Eur J Clin Microbiol Infect Dis, vol.29, pp.123-125 (January 2010) See Abstract; Fig.1; Page.125	1-20
Y	BOSKEY, E.R. et. al., 'Origins of vaginal acidity: high D/L lactate ratios consistent with bacteria being the primary source', Human Reproduction, vol.16, no.9, pp.1809-1813 (September 2001) See Abstract; pp.1809, 1812	1-20
Y	RABE, L.K. and HILLIER, S.L., 'Optimization of Media for Detection of Hydrogen Peroxide Production by Lactobacillus Species', Journal of Clinical Microbiology, vol.41, no.7, pp.3260-3264 (July 2003) See Abstract; page 3261; Fig.1	1-20
Y	SHOPOVA, E., 'Determination of hydrogen peroxide production by vaginal strains of Lactobacillus spp. isolated from healthy women', Akush Ginekolog(Sofia), vol.40, no.3, pp.23-24 (2001) See Abstract	1-20



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

26 JUNE 2012 (26.06.2012)

Date of mailing of the international search report

26 JUNE 2012 (26.06.2012)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon Metropolitan
City, 302-701, Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Lee Hyojin

Telephone No. 82-42-481-8743



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/IB2011/054598Patent document
cited in search reportPublication
datePatent family
member(s)Publication
date

None



- (51) International Patent Classification:
C12Q 1/32 (2006.01) *G01N 33/68* (2006.01)
C12Q 1/28 (2006.01)
- (21) International Application Number:
PCT/IB2011/054598
- (22) International Filing Date:
17 October 2011 (17.10.2011)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
12/951,652 22 November 2010 (22.11.2010) US
- (71) Applicant (for all designated States except US): **KIM-BERLY-CLARK WORLDWIDE, INC.** [US/US]; 2300 Winchester Road, Neenah, Wisconsin 54956 (US).
- (72) Inventors; and
- (75) Inventors/Applicants (for US only): **MARTIN, Stephanie, M.** [US/US]; 9740 Rod Road, Johns Creek, Georgia 30022 (US). **PHILLIPS, Ronnie, L.** [US/US]; 1138 Citadel Drive, NE, Atlanta, Georgia 30324 (US). **LEE, SangWook** [KR/SG]; 50 Choa Chu Kang North 7, #12-03 Tower A, Regent Grove 689527 (SG). **GIL, JunMo** [KR/KR]; EXPO apt. 101-dong, 702-ho, 464-1, JeonMin-dong, YuSung-gu, Daejeon 305-761 (KR).
- (74) Agents: **BATAVIA, Neil, M.** et al.; Dority & Manning, P.A., PO Box 1449, Greenville, SC 29602-1449 (US).
- (81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Published:
— without international search report and to be republished upon receipt of that report (Rule 48.2(g))

(54) Title: VAGINAL INDICATOR TO DETECT BIOMARKERS OF GOOD HEALTH

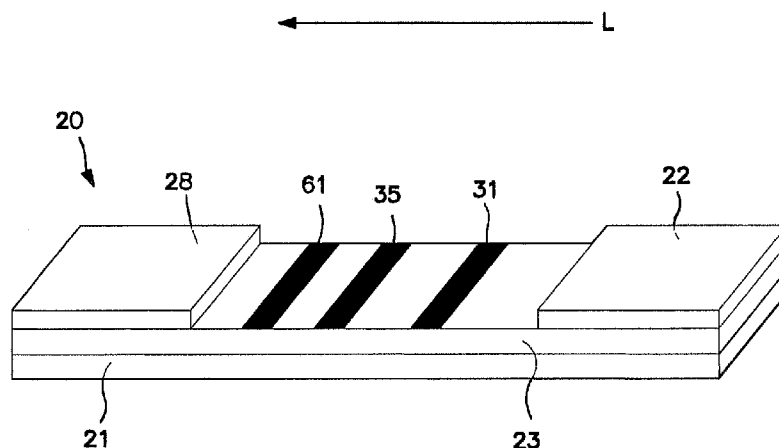


FIG. 1

(57) Abstract: A diagnostic kit for biomarkers of beneficial vaginal health is described. The kit includes a first detection zone within which a D-lactic acid detection signal is capable of being generated, wherein the presence or quantity of D-lactic acid, is determinable from the D-lactic acid detection signal. The kit further includes a second detection zone within which a hydrogen peroxide detection signal is capable of being generated, wherein the presence or quantity of hydrogen peroxide, is determinable from the hydrogen peroxide detection signal.





- (51) **International Patent Classification:**
C12Q 1/32 (2006.01) *G01N 33/68* (2006.01)
C12Q 1/28 (2006.01)
- (21) **International Application Number:** PCT/IB2011/054598
- (22) **International Filing Date:** 17 October 2011 (17.10.2011)
- (25) **Filing Language:** English
- (26) **Publication Language:** English
- (30) **Priority Data:** 12/951,652 22 November 2010 (22.11.2010) US
- (71) **Applicant (for all designated States except US):** **KIMBERLY-CLARK WORLDWIDE, INC.** [US/US]; 2300 Winchester Road, Neenah, Wisconsin 54956 (US).
- (72) **Inventors; and**
- (75) **Inventors/Applicants (for US only):** **MARTIN, Stephanie, M.** [US/US]; 9740 Rod Road, Johns Creek, Georgia 30022 (US). **PHILLIPS, Ronnie, L.** [US/US]; 1138 Citadel Drive, NE, Atlanta, Georgia 30324 (US). **LEE, SangWook** [KR/SG]; 50 Choa Chu Kang North 7, #12-03 Tower A, Regent Grove 689527 (SG). **GIL, JunMo** [KR/KR]; EXPO apt. 101-dong, 702-ho, 464-1, JeonMin-dong, YuSung-gu, Deajeon 305-761 (KR).
- (74) **Agents:** **BATAVIA, Neil, M.** et al.; Dority & Manning, P.A., PO Box 1449, Greenville, SC 29602-1449 (US).
- (81) **Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available):** AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) **Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available):** ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Published:**
- with international search report (Art. 21(3))
 - before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments (Rule 48.2(h))
- (88) **Date of publication of the international search report:** 23 August 2012

(54) **Title:** VAGINAL INDICATOR TO DETECT BIOMARKERS OF GOOD HEALTH

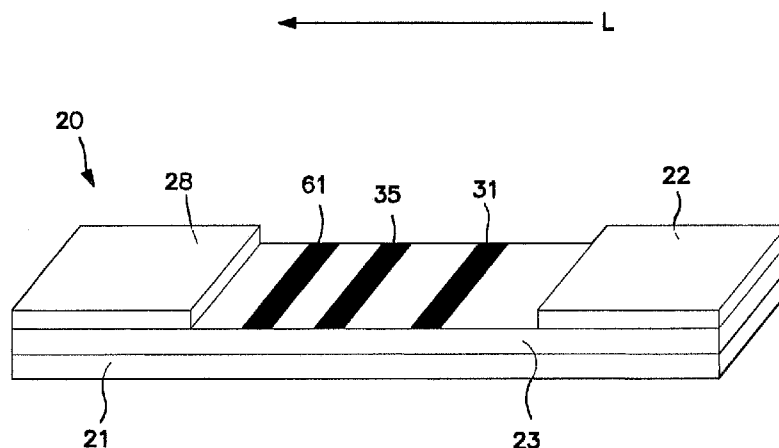


FIG. 1

(57) **Abstract:** A diagnostic kit for biomarkers of beneficial vaginal health is described. The kit includes a first detection zone within which a D-lactic acid detection signal is capable of being generated, wherein the presence or quantity of D-lactic acid, is determinable from the D-lactic acid detection signal. The kit further includes a second detection zone within which a hydrogen peroxide detection signal is capable of being generated, wherein the presence or quantity of hydrogen peroxide, is determinable from the hydrogen peroxide detection signal.

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER*C12Q 1/32(2006.01)i, C12Q 1/28(2006.01)i, G01N 33/68(2006.01)i*

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12Q 1/32

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean utility models and applications for utility models

Japanese utility models and applications for utility models

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS(KIPO internal) & Keywords: D-lactic acid, hydrogen peroxide, vaginal, Lactobacillus

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	GARG, K.B. et. al., 'Metabolic properties of lactobacilli in women experiencing recurring episodes of bacterial vaginosis with vaginal pH $\geq$ 5', Eur J Clin Microbiol Infect Dis, vol.29, pp.123-125 (January 2010) See Abstract; Fig.1; Page.125	1-20
Y	BOSKEY, E.R. et. al., 'Origins of vaginal acidity: high D/L lactate ratios consistent with bacteria being the primary source', Human Reproduction, vol.16, no.9, pp.1809-1813 (September 2001) See Abstract; pp.1809, 1812	1-20
Y	RABE, L.K. and HILLIER, S.L., 'Optimization of Media for Detection of Hydrogen Peroxide Production by Lactobacillus Species', Journal of Clinical Microbiology, vol.41, no.7, pp.3260-3264 (July 2003) See Abstract; page 3261; Fig.1	1-20
Y	SHOPOVA, E., 'Determination of hydrogen peroxide production by vaginal strains of Lactobacillus spp. isolated from healthy women', Akush Ginekol(Sofia), vol.40, no.3, pp.23-24 (2001) See Abstract	1-20



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

26 JUNE 2012 (26.06.2012)

Date of mailing of the international search report

26 JUNE 2012 (26.06.2012)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon Metropolitan
City, 302-701, Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Lee Hyojin

Telephone No. 82-42-481-8743



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/IB2011/054598Patent document
cited in search reportPublication
datePatent family
member(s)Publication
date

None

The State of Wisconsin



**Office of the
Secretary of State**

APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 Octobre 1961)

1. **Country: United States of America**
2. **This public document has been signed by Vicky L. Keel**
3. **acting in the capacity of Notary Public, State of Wisconsin**
4. **bears the seal/stamp of Notary Public, State of Wisconsin.**

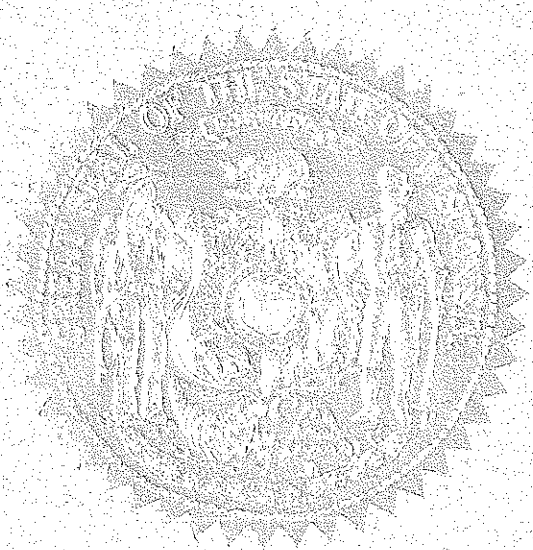
CERTIFIED for Colombia

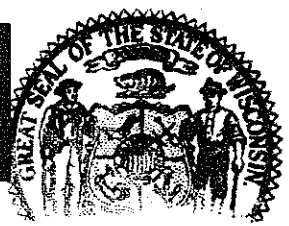
5. **at Madison, Wisconsin**
6. **January 26, 2011**
7. **by the Secretary of State of Wisconsin**
8. **No. 201971**
9. **Seal/stamp:**

10. Signature

**DOUGLAS LA FOLLETTE
Secretary of State**

This Apostille only confirms the authority of the person named in Number 2. It does not mean that the contents of the attached document are correct, or that the Secretary of State approves of the contents.





Power of Attorney

Poder

The undersigned,

El suscrito,

domiciled in

KIMBERLY-CLARK WORLDWIDE, INC.

domiciliado en

State of Delaware, United States of America

by means of this document hereby grants to **J. Ian Raisbeck and/or Pedro Pablo Osman and/or Natalia Castro** full and sufficient Power of Attorney to file, prosecute, obtain, defend and enforce, where applicable, any and all of the company's **Patents for Inventions, Patents for Utility Models, Layout-Designs (topographies) of Integrated Circuits, Industrial Designs, Trademarks, Slogans, Trade Names, Commercial Emblems, Geographical Indications, Obtainer's Certificates, Copyrights, Domain Names, Trade Secrets, Health Registrations, or any other intellectual property right**, as well as to represent the company in **Unfair Competition Actions based on any applicable cause**, in the Republic of Colombia, to which end it empowers them to take all steps necessary before any administrative or judicial authority of any class for the objects stated, to file petitions, recourses, replies and oppositions, pay taxes and annuities, request testimonies, receive documents and securities, abandon applications, collect refunds, desist, settle, conciliate or negotiate. Sufficient power is hereby granted to receive notifications on behalf of the Company, to confer powers on those who are to represent the company judicially and extrajudicially, to answer in court in the matter of all claims and demands that may be presented in connection with the objects stated, giving them likewise power to substitute this power and revoke such substitutions.

por medio del presente otorga a **J. Ian Raisbeck y/o Pedro Pablo Osman y/o Natalia Castro** poder amplio y suficiente para presentar, tramitar, obtener, defender y hacer respetar, en lo aplicable, todas y cualquiera de las **Patentes de Invención, Patentes de Modelo de Utilidad, Esquemas de Trazados de Circuitos Integrados, Diseños Industriales, Marcas, Lemas Comerciales, Nombres Comerciales, Enseñas Comerciales, Denominaciones de Origen, Certificados de Obtentor, Derechos de Autor, Nombres de Dominio, Secretos Empresariales, Registros Sanitarios, o cualquier otro bien de propiedad intelectual de la compañía, así como representar a la misma en Acciones de Competencia Desleal basadas en cualquier causal**, en la República de Colombia, a cuyo efecto los faculta para dar todos los pasos necesarios ante cualquier autoridad administrativa o judicial de cualquier jerarquía para cumplir con lo encomendado, elevar solicitudes, recursos, respuestas y oposiciones, pagar impuestos y anualidades, solicitar testimonios, recibir documentos y valores, desistir, transigir, y percibir. Se concede poder bastante para recibir notificaciones a nombre de la compañía, otorgar poderes a quienes vayan a representar a la compañía judicial y extrajudicialmente, responder en juicio a todas las reclamaciones o demandas que por motivo de lo encomendado se presentaren, dándoles asimismo facultad para sustituir el presente y revocar dichas sustituciones.

Name/Nombre: Alyssa A. Dudkowski, Assistant Secretary

Signature/Firma: Alyssa A. Dudkowski

Date/Fecha: 21 January 2011

City/Country/Ciudad,País: Neenah, Wisconsin, United States of America

Vicky L. Keel
Vicky L. Keel Notary Public
Winnebago County State of Wisconsin
My Commission Expires: March 4, 2012

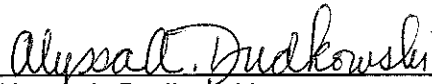
**CERTIFICATE OF
ASSISTANT SECRETARY
OF
KIMBERLY-CLARK WORLDWIDE, INC.**

I, ALYSSA A. DUDKOWSKI, HEREBY CERTIFY that I am a duly elected, qualified and acting Assistant Secretary of Kimberly-Clark Worldwide, Inc., a Delaware corporation (the "Corporation"), and I HEREBY FURTHER CERTIFY as follows:

Attached hereto is a true and correct copy of a current Certificate of Good Standing, as provided by the State of Delaware on January 7, 2011.;

IN WITNESS WHEREOF, I have hereunto set my hand as Assistant Secretary and have affixed the seal of the Corporation on this 7th day of January, 2011.

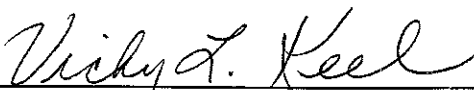
KIMBERLY-CLARK WORLDWIDE, INC.


Alyssa A. Dudkowski
Assistant Secretary

STATE OF WISCONSIN §§

COUNTY OF WINNEBAGO §§

Before me, Vicky L. Keel, a duly authorized Notary Public, on this 7th day of January 2011, personally appeared Alyssa A. Dudkowski, being personally known to me, certify that Alyssa A. Dudkowski appeared in her capacity as an Assistant Secretary of Kimberly-Clark Worldwide, Inc., a Delaware corporation, to be the person whose name is subscribed to the foregoing instrument and acknowledged to me that he executed the same for the purposes and consideration therein expressed.


Vicky L. Keel
Notary Public in and for the State of Wisconsin

My Commission Expires:
March 4, 2012

Delaware

PAGE 1

The First State

I, JEFFREY W. BULLOCK, SECRETARY OF STATE OF THE STATE OF DELAWARE, DO HEREBY CERTIFY "KIMBERLY-CLARK WORLDWIDE, INC." IS DULY INCORPORATED UNDER THE LAWS OF THE STATE OF DELAWARE AND IS IN GOOD STANDING AND HAS A LEGAL CORPORATE EXISTENCE SO FAR AS THE RECORDS OF THIS OFFICE SHOW, AS OF THE SEVENTH DAY OF JANUARY, A.D. 2011.

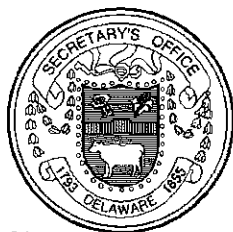
AND I DO HEREBY FURTHER CERTIFY THAT THE ANNUAL REPORTS HAVE BEEN FILED TO DATE.

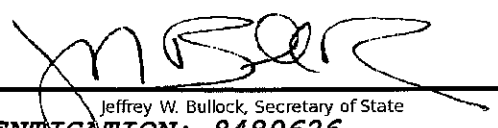
AND I DO HEREBY FURTHER CERTIFY THAT THE FRANCHISE TAXES HAVE BEEN PAID TO DATE.

2660161 8300

110024335

You may verify this certificate online
at corp.delaware.gov/authver.shtml




Jeffrey W. Bullock, Secretary of State
AUTHENTICATION: 8480626

DATE: 01-07-11

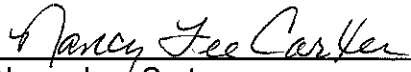
**CERTIFICATE OF
ASSISTANT SECRETARY
OF
KIMBERLY-CLARK WORLDWIDE, INC.**

I, Nancy Lee Carter, HEREBY CERTIFY that I am a duly elected, qualified and acting Assistant Secretary of Kimberly-Clark Worldwide, Inc., a Delaware corporation (the "Corporation"), and I HEREBY FURTHER CERTIFY as follows:

1. Alyssa A. Dudkowski is a duly elected, qualified and acting Assistant Secretary of the Corporation.

IN WITNESS WHEREOF, I have hereunto set my hand as Assistant Secretary of the Corporation on this 7th day of January, 2011.

KIMBERLY-CLARK WORLDWIDE, INC.



Nancy Lee Carter
Assistant Secretary

[Sello CERTIFICADO]

El Estado de Wisconsin

Oficina del
Secretario de Estado

APOSTILLA
(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América
2. Este documento público ha sido firmado por Vicky L. Keel
3. actuando en calidad de Notario Público, Estado de Wisconsin
4. está marcado con la estampilla/sello del Notario Público, Estado de Wisconsin

Certificado para Colombia

5. en Madison, Wisconsin
6. 26 de enero de 2011
7. por el Secretario de Estado de Wisconsin
8. Número 201971
9. Sellado
10. Firmado por Douglas La Follette
Secretario de Estado

Esta Apostilla solo confirma la autoridad de la persona nombrada en el Número 2. Esto no significa que el contenido del documento adjunto es correcto, o que el Secretario de Estado aprueba el contenido.


MARIA CRISTINA HOLGUIN
TRADUCCIONES
TRADUCTORA OFICIAL
Certificado de idoneidad N° 0274 de 2006

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

2011. FEB 11 AM 8:13

JEFE DE LEGACIONES
BOGOTÁ, D.C.

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD
DEL TEXTO

049463

Mano C. Holguin

CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPENA
LAS FUNCIONES INDICADAS

[Poder en idioma inglés y español, concedido por KIMBERLY-CLARK WORLDWIDE, INC. a J. Ian Raisbeck y/o Pedro Pablo Osman y/o Natalia Castro, firmado por Alyssa A. Dudkowski, Subsecretario, el 21 de enero de 2011. Igualmente lleva la firma de Vicky L. Keel, Notario Público, Condado de Winnebago, Estado de Wisconsin, Mi Comisión Vence: 4 de marzo de 2012. Sellado con el Gran Sello del Estado de Wisconsin]

[El poder mencionado se acompaña por lo siguiente]

**CERTIFICADO DEL
SUBSECRETARIO
DE
KIMBERLY-CLARK WORLDWIDE, INC.**

Yo, ALYSSA A. DUDKOWSKI, POR EL PRESENTE CERTIFICO que estoy debidamente elegido, calificado y actuando como Subsecretario de Kimberly-Clark Worldwide, Inc., una sociedad de Delaware (la "Sociedad"), y POR EL PRESENTE ADEMÁS CERTIFICO lo siguiente:

Adjunto al presente se encuentra una copia fiel y correcta del Certificado de Existencia actual, expedido por el Estado de Delaware el 7 de enero de 2011;

PARA CONSTANCIA, he fijado mi firma como Subsecretario y he fijado el sello de la Sociedad este día 7 de enero de 2011.

KIMBERLY-CLARK WORLDWIDE, INC.

[Firma]

Alyssa A. Dudkowski
Subsecretario

ESTADO DE WISCONSIN
CONDADO DE WINNEBAGO

Ante mí, Vicky L. Keel, Notario Público debidamente autorizado, en este día 7 de enero de 2011, compareció personalmente Alyssa A. Dudkowski, conocida personalmente por mí, certifico que Alyssa A. Dudkowski compareció en su calidad de Subsecretaria de Kimberly-Clark Worldwide Inc., una sociedad de Delaware, como la persona cuyo nombre se encuentra suscrito al anterior instrumento y reconoció ante mí que firmó el mismo para los efectos allí expresados.

[Firma]

Vicky L. Keel
Notario Público en y para el Estado de Wisconsin
Mi Comisión Vence:
4 de marzo de 2012


MARIA CRISTINA HOLGUIN
TRADUCCIONES
TRADUCTORA OFICIAL
Certificada de idoneidad N° 0274 de 2009

DELAWARE
El Primer Estado

Yo, Jeffrey W. Bullock, Secretario de Estado del Estado de Delaware, por el presente certifico que "KIMBERLY-CLARK WORLDWIDE, INC." se encuentra debidamente constituida bajo las leyes del Estado de Delaware y se encuentra vigente y tiene existencia corporativa legal según muestran los registros de esta oficina, al día siete de enero de 2011.

Además por el presente certifico que los informes anuales se han radicado a la fecha.

Además por el presente certifico que los impuestos de franquicia se encuentran pagados a la fecha.

2660161 8300

110024335

SELLO REDONDO DE LA OFICINA DEL SECRETARIO, 1793 DELAWARE 1855

[Firma]

Jeffrey W. Bullock, Secretario de Estado

AUTENTICACIÓN: 8480626

FECHA: 07-01-11

Puede verificar este certificado en línea en corp.delaware.gov/authver.html


MARIA CRISTINA HOIGUIN
TRADUCCIONES
TRADUCTORA OFICIAL
Estado de Delaware N 0274 de 200

**CERTIFICADO DEL
SUBSECRETARIO
DE
KIMBERLY-CLARK WORLDWIDE, INC.**

Yo, Nancy Lee Carter, POR EL PRESENTE CERTIFICO que estoy debidamente elegido, calificado y actuando como Subsecretario de Kimberly-Clark Worldwide, Inc., una sociedad de Delaware (la "Sociedad"), y POR EL PRESENTE ADEMÁS CERTIFICO lo siguiente:

1. Alyssa A. Dudkowski se encuentra debidamente elegido, calificado y actuando como Subsecretario de la Sociedad.

PARA CONSTANCIA, he fijado mi firma como Subsecretario de la Sociedad este día 7 de enero de 2011.

KIMBERLY-CLARK WORLDWIDE, INC.

[Firma]
Nancy Lee Carter
Subsecretario

ESTA ES UNA TRADUCCIÓN FIEL Y VERAZ AL IDIOMA ESPAÑOL DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN EL IDIOMA INGLÉS.
MARIA CRISTINA HOLGUIN
TRADUCTOR E INTÉRPRETE OFICIAL
CERTIFICADO DE IDONEIDAD PROFESIONAL No. 0274
UNIVERSIDAD NACIONAL - 19 de febrero de 2009
Cédula No 52 862 623 de Bogotá


MARIA CRISTINA HOLGUIN
TRADUCCIONES
TRADUCTORA OFICIAL
Certificado de idoneidad N° 0274 de 2009

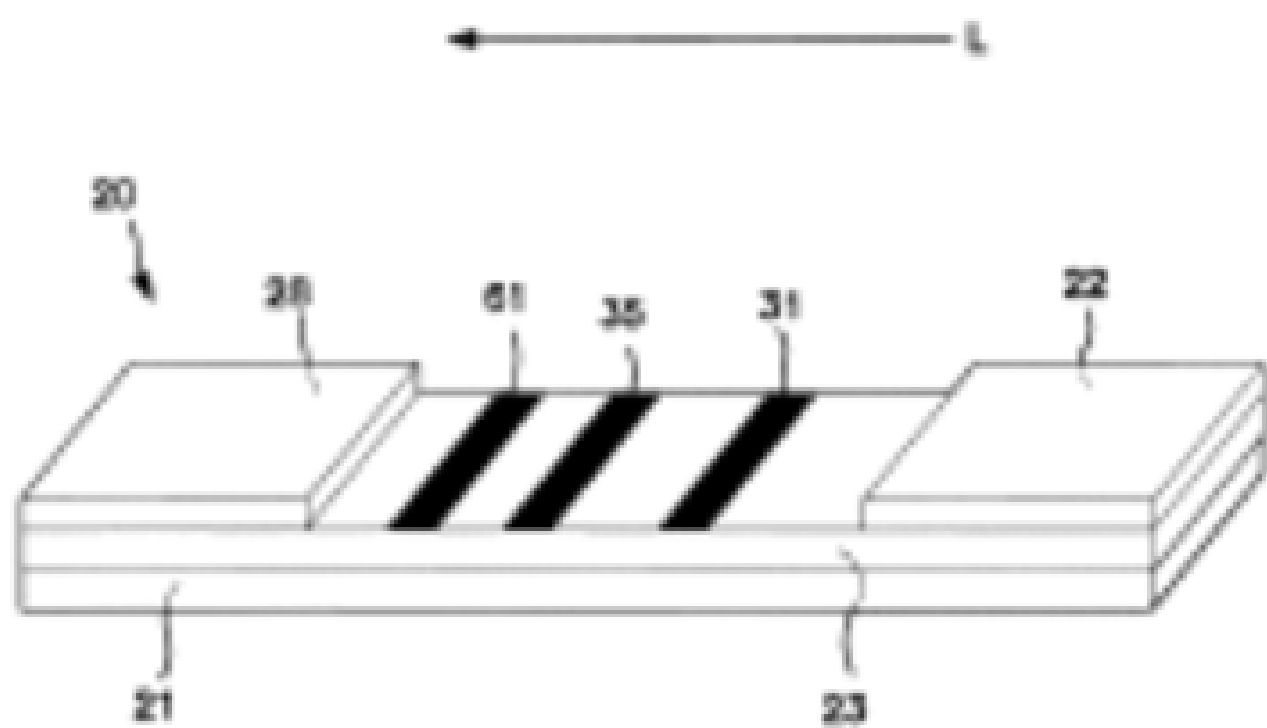


FIG. 1

INDICADOR VAGINAL PARA DETECTAR BIOMARCADORES DE UNA BUENA SALUD

Resumen

De acuerdo con una incorporación de la presente invención, se describe un kit de diagnóstico para biomarcadores de salud vaginal benéfica. El kit incluye una primera zona de detección dentro de la cual una señal de detección de ácido D- láctico es capaz de ser generada, en donde la presencia o cantidad de ácido D- láctico es determinable a partir de la señal de detección de ácido D-láctico. El kit además incluye una segunda zona de detección dentro de la cual una señal de peróxido de hidrógeno es capaz de ser generada, en donde la presencia o cantidad de peróxido de hidrógeno es determinable a partir de la señal de detección de peróxido de hidrógeno.

En aún otra incorporación de la presente revelación, se describe un método para detectar biomarcadores de salud vaginal benéfica. El método incluye poner en contacto una muestra de prueba con un kit de prueba que comprende una primera zona de detección dentro de la cual una señal de detección de ácido D- láctico es capaz de ser generada. La presencia o cantidad de ácido D- láctico es determinable a partir de la señal de detección de ácido D-láctico. El kit de prueba además comprende una segunda zona de detección dentro de la cual una señal de peróxido de hidrógeno es capaz de ser generada, en donde la presencia o cantidad de peróxido de hidrógeno es determinable a partir de la señal de detección de peróxido de hidrógeno. El método además incluye detectar la presencia o cantidad de ácido D-láctico a partir de la señal de detección de ácido D-láctico y determinar la presencia o cantidad de peróxido de hidrógeno a partir de la señal de detección de peróxido de hidrógeno.

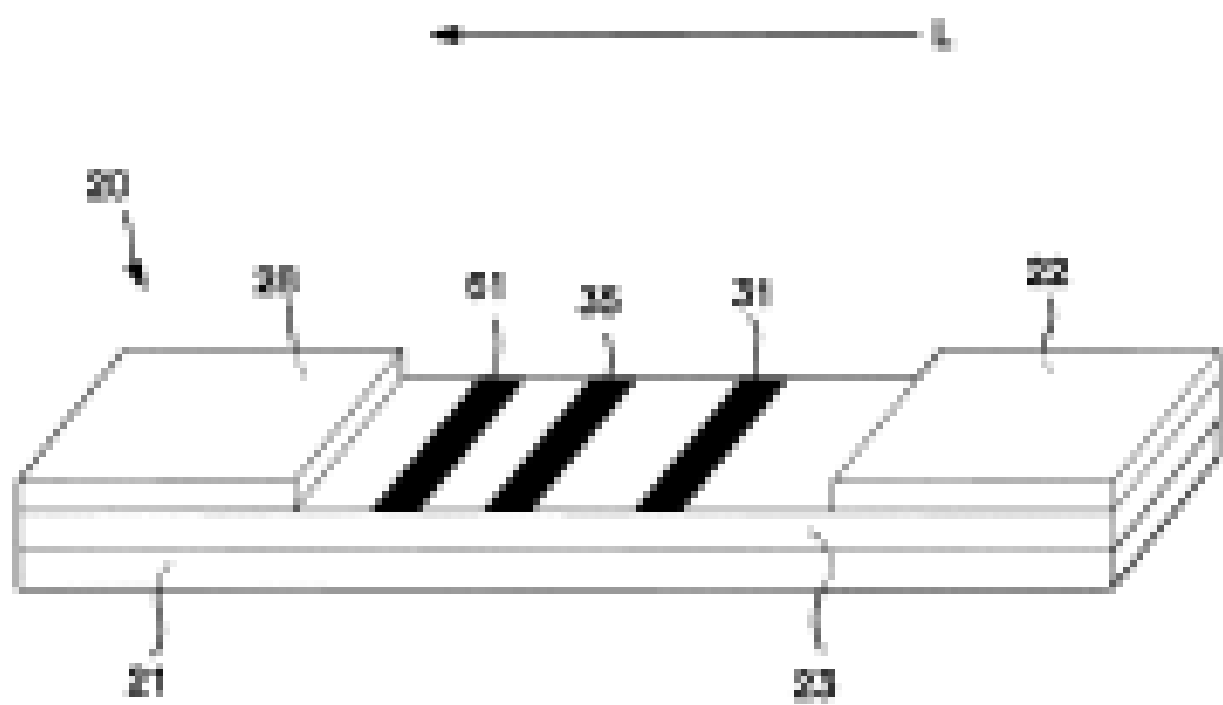


FIG. 1

INDICADOR VAGINAL PARA DETECTAR BIOMARCADORES DE UNA BUENA SALUD

Antecedentes

La vagina de la mujer es naturalmente colonizada por una variedad de bacterias, levadura y microorganismos. Por ejemplo, una vagina normal generalmente contiene más de alrededor de 10^4 lactobacilos por milímetro de fluido vaginal. Bajo condiciones normales, la flora vaginal proporciona un ambiente ligeramente ácido que ayuda a proteger contra la invasión de microbios patogénicos. Desafortunadamente, este balance vaginal puede ser fácilmente alterado por una variedad de factores externos que en últimas conllevan a una infección vaginal.

La vaginosis bacteriana, por ejemplo, es una infección vaginal polimicrobiana que se cree es causada por un aumento en la cantidad de organismos anaeróbicos con una disminución concomitante en los lactobacilos en la vagina. La disminución en el número de lactobacilos en la vagina tiene el doble efecto de disminuir la competencia por nutrientes y disminuir la cantidad de ácido láctico presente (esto es, aumentando el pH). Esto permite la multiplicación de patógenos oportunistas en la vagina, cuyo crecimiento es normalmente suprimido por los lactobacilos y el pH ácido de la vagina. *Atopobium vaginae*, *Bacteroides spp.*, *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus*, *Megasphaera*, *Mycoplasma hominis*, *Peptostreptococcus*, y *Prevotella* son algunas de las especies que prevalecen durante una infección de VB.

Los síntomas de la vaginosis bacteriana generalmente incluyen un olor desagradable, un pH vagina elevado superior a alrededor de 5.0, una descarga delgada homogénea, y la presencia de células clave (esto es, células epiteliales vaginales recubiertas con pequeños bacilos gram variables).

Los regímenes actuales de tratamiento para infecciones bacterianas de la vagina incluyen el uso de diversos antibióticos de amplio espectro, tal como metronidazol. Sin embargo, los antibióticos son a menudo indeseables debido a que ellos pueden matar un amplio rango de flora bacteriana normal en la vagina, incluyendo los benéficos lactobacilos. Esto puede causar complicaciones secundarias debido a que los lactobacilos mantienen bajo control a diversos patógenos oportunistas en la vagina. El tratamiento puede entonces necesitar de un régimen de tratamiento adicional, tal como la ingestión de productos lácteos cultivados para reemplazar los lactobacilos en el cuerpo, así como el tratamiento con agentes antifúngicos. Un aumento en el nivel de anaerobios debido a la falta de lactobacilos puede complicar la infección aún más. Los antibióticos, cuando son utilizados frecuentemente dentro de la vagina, pueden causar toxicidad sistémica a través de la absorción por la vagina. Además, la relativa facilidad del tratamiento no debe ser malinterpretada como carente de implicaciones clínicas. El embarazo, en particular, es un momento en el cual la vaginosis bacteriana puede causar serios problemas. La vaginosis bacteriana se está volviendo más reconocida como un factor que contribuye al parto prematuro y a un aumento en la morbilidad y la mortalidad durante el nacimiento.

Los esfuerzos anteriores en las pruebas para la vaginosis bacteriana han estado limitados a la detección de biomarcadores asociados específicamente con la infección. El inconveniente obvio de dichos enfoques es que una infección por vaginosis bacteriana debe

ya estar presente para que la prueba detecte la misma. Hasta este momento no existen pruebas que puedan suministrar una valoración frecuente sobre la salud vaginal con el fin de promover mejores comportamientos de higiene y posiblemente alterar el comportamiento para evitar infecciones por vaginosis bacteriana así como otras infecciones. Específicamente, no existe ninguna prueba en la cual se les pueda proporcionar a las mujeres una tranquilidad significativa cuando se encuentran saludables y una guía para el cuidado vaginal adecuado cuando no lo están.

Como tal, existe actualmente una necesidad de pruebas rápidas, que no sean costosas y que sean fáciles de usar que sean capaces de informar a las mujeres acerca de su salud vaginal. Los métodos para utilizar dichas pruebas también serían benéficos.

Resumen

De acuerdo con una incorporación de la presente invención, se describe un kit de diagnóstico para biomarcadores de salud vaginal benéfica. El kit incluye una primera zona de detección dentro de la cual una señal de detección de ácido D- láctico es capaz de ser generada, en donde la presencia o cantidad de ácido D- láctico es determinable a partir de la señal de detección de ácido D-láctico. El kit además incluye una segunda zona de detección dentro de la cual una señal de peróxido de hidrógeno es capaz de ser generada, en donde la presencia o cantidad de peróxido de hidrógeno es determinable a partir de la señal de detección de peróxido de hidrógeno.

En aún otra incorporación de la presente revelación, se describe un método para detectar biomarcadores de salud vaginal benéfica. El método incluye poner en contacto una muestra de prueba con un kit de prueba que comprende una primera zona de detección dentro de la cual una señal de detección de ácido D- láctico es capaz de ser generada. La presencia o cantidad de ácido D- láctico es determinable a partir de la señal de detección de ácido D-láctico. El kit de prueba además comprende una segunda zona de detección dentro de la cual una señal de peróxido de hidrógeno es capaz de ser generada, en donde la presencia o cantidad de peróxido de hidrógeno es determinable a partir de la señal de detección de peróxido de hidrógeno. El método además incluye detectar la presencia o cantidad de ácido D-láctico a partir de la señal de detección de ácido D-láctico y determinar la presencia o cantidad de peróxido de hidrógeno a partir de la señal de detección de peróxido de hidrógeno.

Otras características y aspectos de la presente invención son discutidos con mayor detalle a continuación.

Breve Descripción de los Dibujos

Una revelación completa y habilitante de la presente invención, incluyendo el mejor modo de la misma, dirigida a una persona versada en la materia, es enunciada de manera más particular en el resto de la memoria descriptiva, la cual hace referencia a las figuras anexas en las cuales:

La Figura 1 es una vista en perspectiva de una incorporación de un dispositivo de ensayo que puede ser utilizado en el kit de prueba de diagnóstico de la presente invención.

El uso repetido de caracteres de referencia en la presente memoria descriptiva y dibujos pretende representar características o elementos idénticos o análogos de la invención.

Descripción Detallada de las Incorporaciones Representativas

Definiciones

Tal como se utiliza en el presente, el término “vagina” se refiere generalmente a la estructura interna del tracto reproductivo femenino que se extiende desde el cérvix del útero hasta el vestíbulo. El término también pretende incluir los genitales externos (por ejemplo, el labio mayor, el labio menor y el clítoris).

Tal como se utiliza en el presente, el término “muestra de prueba” se refiere a un material que es probado para ciertos biomarcadores que pueden ser indicativos del estado de la salud vaginal. Por ejemplo, la muestra de prueba puede ser obtenida o derivada de una fuente biológica, tal como un fluido fisiológico. Además, un material sólido puede ser utilizado como la muestra de prueba. La muestra de prueba puede ser utilizada directamente según sea obtenida de una fuente o después de un pre-tratamiento para modificar el carácter de la muestra. Por ejemplo, dicho pre-tratamiento puede incluir preparar plasma de la sangre, diluir fluidos viscosos y así sucesivamente. Métodos de pre-tratamiento pueden también involucrar la filtración, la precipitación, la dilución, la destilación, la mezcla, la concentración, la inactivación de componentes que interfieren, la adición de reactivos, etc. Es más, también puede ser benéfico modificar una muestra de prueba sólida para formar un medio líquido.

Descripción Detallada

Se hará ahora referencia con más detalle a diversas incorporaciones de la invención, uno o más ejemplos de los cuales se indican a continuación. Cada uno de los ejemplos es suministrado a modo de explicación de la invención, no una limitación de la invención. De hecho, será aparente para aquellos versados en la materia que diversas modificaciones y variaciones pueden hacerse a la presente invención sin alejarse del alcance o del espíritu de la invención. Por ejemplo, las características ilustradas o descritas como parte de una incorporación pueden ser utilizadas en otra incorporación para producir aún otra incorporación. Así, se pretende que la presente invención cubra dichas modificaciones y variaciones que se encuentren dentro del alcance de las reivindicaciones anexas y sus equivalentes.

En general, la presente invención está dirigida a una técnica para detectar la presencia y/o cantidad de biomarcadores que son indicativos del estado de la salud vaginal. Por ejemplo, en ciertas incorporaciones, se emplea un kit de prueba de diagnóstico, el cual puede ser utilizado para indicar la presencia y/o cantidad de ácido láctico y peróxido de hidrógeno, respectivamente, dentro de una muestra de prueba.

En este sentido, la vagina y los lactobacilos forman una relación simbiótica en la cual las células epiteliales de la vagina proporcionan nutrientes en la forma de glicógeno, el cual mantiene la población de lactobacilos, y la flora de lactobacilos proporciona una defensa contra otros patógenos. Específicamente, los lactobacilos producen ácido láctico (también denominado en el presente indistintamente como lactato), el cual acidifica la vagina, y peróxido de hidrógeno (también denominado en el presente indistintamente como peróxido), el cual evita el crecimiento excesivo de patógenos. Tanto el ácido láctico como el peróxido de hidrógeno son producidos en cantidades copiosas por la población de lactobacilos de una vagina saludable.

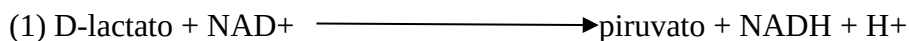
El ácido láctico tiene dos formas isoméricas, ácido L- láctico y ácido D-láctico. El ácido L-láctico es producido tanto por el cuerpo humano como por bacterias, mientras que el ácido D-láctico es producido únicamente por bacterias. En la flora vaginal, los lactobacilos son

conocidos como la única especie bacteriana que produce ácido D-láctico en cantidades significativas. Aunque las células epiteliales de la vagina producen algo de ácido D-láctico se cree que la mayoría del ácido D-láctico vaginal es producido por la flora de lactobacilos. Por lo tanto, la cantidad de ácido D-láctico es una indicación acertada de la salud vaginal. Se ha determinado que la presencia de ácido D-láctico en la vagina en cantidades mayores que alrededor de 10 mg/mL de una muestra de prueba indica un estado saludable. Por ejemplo, en ciertas incorporaciones, la presencia de ácido D-láctico en la vagina en cantidades mayor que alrededor de 12 mg/mL indica un estado saludable. En ciertas incorporaciones, la presencia de ácido D-láctico en la vagina en cantidades mayor que alrededor de 15 mg/mL indica un estado saludable y en aún otras incorporaciones, la presencia de ácido D-láctico en la vagina en cantidades mayor que alrededor de 20 mg/mL, 50 mg/mL, 100 mg/mL o 200 mg/mL indica un estado saludable.

La detección de ácido D-láctico puede ser lograda por medio de un ensayo con base enzimática tal como un ensayo que utilice D-lactato deshidrogenasa o D-lactato oxidasa. La D-lactato deshidrogenasa crea la forma reducida de nicotinamida adenina dinucleótido (NADH) mientras que la D-lactato oxidasa crea peróxido de hidrógeno.

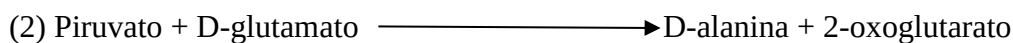
Por ejemplo, en ciertas incorporaciones, la cuantificación de ácido D-láctico puede incluir múltiples reacciones enzimáticas. En la primera reacción catalizada por D-lactato deshidrogenasa (D-LDH), el ácido D-láctico (D-lactato) es oxidado a piruvato en la presencia de nicotinamida-adenina dinucleótido (NAD⁺) (1).

(D-LDH)



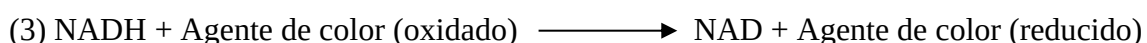
Sin embargo, debido a que el equilibrio de la reacción (1) favorece el ácido láctico y NAD⁺, una reacción adicional puede ser utilizada para “atrapar” el producto de piruvato. Esto es logrado por medio de la conversión de piruvato a D-alanina y 2-oxoglutarato, con la enzima D-glutamato-piruvato transaminasa (D-GPT) en presencia de un gran exceso de D-glutamato (2).

(D-GPT)



La cantidad de NADH formada en (1) anterior es estequiométrica con la cantidad de ácido D-láctico. Un agente de color adecuado en presencia de diaforasa puede ser utilizado para cuantificar la cantidad de ácido D-láctico presente en la muestra de prueba (3).

(Diaforasa)



Agentes de color adecuados pueden incluir reactivos de tetrazolio incluyendo los siguientes:

pABT (cloruro p-anisil azul de tetrazolio); pApNBT, cloruro p-anisil-p-nitro azul de tetrazolio; BSPT, azul de tiazolilo (cloruro de tetrazolio 2-2'-Benzotiazolilo-5-estirilo-3-(4'-ftalhidrazida); BT, cloruro azul de tetrazolio; BTSPT, cloruro de tetrazolio 2- (2'-benzotiazolilo)-5-estirilo-3-(4'-ftalhidrazida); CTC, (cloruro de tetrazolio 5-ciano-2,3-ditolilo); DMDPT, bromuro de tetrazolio [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil], bromuro de difeniltetrazolio 1- [4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5; DSNBT, cloruro de tetrazolio nitroazul

diestiril; (1H)-tetrazol; IDNTT, cloruro de yodonitrotetrazolio; INT, cloruro de yodonitrotetrazolio violeta, cloruro de p-yodonitrotetrazolio violeta (2-(4-yodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-feniltetrazolio; iNpT, cloruro de feniltetrazolio 2-(p-yodofenil)-p-nitrofenil-5-; mNBT, cloruro de tetrazolio m-nitroazul; mNNT, cloruro de neotetrazolio m-nitro; MNSTC, 2,2-bis (2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil)-2H-tetrazolio-5-carboxanilida; MTS: sal de tetrazolio 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil) -2-(4-sulfofenil)-2H; MTT, bromuro de tetrazolio, bromuro de tetrazolio azul de tiazolilo, (bromuro de difeniltetrazolio 3->4,5-dimetiltiazol-2-il-2,5); NBMT, cloruro de monotetrazolio nitroazul; NBT, cloruro de tetrazolio p-nitroazul; cloruro de tetrazolio nitro azul (cloruro de ditetrazolio 2,2 '-di-nitrofenil-5, 5'-difetil-3-3')3,3'-dimetoxi-4,4'-difetileno); NT, cloruro de neotetrazolio (cloruro de ditetrazolio 2,2', 5,5'-tetrafenil-3, 3'(p-difetileno; NTV, Nitrotetrazolio Violeta; azul de tiazolilo; TB, cloruro azul de tetrazolio (dicloruro de tetrazolio 3,3'-> 3,3'- dimetoxi (1,1,-bifenil)-4,4'-diilo]-bis (2,5-difenil-2H); NBT, cloruro de tetrazolio nitroazul; oTTR, o-tolil tetrazolio rojo; PCTMB, sodio 3'-[1 - [(fenilamino)-carbonil] -3,4-tetrazolio]-bis (4-metoxi-6-nitro) hidrato de ácido benceno-sulfónico; PNBT, cloruro de tetrazolio p-nitroazul; PTB, piperonilo azul de tetrazolio; pTTR, p-tolil tetrazolio rojo; TC-NBT, cloruro de tetrazolio nitroazul tiocarbamil (cloruro de ditetrazolio 2,2 '-di-p-nitrofenil-5, 5'-di-p-tiocarbamilfenil-3,3'[3,3'-dimetoxi-4-, 4'-bifenileno]-; TNBT, cloruro de tetrazolio tetranitroazul; TPTT, 1 ,3,5-trifeniltetrazolio; TR, TTC, TPT, rojo de tetrazolio (2, cloruro de 3,5-trifeniltetrazolio); TV, violeta de tetrazolio, tetrazolio violeta, cloruro de tetrazolio 2,3,5-trifenil-2-H, cloruro de tetrazolio 2,5-difenil-3 [alfa-naftilo], cloruro de tetrazolio 2,5-difenil-3-[1-naftil]-2H; VTB, azul de tetrazolio veratrílico; WST-1: 4-[3-(4-yodofenil)-2- (4-nitrofenil)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benceno disulfonato; XTT, 2,2-bis (2-metoxi-4-notro-5-sulfofenil)-2H-tetrazolio-5-carboxanilida, así como otros agentes de color tal como se conocen en la técnica.

El nivel de ácido D-láctico presente en la muestra de prueba puede ser determinado en mg/mL por medio de comparar el color desarrollado con una carta de colores que puede ser suministrada con el kit de prueba de diagnóstico de la presente invención. Si el color de la muestra de prueba cae entre dos chips de color, se puede seleccionar un valor intermedio para el nivel de ácido D-láctico de la muestra de prueba.

Tal como se describe anteriormente, la lactato oxidasa es capaz de catalizar la conversión de ácido D-láctico a piruvato y peróxido de hidrógeno en presencia de oxígeno para determinar cuantitativamente el nivel de ácido D-láctico en una muestra de prueba. Diversas lactato oxidasas conocidas en la técnica pueden ser utilizadas para dicho fin, Una de dichas lactato oxidasas que puede convertir ácido D-láctico a piruvato y peróxido de hidrógeno es producida por *Streptococcus faecalis* ATCC 12755.

Cuando una muestra de prueba que contiene una cantidad desconocida de ácido D-láctico es ensayada utilizando lactato oxidasa, se produce peróxido de hidrógeno en proporción con la cantidad de ácido D-láctico en la muestra de prueba. El peróxido de hidrógeno puede ser detectado por medio de cualquier método conocido y la cantidad desconocida de ácido D-láctico puede ser determinada.

Los métodos conocidos para detectar y/o cuantificar el peróxido de hidrógeno en ensayos generalmente utilizan una composición que contiene una sustancia que tiene actividad peroxidativa, por ejemplo, peroxidasa y sustancias similares a la peroxidasa, y un material que sufre un cambio detectable (generalmente un cambio visible) en presencia de peróxido de hidrógeno y la sustancia peroxidativa. En presencia de peróxido de hidrógeno, la combinación de peróxido o sustancias similares al peróxido y un material compatible que

genera un cambio en el color (tal como un colorante redox) crea un color cuya intensidad puede ser proporcional a la concentración de peróxido de hidrógeno, y por lo tanto la concentración de ácido D-láctico. El nivel de ácido D-láctico de la muestra de prueba puede ser determinado en mg/mL por medio de comparar el color desarrollado con una carta de colores que puede ser suministrada con el kit de prueba de diagnóstico de la presente revelación.

Patentes representativas que describen materiales que pueden ser utilizados en conexión con el peróxido de hidrógeno incluyen las patentes de los Estados Unidos No. 2.912.309; 2.981.606; 3.349.006; 3.092.465; 3.558.435; 3.595.755; 3.627.697; 3.627.698; 3.630.847; 3.654.179; 3.654.180; y 3.853.470, las cuales son incorporadas por referencia en el presente. Ejemplos de diversos sustratos que forman colores de peroxidasa y sustancias similares a la peroxidasa que han sido sugeridos en el estado de la técnica incluyen, entre otros, las siguientes sustancias con un acoplador cuando sea necesario:

- (1) Monoaminas, tales como anilina y sus derivados orto-toluidina, para-toluidina y similares;
- (2) Diaminas, tales como orto-fenilendiamina, N, N'-dimetil-para-fenilendiamina, N, N'-dietil fenilendiamina, bencidina (la cual produce un color azul o marrón), dianisidina (la cual se vuelve verde o marrón), y similares;
- (3) fenoles, tales como fenol (el cual produce un color amarillo), timol, orto-, meta- y para-cresoles (los cuales produce un color verde-amarillo, un color rosado y una suspensión lechosa, respectivamente), alfa-naftol (el cual produce un color magenta), beta-naftol (el cual produce un precipitado blanco), y similares;
- (4) Polifenoles, tales como catecol, guayacol (el cual forma un color naranja), orcinol, pirogalol (el cual produce un color rojizo o amarillo), p, p-dihidroxifenil y floroglucinol;
- (5) Ácidos aromáticos, tales como ácido salicílico, pirocatéquico y gálico;
- (6) Leuco-colorantes, tales como la leucomalaquita verde (para formar verde de malaquita), tetrametilbencidina (TMB), y fenolftaleína en forma leuco (deseablemente empleado en un medio alcalino);
- (7) Tintes coloreados, tales como 2, 6-diclorofenol indofenol;
- (8) Diversas sustancias biológicas, tales como epinefrina, las flavonas, tirosina, dihidroxifenilalanina (la cual produce un color naranja-rojizo) y triptófano;
- (9) Otras sustancias, tales como molibdato de amonio, goma de guayaco, ácido guayacónico, potasio, almidón, yoduro de potasio, sodio (tal como sal sódica de N-(carboximetilaminocarbonilo)-4,4- bis (dimetilamino)-difenilamina), y otros yoduros solubles en agua; y bilirrubina (la cual produce un color verdoso); y
- (10) Aquellos colorantes particulares tales como ácido 2,2'-acino-bis (3-etilben-zotiazolin-6- sulfónico) y 3, 3'-diamonobencidina.

Una peroxidasa es una enzima que catalizará una reacción en donde el peróxido de hidrógeno oxida otra sustancia. Las Peroxidasas son generalmente proteínas conjugadas que contienen porfirina de hierro. La peroxidasa ocurre en rábanos picantes, papas, higueras, savia y nabos (peroxidasa vegetal); en la leche (lactoperoxidasa); y en corpúsculos blancos sanguíneos (verdoperoxidasa); también ocurre en microorganismos y

puede ser producida por medio de fermentación. Ciertas Peroxidasas sintéticas también son satisfactorias para uso en sistemas de detección de peróxido de hidrógeno. También son satisfactorias aquellas sustancias tales como hemina, metahemoglobina, oxihemoglobina, hemoglobina, hemocromógeno, hematina alcalina, derivados de hemina y ciertos otros compuestos que demuestran actividad peroxidativa o similar a la peroxidasa, esto es, la capacidad de catalizar la oxidación de otra sustancia por medio de peróxido de hidrógeno y otros peróxidos.

Otras sustancias que no sea enzimas pero que demuestran actividad peroxidativa son: sulfocianato de hierro, tanato de hierro, ferrocianuro férrico, sales crómicas (tal como sulfato crómico de potasio) absorbido en gel de sílice, y similares.

Haciendo referencia de nuevo a los biomarcadores indicativos de una buena salud vaginal, otro biomarcador que será considerado de acuerdo con la presente revelación es el peróxido de hidrógeno. Los lactobacilos son responsables por la producción de compuestos microbicidas en la vagina tales como ácido láctico, bacteriocinas y peróxido de hidrógeno. Se cree que este último juega un papel especialmente importante en la prevención del crecimiento exagerado de patógenos en la vagina. Los lactobacilos utilizan flavoproteínas que convierten oxígeno a peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno puede inhibir las bacterias, hongos, virus y células de mamíferos debido a que muchas bacterias carecen de una enzima llamada catalasa la cual descompone el peróxido de hidrógeno y las protege de la oxidación por peróxido de hidrógeno. Solo o combinado con haluros y peroxidasas presentes en las secreciones vaginales, el peróxido de hidrógeno también muestra propiedades tóxicas tal como se evidencia de estudios *in vitro* que muestran la muerte de HIV 1, *Gardnerella vaginalis*, *Bacterioides sp.*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Candida albicans*.

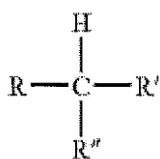
Se cree que las mujeres con vaginosis bacteriana tienen una concentración significativamente baja de peróxido en la vagina. Como tal, el nivel de peróxido de hidrógeno puede ser utilizado como un indicador del estado de la salud. Además, la presencia de la especie *Mobiluncus* y *G. vaginalis*, junto con bajas concentraciones de especies de lactobacilos que producen peróxido han sido relacionadas con el parto prematuro entre las mujeres embarazadas con vaginosis bacterianas. Se ha determinado que la presencia de peróxido de hidrógeno en la vagina en cantidades mayores de alrededor de 1 micromol por litro de una muestra de prueba indica un estado saludable. Por ejemplo, en ciertas incorporaciones, la presencia de peróxido de hidrógeno en la vagina en cantidades mayores de alrededor de 5 micromoles por litro indica un estado saludable. En ciertas incorporaciones, la presencia de peróxido de hidrógeno en la vagina en cantidades mayores de alrededor de 10 micromoles por litro indica un estado saludable y en aún otras incorporaciones, la presencia de peróxido de hidrógeno en la vagina en cantidades mayores de alrededor de 15 micromoles por litro, 20 micromoles por litro, 50 micromoles por litro o 100 micromoles por litro indica un estado saludable.

Métodos conocidos para detectar y/o cuantificar peróxido de hidrógeno en ensayos son descritos con anterioridad en relación con cuando el ácido D-láctico es ensayado utilizando lactato oxidasa, se produce peróxido de hidrógeno en proporción con la cantidad de ácido D-láctico en la muestra de prueba. Otros métodos adecuados para detectar y/o cuantificar el peróxido de hidrógeno presente en la muestra de prueba pueden ser utilizados.

Por ejemplo, el kit de diagnóstico de la presente revelación puede emplear un cromógeno que sea capaz de sufrir un cambio de color detectable en presencia de peróxido de hidrógeno. Sin pretender estar limitados por la teoría, se cree que la oxidación del

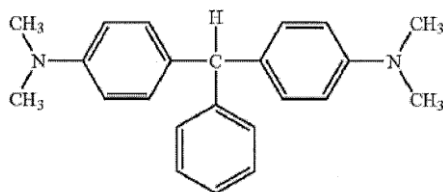
cromógeno induce un desplazamiento de los máximos de absorción hacia el extremo rojo del espectro (“desplazamiento batocrómico”) o hacia el extremo azul del espectro (“desplazamiento hipsocrómico”). El desplazamiento de la absorción proporciona una diferencia en el color que puede ser detectada, ya sea visualmente o a través de instrumentación, para indicarla presencia de peróxido de hidrógeno dentro de la muestra de prueba. Por ejemplo, antes del contacto con la muestra de prueba, el cromógeno puede no tener color o puede tener cierto color. Sin embargo, después de entrar en contacto con la muestra de prueba y de reaccionar con el peróxido de hidrógeno, el cromógeno presenta un color que es diferente a su color inicial. El cambio en el color puede, por lo tanto, ser fácilmente correlacionado con la presencia del peróxido de hidrógeno en la muestra de la prueba.

El cromógeno puede ser una leuco-base, o un derivado de la misma, que es capaz de mostrar un cambio que puede ser detectado en el color después de la oxidación. Por ejemplo, las leuco-bases de arilmetano (por ejemplo, diarilmetanos y triarilmetanos) son cromógenos oxidables particularmente adecuados para uso en la presente revelación. Las leuco-bases de triarilmetano, por ejemplo, tienen la siguiente estructura general:

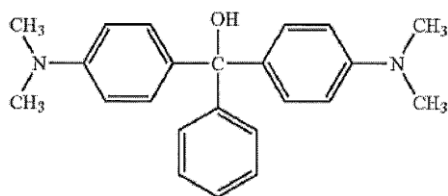


En donde R, R' y R'' son seleccionados independientemente de grupos arilo sustituidos y no sustituidos, tales como fenilo, naftilo, antracenilo, etc. Los grupos arilo pueden estar sustituidos con grupos funcionales, tales como amino, hidroxilo, carbonilo, carboxilo, sulfónico, alquilo, y/o otros grupos funcionales conocidos. Ejemplos de tales leuco-bases de triarilmetano incluyen leucomalaquita verde, base de pararosnilina, lactona violeta cristal, leuco cristal violeta, violeta cristal, CI Violeta Básica 1, CI Violeta Básica 2, CI Azul Básico, CI Azul Victoria, N-benzoil leuco-metileno, etc. De igual manera, leuco-bases de diarilmetano pueden incluir 4,4'-bis (dimetilamino) bencidrol (también conocido como "hidrol de Michler"), leucobenzotriazol de hidrol de Michler, leucomorfolina de hidrol de Michler, leucobencenosulfonamida de hidrol de Michler, etc. Además de las leuco-bases de arilmetano, otros cromógenos que pueden presentar un cambio de color detectable en presencia de peróxido de hidrógeno se encuentran descritos en la patente de los Estados Unidos No. 4.089.747 de Bruschi, la cual es incorporada al presente en su totalidad como referencia para todos los fines.

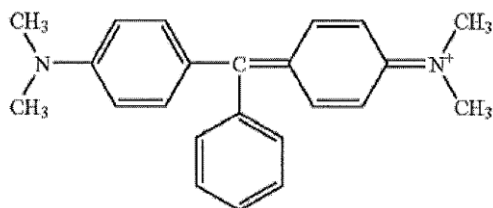
En una incorporación particular, el cromógeno es leucomalaquita verde (o un análogo de la misma), el cual es generalmente sin color y tiene la siguiente estructura:



Después de la oxidación con peróxido de hidrógeno, la leucomalaquita verde forma carbinol de verde de malaquita (Solvente Verde 1), el cual tiene la siguiente estructura:



La forma carbinol de leucomalaquita verde también carece de color. Sin embargo, bajo condiciones ácidas, uno o más grupos libres de amino del carbinol de leucomalaquita verde pueden ser protonados para formar verde de malaquita (también conocido como anilina verde, verde básico 4, verde diamante B, o verde victoria B), el cual es verde en color y tiene la siguiente estructura:



El peróxido de hidrógeno liberado por la oxidación catalizada por enzimas del analito puede inducir directamente un cambio de color en el cromógeno tal como se describió con anterioridad. Debido a que el peróxido de hidrógeno tiene un potencial de oxidación relativamente bajo para ciertos cromógenos, sin embargo, es muchas veces difícil detectar el cambio de color (por ejemplo, de manera visible) cuando el peróxido es liberado en bajas concentraciones (por ejemplo, menos de 5% en peso de la muestra de prueba). En este sentido, un donante de electrones puede opcionalmente ser empleado para hacer reaccionar el peróxido de hidrógeno y producir un compuesto intermedio que tenga un potencial de oxidación mayor para el cromógeno que el peróxido de hidrógeno. Una variedad de donantes de electrones conocidos puede ser empleada para este fin. En una incorporación, por ejemplo, una cantidad en exceso de iones de yoduro (I^-) en una solución acuosa puede reaccionar con peróxido de hidrógeno para formar iones de triyoduro (I_3^-), los cuales tienen un mayor potencial de oxidación que el peróxido de hidrógeno. Fuentes ejemplares de yoduro iónico incluyen yoduro de hidrógeno (HI) y sales de yoduro solubles en agua, tales como sales de yoduro de metal alcalino (por ejemplo, yoduro de potasio (KI), yoduro de sodio (NaI), yoduro de litio), yoduro de amonio (NH_4I), yoduro de calcio (CaI_2), etc.). Otros donantes de electrones adecuados pueden incluir una fuente de iones tiocianato, tales como tiocianato de sodio, tiocianato de potasio, tiocianato de amonio, y otras sales de tiocianato. Metales, tales como hierro (II), también pueden ser utilizados como donantes de electrones. Por ejemplo, el reactivo de Fenton es una solución que se forma por medio de la reacción de hierro (II) y peróxido de hidrógeno. Esto es, el hierro (II) es oxidado al hierro (III) por medio del peróxido de hidrógeno para formar un radical hidroxilo y un anión hidroxilo. El hierro (III) es luego reducido de vuelta a hierro (II) por medio del mismo peróxido de hidrógeno a un radical de peróxido y un protón. El reactivo resultante tiene un fuerte potencial de oxidación para el cromógeno. Aún otros donantes de electrones adecuados son descritos en la publicación de la solicitud de patente de los Estados Unidos No. 2002/0119136 de Johansen, la cual es incorporada al presente en su totalidad como referencia para todos los fines.

Aunque el donante de electrones puede proporcionar compuestos intermedios con un alto potencial de oxidación, la concentración de dichos compuestos puede sin embargo ser demasiado baja en algunos casos para producir el deseado cambio en el color en el cromógeno. Por ejemplo, altas concentraciones de un ión de triyoduro pueden dar como

resultado un color (por ejemplo, marrón dorado) que es visible al ojo humano. Sin embargo, en la medida en que la concentración disminuye, el color se vuelve menos aparente. Así, un revelador de color puede ser empleado para que forme un complejo con el compuesto intermedio (por ejemplo, iones de triyoduro) para formar un color más intenso. Un ejemplo particular de dicho revelador de color es el almidón, el cual abarca tanto el almidón natural como los derivados modificados, tales como almidón dextrinado, hidrolizado, alquilado, hidroxialquilado, acetilado, o fraccionado. Los almidones son generalmente formados a partir de dos polisacáridos estructuralmente distintivos, esto es, alfa-amilosa y amilopectina, ambas de las cuales están compuestas por unidades de alfa-D-glucopiranosas. Los almidones pueden tener o ser derivadas de cualquier origen, tal como almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de papa, almidón de tapioca, almidón de sagú, almidón de arroz, almidón de maíz ceroso o almidón de maíz de alta amilosa. Cuando se usa junto con una fuente de yoduro, tal como se describió anteriormente, la porción de alfa-amilosa del almidón puede atraparse o ligarse al ion de triyoduro para formar un complejo de ion de triyoduro que sea soluble en agua y tenga un intenso color azul.

La medida en la cual el donante de electrones y/o el revelador de color faciliten el cambio de color deseado depende en parte de su concentración. Esto es, una concentración demasiado grande de uno o más de estos componentes puede desbordar el cromógeno y sofocar la reacción de oxidación. Por otro lado, una concentración muy baja puede no realzar el potencial de oxidación a la medida deseada. En este sentido, el donante de electrones (por ejemplo, una fuente de yoduro) puede ser empleado en una cantidad de alrededor de 0.01 a alrededor de 2.000 milimoles ("mM"), en algunas incorporaciones de alrededor de 0.1 a alrededor de 1.000 mM, y en algunas incorporaciones, de alrededor de 1 a alrededor de 100 mM por litro de la muestra de prueba. El revelador de color (por ejemplo, almidón) puede de igual manera ser utilizado en una cantidad de alrededor de 0.001 a alrededor de 10% en peso, en algunas incorporaciones de alrededor de 0.01 a alrededor de 5% en peso, y en algunas incorporaciones, alrededor de 0.1 a alrededor de 2% en peso con base en el peso de la muestra de prueba.

Para lograr el deseado cambio de color de acuerdo con la presente revelación, el cromógeno es aplicado a un medio de reacción de una manera tal que no se difunda sustancialmente a través de la matriz del medio (esto es, inmovilizado de manera no difusiva). Esto le permite al usuario detectar fácilmente el cambio en el color que ocurre después de la oxidación del cromógeno. Por ejemplo, una solución que contenga el cromógeno puede inicialmente ser aplicada al medio de reacción dentro de una zona de detección. La solución cromogénica puede contener un solvente acuoso y/o no acuoso dependiendo del material utilizado para formar el medio cromatográfico. Solventes no acuosos adecuados pueden incluir glicoles (por ejemplo, propilenglicol, butilenglicol, trietilenglicol, hexilenglicol, polietilenglicoles, etoxidiglicol, y dipropilenglicol); alcoholes (por ejemplo, metanol, etanol, n-propanol e isopropanol); triglicéridos; acetato de etilo; acetona; triacetina; acetonitrilo, tetrahidrofurano; silenos; formaldehídos (por ejemplo, dimetilformamida); etc. La cantidad del solvente y cromógeno en la solución puede generalmente variar con base en el nivel deseado de sensibilidad. Por ejemplo, en algunas incorporaciones, el cromógeno puede estar presente en una concentración de alrededor de 0.1 a alrededor de 100 miligramos por mililitro de solvente, en algunas incorporaciones de alrededor de 0.5 a alrededor de 60 miligramos por mililitro de solvente, y en algunas incorporaciones de alrededor de 1 a alrededor de 40 miligramos por mililitro de solvente.

Independientemente, la solución puede ser secada para remover el solvente y dejar un residuo del cromógeno en el medio. El cromógeno generalmente permanecerá dentro de la

zona de detección hasta que sea contactado con la muestra de prueba de fluidos. Debido a que el cromógeno es soluble en agua, sin embargo, normalmente se disolvería y fluiría con la muestra de prueba a menos que sea inmovilizado de otra manera. Así, de acuerdo con la presente invención, el cromógeno es sustancialmente inmovilizado de manera no difusiva dentro de la zona de detección junto con un compuesto aniónico, esto es, un compuesto que contiene uno o más aniones o que es capaz de formar uno o más iones en la solución. Dichos compuestos aniónicos pueden facilitar la inmovilización del cromógeno en una variedad de formas. Por ejemplo, los compuestos aniónicos también pueden aumentar la carga del cromógeno para que forme un enlace iónico con uno o más grupos funcionales presentes en la superficie del medio cromatográfico. Además, ciertos compuestos aniónicos (por ejemplo, los ácidos) pueden formar un precipitado sustancialmente insoluble en agua cuando reaccionan con una leuco-base o un derivado de la misma (por ejemplo, una leuco-base protonada). Por supuesto, el compuesto aniónico también puede proporcionar una variedad de otros beneficios. Por ejemplo, una pequeña cantidad del cromógeno puede sufrir a una reacción de oxidación si se deja al aire o en otro medio ambiente oxidante durante un periodo de tiempo demasiado largo. Esto puede llevar a un cambio en el color que afectaría de manera adversa la capacidad de determinar de manera semi-cuantitativa o cuantitativa la presencia del peróxido de hidrógeno. El compuesto aniónico puede ayudar a proteger el cromógeno de la oxidación inadvertida.

La selección del compuesto aniónico depende de una variedad de factores, incluyendo la naturaleza del cromógeno y su concentración. Compuestos aniónicos adecuados para uso en la presente revelación pueden incluir, por ejemplo, ácidos inorgánicos, tales como ácido clorhídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido polifosfórico, ácido bórico, ácido borónico, etc.; ácidos orgánicos, incluyendo ácidos carboxílicos, tales como ácido acrílico, ácido metacrílico, ácido malónico, ácido succínico, ácido salicílico, ácido sulfosalicílico, ácido adípico, ácido maleico, ácido málico, ácido oleico, ácido gálico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido fórmico, ácido acético, ácido glicólico, ácido oxálico, ácido propiónico, ácido ftálico, ácido isoftálico, ácido glutárico, ácido glucónico, ácido láctico, ácido aspártico, ácido glutámico, ácido itacónico, ácido trifluoroacético, ácido barbitúrico, ácido cinámico, ácido benzoico, ácido 4-hidroxibenzoico, ácido aminobenzoico, etc.; ácidos sulfónicos, tales como ácido metanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido toluenosulfónico, ácido trifluorometanosulfónico, ácido estirenosulfónico, ácido naftaleno disulfónico, ácido hidroxibencenosulfónico, etc.; ácidos poliméricos, tales como ácido poli (acrílico) o poli (metacrílico) y copolímeros de los mismos (por ejemplo, copolímeros maleico-acrílico, sulfónico-acrílico, y estireno-acrílico), ácido carragenina, carboximetilcelulosa, ácido algínico, etc., y así sucesivamente. Los anhídridos (por ejemplo, anhídrido maleico) y las sales de los ácidos mencionados anteriormente también se pueden emplear. Las sales pueden estar en la forma de sales de metales, tales como sales de sodio, sales de potasio, sales de calcio, sales de cesio, sales de zinc, sales de cobre, sales de hierro, sales de aluminio, sales de zirconio, sales de lantano, sales de itrio, sales de magnesio, sales de estroncio, sales de cerio), o sales preparadas por medio de hacer reaccionar los ácidos con aminas (por ejemplo, amoníaco, trietilamina, tributilamina, piperazina, 2-metilpiperzina, polialilamina).

El grado en el cual el cromógeno es inmovilizado puede depender de la concentración del compuesto aniónico. Por ejemplo, la concentración del compuesto aniónico en la solución cromogénica puede ser desde alrededor de 0.1 a alrededor de 20 milimoles por litro ("mM"), en algunas incorporaciones de alrededor de 1 mM a alrededor de 10 mM, y en algunas incorporaciones, de alrededor de 2 mM a alrededor de 8 mM.

De acuerdo con la presente revelación, el tiempo de reacción deseado entre los reactivos (por ejemplo, enzima, peróxido de hidrógeno, donante de electrones, revelador de color, etc.) puede ser logrado por medio de controlar de manera selectiva el medio en el cual ocurren las reacciones. Esto es, el medio de reacción es de carácter cromatográfico de tal manera que el peróxido de hidrógeno y/o a otros reactivos se les permite fluir lateralmente de una manera consistente y controlable. Mientras que fluye lateralmente a través del medio, el peróxido de hidrógeno oxida el cromógeno, el cual está contenido dentro de una zona de detección discreta para análisis. Debido a la naturaleza del flujo controlado de fluido, cualquier reactivo que no haya reaccionado viaja al extremo del medio de reacción de tal manera que no puede interferir de manera adversa con la observancia del cromógeno dentro de la zona de detección.

Haciendo referencia a la Figura 1, por ejemplo, una incorporación de un dispositivo de ensayo 20 que puede ser utilizado en al presente invención será ahora descrito con más detalle. Tal como se muestra, el dispositivo de muestra 20 contiene un medio cromatográfico 23 opcionalmente portado por un soporte 21. El medio cromatográfico 23 puede estar hecho a partir de cualquiera de una variedad de materiales a través del cual un fluido es capaz de pasar, tal como un canal de fluidos, una membrana porosa, etc. Por ejemplo, el medio cromatográfico 23 puede ser una membrana porosa formada de materiales tales como, por no limitados a, materiales naturales, sintéticos o de ocurrencia natural que son modificados sintéticamente, tales como polisacáridos (por ejemplo, materiales de celulosa tales como papel y derivados de celulosa, tales como acetato de celulosa y nitrocelulosa); polietersulfona; polietileno; nylon; polivinilidenofluoruro (PVDF); poliéster; polipropileno; sílice; materiales inorgánicos, tales como alúmina desactivada, tierra de diatomeas, $MgSO_4$, u otro material inorgánico finamente dividido uniformemente dispersado en una matriz polimérica porosa, con polímeros tales como cloruro de vinilo, copolímero vinílico de cloruro-propileno, y copolímero vinílico de acetato de cloruro de vinilo; tela, tanto de origen natural (por ejemplo, algodón) como sintética (por ejemplo, nylon o rayón); geles porosos, tales como gel de sílice, agarosa, dextrano, y gelatina; películas poliméricas, tales como poliacrilamida; y así sucesivamente. En una incorporación particular, el medio cromatográfico es formado a partir de nitrocelulosa y/o materiales de poliéter sulfona. Debe entenderse que el término "nitrocelulosa" se refiere a ésteres de ácido nítrico de celulosa, que pueden ser nitrocelulosa sola o un éster mixto de ácido nítrico y otros ácidos, tales como ácidos carboxílicos alifáticos que tienen de 1 a 7 átomos de carbono.

El soporte 21 puede estar formado a partir de cualquier material capaz de portar el medio cromatográfico 23. Aunque no se requiere, el soporte 21 puede ser transparente para que la luz pase fácilmente a través del mismo. Además, es también deseable de manera general que el soporte 21 sea impermeable al líquido de tal manera que el fluido que fluye a través del medio no se filtre a través del soporte 21. Ejemplos de materiales adecuados para el soporte incluyen, pero no están limitados a, vidrio; materiales poliméricos, tales como poliestireno, polipropileno, poliéster (por ejemplo, película Mylar®), polibutadieno, polivinilcloruro, poliamida, policarbonato, epóxidos, metacrilatos, y polimelamina; y así sucesivamente. Tal como es bien conocido en la técnica, el medio cromatográfico 23 puede ser moldeado sobre el soporte 21, en donde el laminado resultante puede ser troquelado al tamaño y la forma deseados. De manera alternativa, el medio cromatográfico 23 puede simplemente ser laminado al soporte 21 con, por ejemplo, un adhesivo. En algunas incorporaciones, una membrana porosa de nitrocelulosa o de nylon es adherida a una película Mylar®. Un adhesivo es utilizado para unir la membrana porosa a la película Mylar®, tal

como un adhesivo sensible a la presión. Se cree que las estructuras laminadas de este tipo se encuentran comercialmente disponibles de Millipore Corp. de Bedford, Massachusetts. Aún otros ejemplos de estructuras laminadas adecuadas se encuentran descritos en la patente de los Estados Unidos No. 5.075.077 de Durley, III y otros, la cual es incorporada en el presente en su totalidad como referencia para todos los fines.

El dispositivo de ensayo 20 también puede contener un material absorbente 28. El material absorbente 28 generalmente recibe fluido que ha migrado a través de la totalidad del medio cromatográfico 23. Tal como es bien conocido en la técnica, el material absorbente 28 puede ayudar a promover la acción capilar y el flujo del fluido a través del medio 23.

El dispositivo de ensayo 20 también puede incluir una almohadilla de muestra 22 u otro material que esté en comunicación fluida con el medio cromatográfico 23. Algunos materiales adecuados que pueden ser utilizados para formar la almohadilla de muestra 22 incluyen, pero no están limitados a, nitrocelulosa, celulosa, almohadillas de polietileno poroso, y papel de filtro de fibra de vidrio. Si se desea, la almohadilla de muestra 22 puede contener uno o más reactivos para el tratamiento previo en el ensayo, anexo a la misma ya sea de manera difusiva o no difusiva.

Hablando en términos generales, la manera en la cual el dispositivo de ensayo 20 funciona puede depender del tipo de especies seleccionadas para los complejos reactivos. En este sentido, diversas técnicas para utilizar el dispositivo de ensayo 20 serán ahora descritas en más detalle. Por ejemplo, tal como se indicó anteriormente, a los complejos reactivos generalmente se les permite incubarse con la muestra de prueba durante un cierto periodo de tiempo. Este proceso de incubación puede ser llevado a cabo antes de aplicar la muestra de prueba al medio cromatográfico 23, o puede ser incorporado como parte del procedimiento de ensayo (esto es, la incubación ocurre después de que la muestra de prueba haya sido aplicada, tal como en un pocillo de incubación). Por ejemplo, la mezcla de incubación puede ser aplicada directamente a una porción del medio cromatográfico 23 a través del cual puede luego viajar en la dirección ilustrada por la flecha "L" en la Figura 1. De manera alternativa, la mezcla puede primero ser aplicada a la almohadilla de la muestra 22.

Independientemente, el medio cromatográfico 23 define una primera zona de detección 31 dentro de la cual la presencia y la cantidad de ácido D-láctico pueden ser determinadas. La primera zona de detección 31 puede generalmente suministrar cualquier número de regiones de detección distintas de tal manera que el usuario puede determinar de una mejor manera la concentración de ácido D-láctico dentro de una muestra de prueba. Por ejemplo, la primera zona de detección 31 puede incluir dos o más regiones de detección distintas (por ejemplo, líneas, puntos, etc.). El uso de dos o más regiones de detección distintas puede proporcionar ciertos beneficios, tales como facilitar la semi-cuantificación. Las regiones de detección pueden estar colocadas en la forma de líneas en una dirección sustancialmente perpendicular al flujo de la muestra de prueba a través del medio cromatográfico 23. De manera similar, en algunas incorporaciones, las regiones de detección pueden estar colocadas en la forma de líneas en una dirección sustancialmente paralela al flujo de la muestra de prueba a través del medio cromatográfico 23. Debe entenderse que una o más regiones distintas de la primera zona de detección 31 pueden presentar la relación descrita anteriormente entre la intensidad de la señal y la concentración de ácido D-láctico; sin embargo, cada región distinta no necesita presentar dicha relación.

Dentro de la segunda zona de detección 35, la presencia y cantidad del peróxido de hidrógeno pueden ser determinadas. La segunda zona de detección 35 puede ser similar a la

primera zona de detección 31 excepto por la capacidad de detectar peróxido de hidrógeno. Sin embargo, tal como se discutió anteriormente, la detección de ácido D-láctico en la primera zona de detección 31 puede ser lograda por medio de un ensayo utilizando D-lactato oxidasa, la cual también crea peróxido de hidrógeno. En dichas incorporaciones, las zonas de detección pueden mantenerse separadas para permitir el cálculo exacto de los respectivos biomarcadores.

Aún una tercera zona de detección 61 puede estar presente, la cual puede servir como un control, si se desea, para una o más de las zonas anteriores y los biomarcadores que están siendo probados.

Después del procedimiento de ensayo, la primera zona de detección 31 y la segunda zona de detección 35 pueden ser analizadas, ya sea de manera cualitativa (por ejemplo, observación visual), o semi-cuantitativamente o cuantitativamente (por ejemplo, utilizando instrumentación), para detectar la presencia o la intensidad de una señal respectiva. Dependiendo de la naturaleza de los informantes y del colorante crómico utilizado, se pueden emplear las mismas o diferentes técnicas de detección para la primera zona de detección 31 y la segunda zona de detección 35.

En ciertas incorporaciones, las zonas de detección del presente dispositivo tienen una sensibilidad que permite la detección de concentraciones relativamente pequeñas de los biomarcadores que están siendo detectados. Por ejemplo, en ciertas incorporaciones, la primera zona de detección 31 está configurada para tener una sensibilidad tal que es capaz de detectar por lo menos alrededor de 1 milimol por litro de ácido D-láctico. En aún otras incorporaciones, la primera zona de detección 31 está configurada para tener una sensibilidad tal que es capaz de detectar por lo menos alrededor de 5 milimoles por litro de ácido D-láctico, y en aún otras incorporaciones, 10 milimoles por litro de ácido D-láctico. En ciertas incorporaciones, la primera zona de detección 31 está configurada para tener una sensibilidad tal que es capaz de detectar por lo menos alrededor de 1 milimol por litro a por lo menos 100 milimoles por litro de ácido D-láctico.

De manera similar, en ciertas incorporaciones, la segunda zona de detección 35 está configurada para tener una sensibilidad tal que es capaz de detectar por lo menos alrededor de 0.5 micromoles por litro de peróxido de hidrógeno. En aún otras incorporaciones, la segunda zona de detección 35 está configurada para tener una sensibilidad tal que es capaz de detectar por lo menos alrededor de 1 micromol por litro de peróxido de hidrógeno, y en aún otras incorporaciones, 5 micromoles por litro de peróxido de hidrógeno. En ciertas incorporaciones, la segunda zona de detección 35 está configurada para tener una sensibilidad tal que es capaz de detectar por lo menos alrededor de 1 micromol por litro a por lo menos 100 micromoles por litro de peróxido de hidrógeno.

La presente invención proporciona un dispositivo relativamente simple, compacto y rentable para detectar con exactitud ácido D-láctico y/o peróxido de hidrógeno dentro de una muestra de prueba (por ejemplo, fluido vaginal). De esta manera, por ejemplo, el fluido vaginal puede ser probado en un único paso para detectar los biomarcadores de una buena salud vaginal. El resultado de la prueba puede ser visible para que sea fácilmente observado por la persona que está llevando a cabo la prueba de una manera rápida y bajo condiciones de la prueba que conducen a resultados confiables y consistentes de la prueba. En caso de que la prueba indique que la salud vaginal no es óptima, la prueba puede opcionalmente proporcionar pasos que la mujer puede tomar para mejorar la salud vaginal. El dispositivo puede luego ser descartado como una unidad cuando la prueba haya concluido. Dicha técnica de detección de un único paso tiene una variedad de beneficios. Por ejemplo, tal

como se discutió anteriormente, una prueba recurrente de salud vaginal puede ayudar a prevenir vaginosis bacteriana o por lo menos alertar a una mujer sobre la aparición de la misma.

De acuerdo con la presente revelación, uno o más dispositivos descritos en el presente pueden estar integrados en un artículo absorbente. Un “artículo absorbente” generalmente hace referencia a un artículo capaz de absorber fluidos. Ejemplos de algunos artículos absorbentes incluyen, pero no se limitan a, artículos absorbentes desechables tales como toallas higiénicas, protectores diarios, prendas de incontinencia para adultos, pañales, vendajes médicos y tampones tales como aquellos destinados a uso médico en donde una prueba recurrente de salud vaginal sería beneficiosa. Tal como se utiliza en el presente, la frase “artículo absorbente” generalmente se refiere a dispositivos que absorben y contienen fluidos corporales, y más específicamente, hace referencia a dispositivos que son colocados contra o cerca a la piel para absorber y contener los diversos fluidos descargados por el cuerpo. El término “desechable” es utilizado en el presente para describir artículos absorbentes que no pretenden ser lavados o restaurados o reutilizados de otra manera como un artículo absorbente después de un único uso.

Los tampones catameniales adecuados para uso con la presente invención son típicamente hechos de fibras absorbentes, incluyendo fibras naturales y sintéticas, comprimidas en un cuerpo unitario de un tamaño que puede ser fácilmente insertado en la cavidad vaginal. Fibras adecuadas incluyen, por ejemplo, fibras celulósicas tales como algodón o rayón. Las fibras pueden ser 100% algodón, 100% rayón, una mezcla de algodón y rayón, u otros materiales conocidos por ser adecuados para uso en tampones.

Los tampones catameniales están típicamente hechos en una forma cilíndrica alargada con el fin de que puedan tener un cuerpo de material suficientemente grande para proporcionar la capacidad de absorción requerida, pero pueden estar hechos en una variedad de formas. El tampón puede o no estar comprimido, aunque los tipos comprimidos son ahora generalmente preferidos. El tampón puede estar hecho de diversas mezclas de fibras incluyendo fibras absorbentes y no absorbentes, que pueden o no tener una cubierta o envoltorio adecuado. Métodos y materiales adecuados para la producción de tampones son bien conocidos por aquellos versados en la materia.

Los materiales y los procesos adecuados para formar los artículos absorbentes descritos en el presente son bien conocidos por aquellos versados en la materia. Típicamente, los artículos absorbentes incluyen una capa sustancialmente impermeable a los líquidos (por ejemplo, una cubierta externa), una capa permeable a los líquidos (por ejemplo, un revestimiento del lado del cuerpo, una capa de aumento, etc.) y un núcleo absorbente.

Aunque la invención ha sido descrita en detalle con respecto a las incorporaciones específicas de la misma, será apreciado que aquellos versados en la materia, después de alcanzar un entendimiento de lo anterior, pueden fácilmente concebir alteraciones, variaciones y equivalentes de estas incorporaciones. Por lo tanto, el alcance de la presente invención debe ser valorado como aquel de las reivindicaciones anexas y cualquier equivalente de las mismas.

LO QUE SE REIVINDICA ES:

1. Un kit de diagnóstico para biomarcadores de salud vaginal benéfica, el cual comprende:

Una primera zona de detección dentro de la cual una señal de detección de ácido D- láctico es capaz de ser generada, en donde la presencia o cantidad de ácido D- láctico es determinable a partir de la señal de detección de ácido D-láctico; y

Una segunda zona de detección dentro de la cual una señal de peróxido de hidrógeno es capaz de ser generada, en donde la presencia o cantidad de peróxido de hidrógeno es determinable a partir de la señal de detección de peróxido de hidrógeno.

2. Un kit de prueba de diagnóstico según se define en la reivindicación 1, en donde la señal de detección de ácido D-láctico es una carga de color.

3. Un kit de prueba de diagnóstico según se define en la reivindicación 1, en donde la señal de detección de peróxido de hidrógeno es una carga de color.

4. Un kit de prueba de diagnóstico según se define en la reivindicación 1, en donde la primera zona de detección está presente en un medio cromatográfico.

5. Un kit de prueba de diagnóstico según se define en la reivindicación 1, en donde la segunda zona de detección está presente en un medio cromatográfico.

6. Un kit de prueba de diagnóstico según se define en la reivindicación 1, en donde la primera zona de detección comprende D-lactato deshidrogenasa.

7. Un kit de prueba de diagnóstico según se define en la reivindicación 6, en donde la primera zona de detección además comprende diaforasa.

8. Un kit de prueba de diagnóstico según se define en la reivindicación 1, en donde la primera zona de detección comprende D-lactato oxidasa.

9. Un kit de prueba de diagnóstico según se define en la reivindicación 1, en donde la primera zona de detección comprende un colorante redox.

10. Un kit de prueba de diagnóstico según se define en la reivindicación 1, en donde la segunda zona de detección comprende peroxidasa.

11. Un kit de prueba de diagnóstico según se define en la reivindicación 1, en donde la segunda zona de detección comprende un colorante redox.

12. Un kit de prueba de diagnóstico según se define en la reivindicación 1, en donde el kit de prueba de diagnóstico está colocado en un artículo absorbente.

13. Un método para detectar biomarcadores de salud vaginal benéfica, el cual comprende:

i) poner en contacto una muestra de prueba con un kit de prueba que comprende una primera zona de detección dentro de la cual una señal de detección de ácido D- láctico es capaz de ser generada, en donde la presencia o cantidad de ácido D- láctico es determinable a partir de la señal de detección de ácido D-láctico, y una segunda zona de detección dentro de la cual una señal de peróxido de hidrógeno es capaz de ser generada, en donde la presencia o cantidad de peróxido de hidrógeno es determinable a partir de la señal de detección de peróxido de hidrógeno;

ii) determinar la presencia o cantidad de ácido D-láctico a partir de la señal de detección de ácido D-láctico; y

iii) determinar la presencia o cantidad de peróxido de hidrógeno a partir de la señal de detección de peróxido de hidrógeno.

14. Un método según se define en la reivindicación 13, en donde la señal de detección de ácido D-láctico es una carga de color.

15. Un método según se define en la reivindicación 13, en donde la señal de detección de peróxido de hidrógeno es una carga de color.

16. Un método según se define en la reivindicación 13, en donde la primera zona de detección está presente en un medio cromatográfico.

17. Un método según se define en la reivindicación 13, en donde la segunda zona de detección está presente en un medio cromatográfico.

18. Un método según se define en la reivindicación 13, en donde la primera zona de detección comprende D-lactato deshidrogenasa.

19. Un método según se define en la reivindicación 19, en donde la primera zona de detección además comprende diaforasa.

20. Un método según se define en la reivindicación 13, en donde la primera zona de detección comprende D-lactato oxidasa.