

(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: 2007.01.19	(73) Titular(es): LATTEC I/S
(30) Prioridade(s): 2006.01.19 DK 200600083 2006.01.19 US 759952 P	SLANGERUPGADE 69 3400 HILLEROD DK
(43) Data de publicação do pedido: 2008.10.22	(72) Inventor(es): LARS NYGAARD DK
(45) Data e BPI da concessão: 2012.06.27 174/2012	(74) Mandatário: ÁLVARO ALBANO DUARTE CATANA AVENIDA MARQUÊS DE TOMAR, Nº 44, 6º 1069-229 LISBOA PT

(54) Epígrafe: **DISPOSITIVO DE TIRA DE TESTE SECA E MÉTODO PARA A DETERMINAÇÃO DE UM ANALITO NUMA AMOSTRA**

(57) Resumo:

A INVENÇÃO DIZ RESPEITO A UM DISPOSITIVO DE TIRA DE TESTE SECA PARA A DETERMINAÇÃO DE ANALITOS NUMA AMOSTRA POR MEIO DE UM ENSAIO QUÍMICO. O DISPOSITIVO COMPREENDE: (I) OPCIONALMENTE, UM SUPORTE SÓLIDO, (II) PELO MENOS UMA ALMOFADA DE REAGENTE TENDO UM REAGENTE CAPAZ DE REAGIR COM O ANALITO, UM DERIVADO DO REFERIDO ANALITO OU UM COMPOSTO INDICADOR PARA O REFERIDO ANALITO FORNECER UM SINAL DETETÁVEL QUANDO EM ESTADO HUMEDECIDO, E (III) UMA ALMOFADA DE DESENVOLVIMENTO QUE É COLOCADA EM CONTACTO COM A PELO MENOS UMA ALMOFADA DE REAGENTE, OPCIONALMENTE, ENTRE O SUPORTE SÓLIDO E A PELO MENOS UMA ALMOFADA DE REAGENTE, A REFERIDA ALMOFADA DE DESENVOLVIMENTO COMPREENDENDO PELO MENOS UM COMPOSTO DE CONTROLO CAPAZ DE FORNECER UMA CONDIÇÃO NECESSÁRIA PARA QUE O REAGENTE REAJA COM O ANALITO PARA FORNECER UM SINAL DETETÁVEL, EM QUE A PELO MENOS UMA ALMOFADA DE REAGENTE, E A ALMOFADA DE DESENVOLVIMENTO ESTÃO DISPOSTOS DE MODO A EVITAR A PRECIPITAÇÃO DO(S) COMPONENTE(S) DA AMOSTRA NA FACE SUPERIOR DO DISPOSITIVO.

RESUMO

"DISPOSITIVO DE TIRA DE TESTE SECA E MÉTODO PARA A DETERMINAÇÃO DE UM ANALITO NUMA AMOSTRA"

A invenção diz respeito a um dispositivo de tira de teste seca para a determinação de analitos numa amostra por meio de um ensaio químico. O dispositivo compreende: (i) opcionalmente, um suporte sólido, (ii) pelo menos uma almofada de reagente tendo um reagente capaz de reagir com o analito, um derivado do referido analito ou um composto indicador para o referido analito fornecer um sinal detetável quando em estado humedecido, e (iii) uma almofada de desenvolvimento que é colocada em contacto com a pelo menos uma almofada de reagente, opcionalmente, entre o suporte sólido e a pelo menos uma almofada de reagente, a referida almofada de desenvolvimento compreendendo pelo menos um composto de controlo capaz de fornecer uma condição necessária para que o reagente reaja com o analito para fornecer um sinal detetável, em que a pelo menos uma almofada de reagente, e a almofada de desenvolvimento estão dispostos de modo a evitar a precipitação do(s) componente(s) da amostra na face superior do dispositivo.

DESCRIÇÃO

"DISPOSITIVO DE TIRA DE TESTE SECA E MÉTODO PARA A DETERMINAÇÃO DE UM ANALITO NUMA AMOSTRA"

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção refere-se ao campo da análise de um analito numa amostra de leite. Em particular, a presente invenção refere-se a uma construção melhorada de um dispositivo de tira de teste seca para a determinação de um analito numa amostra de leite através da utilização de um ensaio químico, em que é particularmente tido cuidado para evitar a precipitação dos componentes da amostra de leite na face superior do dispositivo, causando a limitação do sinal detetável.

ESTADO DA TÉCNICA

O Melhoramento de Rebanhos Leiteiros (DHI) sempre se baseou no registo do leite de vacas individuais num rebanho. Ao aumentar este conhecimento sobre cada vaca individual, é possível tanto aumentar a quantidade como melhorar a qualidade do leite. Além disso, a situação geral de saúde é melhorada e as receitas para os agricultores irão, assim, aumentar. Uma forma de os agricultores aumentarem o seu rendimento pode ser a otimização da alimentação através do monitoramento do teor de ureia.

Na exploração de vacas leiteiras, é muito importante que os animais (vacas, por exemplo) utilizem o teor de proteínas na alimentação de forma ideal, visto que a proteína é um dos componentes mais caros na alimentação animal. A utilização depende, *inter alia*, da quantidade de energia e de proteína presentes em simultâneo no animal.

Quando a alimentação contém mais proteína do que o necessário, nem todo o amoníaco formado da mesma pode ser processado no rúmen. O amoníaco em excesso é absorvido no sangue e descarregado para o fígado, onde o amoníaco é convertido em ureia ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$). Esta ureia é absorvida no sangue e em grande parte eliminada através da urina. A partir do sangue, uma pequena parte da ureia também encontra o seu caminho para o leite. Numa vaca que produza 25 kg de leite, o teor de ureia é, geralmente, cerca de 5 a 8 g de ureia por 25 kg de leite ou (0,2 a 0,3 g/L). Quanto mais amoníaco houver no rúmen, mais ureia se encontra no sangue, o que por sua vez significa que se encontra mais ureia no leite.

O excesso de proteína (que também proporciona um excesso de azoto, porque a proteína inclui azoto) na alimentação conduz a maior teor de ureia no leite. Assim, do ponto de vista da utilização de azoto, um teor de ureia baixo é desejável. No entanto, existe também um limite inferior. Um teor de ureia indevidamente baixo indica uma relação de energia na alimentação imprópria ou um baixo teor de proteína indevido na alimentação. Se os animais forem alimentados com défice, produzirão menos leite do que são capazes, e/ou o teor de proteína no leite decresce.

Outro ponto importante pode ser a necessidade de energia para processar a ureia. Por outras palavras, um elevado equilíbrio de azoto é também energeticamente desfavorável.

Há uma relação direta entre a quantidade de proteína alimentada e a concentração de ureia no sangue e no leite. Resultados elevados de MUN (Azoto Ureico no Leite) indicam

uma oportunidade para reduzir o teor de proteína das dietas, sem reduzir a produção de leite. Isto reduzirá os custos de alimentação e, além disso, reduz a libertação de azoto para o ambiente. A sobrealimentação com proteína, resultando em níveis elevados de ureia no leite, terá as seguintes consequências:

- A energia é necessária para que as vacas sintetizem a ureia para a excreção
- A redução da quantidade de energia disponível para a produção de leite
- Menos energia disponível pode levar a lactação precoce a maiores riscos de cetose
- O alto nível de ureia é tóxico para os espermatozóides e embriões e pode resultar em redução da fertilidade
- Níveis elevados de ureia contribuem para a contaminação do meio ambiente

Hoje em dia, muitos agricultores sobrealimentam proteínas em 10-20%. A sobrealimentação de proteína em 20%, vai levar ao aumento do custo em cerca de USD 50/vaca/ano. A informação dada aos agricultores, observando o padrão de Azoto Ureico no Leite irá fornecer a base para as decisões sobre a forma de mudar a alimentação, especialmente sobre a relação energia/proteína (ver a tabela abaixo). Como os níveis de MUN são afetados por um grande número de fatores relacionados com a vaca, incluindo a idade, estágio de lactação, estado de saúde, o consumo de água e consumo de matéria seca, as vacas alimentadas com a mesma ração, muitas vezes têm valores MUN muito diferentes. Por isso recomenda-se geralmente a utilização dos resultados MUN de um mínimo de 10 vacas para o diagnóstico de problemas de alimentação.

Todas as informações a partir de amostras de leite sobre o teor de ureia, além de muitos outros dados sobre vacas individuais, podem ser armazenadas em várias bases de dados. Uma série de bases de dados poderia estar interligada e ser utilizada por consultores, veterinários, conselheiros e outros, sem a necessidade de deslocamentos aos locais de exploração. A informação pode ser utilizada para comparar a situação em diferentes países, para melhorar os valores genéticos para otimizar a alimentação e para reduzir o problema de alimentação insuficiente.

Assim, a determinação da ureia numa amostra tornou-se cada vez mais popular e as novas tecnologias que permitem a medição de um grande número de amostras e o padrão de Azoto Ureico do Leite (MUN) é frequentemente usado como um indicador dos níveis de amoníaco no rúmen. O teor de MUN é um reflexo rápido e preciso da quantidade de azoto absorvido pela vaca, mas não usado para o crescimento ou síntese de proteínas do leite. A determinação do teor de ureia de uma amostra que aplique dispositivos de teste à base de enzimas, como as tiras Reflotest e Azotest®Strip/Azostix, é bem conhecida pelo perito na arte. Tanto a Reflotest, como a Azotest®Strip/Azostix empregam a uréase e corantes azo para a determinação da ureia na amostra.

O teor de ureia numa amostra pode também ser determinado utilizando um ensaio químico utilizando agentes de coloração, tais como o-ftalaldeído, ensaios químicos tais sendo bem conhecidos do perito na arte. Muitas vezes ensaios químicos implicam compostos/compostos de controlo

(tais como os ácidos), que podem causar a precipitação dos componentes da amostra.

O documento US 4,215,995 descreve meios de ensaio para determinar o teor de ureia numa amostra. O meio de ensaio consiste num único papel de filtro que é impregnado numa aplicação de três fases de reagentes (incluindo o-ftalaldeído) separados uns dos outros numa matriz de transporte ácida modificada. Desta forma, uma maior estabilidade dos reagentes é alcançada e a precipitação das proteínas do soro pode ser evitada, através do fornecimento de uma matriz de ácido adequada, utilizando um papel carregado de permuta catiónica forte. O problema com o dispositivo fornecido no documento US 4,215,995 é que o componente de acidez não é isolado a partir dos reagentes e será contactado diretamente por amostras líquidas sensíveis ao pH, o que pode causar a precipitação dos componentes da amostra na face superior do dispositivo e, assim, reduzir o sinal legível.

O pedido de patente JP 10-229023 descreve um dispositivo de teste que compreende um suporte sólido e uma almofada de reagente e uma almofada de desenvolvimento para a determinação de ureia numa amostra, tal como o sangue, soro ou plasma. A almofada de reagente é impregnada com glicerina acetal o-ftalaldeído, polivinilpirrolidona e água destilada. A almofada de desenvolvimento é impregnada com oxalato de N-1-naftil-N'-dietiletilenodiamina, ácido 4-sulfoftálico numa solução aquosa, um agente tensioativo e água destilada. A almofada de reagente é então revestida sobre o suporte sólido, a almofada de desenvolvimento é revestida sobre esta almofada de reagente. O problema da utilização do presente ou de um

dispositivo de teste semelhante para a determinação da ureia numa amostra, tal como o leite, é a de que o ácido impregnado na almofada de desenvolvimento (a camada superior), faz com que as proteínas do leite se precipitem no topo do dispositivo. Esta precipitação interfere com a cor desenvolvida quando a ureia é determinada e pode aumentar o número de resultados falsos.

Assim, existe uma necessidade na indústria face a uma construção simples de tira de teste seca, onde a interferência dos componentes da amostra precipitados seja limitada ou evitada.

SUMÁRIO DA PRESENTE INVENÇÃO

Em conformidade, num primeiro aspeto, o objetivo da presente invenção é fornecer um dispositivo de tira de teste seca para a determinação de um analito numa amostra de leite por meio de um ensaio químico, em que o referido dispositivo de tira de teste seca está construído de tal maneira que limita ou evita a precipitação de componente(s) de amostra de leite. O dispositivo de tira de testa seca compreende:

- (i) opcionalmente, um suporte sólido,
- (ii) pelo menos uma almofada de reagente tendo um reagente capaz de reagir com o analito, um derivado do referido analito ou um composto indicador para o referido analito fornecer um sinal detetável quando em estado humedecido,
- (iii) uma almofada de desenvolvimento que é colocada em contacto com a pelo menos uma almofada de reagente, opcionalmente, entre o suporte sólido e a pelo menos uma almofada de reagente, a referida almofada

de desenvolvimento compreendendo pelo menos um composto de controlo capaz de fornecer uma condição necessária para que o reagente reaja com o analito para fornecer um sinal detetável,

em que a pelo menos uma almofada de reagente e a almofada de desenvolvimento estão dispostas de modo a evitar a precipitação do(s) componente(s) da amostra de leite na face superior do dispositivo, e em que a amostra é aplicada na face superior do dispositivo e um sinal detetável é obtido a partir da face superior do dispositivo e em que o composto de controlo é um composto ácido capaz de proporcionar um valor de pH da amostra de leite abaixo de 6 e em que a face superior do dispositivo se refere à superfície onde a amostra inicialmente entra em contacto com a pelo menos uma almofada de reagente.

Num outro aspeto da presente invenção, é fornecido um dispositivo de tira de teste seca para a determinação de um analito numa amostra de leite por meio de um ensaio químico. O dispositivo de tira de teste seca compreende:

- (i) opcionalmente, um suporte sólido,
- (ii) pelo menos uma almofada de reagente tendo um reagente capaz de reagir com o analito, um derivado do referido analito ou um composto indicador para o referido analito fornecer um sinal detetável quando em estado humedecido,
- (iii) uma almofada de desenvolvimento que é colocada em contacto com a pelo menos uma almofada de reagente, opcionalmente, entre o suporte sólido e a pelo menos uma almofada de reagente, a referida almofada de desenvolvimento compreendendo pelo menos um

composto de controlo capaz de fornecer uma condição necessária para que o reagente reaja com o analito para fornecer um sinal detetável,

em que a pelo menos uma almofada de reagente é capaz de proporcionar um valor de pH da amostra de leite, de 6 ou superior a 6, de modo a evitar a precipitação do(s) componente(s) da amostra, e o composto de controlo presente na almofada de desenvolvimento é capaz de proporcionar um valor de pH da amostra de leite abaixo de 6, em que a pelo menos uma almofada de reagente e a almofada de desenvolvimento estão dispostas de modo a evitar a precipitação do(s) componente(s) da amostra de leite na face superior do dispositivo, em que a amostra é aplicada na face superior do dispositivo e o sinal detetável é obtido a partir da face superior do dispositivo e em que a face superior do dispositivo se refere à superfície em que a amostra inicialmente entra em contacto com a pelo menos uma almofada de reagente.

Para além disso, é um aspeto da presente invenção fornecer um dispositivo de tira de teste seca para a determinação de ureia numa amostra de leite, o referido dispositivo de tira de teste seca compreendendo opcionalmente um suporte sólido e, pelo menos, 2 almofadas, as referidas pelo menos 2 almofadas compreendendo (i) pelo menos, uma almofada de reagente compreendendo o-ftalaldeído ou um seu derivado, um composto corante e um detergente, e (ii) uma almofada de desenvolvimento que compreende pelo menos um ácido, em que a almofada de desenvolvimento está localizada a jusante da pelo menos uma almofada de reagente.

É também objetivo da presente invenção proporcionar um método para a preparação do dispositivo de tira de teste seca de acordo com a presente invenção. O método compreende os passos de:

- (i) proporcionar pelo menos uma almofada de reagente, através da impregnação de um primeiro material poroso com uma solução aquosa compreendendo um reagente capaz de reagir com o analito, um derivado do referido analito ou um composto indicador para o referido analito fornecer um sinal detetável quando num estado humedecido,
- (ii) depois disso, secar a pelo menos uma almofada de reagente,
- (iii) fornecer uma almofada de desenvolvimento por impregnação de um segundo material poroso com uma solução aquosa, compreendendo pelo menos um composto de controlo que, quando em estado húmido, é capaz de fornecer uma condição necessária para o reagente reagir com o analito para fornecer um sinal detetável,
- (iv) depois disso, secar o segundo material poroso impregnado, e
- (v) imobilizar o primeiro material poroso com o segundo material poroso, opcionalmente num suporte sólido, para se obter o dispositivo de tira de teste seca.

Num outro objetivo da presente invenção, é fornecido um método para a determinação de analitos numa amostra de leite. O método compreende os passos de:

- (a) aplicação da amostra suspeita de conter o analito num dispositivo de tira de teste seca, o referido dispositivo de tira de teste seca compreendendo:
 - i) pelo menos uma almofada de reagente tendo um reagente capaz de reagir com o analito, um

derivado do referido analito ou um composto indicador para o referido analito fornecer um sinal detetável quando em estado humedecido, e

- ii) uma almofada de desenvolvimento que é colocada em contacto com a pelo menos uma almofada de reagente, a referida almofada de desenvolvimento compreendendo pelo menos um composto de controlo capaz de fornecer uma condição necessária para que o reagente reaja com o analito para fornecer um sinal detetável,

em que a pelo menos uma almofada de reagente e a almofada de desenvolvimento estão dispostas de modo a evitar a precipitação do(s) componente(s) da amostra de leite na face superior do dispositivo.

- (b) Permitir que a amostra migre para a pelo menos uma almofada de reagente, e almofada de desenvolvimento e mobilizar o pelo menos um reagente e o pelo menos um composto de controlo, e
- (c) permitir que o pelo menos um reagente e o analito, o derivado do referido analito, ou composto indicador para o referido analito reajam e forneçam um sinal detetável.

A presente invenção será agora descrita em mais pormenor no texto que se segue.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA PRESENTE INVENÇÃO

Os inventores da presente invenção surpreendentemente encontraram e desenvolveram uma nova construção de um dispositivo de tiras de teste secas em que a interferência de componentes precipitados a partir da amostra de leite é limitada ou evitada.

A nova construção do dispositivo e tira de teste seca para a determinação de um analito numa amostra de leite, por meio de um ensaio químico compreende: (i) opcionalmente, um suporte sólido, (ii) pelo menos uma almofada de reagente tendo um reagente, ou uma combinação de reagentes, capazes de reagir com o analito, um derivado do referido analito ou um composto indicador para o referido analito fornecer um sinal detetável quando em estado humedecido, (iii) uma almofada de desenvolvimento que é colocada em contacto com a pelo menos uma almofada de reagente, opcionalmente, entre o suporte sólido e a pelo menos uma almofada de reagente, a referida almofada de desenvolvimento compreendendo pelo menos um composto de controlo capaz de fornecer uma condição necessária para que o reagente reaja com o analito para fornecer um sinal detetável, em que a almofada de desenvolvimento está disposta a jusante da pelo menos uma almofada de reagente, em que a pelo menos uma almofada de reagente e a almofada de desenvolvimento estão dispostas de modo a evitar a precipitação do(s) componente(s) da amostra de leite na face superior do dispositivo, e em que a amostra é aplicada na face superior do dispositivo e o sinal detetável é obtido a partir da face superior do dispositivo e em que o composto de controlo é um composto ácido capaz de proporcionar um valor de pH da amostra de leite abaixo de 6 e em que a face superior do dispositivo se refere à superfície onde a amostra inicialmente entra em contacto com a pelo menos uma almofada de reagente. Numa forma de realização da presente invenção, a pelo menos uma almofada de reagente compreende um reagente capaz de reagir com o analito, um derivado do referido analito, ou um composto indicador para o referido analito e/ou a um reagente capaz de participar na determinação do analito. O

reagente capaz de participar na determinação do analito pode ser um reagente que participe no ensaio para proporcionar um sinal detetável, mas que não se liga, reage ou interage diretamente com o analito.

No presente contexto, o termo "ensaio químico" refere-se à determinação da(s) quantidade(s) relativa(s) de um ou mais componentes da amostra de leite, por meio de uma reação química e/ou bioquímica. Numa forma de realização da presente invenção, o ensaio químico envolve a determinação do analito que não se baseia na determinação com base em enzimas.

Um ensaio à base de enzimas é um ensaio que depende ou utiliza a atividade enzimática de modo a produzir um sinal detetável.

Como mencionado acima, o dispositivo de tira de teste seca compreende pelo menos uma almofada de reagente e uma almofada de desenvolvimento em que a pelo menos uma almofada de reagente compreende o reagente ou a combinação de reagentes e a almofada de desenvolvimento compreende pelo menos um composto de controlo capaz de fornecer uma condição necessária para o reagente ou a combinação de reagentes reajam com o analito para produzir um sinal detetável. Numa forma de realização da presente invenção, a pelo menos uma almofada de reagente e a almofada de desenvolvimento encontram-se dispostas, uma em relação à outra, de tal modo que a precipitação dos componentes da amostra do leite pode ser evitada, em particular, para evitar a precipitação dos componentes da amostra do leite na superfície, onde a leitura/determinação (da cor) é executada.

No presente contexto, o termo "dispostas de modo a evitar a precipitação" refere-se à colocação da pelo menos uma almofada de reagente e da almofada de desenvolvimento de tal modo que a precipitação dos componentes da amostra de leite sobre a face superior do dispositivo de tira de teste seca é evitada quando se aplica a amostra. Por precipitação dos componentes da amostra de leite pretende-se significar os componentes da amostra de amostras de leite fluido ou de parte da amostra de leite fluido que se transformam em massa sólida ou semissólida, geralmente causada pela ação de, por exemplo, calor ou produtos químicos. Prefere-se que a precipitação seja fornecida através da ação de uma substância química (no presente contexto, um composto de controlo).

No presente contexto, a o termo "face superior" refere-se à superfície do dispositivo de tira de teste seca de acordo com a presente invenção, na qual a amostra de leite é aplicada ou na qual a amostra de leite inicialmente entra em contacto com a pelo menos uma almofada de reagente.

Numa forma de realização alternativa da presente invenção, a "face superior" refere-se à superfície do dispositivo de tira de teste seca da presente invenção, a partir da qual o sinal detetável é obtido. Esta superfície é a mesma que a superfície em que a amostra é aplicada.

Numa forma de realização da presente invenção, o dispositivo de tira de teste seca pode compreender, pelo menos, 2 almofadas de reagente, tais como pelo menos 3 almofadas de reagente, por exemplo pelo menos 4 almofadas

de reagente, tais como pelo menos 5 almofadas de reagente, por exemplo pelo menos 6 almofadas de reagente.

No presente contexto, o termo "componentes da amostra" referem-se a todas as substâncias presentes na amostra de leite, no momento da realização do ensaio, as os "componentes da amostra" podem numa forma de realização da presente invenção ser um dos reagentes do ensaio. Numa forma de realização da presente invenção, os componentes da amostra de leite que poderão tender a precipitar-se, podem ser as proteínas do leite, tais como moléculas de caseína.

Os inventores da presente invenção também proporcionaram um novo método para a determinação de um analito numa amostra de leite. O método compreende os passos de:

- (a) aplicação da amostra suspeita de conter o analito num dispositivo de tira de teste seca, o referido dispositivo de tira de teste seca compreendendo:
 - (i) pelo menos uma almofada de reagente tendo um reagente capaz de reagir com o analito, um derivado do referido analito ou um composto indicador para o referido analito fornecer um sinal detetável quando em estado humedecido, e
 - (ii) uma almofada de desenvolvimento que é colocada em contacto com a pelo menos uma almofada de reagente, a referida almofada de desenvolvimento compreendendo pelo menos um composto de controlo capaz de fornecer uma condição necessária para que o reagente reaja com o analito para fornecer um sinal detetável, em que a pelo menos uma almofada de reagente e a almofada de desenvolvimento estão dispostas de

modo a evitar a precipitação do(s) componente(s) da amostra de leite na face superior do dispositivo e em que a amostra é aplicada na face superior do dispositivo e o sinal detetável é obtido a partir da face superior do dispositivo e em que o composto de controlo é um composto ácido capaz de fornecer um valor de pH da amostra de leite abaixo de 6 e em que a face superior do dispositivo refere-se à superfície onde a amostra entra inicialmente e contacto com a pelo menos uma almofada de reagente

- (b) Permitir que a amostra migre para a pelo menos uma almofada de reagente, e almofada de desenvolvimento e mobilizar o pelo menos um reagente e o pelo menos um composto de controlo, e
- (c) permitir que o pelo menos um reagente e o analito, o derivado do referido analito, ou composto indicador para o referido analito reajam e forneçam um sinal detetável.

O sinal detetável pode ser qualquer substância que direta ou indiretamente seja capaz de ser observada por qualquer tipo de meios visuais ou instrumentais. Os meios instrumentais, por exemplo, podem ser um magnetómetro, espectrofotómetro, ou leitor ELISA. Vários compostos adequados podem ser adequados como composto de produção de cor. Na presente invenção, o composto de produção de cor pode ser seleccionado a partir do grupo consistindo de cromógenos, catalisadores, compostos fluorescentes, compostos quimioluminescentes, etiquetas radioativas, metais, partículas magnéticas, partículas corantes, partículas de látex polimérico orgânico, lipossomas ou

outras vesículas que contenham substâncias de produção de sinais e semelhantes.

No presente contexto, o termo "em estado húmido" refere-se ao contacto entre os reagentes contidos no(s) na almofada de reagente(s) e/ou o composto de controlo na almofada de desenvolvimento e a amostra de leite em que a almofada de reagente(s) e/ou a almofada de desenvolvimento se torna húmida ou ligeiramente húmida. O efeito do estado humedecido é que os reagentes secos, o(s) composto(s) de controlo seco(s) são libertados e dissolvidos (mobilizados) e a reação no dispositivo de tira de teste seca é iniciada e um sinal detetável é produzido, o qual depende da quantidade de analito presente na amostra de leite.

O material poroso

Os materiais seleccionados para serem utilizados na pelo menos uma almofada de reagente e/ou a almofada de desenvolvimento podem ser seleccionados a partir de um material poroso. No presente contexto, o termo "material poroso" refere-se a um material que adsorve a amostra de leite e, assim, permite que ela migre.

O material poroso seleccionado pode compreender um tamanho de poro e capacidade que tornem possível proporcionar uma elevada taxa de fluxo, que dissolve rapidamente o reagente ou a combinação dos reagentes, e que proporciona uma boa e substancialmente uniforme distribuição das amostras. Preferivelmente, o material poroso pode ser seleccionado para proporcionar essencialmente a retenção de substancialmente nenhuma das amostras ricas em triglicéridos. Numa forma de realização da presente

invenção, a retenção de triglicéridos é de 0%, tal como no máximo 1%, por exemplo no máximo 2,5%, tal como no máximo 5%, por exemplo no máximo 10%, tal como no máximo 15%, por exemplo no máximo 25%, tal como no máximo 50%, ou a retenção da maior parte ou de todos os triglicéridos, por exemplo, no máximo 75%, tal como no máximo 100%.

O material poroso é selecionado de entre o grupo que consiste numa membrana de nitrocelulose, celulose, um polímero (tal como o nylon, fluoreto de polivinilideno ou látex), fibras de vidro, fibras tecidas, fibras não tecidas, uma membrana de gel para cromatografia, terra de diatomáceas, sílica gel, óxido de silício e diatomite.

Numa forma de realização da presente invenção, o material poroso na pelo menos uma almofada de reagente e/ou na almofada de desenvolvimento pode ser selecionado a partir de um grupo de materiais que compreende um tamanho de poro de preferência no intervalo de 1-1000 μm , tal como na gama de 1-500 μm , tal como na gama de 1-100 μm , por exemplo na gama de 1-75 μm , tal como na gama de 5-500 μm , tal como na gama de 5-100 μm , por exemplo na gama de 5-75 μm , tal como na gama de 10-500 μm , tal como na gama de 10-100 μm , por exemplo na gama de 10-75 μm , tal como na gama de 10-50 μm , por exemplo na gama de 50-200 μm , tal como na gama de 50-100 μm , por exemplo, na gama de 100-500 μm , tal como na gama de 50-300 μm , por exemplo na gama de 75-300 μm , tal como na gama de 75-200 μm , por exemplo na gama de 75-150 μm , tal como na gama de 75-120 μm .

Ainda numa outra forma de realização da presente invenção, o material poroso na pelo menos uma almofada de reagente e/ou na almofada de desenvolvimento pode ser selecionado a

partir de um grupo de materiais que compreende um tamanho de poros apropriado, tal como num máximo de 500 μm , por exemplo no máximo 200 μm , tal como no máximo 150 μm , por exemplo no máximo 100 μm , tal como no máximo 75 μm .

De preferência, os materiais porosos utilizados na pelo menos uma almofada de reagente e/ou a almofada de desenvolvimento podem ser os mesmos em pelo menos 2 almofadas, tal como pelo menos 3 das almofadas, por exemplo 4 das almofadas, tal como pelo menos 5 das almofadas.

De acordo com o material poroso acima, pode ser desejável proporcionar um dispositivo para a deteção de um analito num ensaio rápido. Numa forma de realização da presente invenção, o tempo de ensaio a cerca de 20 °C pode ser inferior a 20 minutos, tal como inferior a 18 minutos, por exemplo inferior a 15 minutos, tal como inferior a 12 minutos, por exemplo inferior a 10 minutos, tal como inferior a 8 minutos, por exemplo inferior a 5 minutos, tal como inferior a 3 minutos, por exemplo inferior a 2 minutos, tal como na gama de 1 a 25 minutos, por exemplo, na gama de 2-25 minutos, tal como na gama de 5 a 20 minutos, por exemplo, na gama de 8-18 minutos, tal como na gama de 10 a 15 minutos, por exemplo, na gama de 11-14 minutos, tal como na gama de 12-13 minutos.

O suporte sólido

O dispositivo de acordo com a presente invenção pode ser suportado por um suporte sólido. No presente contexto, o termo "suporte sólido" refere-se a um material, que não tem qualquer influência sobre a migração ou a reação da amostra de leite líquido ou em reagente(s) ou nos agentes capazes

de aumentar a taxa da reação. O suporte sólido proporciona uma base de estabilização para o dispositivo de ensaio e proporciona resistência suficiente para manter a forma física desejada e não tem substancialmente qualquer interferência com a produção de um sinal detetável.

Numa forma de realização da presente invenção, o material para o suporte sólido é selecionado a partir do grupo que consiste em tubos, esferas poliméricas, tiras de nitrocelulose, membranas, filtros, folhas de plástico e semelhantes.

Naturalmente, os materiais de surgimento sintético e natural que são sinteticamente modificados, podem ser utilizados como o material da fase sólida. Tais materiais incluem os polissacáridos, por exemplo materiais celulósicos, tais como o papel e derivados de celulose, tais como acetato de celulose e nitrocelulose, materiais inorgânicos ou de sílica, tais como, por exemplo, alumina desativada, terra de diatomáceas, MgSO_4 e outros materiais inorgânicos finamente divididos e uniformemente dispersos numa matriz polimérica porosa, em que a matriz pode compreender um ou mais polímeros tais como homopolímeros e copolímeros de cloreto de vinilo, por exemplo, cloreto de polivinilo, copolímero de cloreto de vinilo-propileno, e copolímero de cloreto de vinilo-acetato de vinilo, tecido, tanto de ocorrência natural (por exemplo, o algodão) como sintética (por exemplo, o nylon), geles porosos, tais como sílica gel, agarose, dextrano, e gelatina, películas poliméricas, tais como a poliacrilamida, e semelhantes.

Numa forma de realização da presente invenção, o suporte sólido pode ser omitido do dispositivo de tira de teste

seca. Neste caso, o dispositivo de tira de teste seca compreende pelo menos uma almofada de reagente e uma almofada de desenvolvimento. Ao realizar uma determinação de um analito usando um dispositivo de tira de teste seca sem um suporte sólido, a amostra é aplicada no dispositivo de tira de teste seca sobre uma superfície e o sinal detetável pode ser detetado na mesma superfície, assim é limitada ou evitada qualquer possível precipitação de componentes da amostra de leite sobre a superfície onde o sinal detetável é para ser detetado.

A almofada de reagente

No presente contexto, o termo "almofada de reagente" refere-se a uma ou mais almofadas compreendendo um reagente ou uma combinação de reagentes. O reagente ou a combinação de reagentes pode ser impregnado na almofada de reagente, de tal modo que o reagente ou a combinação de reagentes é/são imobilizados, quando em estado seco, e são móveis, quando em estado húmido.

No presente contexto da presente invenção, o termo "reagente" refere-se à substância química que reage com, ou participa em ou é necessária, para a determinação de um analito, um derivado do referido analito, ou um composto indicador para o referido analito proporcionar um sinal detetável. Uma definição similar da combinação de reagentes pode ser proporcionada, a qual se refere mais especificamente a 2 ou mais reagentes, tais como 3 ou mais reagentes, por exemplo 4 ou mais reagentes, tais como 5 ou mais reagentes, por exemplo, 6 ou mais reagentes.

Numa forma de realização da presente invenção, o dispositivo de tira de teste seca compreende, pelo menos, 2 almofadas de reagente, tais como pelo menos 3 almofadas de reagente, por exemplo pelo menos 4 almofadas de reagente, tais como pelo menos 5 almofadas de reagente, por exemplo pelo menos 6 almofadas de reagente. Nesta forma de realização, os reagentes que reagem com, ou participam em, ou são necessários para, a determinação de um analito, um derivado do referido analito, ou um composto indicador para o referido analito proporcionar um sinal detetável, podem ser introduzidos em almofadas de reagente diferentes. Isto pode melhorar a estabilidade, as propriedades de armazenamento e aplicabilidade do dispositivo de tira de teste seca porque os compostos não compatíveis podem ser incluídos em almofadas de reagente diferentes do dispositivo de tira de teste seca.

A almofada de desenvolvimento

No presente contexto, o termo "almofada de desenvolvimento" refere-se a uma almofada capaz de regular o ambiente e as condições para a amostra de leite contendo o analito para um ambiente que facilite a determinação do analito, um derivado do referido analito ou um composto indicador para o referido analito.

Numa forma de realização da presente invenção, a almofada de desenvolvimento compreendem um ou mais compostos de controlo capazes de aumentar a velocidade da reação entre o analito, um derivado do referido analito, ou um composto indicador para o referido analito presente na amostra de leite e o(s) reagente(s). Numa forma de realização da presente invenção, o agente de controlo é um ácido.

Ainda numa outra forma de realização da presente invenção, a almofada de desenvolvimento está em contacto com a pelo menos uma almofada de reagente através da sobreposição substancialmente total, por sobreposição parcial ou por colocação adjacente a pelo menos uma almofada de reagente. Numa forma de realização da presente invenção, a almofada de desenvolvimento sobrepõe a pelo menos uma almofada de reagente em pelo menos, 5%, tal como pelo menos 10%, por exemplo, pelo menos 25%, tal como pelo menos 50%, por exemplo, pelo menos 75%, tal como pelo menos 80%, por exemplo, pelo menos 90%, tal como pelo menos 95%. No presente contexto, o termo "sobreposição substancialmente total" refere-se a duas almofadas separadas (a almofada de desenvolvimento e a pelo menos uma almofada de reagente) que são colocadas uma por cima da outra. No presente contexto, o termo "sobreposição parcial" refere-se a duas almofadas separadas (a almofada de desenvolvimento e a pelo menos uma almofada de reagente) que são sobrepostas com apenas uma parte da(s) almofada(s). Uma sobreposição parcial de 100% refere-se a uma sobreposição completa e a um desvio de 5% a partir dos 100%, a sobreposição completa refere-se a uma sobreposição substancialmente completa.

Numa forma de realização da presente invenção, a almofada de desenvolvimento e a pelo menos uma almofada de reagente(s) estão dispostas ao lado uma da outra. Isto significa que as almofadas são colocadas em contacto uma com a outra (tocando uma na outra). Uma sobreposição de 0% (mas em contacto) relaciona-se com o termo "colocação adjacente", além disso, uma sobreposição de menos de 5% é considerada como estando incluída no termo "colocação adjacente", tal como uma sobreposição de, no máximo de 4%,

por exemplo, uma sobreposição de no máximo 3%, tal como uma sobreposição de no máximo 2% ou, por exemplo, uma sobreposição de no máximo 1%.

Composto de controlo

Na almofada de desenvolvimento um composto de controlo está imobilizado. No presente contexto, o termo "composto de controlo" refere-se a uma substância que tem a função de um propulsor ou de um combustível no ensaio específico para a determinação do analito, um derivado do referido analito, ou um composto indicador para o referido analito. O composto de controlo pode também ser a substância química responsável para a precipitação dos componentes da amostra ou do composto químico que faz com que os componentes da amostra de leite não se precipitem. Numa forma de realização da presente invenção, o composto de controlo pode ser separado a partir de pelo menos um dos reagentes, a fim de melhorar a estabilidade do dispositivo de tira de teste seca.

Ainda numa outra forma de realização da presente invenção, o composto de controlo é um composto ácido. O composto de controlo é um composto ácido capaz de proporcionar um valor de pH da amostra no dispositivo de tira de teste seca, quando em estado húmido, abaixo de um pH 6, tal como abaixo de um pH 5, por exemplo, abaixo de um pH 4, tal como abaixo de um pH 3, por exemplo, abaixo de um pH 2, tal como abaixo de um pH 1, por exemplo, abaixo de um pH 0, tal como na gama de pH 0-6, por exemplo na gama de pH 0-5, tal como na gama de pH 0-4, por exemplo, na gama de pH 0-3, tal como na gama de pH 0-2, por exemplo, na gama de pH 0-1, tal como na gama de pH 1-6, por exemplo, na gama de pH 2-6, tal como

na gama de pH 3-6, por exemplo, na gama de pH 4-6, tal como na gama de pH 5-6.

Os analitos a serem determinados

Um dispositivo ou um método com base nos princípios acima, podem ser usados para determinar uma grande variedade de analitos por escolha de compostos corantes apropriados conhecidos dos peritos na arte, e o invento não necessita de ser limitado aos exemplos aqui mencionados.

Numa forma de realização da presente invenção, os analitos a serem testados podem ser selecionados a partir do grupo que consiste numa proteína, uma gordura, num hidrato de carbono, num antibiótico, num esteroide, tal como hormonas, uma vitamina, um composto químico, um hapteno, uma célula, tal como uma bactéria ou leucócitos, um anticorpo, uma droga de abuso e sangue.

Numa forma de realização da presente invenção, o analito é um composto químico e o composto químico pode ser selecionado a partir do grupo constituído por corpos de ureia, triglicéridos, e cetona, tal como acetoacetato, beta-hidroxibutirato (BHB), acetona, ácido ascórbico, nitratos, urobilinogénio, colesterol, e os esteróides, tais como a pregnenolona, progesterona, testosterona, dihidrotestosterona, estrona, estradiol, cortisol, cortisona, aldosterona, corticosterona, androstenediona, 17 α -OH-pregnenolona, 17 α -OH-progesterona, 11-desoxicorticosterona, 11-desoxicortisol e dehidroepiandrosterona, hormona luteinizante ou gonadotrofina coriónica humana.

O dispositivo e o método de acordo com a presente invenção podem também ser adequadas, quando o analito é um hidrato de carbono e o hidrato de carbono pode ser selecionado a partir do grupo consistindo de um monossacarídeo, como glucose ou galactose, e um dissacárido, tal como a lactose.

Numa forma de realização da presente invenção, o dispositivo de tira de teste seca é utilizado para a determinação de ureia numa amostra de leite. O dispositivo de tira de teste seca pode compreender, opcionalmente, um suporte sólido e, pelo menos, 2 almofadas, as referidas pelo menos 2 almofadas compreendendo (i) pelo menos, uma almofada de reagente que compreende o-ftalaldeído ou um seu derivado, um composto corante e um detergente, e (ii) a almofada de desenvolvimento compreendendo pelo menos um ácido, em que uma almofada de desenvolvimento pode estar localizada a jusante da pelo menos uma almofada de reagente. Nesta forma de realização, o composto ácido é capaz de proporcionar um valor de pH da amostra no dispositivo de tira de teste seca, quando num estado humedecido, abaixo de um pH 6, tal como abaixo de um pH 5, por exemplo, abaixo de um pH 4, tal como abaixo de um pH 3, por exemplo abaixo de um pH 2, tal como abaixo de um pH 1, por exemplo, abaixo de um pH 0, tal como na gama de um pH 0-6, por exemplo na gama de um pH 1-5, tal como na gama de um pH 1-4, por exemplo, na gama de um pH 1-3, tal como na gama de um pH 1-2, por exemplo, na gama de um pH 2-6, tal como na gama de um pH 3-6, por exemplo, na gama de um pH 4-6, tal como na gama de um pH 5-6. De preferência, a pelo menos uma almofada de reagente está em contacto com a almofada de desenvolvimento por sobreposição substancialmente total, por sobreposição parcial ou por colocação adjacente. Também é preferível que a almofada de

desenvolvimento possa estar localizada entre o suporte sólido e a pelo menos uma almofada de reagente.

A amostra de leite a ser analisada

A fim de humedecer o material poroso usado na almofada de desenvolvimento e/ou na pelo menos uma almofada de reagente para permitir a migração, a amostra de leite líquido é a aplicação de leite líquido. Além disso, prefere-se que um número mínimo de etapas de manipulação da amostra de leite líquido seja necessário antes de aplicá-la no dispositivo de tira de teste seca. No presente contexto, o termo "etapas de manuseamento" refere-se a qualquer tipo de pré-tratamento da amostra de leite líquido, antes ou depois de ter sido aplicada ao dispositivo de ensaio. Este pré-tratamento compreende a separação, filtração, diluição, destilação, concentração, inativação de compostos interferentes, centrifugação, aquecimento, fixação, adição dos reagentes, ou tratamento químico.

Numa forma de realização da presente invenção, a amostra de leite pode ser recolhida a partir de um mamífero, de preferência, o mamífero sendo selecionado de entre o grupo consistindo de animais de rebanho, vacas, camelos, búfalos, porcos, cavalos, veados, ovelhas, cabras, animais de estimação, cães, gatos e seres humanos.

Numa forma de realização da presente invenção, a amostra é leite.

Numa forma de realização preferida da presente invenção, é fornecido um dispositivo de tira de teste seca para a

determinação de um analito numa amostra de leite, por meio de um ensaio químico. O dispositivo compreende:

- (i) opcionalmente, um suporte sólido,
- (ii) pelo menos, uma almofada de reagente que compreende um reagente capaz de reagir com o analito, um derivado do referido analito, ou um composto indicador para o referido analito fornecer um sinal detetável quando em estado humedecido,
- (iii) uma almofada de desenvolvimento que é colocada em contacto com a pelo menos uma almofada de reagente, opcionalmente, entre o suporte sólido e a pelo menos uma almofada de reagente, a referida almofada de desenvolvimento compreendendo pelo menos um composto de controlo capaz de fornecer uma condição necessária para que o reagente reaja com o analito para fornecer um sinal detetável,

em que a pelo menos uma almofada de reagente, é capaz de proporcionar um valor de pH da amostra de leite, de 6 ou superior a 6, e o composto de controlo presente na almofada de desenvolvimento é capaz de proporcionar um valor de pH da amostra de leite abaixo de 6, em que a pelo menos uma almofada de reagente e a almofada de desenvolvimento estão dispostas de modo a evitar a precipitação do(s) componente(s) da amostra de leite na face superior do dispositivo, em que a amostra é aplicada na face superior do dispositivo e o sinal detetável é obtido a partir da face superior do dispositivo e em que a face superior do dispositivo se refere à superfície em que a amostra inicialmente entra em contacto com a pelo menos uma almofada de reagente. Nesta forma de realização, o composto ácido é capaz de proporcionar um valor de pH da amostra

no dispositivo de tira de teste seca, quando em estado húmido, na gama de um pH 1-5, tal como na gama de um pH 1-4, por exemplo, na gama de um pH 1-3, tal como na gama de um pH 1-2, por exemplo, na gama de um pH 2-5, tal como na gama de um pH 3-5, por exemplo, na gama de um pH 4-5, tal como na gama de um pH 5-6. De preferência, pelo menos uma almofada de reagente está em contacto com a almofada de desenvolvimento por sobreposição substancialmente total, por sobreposição parcial ou por colocação adjacente. Também é preferível que a almofada de desenvolvimento possa estar localizada entre o suporte sólido e a pelo menos uma almofada de reagente.

O composto auxiliar

Em virtude da complexidade das amostras de leite líquido a serem testadas na presente invenção pode, ocasionalmente, ser uma vantagem utilizar um composto auxiliar, a fim de melhorar o fluxo e a adsorção da amostra de leite líquido na almofada de regulação e/ou na uma ou mais almofadas de reagente, e para proporcionar uma libertação rápida, constante e uniforme do(s) reagente(s) e agentes capazes de aumentar a velocidade da reação. O composto auxiliar pode ser fornecido ao dispositivo, quer por a) sua adição à(s) pelo menos uma almofada(s) de reagente e/ou a almofada de regulação individualmente, ou em conjunto com a amostra de leite líquido, b) incorporação do composto auxiliar em, pelo menos, uma das almofada(s) de reagente e/ou a almofada de regulação, ou c) uma combinação destes.

Numa forma de realização da presente invenção, o composto auxiliar é adicionado ao dispositivo de tira de teste seca

antes de a amostra de leite líquido ser adicionada. De preferência, o composto auxiliar é um líquido.

Numa outra forma de realização preferida da presente invenção, o composto auxiliar e a amostra de leite líquido são adicionados ao dispositivo de tira de teste seca em camadas. No presente contexto, o termo "camadas" refere-se à divisão do volume do composto auxiliar e do volume da amostra de leite líquido, e, em seguida, o composto auxiliar e a amostra de leite líquido são adicionados à primeira zona, um após o outro. Neste caso, o composto auxiliar pode ser adicionado como um líquido, bem como um composto sólido. Numa forma de realização da presente invenção, o composto auxiliar e a amostra de leite líquido são divididos em pelo menos 2 volumes, cada um fornecendo 4 camadas alternadas do composto auxiliar e de amostra de leite líquido, por exemplo, o composto auxiliar e a amostra de leite líquido são divididos em pelo menos 3 volumes, cada um proporcionando 6 camadas alternadas de composto auxiliar e de amostra líquida, tal como o composto auxiliar e a amostra de leite líquido sendo divididos em pelo menos 4 volumes, cada um fornecendo 8 camadas alternadas de composto auxiliar e de amostra de leite líquido, por exemplo, o composto auxiliar e a amostra de leite líquido são divididos em pelo menos 6 volumes, cada um fornecendo 12 camadas alternadas de composto auxiliar e de amostra de leite líquido, tal como o composto auxiliar e a amostra de leite líquido sendo divididos em, pelo menos, 8 volumes, cada um fornecendo 16 camadas alternadas de composto auxiliar e de amostra de leite líquido, por exemplo, o composto auxiliar e a amostra de leite líquido são divididos em pelo menos 10 volumes, cada um fornecendo 20 camadas alternadas de composto auxiliar e de amostra de

leite líquido, tal como o composto auxiliar e a amostra de leite líquido sendo divididos em pelo menos 20 volumes, cada um fornecendo 40 camadas alternadas de composto auxiliar e de amostra de leite líquido.

Ainda numa outra forma de realização da presente invenção, o composto auxiliar pode ser impregnado em, pelo menos, uma almofada de reagente e/ou na almofada de regulação.

Numa outra forma de realização da presente invenção, pelo menos uma almofada de reagente e/ou a almofada de desenvolvimento que incorporam pelo menos um composto auxiliar capaz de melhorar o fluxo da amostra de leite líquido.

Ainda numa outra forma de realização da presente invenção, o composto auxiliar fornece uma libertação rápida, consistente e homogénea do(s) reagente(s) na pelo menos uma almofada de reagente e/ou o agente capaz de aumentar a velocidade da reação na almofada de desenvolvimento. Além disso, o composto auxiliar fornece uma baixa afinidade com a ligação de proteínas.

Além disso, o composto auxiliar pode proporcionar baixa retenção de amostras ricas em triglicéridos e/ou diminuir a viscosidade da amostra.

Numa forma de realização da presente invenção, o composto auxiliar contém constituintes químicos selecionados do grupo que consiste em água, um tensioativo, um sal, um metal, um açúcar, uma proteína, um solvente e um lípido.

Preparação da tira de teste seca

O dispositivo de tira de teste seca de acordo com a presente invenção pode ser preparado por quaisquer métodos convencionais fornecidos para a preparação de dispositivos de tiras de teste secas. Numa forma de realização preferida, o método para proporcionar um dispositivo de tira de teste seca de acordo com a presente invenção compreende os passos de:

- (i) proporcionar pelo menos uma almofada de reagente, através da impregnação de um primeiro material poroso com uma solução aquosa compreendendo um reagente capaz de reagir com o analito, um derivado do referido analito ou um composto indicador para o referido analito fornecer um sinal detetável quando num estado humedecido,
- (ii) depois disso, secar a pelo menos uma almofada de reagente,
- (iii) fornecer uma almofada de desenvolvimento por impregnação de um segundo material poroso com uma solução aquosa, compreendendo pelo menos um composto de controlo que, quando em estado húmido, é capaz de fornecer uma condição necessária para o reagente reagir com o analito para fornecer um sinal detetável,
- (iv) depois disso, secar o segundo material poroso impregnado, e
- (v) imobilizar o primeiro material poroso com o segundo material poroso, opcionalmente num suporte sólido, para se obter o dispositivo de tira de teste seca.

Numa forma de realização da presente invenção, a pelo menos uma almofada de reagente está localizada em relação à almofada de desenvolvimento de modo a evitar a precipitação do componente da amostra de leite sobre a face superior do dispositivo. De preferência, a almofada de desenvolvimento situa-se entre o suporte sólido e a pelo menos uma almofada de reagente. O componente da amostra de leite, como descrito anteriormente pode ser selecionado a partir do grupo que consiste em proteínas, hidratos de carbono, gorduras, células, ou outros componentes presentes na amostra.

Ainda numa outra forma de realização da presente invenção, o primeiro material poroso pode ser impregnado com o-ftalaldeído ou um seu derivado e um composto corante. Além disso, o primeiro material poroso pode ser ainda impregnado com um detergente.

Numa outra forma de realização da presente invenção, o primeiro material poroso pode compreender 1, 2 ou 3 materiais porosos diferentes tendo 3, 2 ou 1 reagentes impregnados, respetivamente. Os reagentes desta forma de realização são selecionados a partir de o-ftalaldeído ou de um derivado deste, um composto corante e um detergente.

Numa forma de realização da presente invenção, o segundo material poroso pode ser impregnado com um ácido. O referido ácido pode ser capaz de proporcionar um valor de pH da amostra no dispositivo de tira de teste seca, quando num estado humedecido, abaixo de um pH 6, tal como abaixo de um pH 5, por exemplo, abaixo de um pH 4, tal como abaixo de um pH 3, por exemplo, abaixo de um pH 2, tal como abaixo de um pH 1, por exemplo, abaixo de um pH 0, tal como na

gama de um pH 0-6, por exemplo na gama de um pH 0-5, tal como na gama de um pH 0-4, por exemplo, na gama de um pH 0-3, tal como na gama de um pH 0-2, por exemplo, na gama de um pH 0-1, tal como na gama de um pH 1-6, por exemplo, na gama de um pH 2-6, tal como na gama de um pH 3-6, por exemplo, na gama de um pH 4-6, tal como na gama de um pH 5-6.

Numa forma de realização da presente invenção, o segundo material poroso pode ser impregnado com um ou mais reagente(s) capazes de reagir com o analito, um derivado do referido analito, ou um composto indicador para o referido analito proporcionar um sinal detetável quando em estado humedecido, de preferência, juntamente com o composto de controlo.

Formas de realização adicionais

Numa forma de realização o dispositivo de tira de teste seca de acordo a presente invenção é utilizado para a determinação de um analito numa amostra de leite. De preferência, o analito é selecionado do grupo que consiste em uma proteína, uma gordura, um hidrato de carbono, um antibiótico, um esteróide, uma vitamina e um composto químico. De preferência, o composto químico é selecionado do grupo que consiste em corpos de ureia, triglicéridos e cetona, tais como acetoacetato, o beta-hidroxibutirato (BOHB), ácido ascórbico (ácido cítrico) e acetona. Se o analito for um hidrato de carbono, o hidrato de carbono pode ser selecionado a partir do grupo consistindo em glucose e lactose.

Determinação da ureia

Como mencionado acima, a determinação da utilização de proteína pode ser um parâmetro importante. Como é o caso da criação de gado, é muito importante que os animais (vacas, por exemplo) utilizem de forma otimizada a proteína contida na ração, porque a proteína é um dos componentes mais caros na alimentação animal. A utilização depende, *inter alia*, da quantidade de energia e de proteína presentes em simultâneo no animal.

A nova construção do dispositivo de tira de teste seca de acordo com a presente invenção pode ser muito útil para a determinação qualitativa e quantitativa de ureia numa amostra de leite. A uma ou mais almofada(s) de reagente do dispositivo de tira de teste seca pode ser impregnada com o-ftalaldeído ou um seu derivado e um composto corante e, opcionalmente, um detergente, tal como um alquil éter de polioxietileno fenílico ou um alquil éter de polioxietileno.

O derivado de o-ftalaldeído da presente invenção, significa um composto que é convertido em o-ftalaldeído depois de o derivado ser dissolvido na amostra de leite. O derivado inclui o-ftalaldeído de glicerol acetal.

O composto corante inclui N-1-naftil-etilenodiamina, N-1-naftil-N'-dietiletlenodiamina e um seu sal, tal como sais de ácido clorídrico ou ácido oxálico são incluídos.

O detergente pode ser um alquil éter de polioxietileno fenílico ou um alquil éter de polioxietileno, tais como polioxietileno (9,5) pt-octilfeniléter (HLB: 13,5; Nome

comercial: TRITON X-100), polioxietileno (40) pt-octilfenil éter (HLB: 17,9; Nome comercial: TRITON X-405), polioxietileno (20) octilfenil éter (HLB: 16,2; Nome comercial: NISSAN NONION HS-220), polioxietileno (23) lauril éter (HLB: 15,3; Nome comercial: Brij35), polioxietileno (20) palmitil éter (HLB: 15,7; Nome comercial: Brij58), polioxietileno (20) lauril éter (HLB: 16,2; Nome comercial: NISSAN NONION K-220), polioxietileno (20) estearil éter (HLB: 15,3; Nome comercial: NISSAN NONION S-220), e assim por diante.

O alquil éter de polioxietileno fenílico ou alquil éter de polioxietileno da presente invenção podem ter um HLB de 8 ou mais. No presente contexto, o termo "HLB" refere-se ao Equilíbrio Hidrofílico-Lipofílico do tensioativo. Isto proporciona uma indicação da porção hidrofílica da molécula. Mais grupos hidrofílicos permitem mais solubilidade em água, visto existirem aqui mais ligações de hidrogénio

Numa forma de realização da presente invenção, a almofada de desenvolvimento é impregnada com um ácido necessário para a determinação de ureia. O ácido utilizado pode ser qualquer tipo de ácido capaz de proporcionar e manter um valor de pH de 2,0 ou inferior quando dissolvido pela amostra de líquido. Em particular, tais ácidos incluem ácido 4-sulfoftálico ou um polímero de ácido.

A respetiva quantidade de o-ftalaldeído ou um seu derivado, o composto corante (na pelo menos uma almofada de reagente) e o ácido (na almofada de desenvolvimento) pode ser a quantidade que é necessária para a determinação de ureia no ensaio específico. Isto significa que os valores são

semelhantes aos utilizados convencionalmente para o-ftalaldeído ou seus derivados, o composto de corante e o ácido na determinação quantitativa de ureia. Normalmente, mas não limitado a isso, a quantidade de o-ftalaldeído ou seu derivado está na gama suficiente para proporcionar uma quantidade de 0,05 M - 2M em que o o-ftalaldeído ou o seu derivado são dissolvidos na amostra de leite. A quantidade de adição fornecida na almofada de desenvolvimento, pode ser suficiente para proporcionar e manter o valor de pH da amostra de leite em 2,0 ou menos, quando a amostra de leite é dissolvida na amostra.

A quantidade de detergente pode proporcionar uma quantidade de 0,1-20% (p/v), quando o detergente se dissolve na amostra de leite, como por exemplo, numa quantidade de 0,1 - 10% (p/v), por exemplo numa quantidade de 4-10% (p/v). Numa forma de realização da presente invenção, a quantidade de detergente, quando dissolvido na amostra de leite, pode ser calculada com base na capacidade da amostra guardada no dispositivo de tira de teste seca.

Outros aditivos conhecidos, podem ser adicionados ao dispositivo de tira de teste seca, que incluem estabilizadores, tais como um agente tensioativo, etc. O agente tensioativo pode ser usado para melhorar a capacidade de extensão e solubilidade da amostra de leite e para melhorar as propriedades do revestimento da(s) solução(ões) de líquido sobre a produção. Numa forma de realização da presente invenção, a quantidade de um agente tensioativo especificado pode ser a mesma que a quantidade convencionalmente usada.

A estrutura do dispositivo de tira de teste seca da presente invenção não é limitada, exceto na medida em que deve conter o-ftalaldeído ou seu derivado, um composto corante e um ácido separado em pelo menos uma almofada de reagente e uma almofada de desenvolvimento, em que a pelo menos uma almofada de reagente e a almofada de desenvolvimento são dispostas de modo a evitar a precipitação de componente(s) do leite de amostra sobre a face superior do dispositivo. O dispositivo de tira de teste seca da presente invenção pode ser produzido de um modo semelhante à produção de peças de teste convencionais para a medição de ureia, ou como descrito no presente documento.

Numa forma de realização da presente invenção, o dispositivo de tira de teste seca pode ser provido com uma pluralidade de almofadas de reagente em que reagente(s) diferente(s) é/são formados em cada almofada de reagente. Além disso, uma almofada intermédia pode ser proporcionada entre as pluralidades de almofadas de reagente. Ainda numa outra forma de realização da presente invenção, os reagentes podem não ser todos compreendidos na pelo menos uma almofada de reagente, mas um ou mais do(s) reagente(s), pode ser compreendido na almofada de desenvolvimento.

Na figura 1, um exemplo da peça de tira de teste seca é fornecido. A peça de tira de teste seca compreende um suporte sólido (1) que tem numa extremidade uma secção de reagente (2). A secção de reagente (2) compreende uma almofada de desenvolvimento (3) localizada sobre o suporte sólido (1) e na parte superior da almofada de desenvolvimento (3) está uma almofada de reagente (4). Neste exemplo, a amostra de leite é aplicada à almofada de

reagente (4) e os reagentes aqui compreendidos são dissolvidos e migram ao longo da almofada de reagente e para a almofada de desenvolvimento (4), assim, dissolvendo o ácido aqui presente e a reação para determinar a ureia progride.

Quando uma quantidade predeterminada de uma amostra de leite é deixada cair sobre a almofada de reagente (4) da peça de tira de teste seca (1), a amostra é em primeiro lugar uniformemente distribuída sobre toda a superfície e ao longo de toda a almofada de reagente (4). A amostra distribuída atinge a almofada de desenvolvimento (4) através do que o ácido compreendido na almofada de desenvolvimento (4) é dissolvido e a reação prossegue. A determinação de ureia compreendida na amostra de leite reage com o-ftalaldeído ou seu derivado presente na almofada de reagente (4) para produzir 1,3 dihidroxi-isodrina (DHI). O ião carbónio do DHI resultante reage com um composto corante a partir da almofada de reagente (4) sob condições acídicas, fornecidas pelo composto presente na almofada de desenvolvimento (3), para produzir uma cor - um sinal detetável. Com o progresso da reação os reagentes compreendidos na almofada de reagente (4) e o ácido formado são substancialmente dissolvidos e dispersos por completo na almofada de desenvolvimento (3), assim dissolvendo o ácido presente na mesma, e a almofada de reagente e a almofada de desenvolvimento formam em combinação uma almofada de deteção.

É óbvio para o perito na arte que o composto de controlo e a construção do dispositivo de tira de teste seca podem ser alterados com base no conceito da presente invenção, se um

ensaio diferente for para ser fornecido, ou se um outro analito for para ser ensaiado.

Para além disso, também é evidente para o perito na arte como escolher o composto de controlo para otimizar a construção do dispositivo de tira de teste seca com base no conhecimento adquirido sobre o conceito da presente invenção, isto é, a separação do composto de controlo a partir dos reagentes (pelo menos alguns deles) em almofadas diferentes e, subsequentemente, dispor essas almofadas de modo a evitar a precipitação dos componentes da amostra de leite, em que a influência sobre o sinal detetado pode ser limitada ou evitada.

O conceito da presente invenção será ainda ilustrado nas figuras e exemplos seguintes, não limitativos.

Descrição das figuras

A Fig. 1 mostra uma possível construção do dispositivo de tira de teste seca de acordo com a presente invenção, em que (1) refere-se ao dispositivo de tira de teste seca, (2) refere-se à secção de reagente, (3) refere-se à almofada de desenvolvimento e (4) refere-se à almofada reagente.

A Fig. 2 mostra dispositivos de tira de teste seca em que a almofada de reagente é colocada no topo da almofada de desenvolvimento e os dispositivos de tira de teste seca, em que a almofada de desenvolvimento é colocada sobre a almofada de reagente. As imagens mostram diferentes graus de precipitação de leite (manchas brancas) na almofada de reagente e almofada de desenvolvimento, respetivamente.

A Fig. 3 mostra uma ampliação da almofada de reagente superior esquerda da figura 2.

Exemplos

Exemplo 1: Influência da Precipitação na Difusão da Luz em Tiras de Teste de Ureia Secas

Configuração Experimental:

Almofadas compreendendo uma camada inferior fortemente ácida (almofada de desenvolvimento) e uma almofada superior tingida (almofada de reagente) estão montadas, quer com a almofada de desenvolvimento virada para cima ou com a almofada de reagente virada para cima. As amostras de leite são aplicadas e a distribuição de leite nas almofadas é descrita. No final da incubação/reação as almofadas são rastreadas e a cor verde é medida a fim de calcular a influência de precipitação sobre a difusão da luz nas almofadas.

Preparação de Tiras de Teste de Ureia Secas:

São utilizadas tiras de teste de ureia secas (almofadas em molduras de plástico, número de lote 20060928-1, produzidas de acordo com a "Produção tiras de teste de UREIA versão 4.0.2"), compreendendo almofadas de 5x5 mm². As referidas almofadas são compostas por duas camadas coladas uma à outra, compreendendo:

1. uma camada de topo compreendendo papel de filtro impregnado com Triton X-405, Oxalato de N,N-dietil-N'-1-naftil-

etilenodiamina, acetal de glicerol e orto-ftaldialdeído (almofada de desenvolvimento) e,

2. uma camada inferior que consiste em tecido têxtil (nylon/PET) impregnado com ácido 4-Sulfoftálico (almofada de reagente).

As camadas coladas são cortadas em almofadas quadradas, 5 por 5 mm² e colocadas em molduras de plástico, ou com a almofada de desenvolvimento por cima da almofada de reagente (montadas ao contrário) ou com a almofada de reagente por cima da almofada de desenvolvimento (corretamente montadas).

Preparação de amostras de leite:

Duas amostras de leite (a seguir numerados de #11 e #14) foram enriquecidas com 500 mg/mL de ureia.

Teste de desempenho de tiras de teste de ureia secas, montadas corretamente e ao contrário:

Quatro tiras de teste montadas corretamente e quatro tiras de teste montadas ao contrário foram amarradas com fita adesiva.

8 µL de leite #11 e 8 µL de leite #14 foram aplicados em duas tiras de teste de ureia secas invertidas, separadamente, e em duas tiras de teste de ureia secas, corretamente montadas, separadamente. Após a incubação a 25 °C em 12 minutos e 30 segundos, cada tira de teste de ureia seca foi rastreada de modo inverso por uma digitalizadora Canon ConoScan "2400U.

Em tiras de teste ureia secas compreendendo almofadas montadas corretamente, o leite é facilmente disseminado e entra livremente na almofada. Após a incubação, a cor é uniformemente espalhada por toda a superfície. Em tiras de teste de ureia secas compreendendo almofadas montadas ao contrário, os 8 μL de leite permanecem como uma pequena gota, lentamente libertando líquido para dentro da almofada. Depois da incubação, os constituintes coagulados do leite (proteína ("queijo"), com glóbulos de gordura) permanecem na superfície da almofada, formando uma mancha branca cobrindo aproximadamente 2/3 da área (ver figura 2 e 3).

Cada uma das oito almofadas digitalizadas (com 300 pontos por polegada) foi medida utilizando o software Matlab, um programa de rotina que utiliza as cores vermelha, verde e azul. O Campo medido em cada tira de teste de ureia seca constitui aproximadamente $4 \times 4 \text{ mm}^2$, visto que as arestas das almofadas foram deixadas de fora.

Na tabela abaixo, são mostrados os valores de cor verde.

Orientação da almofada		Verde médio	Desvio padrão de pixels (cor verde)
Almofada de desenvolvimento virada para cima "ao contrário"	Primeira amostra #14	213,2	25,6
	Segunda amostra #14	209,7	30,1
	Primeira amostra #11	205,3	35,4
	Segunda amostra #11	194,5	36,6
Almofada de reagente virada para cima "correto"	Primeira amostra #14	204,3	5,1
	Segunda amostra #14	213,7	8,7
	Primeira amostra #11	206,1	5,8
	Segunda amostra #11	199,4	5,1

Conclusão:

Os resultados acima mostram claramente, que o desvio padrão de pixels (cor verde) é significativamente mais elevado (5-6 vezes), quando as almofadas estão orientadas com a almofada de desenvolvimento virada para cima, (almofadas montadas ao contrário) em comparação com almofadas com a almofada de reagente virada para cima (almofadas corretamente montadas). Os resultados mostram que a cor produzida não está uniformemente distribuída, o que provoca leituras falsas da tira quando as almofadas estão montadas ao contrário, e confirma que os coágulos/precipitados do leite influenciam de modo significativo o ensaio e influenciam de modo significativo o desempenho da tira de teste seca.

REFERÊNCIAS

US 4,125,995

JP 10-229023

REIVINDICAÇÕES

1. Um dispositivo de tira de teste seca para a determinação de um analito numa amostra de leite por meio de um ensaio químico, o referido dispositivo compreendendo:

- (i) opcionalmente, um suporte sólido,
- (ii) pelo menos uma almofada de reagente tendo um reagente capaz de reagir com o analito, um derivado do referido analito ou um composto indicador para o referido analito fornecer um sinal detetável quando em estado humedecido,
- (iii) uma almofada de desenvolvimento que é colocada em contacto com a pelo menos uma almofada de reagente, opcionalmente, entre o suporte sólido e a pelo menos uma almofada de reagente, a referida almofada de desenvolvimento compreendendo pelo menos um composto de controlo capaz de fornecer uma condição necessária para que o reagente reaja com o analito para fornecer um sinal detetável, em que a almofada de desenvolvimento está disposta a jusante da pelo menos uma almofada de reagente

caracterizado por pelo menos uma almofada de reagente e a almofada de desenvolvimento estarem dispostas de modo a evitar a precipitação do(s) componente(s) da amostra de leite na face superior do dispositivo, e em que a amostra é aplicada na face superior do dispositivo e o sinal detetável é obtido a partir da face superior do dispositivo e em que o composto de controlo é um composto ácido capaz de proporcionar um valor de pH da amostra de leite abaixo de 6 e em

que a face superior do dispositivo se refere à superfície onde a amostra inicialmente entra em contacto com a pela menos uma almofada de reagente.

2. Um dispositivo de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado por** pelo menos uma almofada de reagente compreende o-ftalaldeídos ou um seu derivado, um composto corante e um detergente.
3. Um dispositivo de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, **caracterizado por** o analito ser seleccionado do grupo que consiste numa proteína, numa gordura, num hidrato de carbono tal como monossacarídeos, tal como glucose ou galactose e dissacarídeos, tal como a lactose, um antibiótico, um esteroide, uma vitamina, e um composto químico tal como a ureia, os triglicéridos e os corpos cetónicos, tais como acetoacetato, beta-hidroxibutirato (BOHB), ácido cítrico, ácido láctico e acetona.
4. Um dispositivo de tira de teste seca para a determinação de um analito numa amostra de leite por meio de um ensaio químico, o referido dispositivo compreendendo:
 - (i) opcionalmente, um suporte sólido,
 - (ii) pelo menos uma almofada de reagente tendo um reagente capaz de reagir com o analito, um derivado do referido analito ou um composto indicador para o referido analito fornecer um sinal detetável quando em estado humedecido,
 - (iii) uma almofada de desenvolvimento que é colocada em contacto com a pelo menos uma almofada de

reagente, opcionalmente, entre o suporte sólido e a pelo menos uma almofada de reagente, a referida almofada de desenvolvimento compreendendo pelo menos um composto de controlo capaz de fornecer uma condição necessária para que o reagente reaja com o analito para fornecer um sinal detetável, em que a almofada de desenvolvimento está disposta a jusante da pelo menos uma almofada de reagente

caracterizado por pelo menos uma almofada de reagente, ser capaz de proporcionar um valor de pH da amostra de leite, de 6 ou superior a 6, e o composto de controlo presente na almofada de desenvolvimento é capaz de proporcionar um valor de pH da amostra de leite abaixo de 6, em que a pelo menos uma almofada de reagente e a almofada de desenvolvimento estão dispostas de modo a evitar a precipitação do(s) componente(s) da amostra de leite na face superior do dispositivo, em que a amostra é aplicada na face superior do dispositivo e o sinal detetável é obtido a partir da face superior do dispositivo e em que a face superior do dispositivo se refere à superfície em que a amostra inicialmente entra em contacto com a pelo menos uma almofada de reagente.

5. Um dispositivo de tira de teste seca para a determinação de ureia numa amostra de leite, o referido dispositivo de tira de teste seca compreende opcionalmente um suporte sólido e, pelo menos, 2 almofadas, as referidas pelo menos 2 almofadas compreendendo (i) pelo menos, uma almofada de reagente compreendendo o-ftalaldeído ou um seu derivado, um composto corante e um detergente, e (ii) uma almofada

de desenvolvimento que compreende pelo menos um composto ácido capaz de proporcionar um valor de pH da amostra de leite abaixo de 6, **caracterizado por** pelo menos uma almofada de reagente e a almofada de desenvolvimento estarem dispostas para evitar a precipitação do componente(s) da amostra de leite na face superior do dispositivo, em que a amostra é aplicada na face superior do dispositivo e o sinal detetável é obtido a partir da face superior do dispositivo e em que a parte superior -face do dispositivo se refere à superfície em que a amostra inicialmente entra em contacto com a pelo menos uma almofada de reagente.

6. Um método para a preparação do dispositivo de tira de teste seca de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-5, **caracterizado por** o referido método compreender os passos de:
 - (i) proporcionar pelo menos uma almofada de reagente, através da impregnação de um primeiro material poroso com uma solução aquosa compreendendo um reagente capaz de reagir com o analito, um derivado do referido analito ou um composto indicador para o referido analito fornecer um sinal detetável quando num estado humedecido,
 - (ii) depois disso, secar a pelo menos uma almofada de reagente,
 - (iii) fornecer uma almofada de desenvolvimento por impregnação de um segundo material poroso com uma solução aquosa, compreendendo pelo menos um composto de controlo que, quando em estado húmido, é capaz de fornecer uma condição

necessária para o reagente reagir com o analito para fornecer um sinal detetável,

- (iv) depois disso, secar o segundo material poroso impregnado, e
- (v) imobilizar o primeiro material poroso com o segundo material poroso, opcionalmente num suporte sólido, para se obter o dispositivo de tira de teste seca.

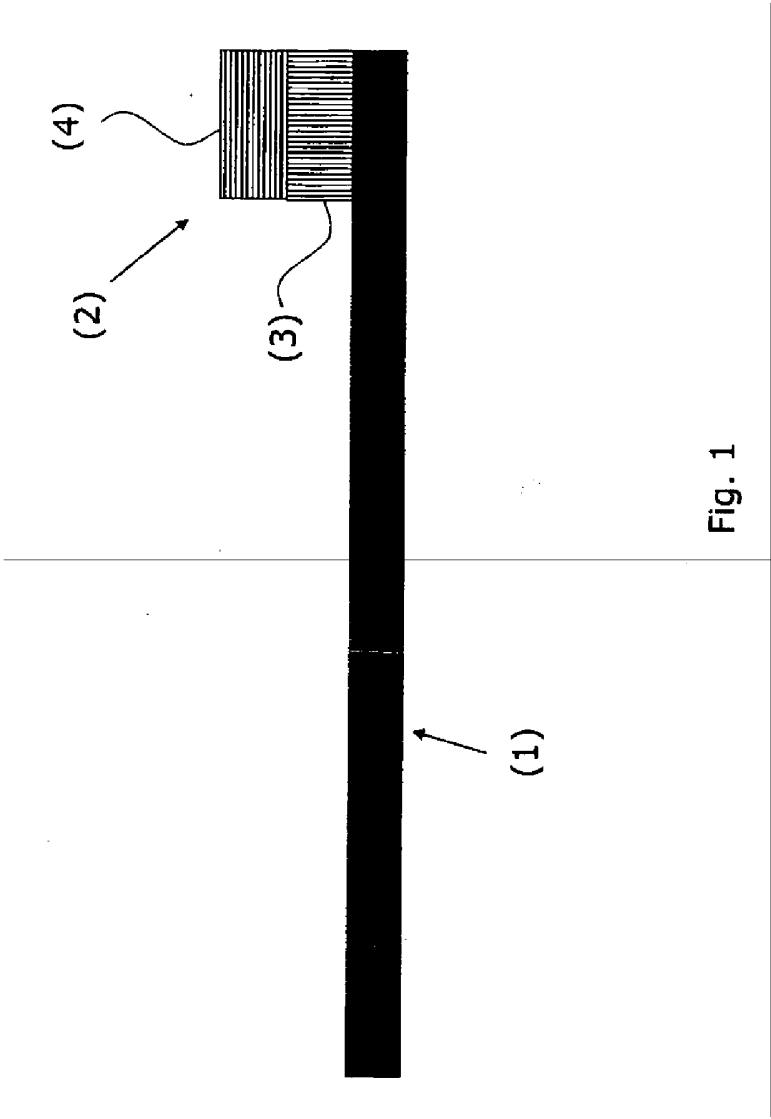
7. Um método para a determinação de analitos numa amostra de leite, **caracterizado por** o referido método compreender os passos de:

- (a) aplicação da amostra suspeita de conter o analito num dispositivo de tira de teste seca de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-6,
- (b) Permitir que a amostra migre para a pelo menos uma almofada de reagente, e almofada de desenvolvimento e mobilizar o pelo menos um reagente e o pelo menos um composto de controlo, e
- (c) permitir que o pelo menos um reagente e o analito, o derivado do referido analito, ou composto indicador para o referido analito reajam e forneçam um sinal detetável.

8. Um método de acordo com a reivindicação 7, **caracterizado por** o analito ser selecionado a partir do grupo que consiste numa proteína, uma gordura, um hidrato de carbono, tal como glicose e lactose, um antibiótico, um esteroide, uma vitamina, um composto químico, tal como a ureia, triglicéridos e corpos cetónicos, tal como acetoacetato, beta-hidroxibutirato (BOHB) e acetona.

9. Utilização de um dispositivo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-5, **caracterizado por** ser usado para a determinação de analitos, numa amostra de leite.
10. Utilização de acordo com a reivindicação 9, **caracterizado por** o analito ser selecionado a partir do grupo que consiste numa proteína, uma gordura, um hidrato de carbono, um antibiótico, um esteróide, uma vitamina e um composto químico.
11. Utilização de acordo com a reivindicação 10, **caracterizado por** o composto químico ser selecionado a partir do grupo que consiste em ureia, triglicéridos e corpos cetónicos, tal como acetoacetato, beta-hidroxibutirato (BOHB) e acetona.

Figuras



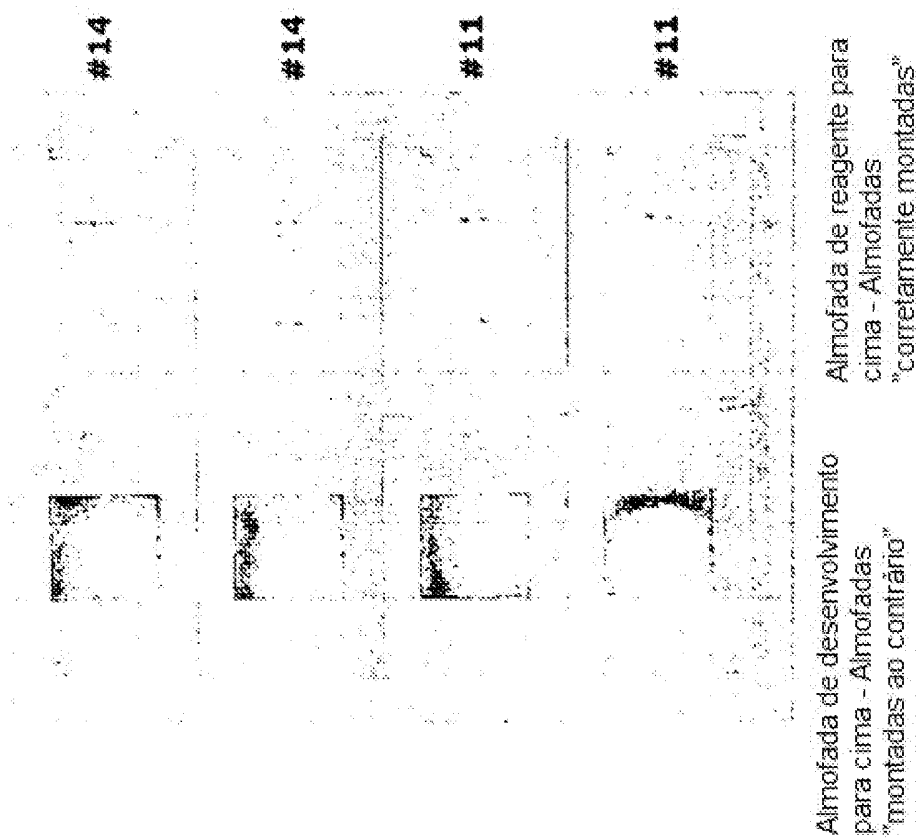


Fig. 2



Fig. 3