

(19)



Bureau voor de
Industriële Eigendom
Nederland

(11) **1008254**

(12) **C OCTROOI**²⁰

(21) Aanvraag om octrooi: **1008254**

(51) Int.Cl.⁶
G01N1/20, G01N33/52

(22) Ingediend: **10.02.98**

(30) Voorrang:
14.02.97 GB 9703094

(73) Octrooihouder(s):
Unilever N.V. te Rotterdam.

(41) Ingeschreven:
18.08.98 I.E. 98/10

(72) Uitvinder(s):
Keith May te Bromham (GB)

(47) Dagtekening:
09.03.99

(74) Gemachtigde:
Dr. C.W.R. Mulder c.s. te 3130 AC Vlaardingen.

(45) Uitgegeven:
03.05.99 I.E. 99/05

(54) **Testinrichtingen.**

(57) Een testinrichting omvat een samengestelde strip die ten minste twee lichamen van poreus vloeistofgeleidend materiaal in vloeistofstroom-contact met elkaar via een tussenvlak en tezamen ten minste een deel van een stroombaan voor een vloeistof definiërend, waardoor vloeistof tijdens de werking van een test moet stromen, omvat, waarbij bij het tussenvlak de breedte-afmeting, ten opzichte van de richting van de stroombaan voor de vloeistof, van het contactoppervlak van het bovenstroomse lichaam zodanig vernauwd is, dat de vloeistofstroom vanaf het bovenstroomse lichaam naar het benedenstroomse lichaam naar de middellijn van de stroombaan in het benedenstroomse lichaam gefocusseerd is, waarbij de waarschijnlijkheid wordt verkleind dat vloeistof van de beoogde stroombaan zal afwijken. Het bovenstroomse lichaam kan een monster-opnemende kous, die bij het tussenvlak eindigt als een punt of neus (figuur 7), zijn.

NL C 1008254

De inhoud van dit octrooi komt overeen met de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekeningen.

Testinrichtingen.

5

Gebied van de uitvinding

De onderhavige uitvinding heeft betrekking op testinrichtingen en in het bijzonder op dergelijke inrichtingen
10 waarbij vloeistof langs een stroombaan in poreus materiaal beweegt.

Achtergrond van de uitvinding

Vele eenvoudige en geschikte testinrichtingen zijn
15 thans beschikbaar, die een strip of film van poreus materiaal omvatten waardoor een monstervloeistof beweegt en een gemerkt specifiek bindend reagens meevoert naar een testzone waarin het testresultaat bekend wordt. Naar dergelijke inrichtingen wordt wel verwezen als "immuno-chromatografische"
20 sche" inrichtingen, hoewel het specifiek bindende reagens niet noodzakelijkerwijs immunochemisch in de meest strikte betekenis hoeft te zijn. Voorbeelden van dergelijke inrichtingen zijn beschreven in EP 0.186.799, EP 0.291.194 en EP 0.283.619.

25 In een gebruikelijke inrichting wordt de monstervloeistof aan één einde van een gedefinieerde stroombaan voor vloeistof opgebracht. Gewoonlijk wordt de monstervloeistof opgenomen door een fysisch onderscheiden lichaam van poreus materiaal, waarbij de monstervloeistof tijdens
30 het testverloop van dit eerste lichaam naar een of meer andere in serie opgestelde poreuze lichamen moet stromen. Gewoonlijk hebben de achtereenvolgende poreuze lichamen verschillende kenmerken, zoals porositeit en samenstelling. Gewoonlijk moet er, om de test efficiënt te laten werken,
35 een ongehinderde stroom van de monstervloeistof van het ene naar het volgende lichaam zijn. Gewoonlijk bevinden de

poreuze lichamen zich, al of niet geheel, in een beschermhuis dat bijvoorbeeld uit kunststofmateriaal vervaardigd is. Onvermijdelijk bestaat er ten minste gedeeltelijk contact tussen een of meer inwendige oppervlakken van het huis en een of meer poreuze lichamen. In de serie kunnen de poreuze lichamen vast met elkaar verbonden zijn door op een gemeenschappelijke drager vastgezet te zijn, door bijvoorbeeld op een enkelvoudige steunstrip gelamineerd te zijn. Als alternatief kunnen aangrenzende lichamen in een geschikt contact gehouden worden, doordat ze louter in het huis ingeklemd zijn.

Gewoonlijk stroomt de monstervloeistof door de inrichting door capillaire werking. Het is de bedoeling dat door de poreuze aard van de bestanddelen van de strip wordt verzekerd dat de vloeistof slechts door deze bestanddelen en niet op andere plaatsen in de inrichting stroomt. In een typische inrichting, in het bijzonder een inrichting met een beschermhuis, kunnen zich evenwel gelegenheden voordoen waarbij de vloeistof alternatieve stroombanen vindt, die bijvoorbeeld gevormd zijn door het nauwe contact tussen het binnenoppervlak van het huis en de buitenkant van een van de poreuze bestanddelen. Deze neiging om af te wijken van de bedoelde stroombaan kan verergeren indien een gebruiker van de inrichting een te groot monstervolume op de inrichting aanbrengt. Onder dergelijke omstandigheden kan de neiging bestaan dat de inrichting "overstroomt". Een dergelijke overstroming kan veroorzaken dat een aanzienlijke relatieve hoeveelheid van de monstervloeistof in de inrichting aan een kritiek stadium in de beoogde stroombaan voorbijgaat. Een bepaalde hoeveelheid vloeistof kan bijvoorbeeld een testzone bereiken zonder een of meer reagentia, zoals een mobiliseerbaar gemerkt reagens, tegen te komen, die doelbewust in de beoogde stroombaan geplaatst zijn. Een overstroming kan derhalve tot een foutief testresultaat of ten minste tot verlies van gevoeligheid van de test leiden.

Een doel van de onderhavige uitvinding is te voorzien in testinrichtingen waarbij de waarschijnlijkheid dat de monstervloeistof van een beoogde stroombaan afwijkt, verkleind is.

5

Algemene beschrijving van de uitvinding

De uitvinding voorziet in een testinrichting waarin een samengestelde strip is opgenomen die ten minste twee lichamen van een poreus vloeistof-geleidend materiaal in
10 vloeistofstroom-contact met elkaar via een tussenvlak omvat, die tezamen ten minste een gedeelte van een stroombaan voor een vloeistof definiëren waardoor tijdens het uitvoeren van een test een vloeistof moet stromen, waarbij bij het tussenvlak de breedte-afmeting, ten opzichte van de
15 richting van de stroombaan voor de vloeistof, van het contactoppervlak van het bovenstroomse lichaam vernauwd is, opdat de vloeistofstroom van het bovenstroomse lichaam naar het benedenstroomse lichaam naar de middellijn van de stroombaan in het benedenstroomse lichaam gefocusseerd
20 wordt. Bij voorkeur vormt het vernauwde gedeelte van het bovenstroomse lichaam een punt of neus. Het bovenstroomse lichaam kan een monster ontvangend deel of kous zijn.

De lichamen van poreus materiaal kunnen ten minste gedeeltelijk aanwezig zijn in een hol huis dat uit een vast
25 materiaal dat niet-doorlaatbaar is voor vocht, geconstrueerd is. In het algemeen is een binnenvlak van het huis in contact met of nauw grenzend aan het binnenvlak van de lichamen van poreus materiaal. In een uitvoeringsvorm zijn de lichamen van poreus materiaal fysisch afzonderlijke
30 bestanddelen en worden ze uitsluitend met elkaar in contact gehouden door in het holle huis ingeklemd te zijn.

De lichamen van poreus materiaal kunnen fysisch afzonderlijke bestanddelen zijn en worden tijdens het monteren van de inrichting in contact met elkaar aange-
35 bracht. Als alternatief kunnen ze met elkaar in vast contact staan, bijv. door op een gemeenschappelijk steunmate-

riaal gelamineerd te zijn.

Bij voorkeur zijn de lichamen van poreus materiaal ten minste gedeeltelijk aanwezig in een uit een vast, voor vocht niet-doorlatend materiaal geconstrueerd hol huis, 5 waarbij het monster ontvangende deel of de kous uit het huis steekt, maar het gedeelte van het monster ontvangende deel of kous dat vernauwd is, in het huis is gelegen.

In een uitvoeringsvorm omvat het bovenstroomse lichaam een mobiliseerbaar reagens in de bovenstroom van het 10 vernauwde gedeelte van het poreuze lichaam. Het is gewenst dat, wanneer de inrichting een huis omvat, het mobiliseerbare reagens zich op een gedeelte van het in het huis beschermde lichaam bevindt.

Een verder aspect van de uitvinding is een kous voor 15 gebruik als een gedeelte van een testinrichting, welke kous een strip van een poreus materiaal met aan een kant daarvan een vernauwde, op de lengte-as van de strip gecentreerde, punt of neus omvat. Bij voorkeur omvat het vernauwde gedeelte niet meer dan 35% van de totale lengte van de kous. 20 Bij voorkeur wordt bij de punt of neus de breedte van de strip met ten minste 50% vernauwd. Ideale materialen voor de kous zijn niet-geweven weefsel en vezelvormige kunststoffen.

De materialen waaruit de diverse poreuze bestanddelen 25 in de testinrichting vervaardigd zijn, zijn niet kritiek voor de onderhavige uitvinding. Enig klassiek, poreus, in dit type inrichtingen gebruikt materiaal, kan gebruikt worden. Een ruim bereik aan poreuze materialen wordt met succes gebruikt. Deze omvatten de klassieke papiersoorten 30 op basis van cellulose alsmede nitrocellulose. Glasvezelmaterialen en polyetheen-frit worden dikwijls gebruikt voor poreuze lichamen om te voorzien in de beginlocatie van mobiliseerbare gemerkte reagentia. Het monster ontvangende deel kan eveneens van dergelijke materialen gemaakt zijn. 35 Ideale materialen voor het monster ontvangende deel zijn vezelvormige kunststofmaterialen zoals "Porex", en niet-

geweven weefsels, zoals deze in meer detail hierna beschreven worden. Indien nodig kunnen dergelijke materialen geschikt hydrofiel gemaakt worden, bijvoorbeeld door behandeling met oppervlakte-actieve middelen. Volgens enige van
5 de thans als standaard in de techniek toegepaste technieken kunnen op enige van deze materialen reagentia afgezet worden om te voorzien in de chemie van de test. De specifieke bindingsmechanismen via welke dergelijke tests werken, kunnen volkomen klassiek zijn. Gewoonlijk omvatten
10 dergelijke tests antilichaam/analyt-reacties van hetzij een sandwich-, hetzij een competitief formaat. Indien gewenst kan de vorming van een complex, met ingebrip van een gemerkt reagens om het testresultaat kenbaar te maken, worden bewerkstelligd met behulp van indirecte binding of invang-
15 mechanismen, bijvoorbeeld met gebruikmaking van specifieke bindingsparen zoals avidine en biotine. De keuze van dergelijke routinezaken beïnvloedt het voor de onderhavige uitvinding fundamentele vloeistofstroom-focusseringsconcept niet.

20 In een de voorkeur verdienende context wordt de uitvinding toegepast bij testinrichtingen die als "zelfbemonsterend" zijn ontworpen, zodat de gebruiker louter de inrichting in contact behoeft te brengen met een vloeistofmonster zoals een lichaamsvloeistof, om de testwerkwijze te
25 laten beginnen. Bij veel van dergelijke inrichtingen is dit de enige vereiste actie die de gebruiker dient te nemen voordat het resultaat van de test zichtbaar wordt of afgelezen kan worden. Veel van dergelijke inrichtingen zijn gebaseerd op het principe van "immunochemie". De
30 inrichting bevat een strip van een poreus dragermateriaal waarover het opgebrachte vloeistofmonster kan bewegen. Terwijl deze beweging plaatsvindt, worden een of meer reagentia in de inrichting naar een detectiezone op de strip gevoerd, waarbij wordt veroorzaakt dat het testre-
35 sultaat bekend wordt. Gewoonlijk is een gemerkt materiaal mobiel in de strip wanneer door vocht en binding van dit

gemerkte materiaal in de detectiezone een wijze wordt verschaft waarbij het testresultaat uitleesbaar wordt. Voorbeelden van dergelijke zelf-bemonsterende inrichtingen zijn beschreven in EP 0.291.194 en EP 0.383.619.

5 De zelf-bemonsterende voorziening kan verschaft worden als een absorberend, monster ontvangend deel of "kous". Het materiaal waarvan de kous vervaardigd is, wordt zodanig gekozen, dat aangebrachte vloeistof zeer snel in de kous geabsorbeerd wordt. De kous fungeert dan als een
10 reservoir voor de monstervloeistof dat geleidelijk aan de poreuze strip toegevoerd wordt, waarbij het immunochromatografische proces voortgedreven wordt. Het mobiele gemerkte reagens kan in de strip zelf of ergens anders in de inrichting, in de bovenstroom van de detectiezone opgenomen
15 zijn. In EP 0.291.194 wordt gesuggereerd dat het gemerkte reagens in de kous opgenomen kan worden. Ideale, bij deze testinrichtingen bruikbare gemerkte reagentia zijn direct of indirect met niet-wateroplosbare, deeltjesvormige directe merkverbindingen zoals kleurstofsolen, metaalsolen
20 (bijv. van goud), niet-metallische deeltjes van elementen zoals seleen en koolstof, gemerkte reagentia (in het algemeen specifiek bindende reagentia), alsmede andere zeer kleine gekleurde deeltjes zoals gekleurde latex(polystyreen)deeltjes en met kleurstof gevulde liposomen, die alle
25 op zichzelf voor dit doel bekend zijn.

Volgens WO96/09546 kan de kous een niet-geweven weefsel omvatten. Een niet-geweven materiaal dat de voorkeur geniet, wordt vervaardigd volgens een werkwijze die bekend is als hydro-verstrengeling. Idealiter wordt geen chemische
30 behandeling of een chemisch harden toegepast tijdens de bereidingswijze. Dergelijke materialen zijn reeds op zichzelf bekend en worden op ruime schaal gebruikt om schoonmaakdoeken en dweilen te maken. Het niet-geweven materiaal van de kous is bij voorkeur hydrofiel. Indien het globale
35 karakter van het weefsel hydrofoob is, kan het bijvoorbeeld met een oppervlakte-actief middel behandeld worden om het

bij gebruik hydrofiel te maken. Het kan van een mengsel van vezels vervaardigd worden. Dit mengsel kan een mengsel van hydrofobe vezels en hydrofiele vezels zijn, maar het globale karakter van het materiaal is bij voorkeur hydrofiel.

5 Een ideaal mengsel omvat een mengsel van viscose en polyester, bijv. ca. 30% viscose en ca. 70% polyester. Er kunnen evenwel weefsels met een enkel bestanddeel, zoals 100% viscose, gebruikt worden. Het "gewicht" van het niet-geweven materiaal is belangrijk. Het gewicht van het materiaal

10 is bij voorkeur ten minste ca. 50 g/m², en met meer voorkeur ten minste ca. 70 g/m². In het algemeen is het niet noodzakelijk dat het gewicht 120 g/m² te boven gaat. Het gebruik van een kous die uit een niet-geweven weefselmateriaal vervaardigd is, kan voorzien in sterk verbeterde

15 kous-eigenschappen en zeer efficiënt vrijgeven van enig gedroogd gemerkt reagens dat aan de kous toegevoegd kan zijn.

Hoewel dergelijke weefselmaterialen traditioneel worden beschreven als "niet-geweven" te zijn, betekent dit

20 niet noodzakelijkerwijs dat de vezels waaruit een dergelijk weefsel bestaat op volledig willekeurige wijze gerangschikt zijn. In het algemeen wordt gevonden, als resultaat van de werkwijze waarbij het weefsel vervaardigd wordt, dat een onderscheiden gedeelte van de vezels hoofdzakelijk in één

25 richting is gelegen en dat het resterende gedeelte hoofdzakelijk in een loodrecht op de eerste richting gelegen richting ligt. Het materiaal van de kous wordt, indien het vezelvormig is zoals een niet-geweven weefsel, bij voorkeur zodanig gekozen en gerangschikt, dat het merendeel van de

30 vezels evenwijdig ligt met de richting waarin de vloeistof langs de kous naar de inrichting moet stromen. Bij voorkeur dient de getalsverhouding van aan de stroom evenwijdige vezels ten opzichte van loodrecht op de stroom staande vezels ca. 2:1 of groter te zijn, met het voorbehoud dat er

35 voldoende loodrecht op de stroom staande vezels aanwezig zijn om de mechanische integriteit van het niet-geweven

materiaal met als doel dit te vervaardigen, te handhaven.

Bij voorkeur omvat de kous slechts een enkelvoudige film of laag van het niet-geweven weefsel. Dit vergemakkelijkt het vervaardigen en de kwaliteitscontrole van een
5 testinrichting aanzienlijk wanneer de kous wordt gebruikt om een of meer voor de testchemie belangrijke reagentia, zoals een mobiel, gemerkt reagens, te bevatten. Indien de kous uit meerdere lagen van absorberend materiaal is geconstrueerd, is het moeilijk te verzekeren dat het (de) rea-
10 gen(s)(tia) tijdens de fabricage consistent in de kous afgezet worden, waarbij de stroom van de monstervloeistof door de meervoudige laagstructuur niet-gelijkmatig kan zijn, hetgeen leidt tot inefficiënte of variabele opname van het (de) reagen(s)(tia).

15 Om een, bij gebruik in een immunochromatografische testinrichting, effectieve kous te vormen dient de kous voldoende absorptievermogen te hebben. De vloeistofcapaciteit van de kous dient de capaciteit van de strip (tezamen met enige afvoer aan het uiteinde van de strip, indien
20 voorzien) te boven te gaan.

Wanneer het kousmateriaal de vorm van een dunne film heeft, zoals een niet-geweven weefsel, wordt de laag bij voorkeur met een dragende laag van niet-waterabsorberend materiaal, zoals kunststoffilms, verbonden. Ideaal is
25 polyesterfilm. Met gebruikmaking van diverse, op zichzelf in de lamineringstechniek bekende, kleefmiddelen kan de binding gemakkelijk bewerkstelligd worden, waarbij de hechtingsstap door druk, warmte of door toepassing van kleefmiddelen met twee bestanddelen teweeggebracht wordt.

30 Het spreekt vanzelf dat de hoeveelheid en de aard van het kleefmiddel het absorptievermogen en de vloeieigenschappen van het niet-geweven weefsel, wanneer dit aan de drager gebonden is, niet in belangrijke mate negatief moeten beïnvloeden. Noch dient het kleefmiddel enige rea-
35 gentia te bevatten, zoals een niet-omgezette overmaat monomeren, in hoeveelheden die de efficiëntie van de specifieke

binding of van andere reacties die in de testinrichting tijdens gebruik dienen plaats te vinden, negatief beïnvloeden.

Indien gewenst, kunnen aan de kous bestanddelen 5 toegevoegd worden die bij de werking van de test helpen, zoals bufferende middelen en oppervlakte-actieve middelen.

Een belangrijke context waarin inrichtingen volgens de uitvinding gebruikt kunnen worden is de technologie van de thuis-tests, in het bijzonder voor exact kwantitatief 10 testen. Een geschikt voorbeeld, dat een logische aanvulling is op de huidige interesse van de consument in zwangerschapstests en voorspellende tests met betrekking tot de ovulatie voor thuisgebruik, is het nauwgezet volgen van de ovulatiecyclus, niet louter ter verhoging van de waar- 15 schijnlijkheid van in verwachting raken, maar eveneens teneinde te voorzien in betrouwbare informatie met als doel anticonceptie. Er is met dit doel in gedachten voorgesteld lichaamsvloeistoffen te analyseren. Een gemeenschappelijk thema is het volgen van periodieke schommelingen in diverse 20 niveaus van hormoonmetabolieten in urine. Een belangrijk voorbeeld is de bepaling van enige analyt van een lichaamsvloeistof, in het bijzonder bij het volgen van de humane ovulatiecyclus door de bepaling van een of meer hormonen of metabolieten daarvan in een lichaamsvloeistof, zoals urine, 25 bijvoorbeeld ofwel luteïniserend hormoon (LH) en/of estron-3-glucuronide (E3G). Gewoonlijk worden twee of meer van dergelijke analyten tezamen gemeten om voldoende informatie te verschaffen.

In deze context omvat een ideale testinrichting voor 30 monstervloeistoffen voor thuisgebruik een poreus dragermateriaal, zoals een strip, waardoorheen een opgebrachte monstervloeistof zoals urine kan dringen en waarbij het testresultaat plaatsvindt door middel van specifieke binding van een detecteerbaar materiaal in een of meer exact 35 gedefinieerde gebieden (detectiezones) van de drager, zoals een of meer smalle lijnen of kleine stippen die elk een

geïmmobiliseerd specifiek bindend reagens bevatten.

Dergelijke inrichtingen kunnen in combinatie met een elektronische inrichting gebruikt worden voor het volgen van de vruchtbaarheidsstatus van de humane ovulatiecyclus, waarbij ze de gebruiker van de inrichting voorzien van een indicatie van de vruchtbaarheidsstatus, waarbij ze gewoonlijk omvatten:

- a) een afleesinrichting voor het aflezen van een testinrichting met twee analyten;
- 10 b) verwerkingsmiddelen voor informatie voor het bepalen uit de aflezing van de testinrichting van concentratiewaarden van een lichaamsvloeistofmonster voor ten minste twee analyten;
- c) verwerkingsmiddelen voor informatie en geheugenmiddelen voor het afleiden uit de bepaalde concentratiewaarden en uit eerder bepaalde concentratiewaarden van een indicatie van de huidige vruchtbaarheidsstatus van een te testen persoon; en
- d) weergavemiddelen voor de vermelding van de huidige
20 vruchtbaarheidsstatus aan de gebruiker van de elektronische inrichting. Bij voorkeur omvat de inrichting bovendien ontvangstmiddelen voor het ontvangen van de testinrichting, waarbij de afleesmiddelen in de ontvangstmiddelen geplaatst zijn. De aflezing wordt het best verkregen door optische
25 transmissie door de testinrichting terwijl deze door de ontvangstmiddelen ontvangen wordt. Bij voorkeur omvat het weergavemiddel een of meer lichtbronnen die aan de gebruiker een gekleurd signaal verschaffen, waarbij een variatie in de vruchtbaarheidsstatus door een kleurverandering wordt
30 aangegeven. Verdere details worden verschaft in EP 0.703.-454.

Deze context kan steunen op de meting van analyten in urine, zoals E3G, LH en pregnaandiol-3-glucuronide (P3G). Deze omvatten eenwaardige analyten zoals haptenen. In
35 EP 0.703.454 worden verbeterde tests beschreven waarmee twee of meer analyten tegelijkertijd in hetzelfde monster

bepaald kunnen worden. Wanneer een test is bedoeld voor het aantonen van de aanwezigheid en/of de hoeveelheid van juist één analyt in een monstervloeistof, is het relatief gemakkelijk de testomstandigheden te configureren om dit resultaat te bereiken en het effect van andere bestanddelen die in het monster aanwezig kunnen zijn, te elimineren. Wanneer het evenwel gewenst is een enkele testinrichting te gebruiken om meer dan een verschillende analyt in dezelfde monstervloeistof te bepalen, is de opgave van het "in even-
10 wicht brengen" van de omstandigheden om te verzekeren dat de afzonderlijke testreacties efficiënt en effectief verlopen, veel moeilijker, in het bijzonder bij een test in stripformaat.

Een stroom focusserende kous volgens de onderhavige
15 uitvinding kan met voordeel gebruikt worden bij een test in stripformaat voor een eenwaardige analyt (hapteen) met gebruikmaking van een deeltjesvormige directe merkverbinding om het testresultaat te onthullen, bij welke test de deeltjesvormige merkverbinding een voor de eenwaardige
20 analyt specifiek antilichaam bevat en de detectiezone van de strip geïmmobiliseerde analyt of een analoge verbinding daarvan bevat. Elk deeltje van de merkverbinding bevat meerdere identieke antilichaammoleculen. Als reagens kunnen de antilichaam bevattende deeltjes tijdens het vervaardigen
25 gestandaardiseerd worden (d.w.z. tijdens het aanbrengen van de antilichamen op de deeltjes) om te verzekeren dat in een bepaalde partij de belading met het werkzame antilichaam constant is. De concentratie van de analyt of het analogon van de analyt in de detectiezone moet een overmaat ten
30 opzichte van de effectieve concentratie (molaire concentratie) van het antilichaam op de deeltjes zijn. Het is niet van wezenlijk belang een constante belading met antilichaam op elk deeltje te hebben, omdat het aantal deeltjes gevarieerd kan worden. De hoeveelheid van in de test be-
35 schikbaar deeltje-gemerkt-antilichaam moet een overmaat zijn ten opzichte van de verwachte analytconcentratie in

het monster. Door experimenteren kunnen deze niveaus ingesteld worden zodat de aanwezigheid van vrije analyt in de monstervloeistof leidt tot een significant niveau van binding van de vrije analyt aan de antilichamen op de 5 deeltjes en derhalve de mogelijke binding van de merkverbinding aan het deeltje aan de geïmmobiliseerde analyt/analoge verbinding in de detectiezone significant remt. Het principe achter dit soort test is dat er op een gemiddeld deeltje een voldoende aantal werkzame antilichaammoleculen 10 aanwezig is om zeker te zijn van binding van het deeltje in de detectiezone, maar dat niettemin de aanwezigheid van analyt in het monster een beperkend effect op deze binding heeft. De mate waarin de deeltjes in de detectiezone gebonden worden, is derhalve omgekeerd evenredig met de concentratie van de analyt in de monstervloeistof. Bij een test 15 in stripformaat wordt het deeltje-gemerkte-antilichaam in de bovenstroom van de detectiezone geplaatst zodat een opgebrachte monstervloeistof het gemerkte deeltjesmateriaal ontmoet en dit naar de detectiezone voert. Bij deze test is 20 configuratie noodzakelijk om te bevorderen dat de mogelijke reactie tussen de vrije analyt en het deeltje-gemerkte-antilichaam ten minste in hoofdzaak volledig is verlopen voordat deze reagentia de detectiezone bereiken. De mate waarin de deeltjes de geïmmobiliseerde analyt/analoge verbinding 25 in de detectiezone binden, is derhalve afhankelijk van het resterende niet-gecomplexeerde antilichaam dat op de deeltjes achterblijft. Het is nodig te verzekeren dat de concentratie van geïmmobiliseerde analyt/analoge verbinding in de detectiezone hoog is, teneinde een efficiënt invangen 30 van de deeltjes te bevorderen wanneer deze door deze zone gaan. Om de efficiëntie van de voorgaande binding van het deeltje-gemerkte-antilichaam ten opzichte van vrije analyt in de monstervloeistof te verhogen, is het ten eerste gewenst dat het antilichaam op de deeltjes een zeer hoge 35 affiniteit voor de analyt heeft. Deze affiniteit bedraagt bij voorkeur ten minste ca. 10^9 , en met meer voorkeur ten

minste ca. 10^{10} liter/mol. Het gebruik van antilichamen met een dergelijke hoge affiniteit verzekert een efficiënt invangen van de vrije analyt door de deeltjes, en verzekert bovendien dat het onder de testomstandigheden, wanneer een
5 analytmolecuul eenmaal aan een antilichaam op een deeltje gebonden is, zeer onwaarschijnlijk is dat dit vrijkomt of uitgewisseld wordt met een geïmmobiliseerd molecuul van de analyt/analoge verbinding naarmate het deeltje door de detectiezone gaat. Deze algemene principes zijn eveneens
10 van toepassing bij een test die is bedoeld voor het bepalen van twee of meer analyten, waarbij ten minste een ervan eenwaardig is.

Derhalve is een voorkeurscontext waarin de onderhavige uitvinding toegepast wordt, een testinrichting voor
15 gebruik bij een werkwijze voor het bepalen van de aanwezigheid en/of concentratie van twee of meer analyten in een enkele monstervloeistof, zoals een urinemonster, waarbij ten minste een van de analyten te bepalen is door middel van een bindingsreactie van het sandwich-formaat die twee
20 specifiek aan verschillende epitopen op de analyt bindende reagentia omvat, waarbij ten minste een ander van de analyten een haptene is (en derhalve niet gemakkelijk door middel van een bindingsreactie van het sandwich-type te bepalen), welke werkwijze de stappen omvat van:

25 a) het voorzien in een inrichting die een strip van poreus materiaal omvat waarover de monstervloeistof kan migreren, waarbij de strip twee of meer ruimtelijk onderscheiden detectiezones heeft (ten minste een per te bepalen analyt) die in de benedenstroom zijn geplaatst van de
30 plaats waar de monstervloeistof aan de strip wordt toegevoegd, van welke zones:

i) ten minste een zone een geïmmobiliseerd vangmiddel bevat dat een specifiek bindingsmiddel is voor de eerste analyt of een specifiek bindingsmiddel dat een complex van
35 het sandwich-formaat met inbegrip van de eerste analyt kan invangen, en

- ii) ten minste een andere zone een geïmmobiliseerd vangmiddel bevat dat ofwel het haptreen of een analoge verbinding daarvan is,
- b) het voorzien in twee of meer populaties van deeltjes
5 die door de strip met de monstervloeistof kunnen migreren, van welke populaties:
 - i) ten minste een populatie een bindingsmiddel bevat dat specifiek is voor de eerste analyt, of specifiek voor een ander specifiek bindingsmiddel dat kan participeren in een
10 reactie van het sandwich-formaat met de eerste analyt, en
 - ii) ten minste een andere populatie een specifiek bindingsmiddel voor het haptreen bevat, en
 - c) het veroorzaken dat de populaties van deeltjes gesuspendeerd worden in de monstervloeistof en met de monster-
15 vloeistof door de strip migreren; en dat daarbij de aanwezigheid van de eerste analyt in de monstervloeistof leidt tot binding van deeltjes in de ten minste ene detectiezone in een hoeveelheid die recht evenredig is met de concentratie van de eerste analyt in de monstervloeistof, en de
20 aanwezigheid van het haptreen in de monstervloeistof leidt tot een vermindering van de binding van deeltjes van de ten minste ene andere populatie in de andere detectiezone in een recht evenredige hoeveelheid ten opzichte van de concentratie van het haptreen in de monstervloeistof, waarbij
25 de detectiezone die het geïmmobiliseerde haptreen of het geïmmobiliseerde analogon van het haptreen bevat, bij voorkeur in de benedenstroom van de met de eerste analyt verbonden detectiezone is gesitueerd.

Een voorbeeld van de eerste analyt is luteïniserend
30 hormoon (LH). Een voorbeeld van de tweede analyt is estradiol of een metaboliet daarvan, zoals estron-3-glucuronide (E3G).

Bij voorkeur zijn de deeltjes latex-deeltjes, die gekleurd kunnen zijn.

- 35 Het liefst is de affiniteit van het anti-haptreen-specifieke bindingsmiddel ten minste ca. 10^9 , bij voorkeur

ten minste ca. 10^{10} liter/mol.

Bij voorkeur wordt de mate van binding van de deeltjes in elk van de detectiezones bepaald door het meten van de extinctie van elektromagnetische straling, zoals licht, 5 wanneer deze wordt doorgelaten door de dikte van de strip.

Een vloeistofstroom-focusserende kous volgens de onderhavige uitvinding wordt bruikbaar toegepast bij een testinrichting voor gebruik bij de bepaling van twee of meer analyten in een enkele monstervloeistof, waarbij ten 10 minste een van de analyten te bepalen is door middel van een bindingsreactie van het sandwich-formaat die twee specifiek aan verschillende epitopen op de analyt bindende reagentia omvat en waarbij ten minste een ander van de analyten een hapteen is (en derhalve niet gemakkelijk door 15 middel van een bindingsreactie van het sandwich-type te bepalen), waarbij de inrichting, bij voorkeur in een beschermend huis, omvat:

- a) een strip van poreus materiaal waarover de monstervloeistof kan migreren,
- 20 b) twee of meer detectiezones (ten minste een per te bepalen analyt) op de strip, die in de benedenstroom zijn geplaatst van de plaats waar de monstervloeistof aan de strip wordt toegevoegd, van welke zones:
 - i) ten minste een zone een geïmmobiliseerd vangmiddel 25 bevat dat een specifiek bindingsmiddel is voor de eerste analyt of een specifiek bindingsmiddel dat een complex van het sandwich-formaat met inbegrip van de eerste analyt kan invangen, en
 - ii) ten minste een andere zone een geïmmobiliseerd vang- 30 middel bevat dat ofwel het hapteen of een analoge verbinding daarvan is,
 - c) twee of meer populaties van deeltjes, aanwezig in de bovenstroom van de detectiezones, die door de strip met de monstervloeistof kunnen migreren, van welke populaties:
 - 35 i) ten minste een populatie een bindingsmiddel bevat dat specifiek is voor de eerste analyt, of specifiek voor een

ander specifiek bindingsmiddel dat eveneens in de inrichting aanwezig is en dat kan participeren in een reactie van het sandwich-formaat met de eerste analyt, en

ii) ten minste een andere populatie een specifiek bindingsmiddel voor het haptene bevat, en

waarbij de aanwezigheid van de eerste analyt in de monster-vloeistof leidt tot binding van deeltjes in de ten minste ene detectiezone in een hoeveelheid die recht evenredig is met de concentratie van de eerste analyt in de monster-vloeistof, en de aanwezigheid van het haptene in de monster-vloeistof leidt tot een vermindering van de binding van deeltjes van de ten minste ene andere populatie in de andere detectiezone in een recht evenredige hoeveelheid ten opzichte van de concentratie van het haptene in de monster-vloeistof, waarbij de detectiezone die het geïmmobiliseerde haptene of het geïmmobiliseerde analogon van het haptene bevat, bij voorkeur in de benedenstroom van de met de eerste analyt verbonden detectiezone is gesitueerd.

Bij voorkeur is het materiaal van de strip ten minste doorzichtig door de dikte ervan. Een ideaal materiaal voor de strip is nitrocellulose.

In deze specifieke context is het van wezenlijk belang, omdat de test voor het haptene geen competitieve reactie is waarbij de mogelijkheid bestaat van een vrije uitwisseling tussen de analyt in het monster en de als reagens in de test verschaft analyt (in dit geval de op de strip geïmmobiliseerde analyt/analoge verbinding), dat tijdens het verloop van de test voldoende gelegenheid wordt verschaft dat de analyt in het monster aan de deeltjes met het antilichaam kan binden voordat deze deeltjes in de betrokken detectiezone op de strip terechtkomen. Om dit te verzekeren, is het gewenst dat er een betrekkelijk lange contacttijd tussen het deeltjesvormige reagens en het monster is. Dienovereenkomstig moet, binnen de grenzen van een aanvaardbare fysische geometrie van de testinrichting, de detectiezone die de geïmmobiliseerde analyt/analoge

verbinding bevat, zo ver mogelijk in de benedenstroom van de bron van het deeltjesvormige gemerkte reagens zijn. In het bijzonder wanneer het de bedoeling is dat met de test-inrichting twee of meer analyten in dezelfde monstervloei-
5 stof bepaald worden en ten minste een van de andere analyten door middel van een reactie van het sandwich-formaat bepaald wordt, moet de detectiezone voor het hapteen in het ideale geval benedenstrooms ten opzichte van de bij de tests van het sandwich-formaat betrokken detectiezone of -
10 zones zijn.

Een bijzondere context van de uitvinding is derhalve een test in stripformaat voor twee analyten voor het bepalen van LH en E3G in een opgebracht urinemonster waarbij de twee testresultaten gedetecteerd worden in ruimtelijk
15 onderscheiden detectiezones op de strip en de E3G-zone benedenstrooms ten opzichte van de detectiezone voor LH met betrekking tot de opbrengplaats voor de monstervloeistof is, waarbij het monster door een stroom-focuserende kous wordt opgenomen.

20 In een context wordt de uitvinding toegepast bij een kwantitatieve test in stripformaat, waarbij het testresultaat bekend wordt door binding in een detectiezone van een gemerkt reagens dat voor de te testen analyt specifieke, meervoudig werkzame bindingsplaatsen heeft. De merkverbinding is een detecteerbaar micro-deeltje, zoals een (gekleurd) latex-deeltje, een metaalsol (bijv. een goudsol), een kleurstof-sol, of een niet-metallisch deeltje van elementen (bijv. koolstof, seleen) met een voldoende geringe grootte om door het poreuze materiaal van de strip
25 te kunnen migreren, maar voldoende groot om de vorming van een detecteerbaar eindresultaat mogelijk te maken wanneer het gemerkte materiaal in de detectiezone geconcentreerd wordt. Deeltjesvormige merkverbindingen van de soorten die reeds bij tests van het sandwich-formaat op strips gebruikt
30 worden, zijn ideaal. In een gebruikelijke test wordt voorzien in de meervoudig werkzame specifieke bindingsplaatsen

in het gemerkte reagens door het voorhanden hebben van een veelvoud identieke, aan elk merk-deeltje gebonden antilichamen, bij voorkeur monospecifieke (bijv. minoklonale) antilichamen.

5 Volgens EP 0.703.454 leidt, in het bijzonder bij een hapteen-test, het gebruik van deeltjesvormige merkverbindingen die meervoudige, identieke, werkzame, voor de analyt specifieke bindingsplaatsen bezitten, tot een waardevolle verhoging van de gevoeligheid. De overmaat bindingsplaatsen
10 op het merk-deeltje maakt een effectieve binding van het deeltje in de hapteen bevattende detectiezone mogelijk. Wellicht vanwege de geometrie van het systeem, die men zich kan voorstellen als een vlak detectiezone-oppervlak en een min of meer bolvormig merk-deeltje, brengt evenwel de
15 eerste binding van slechts een betrekkelijk kleine hoeveelheid hapteenanalyt uit een monster aan het gekromde oppervlak van het merk-deeltje een voldoende mate van remming van de binding van het merk-deeltje in de detectiezone teweeg om de binding te beïnvloeden en een detecteerbaar
20 effect tot gevolg te hebben.

Het is ten zeerste gewenst dat, wanneer eenmaal een analytmolecuul specifiek aan het merk-deeltje gebonden is, dit aldus gebonden blijft tijdens het resterende testprotocol dat leidt tot de vorming van het detecteerbare testresultaat in de detectiezone. Een wijze om dit te bereiken, is door gebruik te maken van een specifiek bindend middel in het gemerkte reagens, dat een zeer hoge affiniteit voor de analyt heeft. Het is thans gebruikelijk monoclonale antilichamen met analyt-affiniteiten van 10^8 te gebruiken.
30 Wij hebben gevonden dat het voordelig is, in de context van een hapteen-test in stripformaat, gebruik te maken van gemerkte specifiek bindende middelen met analyt-affiniteiten van ten minste ca. 10^9 en liever van ten minste ca. 10^{10} liter/mol. Een goede werkwijze voor het meten van de affiniteit in oplossing is beschreven in Friguet et al., J. Immunol. Methods, deel 77 (1985), blz. 305-319. Monoklonale

antilichamen met dergelijk hoge affiniteiten kunnen op de klassieke wijze opgewekt en via de gebruikelijke selectie-procedures geïdentificeerd worden. Hoewel het gewenst is antilichamen te gebruiken die een hoge affiniteit in oplossing te zien geven, is dit niet de enige manier om dit te bereiken. Af en toe wordt waargenomen dat een antilichaam dat een betrekkelijk lage affiniteit in oplossing vertoont, omgezet kan worden tot effectieve eigenschappen ervan, wanneer het op een vaste fase geïmmobiliseerd wordt.

10 Een belangrijke uitvoeringsvorm volgens de uitvinding is een kwantitatieve test in stripformaat voor analyten in humane lichaamsvloeistoffen, in het bijzonder haptenen, met gebruikmaking van een gefocusseerde vloeistofstroom zoals in de onderhavige beschrijving beschreven wordt. Een bij-
15 zonder voorbeeld is een dergelijke test voor estradiol of een metaboliet ervan, zoals estron-3-glucuronide (E3G). Een bijzonder belangrijke uitvoeringsvorm van de uitvinding is een test in stripformaat voor E3G in urine, waarbij het mogelijk is E3G in een concentratiebereik van 5-60 ng/ml
20 urine kwantitatief te bepalen. Een dergelijke test is bijzonder goed geschikt voor gebruik bij een procedure die is bedoeld om een gebruiker op de hoogte te stellen van de vruchtbaarheidsstatus van een ovulatiecyclus, waarbij de concentratie van estradiol of een metaboliet ervan in de
25 lichaamsvloeistof als een bruikbare indicator van deze status wordt erkend.

Indien gewenst kan een, zoals hierboven beschreven, testinrichting volgens de uitvinding bovendien het vermogen bevatten hiermee andere analyten in het monster te bepalen,
30 indien geschikt met toepassing van de klassieke technologie van de sandwich-test. Een uitvoeringsvorm van de uitvinding is bijvoorbeeld een testinrichting in stripformaat waarbij een kwantitatieve bepaling van E3G in urine, zoals hiervoor werd beschreven, alsmede tegelijkertijd een kwantitatieve
35 bepaling van lueïniserend hormoon (LH) in urine door middel van een werkwijze voor een sandwich-test verschaft kunnen

worden, waarbij de resultaten voor E3G en LH in twee afzonderlijke detectiezones bekend worden. Op geschikte wijze kan bij een dergelijke combinatie-test de merkverbinding hetzelfde voor elke test zijn, hoewel de geschoolde lezer 5 vanzelfsprekend zal inzien dat er gewoonlijk twee populaties van merk-deeltjes vereist zouden zijn, waarbij er één de meervoudige bindingsplaatsen voor het E3G en de ander een specifiek bindingsmateriaal voor LH bevat. De detectiezone voor E3G zal geïmmobiliseerd E3G of een analoge ver- 10 binding van E3G, en de detectiezone voor LH zal een geïmmobiliseerd specifiek bindingsmateriaal, zoals een anti-LH-antilichaam, bevatten.

De uitvinding zal thans in het bijzonder, slechts als voorbeeld, beschreven worden met verwijzing naar de aange- 15 hechte tekeningen, die niet op schaal zijn.

Beschrijving van de tekeningen

Figuur 1 is een algemeen aanzicht van de buitenkant van een testinrichting.

20 Figuur 2 is een bovenaanzicht van de inrichting van figuur 1 waarbij een gedeelte van het huis van de inrichting verwijderd is.

In figuur 3 is weergegeven hoe een kous van een testinrichting volgens de uitvinding uit een grotere plaat 25 van poreus materiaal gesneden kan worden.

In figuur 4 is een alternatieve configuratie weergegeven voor de in figuur 3 weergegeven configuratie.

In de figuren 5 en 6 zijn respectievelijk de afzonderlijke kousen weergegeven, die zijn gevormd zoals in de 30 figuren 3 en 4 werd weergegeven.

In de figuren 7 en 8, die met de figuren 1 en 2 overeenkomen, is een alternatieve constructie van een testinrichting volgens de uitvinding weergegeven.

35 Gedetailleerde beschrijving van de uitvinding

Met verwijzing naar figuur 1 heeft de testinrichting

een klassiek uitwendig voorkomen en omvat een hol huis 100 dat is gevormd uit bovenste en onderste vormstukken 101 en 102. Het huis 100 heeft een algemene rechthoekig verlengde vorm en heeft aan een einde 103 een verlengingsgedeelte 104 met een nauwere dwarsdoorsnede waarop indien gewenst een verwijderbare kap (niet weergegeven) aangebracht kan worden. Bij een gebruikelijke testinrichting zou de kap aan de schouder 105 raken en, indien aangebracht, een glad doorlopende buitenkant aan de gehele inrichting verschaffen.

10 Vanuit het voorste einde 106 van het verlengingsgedeelte 104 van het huis steekt een poreus, monster opnemend deel of kous 107 uit, met als functie het opnemen van de monstervloei stof en het daarna transporteren van de opgenomen vloeistof door capillaire werking naar het inwendige van

15 het huis 100 als een gedeelte van de voor de vloeistof beoogde stroombaan. Zoals in figuur 1 is te zien, bevat het bovenste vormstuk 101 van het huis een raam 108 in het bovenste oppervlak 109 waardoorheen het inwendige van het huis gezien kan worden. Door raam 108 is het voor een

20 gebruiker mogelijk het testresultaat te zien dat als een zichtbare kleurverandering geopenbaard zal worden of eenzelfde effect dat door het raam waargenomen kan worden. Als alternatief kan het testresultaat worden afgelezen met behulp van een uitwendig afleesinstrument (niet weergege-

25 ven), zoals door optische reflectie of optische transmissie door de testinrichting. In dit laatste geval is het nodig dat de onderkant van de testinrichting eveneens een raam bezit of eenzelfde inrichting waardoorheen licht gezonden kan worden.

30 Geen van de in figuur 1 weergegeven details zijn kritiek voor de uitvinding, en aanzienlijke variatie in de vorm en de uitwendige constructie van de testinrichting kan worden aangebracht.

Met verwijzing naar figuur 2 is het bovenste vormstuk

35 verwijderd teneinde het inwendige van de testinrichting te onthullen. De wezenlijke inwendige bestanddelen omvatten

het gedeelte 200 van het monster opnemende deel 107 dat in het huis doorloopt, alsmede een verdere strip 201 van poreus materiaal die in contact staat met het monster opnemende deel 107 en een detectiezone 202 bevat. De locatie van de detectiezone 202 is onder het raam in het bovenste vormstuk van het huis. De positie van het raam wordt door de stippellijnen 203 aangegeven.

De voor de vloeistof beoogde stroombaan is langs de monster-opnemer 107 en daarvandaan over de lengte van de poreuze strip 201 door en verder dan de detectiezone 202. In het monster opnemende deel 107 is op een in het huis verborgen locatie 204 een voorraad mobiliseerbaar gemerkt reagens aangebracht die, in vochtige toestand, mobiel in de monster-opnemer en de poreuze strip is. Voortbewegende monstervloeistof kan dit mobiliseerbare reagens meenemen en het naar de detectiezone voeren, waarin het gemerkte reagens zich kan ophopen en een voor het testresultaat indicatief testsignaal kan vormen. Het mobiliseerbare reagens kan bijvoorbeeld een specifiek bindend reagens zijn, zoals een antilichaam dat is gemerkt met een zichtbare merkverbinding zoals een deeltjesvormige directe merkverbinding. Voorbeelden zijn goudsolen en gekleurde latex-deeltjes. Opeenhoping van de zichtbare merkverbinding in de detectiezone 202, bijvoorbeeld door de vorming van een sandwich-complex met een analyt en een verder in de detectiezone reeds geïmmobiliseerd specifiek bindend middel, leidt tot een kleurtoename in de detectiezone bij een positieve test.

Op het tussenvlak 205 tussen het monster opnemend deel 107 en de poreuze strip 201 zijn de breedte-afmetingen van de monster-opnemer verkleind, zodat de breedte van de monster-opnemer op dat punt naar de middellijn daarvan toe vernauwd is. Hierdoor wordt de stroom van de voortbewegende vloeistof gefocusseerd naar de middellijn van de poreuze strip, waarbij de voortbewegende vloeistof wordt belemmerd in het vinden van een alternatieve vloeistof-stroombaan op het tussenvlak tussen het monster opnemende deel en de

poreuze strip. Daardoor wordt de waarschijnlijkheid dat de voortbewegende vloeistof op andere plaatsen in het huis zal stromen verkleind.

Zoals in figuur 2 is weergegeven, heeft de monster-
 5 opnemer 107 een in het algemeen rechthoekig verlengde vlakke vorm. Bij het binnenste einde (rechts) 206 is elke hoek verwijderd toen het opnemende deel tijdens het ver-
 vaardigen in vorm gesneden of gestanst werd. Zoals is weergegeven, is elke hoek verwijderd waarbij een naar
 10 binnen gekromde rand 207 vrijblijft die van de kant 208 van de monster-opnemer naar de uiterste rechterkant loopt. Deze gekromde randen komen niet bijelkaar, maar laten een naar voren gericht gedeelte 209 van de monster-opnemer vrij als een stompe punt die op de middellijn of de lengte-as ge-
 15 plaatst is.

Het tussenvlak tussen het monster opnemende deel 107 en de benedenstroomse poreuze strip 201 wordt gevormd door een overlap tussen de naar voren gerichte stompe punt 209 en het bovenstroomse einde 210 van de poreuze strip. Langs
 20 de monster-opnemer voortbewegende monstervloeistof wordt derhalve gefocusseerd naar deze stompe punt voordat de vloeistof het tussenvlak met de poreuze strip bereikt, en stroomt daardoor van de monster-opnemer naar de poreuze strip. Wanneer de monstervloeistof eenmaal de poreuze strip
 25 is binnengegaan, kan de vloeistof daarin ongehinderd in de lengte- en de breedterichting stromen, zodat de gehele breedte van de poreuze strip, te beginnen bij het tussenvlak en verder, vochtig kan worden. De afmetingen van de poreuze strip kunnen eenvoudig zodanig worden gekozen, dat
 30 op het moment waarop de voortbewegende vloeistof de detectiezone in de poreuze strip bereikt, deze in hoofdzaak uniform over de gehele breedte van de strip stroomt.

Het monster-opnemende deel 107 en de poreuze strip 201 kunnen via diverse mechanismen op hun plaatsen in het
 35 huis gehouden worden. Indien gewenst, kunnen het monster-opnemende deel en de poreuze strip met elkaar verbonden

worden, bijvoorbeeld door, vóór inbouwen in het huis, op een gemeenschappelijk steunstrip (niet weergegeven) gelamineerd te worden. Als alternatief, of bovendien, kunnen het monster-opnemende deel en de poreuze strip door fysische 5 krachten die deel uitmaken van de vormstukken van het huis en die inwerken op het opnemende deel en de strook op hun plaatsen in het huis gehouden worden. Louter en alleen als voorbeeld is één mogelijkheid in figuur 2 aangegeven, waarbij het monster-opnemende deel 107 doorboord is met een gat 10 211 waardoorheen een pen 212, die een deel van het onderste vormstuk van de inrichting vormt, uitsteekt wanneer het opnemende deel tijdens het monteren van de inrichting in het huis wordt geplaatst. Eveneens heeft de poreuze strip 201 op dezelfde wijze een doorboring 213 waardoorheen een 15 andere pen 214 uitsteekt. Behalve om te voorzien in positieve hechtingsplaatsen voor deze bestanddelen in het huis van de inrichting, kunnen dergelijke doorboringen eveneens het vervaardigen van de bestanddelen van de strip (in het bijzonder het nauwkeurig afzetten van de reagentia), zoals 20 werd beschreven in WO95/13542, vergemakkelijken. Andere inwendige aspecten van het vormstuk van het huis, zoals lippen en ribben, kunnen aanwezig zijn, waarbij wordt voorzien in bijkomende of alternatieve plaatsingsmiddelen om de bestanddelen van de strip op hun plaats te houden. In 25 figuur 2 wordt deze functie door de lippen 215 en 216 vervuld.

Voor illustratieve doeleinden wordt de zoals in de figuren 1 en 2 weergegeven testinrichting voorgesteld als een zeer eenvoudige constructie, met een teststrip die is 30 gevormd uit slechts twee fysische bestanddelen (de monster-opnemer 107 en de benedenstroomse poreuze strip 201) en slechts één detectiezone 202. Het is reeds gebruikelijke praktijk in de techniek dat testinrichtingen van dit algemene type een veel complexere constructie hebben. Het is 35 bijvoorbeeld gebruikelijke praktijk dat de teststrip een controlezone bevat, die zich gewoonlijk in de benedenstroom

van de detectiezone bevindt, waarin tijdens het gebruik een signaal kenbaar wordt om de gebruiker te verzekeren dat de test op de juiste wijze gewerkt heeft. Er kan meer dan een detectiezone op de teststrip zijn, hetzij om te voorzien in
5 een kwantitatief resultaat voor een enkele analyt, hetzij om gelijktijdige resultaten voor meer dan een analyt die in de monstervloeistof aanwezig kan zijn, te verschaffen. Er kan zijn voorzien in meer dan een mobiel reagens, bijv. om specifieke resultaten voor verschillende analyten of om
10 verschillende test- en controlesignalen te verschaffen. Wanneer wordt voorzien in meer dan een mobiel reagens, kunnen deze uitgaan van een gemeenschappelijk punt of kunnen ze op verschillende punten in de stroombaan voor de vloeistof aangebracht zijn. Het is niet noodzakelijk dat
15 het (de) mobiliseerbare reagen(s)(tia) zich in het monster-opnemende deel bevinden. In plaats daarvan kunnen dergelijke reagentia op de poreuze strip zelf aangebracht worden, in de bovenstroom van de detectiezone(s). Een ander alternatief is het aanbrengen van een of meer mobiliseerbare
20 re reagentia in een verder poreus bestanddeel dat zich als een tussenliggend bestanddeel bevindt tussen het monster-opnemende deel en de strip die de detectiezone(s) bevat. Bij al deze mogelijkheden kunnen de voordelen van de onderhavige uitvinding worden verwezenlijkt indien wordt voor-
25 zien in een stroom focusserende inrichting, zoals deze werd beschreven, waarbij de voortbewegende vloeistof door het tussenvlak van een poreus bestanddeel naar het volgende moet gaan.

Met verwijzing naar figuur 3 wordt een plaat of een
30 lengtemaat-300 van een materiaal in afzonderlijke monster-opnemende delen (kousen) 301 gesneden. Tijdens het snijden wordt één uiteinde 302 van het monster-opnemende deel 301, dat is bestemd in gemonteerde vorm het einde in het huis van de inrichting te worden, vormgegeven teneinde te voor-
35 zien in de focusseringswijze voor de vloeistofstroom 303 volgens de uitvinding. In figuur 3 wordt het focusserende

gedeelte voor de vloeistofstroom 303 van het monster-opneme-
 nende deel gevormd door twee tegenoverliggende naar binnen
 gekromde inkepingen waarbij de hoeken van de monster-opne-
 mer verwijderd zijn. Elke kous wordt doorboord met een gat
 5 304 om te voorzien in een plaatsingswijze tijdens de monta-
 ge van de uiteindelijke testinrichting.

In figuur 4 wordt gebruik gemaakt van rechtlijnige
 inkepingen om de monster-opnemer 400 te voorzien van een
 stomp-gepunt einde 401.

10 In figuur 5 is een afzonderlijke kous 500 volgens de
 uitvinding weergegeven, zoals deze in de in figuur 2 weer-
 gegeven inrichting gebruikt wordt. De kous heeft een in
 hoofdzaak verlengde rechthoekige vorm met evenwijdige
 kanten 501. Het einde 502, dat is bedoeld het beneden-
 15 stroomse einde te zijn wanneer de kous als een gedeelte van
 een testinrichting wordt gebruikt, heeft evenwel scherp
 naar voren gerichte, vernauwde breedte-afmetingen om te
 voorzien in de voor de uitvinding kritieke stroom-focusse-
 rende kenmerken. De resulterende stompe punt of neus van de
 20 kous is gecentreerd op de centrale lengte-as 503 van de
 rechthoek. De kanten 504 van deze punt of neus zijn concave
 krommen. De breedte A van het uiteinde van de punt of neus
 moet niet groter zijn dan ca. 50% van de breedte B van de
 massa van de kous. Bij voorkeur is afmeting A niet groter
 25 dan ca. 40% van de afmeting B. De afmeting C die het ge-
 deelte van de lengte van de kous waarin de breedte scherp
 vernauwd is teneinde te voorzien in het stroom-focusserende
 kenmerk, dient niet groter te zijn dan ca. 35%, bij voor-
 keur niet groter dan ca. 25%, van de totale lengte van de
 30 kous D.

In het ideale geval is de lengte niet groter dan ca,
 20% van D. Bij een gebruikelijke kous volgens de uitvin-
 ding, zal afmeting D in het bereik van ca. 2 tot 10 cm,
 gebruikelijker ca. 3 tot 7 cm, bijv. ca. 5 cm liggen. De
 35 breedte B ervan zal gewoonlijk ca. 1 cm niet te boven gaan,
 en zal gewoonlijk ca. 5 tot 7 mm bedragen.

Met verwijzing naar figuur 6 is eenzelfde aanzicht te zien van een kous 600 met een punt of neus 601 zoals in het algemeen weergegeven in figuur 4, met recht naar binnen gerichte kanten 602. De relatieve verhoudingen A, B, C en D in de in figuur 6 weergegeven kous moeten volgens de zojuist met betrekking tot figuur 5 beschreven principes bepaald worden.

Indien gewenst, kan de punt of neus van de kous eindigen in een echte, d.w.z. scherpe, punt, maar een stompe punt, zoals deze in de onderhavige beschrijving geïllustreerd is, geniet de voorkeur.

In de figuren 7 en 8 is een alternatieve constructie van een testinrichting volgens de uitvinding te zien, met hetzelfde basisconcept als hetgeen hiervoor reeds werd beschreven met verwijzing naar de figuren 1 en 2.

In figuur 7 is een algemeen aanzicht te zien van de buitenkant van de inrichting. Deze omvat een verlengd hol huis 700 met een relatief breed middengedeelte 701 met nauwere delen 702 en 703 die elk einde verlengen. Het huis is gevormd uit een bovenste vormstuk 704 en een onderste vormstuk 705, gewoonlijk van kunststofmateriaal. Het naar voren verlengde gedeelte 702 heeft een afgerond einde 706 dat een "mond" 707 huisvest waaruit een poreus-monster-opnemend deel (kous) 708 naar voren steekt. Het achterste gedeelte 703 van het huis bevat in het bovenvlak een rechthoekig raam 709 waardoor de binnenkant van de inrichting te zien is. Er kan een overeenkomend raam (niet weergegeven) aan de onderkant van het huis van de inrichting zijn indien het gewenst is dat het testresultaat via transmissie door de inrichting afgelezen wordt. Het uiteinde 710 van het huis eindigt in een vierkant gemaakte vorm met één afgeschuinde hoek 711. Eventueel kan de inrichting worden voorzien van een tweevoudige plaats-kap (niet weergegeven) zoals deze in WO 95/13541 is beschreven.

Met verwijzing naar figuur 8 is de inrichting van figuur 7 weergegeven met een verwijderd bovenste vormstuk

van het huis om de inwendige bestanddelen te tonen. [In dit aanzicht is de inrichting gedraaid in de met de onderhavige beschrijving ingediende informele tekeningen.]

Het monster-opnemende deel (kous) 708 loopt in het
5 huis 705 door naar een afstand verder dan het uiteinde 800
van het verbrede gedeelte van het huis 701. Het uiteinde
801 van de kous 708 is scherp vernauwd om te voorzien in
een vloeistofstroom-focusserende punt of neus 802, zoals
deze reeds in de onderhavige beschrijving beschreven werd.
10 In de benedenstroom van de kous is een tweede poreus li-
chaam 803 dat een rechthoekige strip van dragermateriaal,
zoals nitrocellulose, omvat. De neus 802 van de kous over-
lapt het naar voren gerichte einde 804 van de drager 803
waarbij wordt voorzien in vloeistofstroomcontact tussen
15 deze twee bestanddelen. De dragerstrip 803 wordt op zijn
plaats gehouden door middel van een doorboring 805 waarin
een in het huis gevormde pen 806 is aangebracht, en dit
wordt aangevuld door andere fysische kenmerken van de
gevormde inrichting, die worden voorgesteld door twee
20 lippen 807 en 808 die de kanten 809 en 810 van de drager-
strip borgen. De plaats van de kous wordt gedefinieerd door
een doorboring 811 en een overeenkomstige gevormde pen 812.
Aan het benedenstroomse einde 801 van de kous, maar boven
het scherp vernauwde gedeelte 802, is een afgezette band
25 813 van mobiliseerbaar reagens die, wanneer de inrichting
gebruikt wordt, door een stromende monstervloeistof vanaf
de kous tot in het dragermateriaal meegevoerd kan worden.
De locaties van de twee reactiezones 814 en 815 worden door
stippellijnen op de drager weergegeven. Dit kunnen een
30 testzone en (benedenstrooms) een controlezone zijn. Als
alternatief kunnen het onderscheiden zones voor het detec-
teren van twee verschillende analyten in een gemeenschappe-
lijk monster zijn. In dit laatste geval kan het mobiliseer-
bare reagens twee onderscheiden moleculen omvatten die
35 afzonderlijk met het monster reageren, waarbij in signalen
in de twee zones wordt voorzien. Er kunnen indien gewenst

nog meer zones en reagentia in de inrichting toegepast worden. Wanneer afzonderlijke mobiliseerbare reagentia inbegrepen zijn, is het niet noodzakelijk dat deze op dezelfde plaats afgezet worden. De reactiezones 814 en 815
5 liggen onder het raam van het huis, waarvan de positie door de stippellijnen 816 wordt aangegeven.

Bij gebruik wordt door de aanwezigheid van de neus aan het uiteinde van de kous de vloeistofstroom naar de middellijn van het dragermateriaal gefocusseerd, waarbij de
10 waarschijnlijkheid verminderd wordt dat bij het tussenvlak tussen de twee poreuze lichamen de voortbewegende vloeistof van de beoogde stroombaan zal afwijken.

De in de figuren 7 en 8 weergegeven uitvoeringsvorm is een ideale testinrichting voor gebruik bij de meting van
15 de concentratie van hormonen in de urine die van belang zijn voor de status van de humane ovulatiecyclus. De kous wordt bij voorkeur gevormd uit niet-geweven weefsel, zoals hierin werd beschreven. Het mobiliseerbare reagens omvat bij voorkeur twee populaties van deeltjesvormige merkver-
20 bindingen, zoals latex-deeltjes, die respectievelijk een anti-LH-antilichaam en een anti-E3G-antilichaam bevatten. Een van de reactiezones (bij voorkeur die in de bovenstroom) bevat een geïmmobiliseerd specifiek bindend reagens dat kan leiden tot het invangen van het gemerkte anti-LH-
25 antilichaam in aanwezigheid van de LH-analyt. De andere reactiezone bevat bij voorkeur een geïmmobiliseerd specifiek bindend reagens dat kan leiden tot een competitie-reactie wanneer E3G in het opgebrachte monster aanwezig is. In de voorkeursuitvoeringsvorm wordt in de bovenstroomse
30 detectiezone een detecteerbaar signaal opgewekt dat recht-evenredig is met de LH-concentratie in het opgebrachte monster. In de benedenstroomse zone wordt een detecteerbaar signaal opgewekt dat omgekeerd evenredig is met de E3G-concentratie. De intensiteit van de in deze zones opgewekte
35 signalen kan optisch gelezen worden, bij voorkeur via transmissie door de inrichting. De signalen kunnen geïnter-

preteerd worden met behulp van een elektronische monitor. De stroom-focuserende eigenschappen van een gevormde kous volgens de uitvinding dragen tot de gevoeligheid van de test en derhalve tot de daarvan afgeleide informatie-nauw-
5 keurigheid bij.

Door het poreuze lichaam, bijv. het monster-opnemende deel, te voorzien van een scherp vernauwd uiteinde op het tussenvlak met het benedenstroomse poreuze lichaam, voorziet de uitvinding in vloeistofstroom-focuserende voorde-
10 len zonder vermindering van een van de andere kenmerken van het poreuze bestanddeel. In het geval bijvoorbeeld van het monster-opnemende deel is het gewenst dat dit deel een maximaal absorptievermogen voor vloeistof dient te hebben teneinde te voorzien in een passend reservoir van monster-
15 vloeistof om de testinrichting te bedrijven. Het zou derhalve zeer ongewenst zijn dat het monster-opnemende deel een in hoofdzaak nauwere breedte over de volle lengte bezit. Hoewel met een monster-opnemend deel met een nauwere breedte dan die van de benedenstroomse partner voorzien zou
20 kunnen worden in enig vloeistof-focuserend voordeel bij het tussenvlak, zou de bijkomende lengte van het nauwe monster-opnemende deel die nodig is om een vergelijkbaar retentievermogen voor vloeistof te verschaffen, ongewenst zijn. Hierdoor zouden de totale afmetingen van de testin-
25 richting toenemen, waardoor deze minder gemakkelijk te gebruiken en te vervaardigen zou zijn. In de techniek leeft de wens tests van dit type te vervaardigen die in de minimale hoeveelheid tijd werken, en dit doel is onverenigbaar met een toename van de totale lengte van de stroombaan voor
30 de vloeistof.

Een verder voordeel van een vloeistofstroom-focusserende kous volgens de uitvinding is dat het gebruik ervan in een testinrichting tot een verhoogde testgevoeligheid kan leiden.

35 Nog een ander voordeel van de speciaal gevormde kous is dat wordt voorzien in veel grotere productietoleranties

tijdens de montage van een testinrichting. Indien de kous
tijdens de montage van een inrichting die een huis en een
serie poreuze bestanddelen omvat, foutief uitgelijnd is,
kan er onnodig contact tussen de kous en het inwendige van
5 het huis gevormd worden. Door gebruik te maken van een
stroom-focusserende kous volgens de uitvinding kan een
geringe foutieve uitlijning van het benedenstroomse einde
van de kous worden getolereerd zonder dat dit leidt tot een
situatie waarbij zich een overstroming van de testinrich-
10 ting bij het tussenvlak tussen de kous en het volgende
poreuze bestanddeel kan voordoen.

15

20

25

30

35

Conclusies

1. Testinrichting (100), omvattende een samengestelde strip die ten minste twee lichamen (107 en 201) van poreus vloeistofgeleidend materiaal in vloeistofstroom-contact met elkaar via een tussenvlak en tezamen ten minste een deel van een stroombaan voor een vloeistof definiërend, waardoor vloeistof tijdens de werking van een test moet stromen, omvat, met het kenmerk, dat bij het tussenvlak de breedte-afmeting (A), ten opzichte van de richting van de stroombaan voor de vloeistof, van het contactoppervlak (502) van het bovenstroomse lichaam (107) zodanig vernauwd is, dat de vloeistofstroom vanaf het bovenstroomse lichaam (201) naar het benedenstroomse lichaam naar de middellijn (503) van de stroombaan in het benedenstroomse lichaam gefocusseerd is.

2. Testinrichting volgens conclusie 1, met het kenmerk, dat de lichamen van poreus materiaal ten minste gedeeltelijk in een uit vast voor vocht niet-doorlaatbaar materiaal geconstrueerd, hol huis (101, 102) vervat zijn.

3. Testinrichting volgens conclusie 1 of 2, met het kenmerk, dat de lichamen van poreus materiaal fysisch afzonderlijke bestanddelen zijn en tijdens de montage van de inrichting met elkaar in contact geplaatst zijn.

4. Testinrichting volgens conclusie 2, met het kenmerk, dat de lichamen van poreus materiaal fysisch afzonderlijke bestanddelen zijn en uitsluitend door opsluiting in het holle huis met elkaar in contact gehouden worden.

5. Testinrichting volgens een van de voorgaande conclusies, met het kenmerk, dat het vernauwde gedeelte van het bovenstroomse lichaam een punt of neus vormt.

6. Testinrichting volgens een van de voorgaande conclusies, met het kenmerk, dat het bovenstroomse lichaam een monster-opnemend deel of kous is.

5

10

15

20

25

30

35

Fig.3.

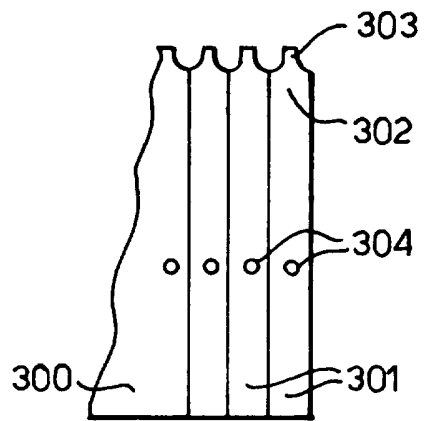


Fig.4.

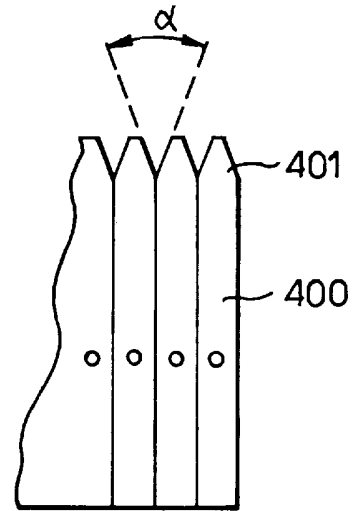


Fig.5.

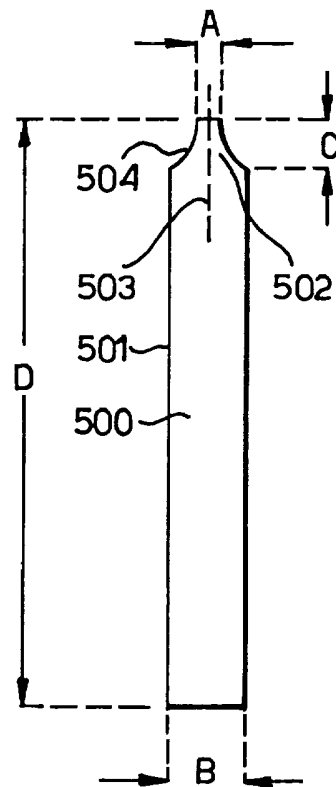


Fig.6.

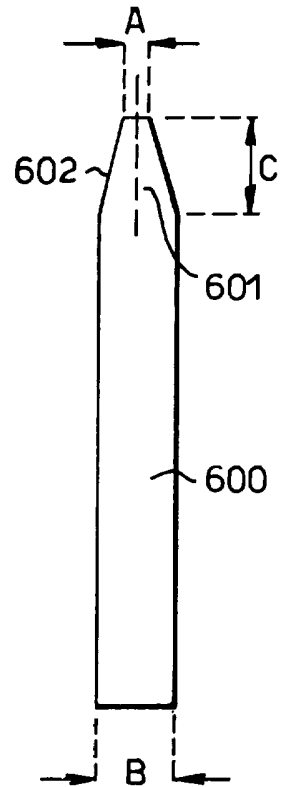


Fig.7.

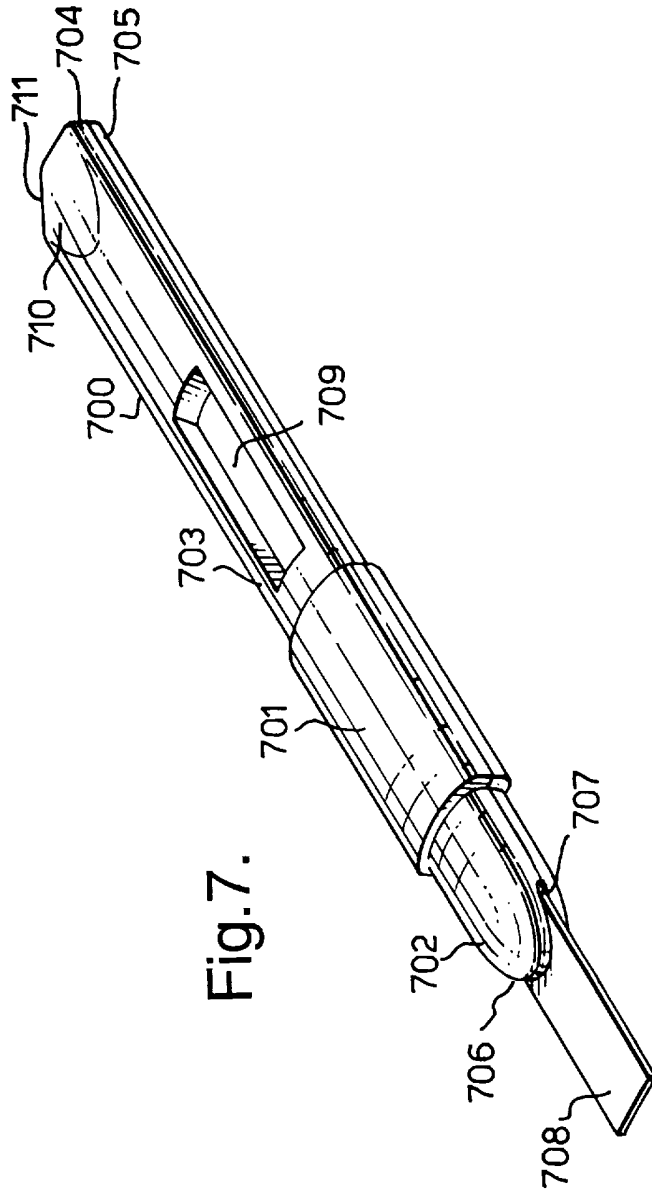
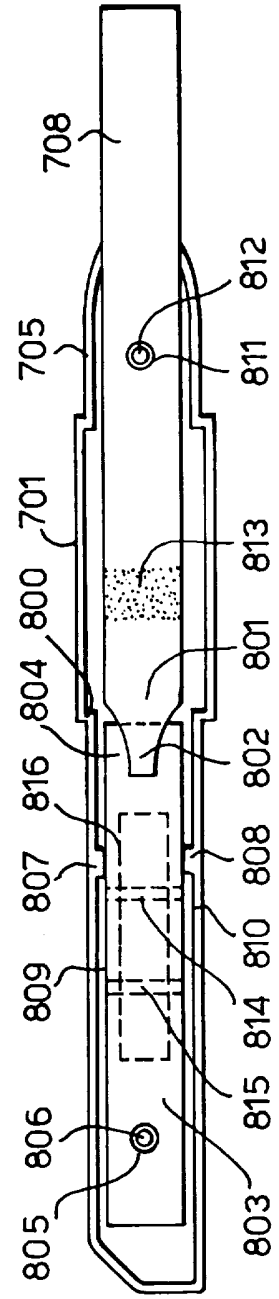


Fig.8.



Octrooiaanvraag Nr: **1008254**

RAPPORT BETREFFENDE HET ONDERZOEK NAAR DE STAND VAN DE TECHNIEK

Van belang zijnde literatuur			
Categorie *	Vermelding van literatuur met aanduiding, voor zover nodig, van speciaal van belang zijnde tekstgedeelten of figuren.	Van belang voor conclusie(s) Nr.:	International Patent Classification (IPC)
T,A	WO-A 97/26083 (G.Quagliarella, e.a.,Boehringer)24-7-1997 * bladzijde 5, regel 14-30; conclusies 6,7 en 8 * - testinrichting omvattende een samengestelde strip - testinrichting met hol huis	1 2,3,4	G01N 1/20 G01N 33/52
	---		Onderzochte gebieden van de techniek, gedefinieerd volgens IPC 6
D,A	WO-A 96/09546 (C. Cunningham, Unipath Ltd.) 28-3-1996 * bladzijde 7, regel 13 - 18; regel 32 - 34 * - testinrichting omvattende een samengestelde strip, met als bovenstrooms lichaam een monsteropnemend deel - testinrichting met hol huis	1,6 2,3,4	B01L 3/00 G01N 33/52 G01N 33/543 G01N 33/558
	---		Computerbestanden
A	WO-A 95/13542 (P. Mundill, e.a.Unipath Ltd) 18-5-1995 * samenvatting; bladzijde 1, regel 31-36; conclusie 1 * - testinrichting omvattende een samengestelde strip, met als bovenstrooms lichaam een monsteropnemend deel - testinrichting met hol huis	1,6 2,3,4	Epodoc WPI PAJ

A	EP-A 653.639 (J. Senior, e.a., Unipath Ltd) 12-11-1993 * samenvatting; figuur 1 * - testinrichting omvattende een samengestelde strip, met als bovenstrooms lichaam een monsteropnemend deel - testinrichting met hol huis	1,6 2,3,4	

A	WO-A 92/01226 (Unilever N.V.) 23-01-1992 * samenvatting; conclusie 1 * - testinrichting omvattende een samengestelde strip, met als bovenstrooms lichaam een monsteropnemend deel - testinrichting met hol huis	1,6 2,3,4	

Bureau voor de Industriële Eigendom

Patentlaan 2 • Postbus 5820 • 2280 HV Rijswijk • Postbank rekening 17300 • ABN-AMRO rekening 40.45.00.714
Telefoon 070-3986655 • Centrale telefax 070-3900190

Indien gewijzigde conclusies zijn ingediend, heeft dit rapport
betrekking op de conclusies ingediend op:

* Verklaring van de
categorie-aanduiding:
zie apart blad

Omvang van het onderzoek: **volledig**

Onderzochte conclusies:

Niet (volledig) onderzochte
conclusies met redenen:

Datum waarop het
onderzoek werd voltooid: **24 december 1998**

Vooronderzoeker: **ir. A.E. Heezius**

Afdelingstelefax:
Doorkiesnummer:

Het Bureau voor de Industriële Eigendom is een onderdeel van het
Ministerie van Economische Zaken.

Bureau voor de Industriële Eigendom

Patentlaan 2 • Postbus 5820 • 2280 HV Rijswijk • Postbank rekening 17300 • ABN-AMRO rekening 40.45.00.714
Telefoon 070-3986655 • Centrale telefax 070-3900190

Categorie van de vermelde literatuur:

- X: op zichzelf van bijzonder belang zijnde stand van de techniek
- Y: in samenhang met andere geciteerde literatuur van bijzonder belang zijnde stand van de techniek
- A: niet tot de categorie X of Y behorende van belang zijnde stand van de techniek
- O: verwijzend naar niet op schrift gestelde stand van de techniek
- P: literatuur gepubliceerd tussen voorrangs- en indieningsdatum
- T: niet tijdig gepubliceerde literatuur over theorie of principe ten grondslag liggend aan de uitvinding
- E: colliderende octrooiaanvraag
- D: in de aanvraag genoemd
- L: om andere redenen vermelde literatuur
- &: lid van dezelfde octrooifamilie; corresponderende literatuur

**AANHANGSEL BEHORENDE BIJ HET RAPPORT BETREFFENDE HET ONDERZOEK NAAR DE
STAND VAN DE TECHNIEK, UITGEVOERD IN OCTROOIAANVRAGE NR.1008254**

Het aanhangsel bevat een opgave van elders gepubliceerde octrooiaanvragen of octrooien (zogenaamde leden van dezelfde octrooifamilie), die overeenkomen met octrooigeschriften genoemd in het rapport.

De opgave is samengesteld aan de hand van gegevens uit het computerbestand van het Europees Octrooibureau 5 januari 1999

De juistheid en volledigheid van deze opgave wordt noch door het Europees Octrooibureau, noch door de Octrooiraad gegarandeerd; de gegevens worden verstrekt voor informatiedoeleinden.

In het rapport genoemd octrooi- geschrift	datum van publicatie	overeenkomend(e) geschrift(en)	datum van publicatie
WO-A 9.726.083	24-07-97	IT-B 1.281.738	27-02-98
		AU-A 1.306.197	11-08-97
		EP-A 0.974.690	04-11-98
WO-A 9.609.546	28-03-96	AU-A 3.651.395	09-04-96
		CA-A 2.199.823	28-03-96
		EP-A 0.782.707	09-07-97
		JP-T 10.505.909	09-06-98
WO-A 9.513.542	18-05-95	AT-T 157.171	15-09-97
		AU-A 8.106.994	29-05-95
		DE-D 69.405.116	25-09-97
		DE-T 69.405.116	05-03-98
		DK-T 728.309	30-03-98
		EP-A 0.728.309	28-08-96
		ES-T 2.109.802	16-01-98
		GR-T 3.025.217	27-02-98
EP-A 0.653.639	17-05-95	JP-B 2.810.238	15-10-98
		AU-A 7.994.194	29-05-95
		BR-A 9.408.040	24-12-96

Algemene informatie over dit aanhangsel is gepubliceerd in de 'Official Journal' van het Europees Octrooibureau nr 12/82 blz 448 ev

	CA-A	2.173.966		18-05-95
	CN-A	1.134.751		30-10-96
	CZ-A	9.601.319		11-09-96
	DE-U	9.418.147		16-02-95
	WO-A	9.513.541		18-05-95
	ES-U	1.030.750		01-10-95
	FR-A	2.712.392		19-05-95
	HU-A	76.427		28-08-97
	IT-U	940.228		11-11-94
	JP-B	2.825.349		18-11-98
	NZ-A	274.853		28-10-96
	PL-A	314.302		02-09-96
	US-A	5.504.013		02-04-96
	ZA-A	9.408.783		07-05-96
WO-A	9.201.226		23-01-92	
	AU-A	7.903.694		04-05-95
	AU-B	656.528		09-02-95
	AU-A	8.101.591		04-02-92
	EP-A	0.491.024		24-06-92
	JP-T	4.507.146		10-12-92