

(12) **Österreichische Patentanmeldung**

(21) Anmeldenummer: A 50546/2012
(22) Anmeldetag: 27.11.2012
(43) Veröffentlicht am: 15.06.2014

(51) Int. Cl.: **G01N 33/543** (2006.01)
G01N 33/538 (2006.01)

(56) Entgegenhaltungen:
WO 03052379 A2
WO 9635123 A1
US 2006172435 A1
US 2008311595 A1
EP 2251691 A1

(71) Patentanmelder:
Scheuringer Kim
8043 Graz (AT)

(72) Erfinder:
Scheuringer Kim
8043 Graz (AT)

(74) Vertreter:
SONN & PARTNER PATENTANWÄLTE
WIEN

(54) **Testvorrichtung**

(57) Die vorliegende Erfindung betrifft eine Vorrichtung (1) zur Bestimmung von Analyten umfassend mindestens eine Aufgabezone (3), eine Saugzone (5) und eine zwischen der Aufgabezone und Saugzone befindliche Nachweiszone (4), wobei die Nachweiszone (4) einen porösen saugfähigen Träger umfasst, welcher einen ersten Bereich, der mit mindestens einem an den zu bestimmenden Analyten bindenden ersten spezifischen Bindungspartner, welcher in feuchtem Zustand des Trägers im Träger frei beweglich ist, imprägniert ist, und einen zweiten Bereich, der mindestens einen auf dem Träger immobilisierten, an den zu bestimmenden Analyten bindenden zweiten spezifischen Bindungspartner umfasst, aufweist, wobei der erste spezifische Bindungspartner markiert oder mit einem stromabwärts vom ersten Bereich am Träger mobilisierbar gebundenen Markierungsreagenz markierbar ist, wobei die mindestens eine Aufgabezone (3), die Nachweiszone (4) und die Saugzone (5) in flüssigkeitsübertragendem Kontakt zueinander stehen, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens 50% der Saugzone (5) mit einer perforierten Folie (7) aus wasserundurchlässigem Material bedeckt ist.

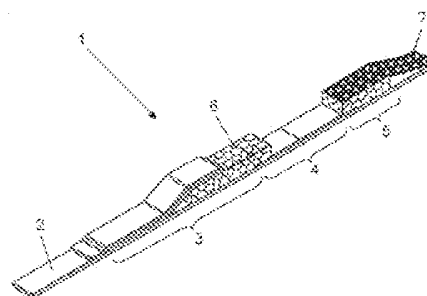


Fig. 1

Die vorliegende Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur Bestimmung von Analyten in einer Probe.

Zum Nachweis von Analyten, wie beispielsweise Schwangerschaftshormonen, in flüssigen Proben wie Urin und Speichel werden seit geraumer Zeit mit Reagenzien imprägnierte Teststreifen eingesetzt. Dabei wird üblicherweise die flüssige Probe mit einem Teststreifen in Kontakt gebracht, welcher einen porösen und saugfähigen Träger umfasst. Dieser Träger weist in einem ersten Bereich einen an den Analyten bindenden ersten spezifischen Bindungspartner auf, der im feuchten Zustand des Trägers in diesem frei beweglich ist. In einem weiteren Bereich befindet sich üblicherweise ein auf dem Träger immobilisierter, an den gleichen Analyten bindender zweiter spezifischer Bindungspartner. Der erste mobilisierbare Bindungspartner ist bei derartigen Vorrichtungen seinerseits an eine signalgebende Komponente gebunden (d.h. mit einem Farbstoff markiert). Bringt man nun den Teststreifen mit einer flüssigen Probe in Kontakt, so wird die Flüssigkeit in den ersten Bereich des Trägers eingesaugt, wo der Analyt mit dem ersten spezifischen Bindungspartner, an welchen die signalgebende Komponente gebunden ist, reagiert. Der dabei gebildete Komplex wandert mit Hilfe der in dem Träger weitergesaugten Flüssigkeitsprobe zu dem immobilisierten zweiten Bindungsreagenz, mit welchem der Analyt reagiert, so dass in dem zweiten Bereich des Trägers, der als Nachweiszone dient, die dort immobilisierte signalgebende Komponente festgestellt werden kann.

In den meisten Fällen werden als spezifische Bindungspartner Analyt-spezifische Antikörper oder funktionelle Fragmente davon, die in der Lage sind, mit dem nachzuweisenden Analyten eine Bindung einzugehen, verwendet. Bei den signalgebenden Komponenten kann es sich um Radioisotope, vorzugsweise aber um Farbstoffe, gefärbte Partikel oder Partikel mit Eigenfärbung handeln. Je nach der verwendeten signalgebenden Komponente ist in der Nachweiszone der Analyt visuell oder durch geeignete Geräte zu bestimmen, wobei für Teststreifen, die vom Endbenutzer eingesetzt werden, die visuelle Darstellung am vorteilhaftesten ist.

Vorrichtungen zur Bestimmung von Analyten in einer Probe, insbesondere Teststreifen, sind weit verbreitete Hilfsmittel zur schnellen Bestimmung von Schwangerschaftshormonen, Krankheiten usw. Derartige Vorrichtungen können sowohl zur schnellen quali-

tativen als auch zur quantitativen Analyse von Proben (gegebenfalls unter Zuhilfenahme von Auslesegeräten) eingesetzt werden.

In Teststreifen, beispielsweise, werden häufig immunologische Nachweisreagenzien (d.h. markierte und unmarkierte Antikörper oder Antikörperfragmente bzw. Antigene) in trockener Form auf einem Träger aufgebracht, der den Transport der Probenflüssigkeit (z.B. Körperflüssigkeiten wie Blut, Serum, Plasma, Urin und Speichel) auf oder in dem Träger erlaubt. Vorzugsweise ist der üblicherweise verwendete Träger kapillaraktiv, beispielsweise eine Membran oder ein mit Kapillarkanälen versehener Kunststoffträger.

Es hat sich gezeigt, dass es mit Hilfe der im Stand der Technik bekannten Teststreifen bzw. Vorrichtungen nicht möglich ist beliebige Konzentrationen des Analyten in der Probe qualitativ und quantitativ zu erfassen. Vor allem der Nachweis von in einer Probe wenig konzentrierten Analyten bereitet zumeist Probleme, vor allem wenn es auch darum geht, aufwendige Konzentrierungsschritte vor der Durchführung eines Tests zu vermeiden. Die untere Nachweisgrenze ist dabei durch die Affinität und Selektivität der verwendeten Bindepartner (wie z.B. Antikörper) und die Empfindlichkeit der Nachweisoptik im Hinblick auf die verwendeten Markierungen (Label) beschränkt.

Eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es somit eine Vorrichtung bereit zu stellen, die es ermöglicht, rasch und mit hoher Empfindlichkeit Analyten in einer Probe qualitativ, semi-quantitativ und/oder quantitativ nachzuweisen.

Die vorliegende Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur Bestimmung von Analyten umfassend mindestens eine Aufgabezone, eine Saugzone und eine zwischen der Aufgabezone und Saugzone befindliche Nachweiszone, wobei die Nachweiszone einen porösen saugfähigen Träger umfasst, welcher einen ersten Bereich, der mit mindestens einem an den zu bestimmenden Analyten bindenden ersten spezifischen Bindungspartner, welcher in feuchtem Zustand des Trägers im Träger frei beweglich ist, imprägniert ist, und einen zweiten Bereich, der mindestens einen auf dem Träger immobilisierten, an den zu bestimmenden Analyten bindenden zweiten spezifischen Bindungspartner umfasst, aufweist, wobei der erste spezifische Bindungspartner markiert oder mit einem stromabwärts vom ersten Bereich am Träger mobilisierbar gebundenen Markie-

rungsreagenz markierbar ist, wobei die mindestens eine Aufgabzone, die Nachweiszone und die Saugzone in flüssigkeitsübertragendem Kontakt zueinander stehen, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens 50% der Saugzone mit einer perforierten Folie aus wasserundurchlässigem Material bedeckt ist.

Testvorrichtungen der eingangs beschriebenen Art sind prinzipiell im Stand der Technik, insbesondere in der EP 0 383 619, EP 0 362 809, GB 1 589 234, EP 0 225 054 oder der WO 88/08534, hinreichend beschrieben. Die erfindungsgemäße Testvorrichtung unterscheidet sich von den Testvorrichtungen aus dem Stand der Technik dahingehend, dass die Folie aus wasserundurchlässigem Material, welche die Saugzone bedeckt, und dazu dient, der Testvorrichtung bzw. dem Teststreifen eine bestimmte Steifigkeit und Stabilität zu geben, perforiert ist. Zusätzlich wird das Hantieren mit der Testvorrichtung bzw. dem Teststreifen erleichtert bzw. ermöglicht, da ein direkter Kontakt mit der Saugzone verhindert wird und somit z.B. Verschmutzungen vermieden werden. Durch das Vorsehen von Perforationen an der Folie wird ermöglicht, dass flüchtige Bestandteile der Probe, insbesondere Wasser, nach Durchlaufen u.a. der Nachweiszone und Erreichen der Saugzone aus dieser verdampfen können. Durch das kontinuierliche Verdampfen wird verhindert, dass sich die Saugzone zu sehr mit Flüssigkeit tränkt bzw. mit dieser gesättigt wird, wodurch sich die Kraft, mit der die Probenflüssigkeit durch die erfindungsgemäße Vorrichtung bewegt wird, stark reduziert. Die aus der Saugzone verdampfende Flüssigkeit ermöglicht es, dass die Kapillarkräfte innerhalb der Vorrichtung nahezu unverändert bleiben und die Probenflüssigkeit dadurch rasch durch die einzelnen Zonen der Vorrichtung transportiert werden kann. Dies ist insbesondere von Vorteil, da dadurch die Sensitivität der Vorrichtung gesteigert werden kann und es zu einer geringeren Verdampfung der Probenflüssigkeit in Bereichen, die nicht mit einer wasser- und wasserdampfdurchlässigen Folie bedeckt sind (z.B. Nachweiszone), kommt. Das Vorsehen einer Möglichkeit zum kontinuierlichen Abdampfen der Probenflüssigkeit aus der Saugzone hat weiters den Vorteil, dass die Kapillarkwirkung innerhalb der Vorrichtung nicht zu stark reduziert oder zur Gänze zum Erliegen kommt, wenn die Saugzone bereits mit Flüssigkeit gesättigt wäre und kein Abdampfen möglich ist. Zudem kann die Saugkraft/Kapillarkraft über einen bestimmten Zeitraum konstant ge-

halten werden, so dass die Flüssigkeit nicht zu rasch die Nachweiszone passiert und die Saugkraft innerhalb der Testvorrichtung länger erhalten bleibt.

Als Trägermaterial, auf dem die einzelnen Zonen aufgebracht sein können, kommen Schichten oder Streifen aus Glas, Metall oder Kunststoff in Frage. Streifen aus Kunststofffolien wie beispielsweise Polystyrol, Polyethylen und Polypropylen haben sich als besonders bevorzugt erwiesen.

Die einzelnen Zonen der erfindungsgemäßen Matrix sind auf dem Trägermaterial so angeordnet, dass sie eine Flüssigkeitstransportstrecke bilden und Flüssigkeit, die auf die Probenaufgabezone aufgegeben wird, durch Kapillarkräfte über die Nachweiszone in die Saugzone gelangt. Hierzu ist es nötig, dass die verschiedenen Zonen miteinander in Flüssigkeitskontakt stehen. Dies kann dadurch erreicht sein, dass sich die Zonen über Kanten berühren. Vorteilhafterweise werden sich die Zonen jedoch teilweise überlappen.

Um eine für den Nachweis besonders niedrig konzentrierter Analyte ausreichende Flüssigkeitsmenge durch die Nachweiszone zu befördern, hat es sich als vorteilhaft erwiesen, wenn die Saugzone so viel Flüssigkeit aufnehmen kann, dass ein Großteil oder bevorzugt die gesamte Probenflüssigkeit die Nachweiszone passieren kann.

Der Begriff „zwischen der Aufgabezone und Saugzone befindliche Nachweiszone“ bedeutet, dass sich die Nachweiszone zwischen zumindest einer Aufgabezone und der Saugzone befindet.

„Poröse saugfähige Träger“ sind erfindungsgemäß alle porösen Feststoffe, wenn sie gegenüber der oder den in der Probe genannten Flüssigkeit(en) saugfähig und von ihnen durchströmbar sind. Besonders geeignet sind Vliese und Gewebe. Geeignete Materialien für diese feste Phase sind dem Fachmann bekannt, beispielsweise aus der US 4,446,232. Es gehören dazu auch Zellulose und Gemische von Zellulose mit geeigneten Kunststoffen.

„In feuchtem Zustand des Trägers im Träger frei beweglich“ bedeutet, dass ein Molekül (z.B. ein Bindungspartner) sich innerhalb des porösen und saugfähigen Trägers frei bewegen kann, sobald der Träger befeuchtet wird. Dadurch wird ermöglicht, dass ein auf die erfindungsgemäße Vorrichtung, insbesondere auf der Nachweiszone, aufgebrachtes Molekül durch Kapillarkräfte stromabwärts in Richtung Saugzone bewegt werden kann.

Die Bindungspartner der erfindungsgemäßen Vorrichtung werden auf die Nachweiszone „imprägniert“, d.h. im feuchten Zustand auf den porösen saugfähigen Träger aufgebracht und anschließend getrocknet.

Erfindungsgemäß ist „mindestens 50% der Saugzone“ mit einer perforierten Folie aus wasserundurchlässigem Material bedeckt. D.h. dass mindestens 50%, vorzugsweise mindestens 60%, vorzugsweise mindestens 70%, vorzugsweise mindestens 80%, vorzugsweise mindestens 90%, noch mehr bevorzugt mindestens 95%, insbesondere 100% („zur Gänze“) der Oberfläche der Saugzone bzw. der Oberfläche der vom Trägermaterial, auf dem die Nachweiszone aufgebracht ist, abgewandten Seite mit der erfindungsgemäßen Folie bedeckt bzw. abgedeckt ist.

Die Folie, welche beispielsweise Polyethylen und Polypropylen umfassen kann, sollte dergestalt sein, dass die Biegsamkeit der gesamten Testvorrichtung (die vor allem durch das Trägermaterial vorgegeben ist) nicht beeinträchtigt wird.

Eine „perforierte Folie“ im Sinne der vorliegenden Erfindung ist eine Folie, welche Öffnungen in Form von z.B. Löchern aufweist.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung weist die perforierte Folie Löcher mit einem Durchmesser von 0,05 bis 3 mm, vorzugsweise von 0,1 bis 2 mm, noch mehr bevorzugt von 0,2 bis 1 mm auf. Sollte die Perforation in Form einer längsförmigen Öffnung gestaltet sein, weisen die Perforationen eine Länge von 0,05 bis 3 mm, vorzugsweise von 0,1 bis 2 mm, noch mehr bevorzugt von 0,2 bis 1 mm, und eine Breite von 0,05 bis 2 mm, vorzugsweise von 0,1 bis 1,5 mm, noch mehr bevorzugt von 0,2 bis 0,5 mm, auf. Die Anzahl der Perforationen hängt u.a. von deren Größe ab. Vorzugsweise finden sich auf der Folie 5 bis 100 Perforationen /cm² Folie, noch mehr bevorzugt 10 bis 50 Perforationen /cm² Folie, wobei die Anzahl der Perforationen von der Größe abhängt und so dimensioniert sein sollte, dass die mechanische Stabilität der Folie nicht allzu sehr beeinträchtigt wird.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung kann das Trägermaterial, auf dem die einzelnen Zonen aufgebracht sind, im Bereich der Saugzone perforiert sein.

Der Begriff „flüssigkeitsübertragender Kontakt“ wie hier verwendet bedeutet, dass die einzelnen Zonen der erfindungsgemä-

Ben Vorrichtung so angeordnet sind, dass es der Probenflüssigkeit ermöglicht wird von der Probenaufgabezone über die Nachweiszone in die Saugzone zu gelangen.

Im Sinne dieser Erfindung beschreibt der Begriff „stromabwärts“ jene Seite bzw. Richtung in der erfindungsgemäßen Vorrichtung, welche von der Probenauftragszone wegführt. D.h. „stromabwärts“ gibt die Flussrichtung der Flüssigkeit (basierend auf der Kapillarwirkung des porösen Trägers und der Saugzone) von der Probenauftragszone zur Saugzone und zu einem etwaigen Kontrollbereich innerhalb der Testvorrichtung an.

Gemäß einer besonders bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist der an den zu bestimmenden Analyten bindende erste und zweite spezifische Bindungspartner ein Antikörper oder ein funktionelles Fragment davon.

Ein „funktionelles Fragment“ eines Antikörpers ist erfindungsgemäß ein Teil eines Antikörpers, der in der Lage ist, an hCG zu binden. Ein beispielhaftes funktionelles Fragment von Antikörpern ist das Fab-Fragment.

Vorteilhafterweise bindet der erste spezifische Bindungspartner den zu bestimmenden Analyten an einer anderen Stelle als der zweite spezifische Bindungspartner. Dadurch wird es ermöglicht, dass das am ersten spezifischen Bindungspartner gebundene Analyt in der Lage ist, an den an einem festen Träger immobilisierten zweiten spezifischen Bindungspartner zu binden.

Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist in der Nachweiszone ein Kontrollbereich/Kontrollzone vorgesehen, in dem Bindungspartner immobilisiert sind, die spezifisch an den zu bestimmenden Analyten bindenden ersten spezifischen Bindungspartner binden.

Um feststellen zu können, ob der erfindungsgemäße Teststreifen bei dessen Verwendung funktioniert hat, weist der Teststreifen zusätzlich zu dem ersten und zweiten Bereich zumindest einen Kontrollbereich auf. Im Kontrollbereich sind Bindungspartner, welche spezifisch an den Analyt bindenden ersten spezifischen Bindungspartner binden können, immobilisiert. Da der erste Bindungspartner entweder direkt oder indirekt markiert ist, sieht der Benutzer der erfindungsgemäßen Vorrichtung sofort, dass die Probe die Nachweiszone bereits passiert hat und der Test dadurch im Wesentlichen abgeschlossen ist.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Er-

findung ist der erste spezifische Bindungspartner mit einem Goldpartikel, einem Latexpartikel (z.B. eingefärbtem Latexpartikel), Biotin, Avidin, Streptavidin oder einem Farbstoff markiert.

Die Markierung des ersten Bindungspartners mit einem Partikel oder Farbstoff hat den Vorteil, dass der erste Bindungspartner, der an dem Analyten gebunden ist, nach dessen Immobilisierung in der Nachweiszone unmittelbar für den Benutzer sichtbar ist. In einer alternativen Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist es jedoch auch möglich, den ersten Bindungspartner stromabwärts vom ersten Bereich der erfindungsgemäßen Testvorrichtung zu markieren. In einem derartigen Fall müsste zwischen dem ersten Bereich und der Nachweiszone eine weitere Zone vorgesehen sein, in der sich ein mobilisierbares Markierungsreagenz befindet. Das Markierungsreagenz ist vorzugsweise ein an den ersten Bindungspartner bindender Antikörper oder ein Fragment davon, welcher/welches wiederum an einem Goldpartikel, einem Latexpartikel, einem Farbstoff konjugiert oder gebunden ist.

Als Farbstoff kann in der erfindungsgemäßen Testvorrichtung jeglicher Farbstoff verwendet werden, der geeignet ist an einen hCG-spezifischen Bindungspartner zu binden. Zusätzlich ist es von Vorteil, wenn der Farbstoff ohne Zuhilfenahme zusätzlicher technischer Hilfsmittel für den Benutzer mit freiem Auge sichtbar ist. Derartige Farbstoffe werden regelmäßig in z.B. Teststreifen eingesetzt und sind somit dem Fachmann hinreichend bekannt. Alternativ dazu ist es auch möglich, stromabwärts des ersten Bereichs in Richtung des zweiten Bereichs bzw. der Nachweiszone einen Farbstoff vorzusehen, welcher in feuchtem Zustand der Testvorrichtung mobilisiert werden kann, und der in der Lage ist an den ersten Analyt-spezifischen Bindungspartner zu binden. Die Markierung des Analyt-spezifischen Bindungspartners kann, wie oben diskutiert, direkt zu einem sichtbaren Signal führen. Der spezifische Bindungspartner kann jedoch auch indirekt detektierbar sein, indem dieser z.B. mit einem Enzym, Biotin- oder Avidin, die in einer oder mehreren Reaktionen teilnehmen, markiert ist, um eine detektierbare Substanz zu erzeugen. Besonders bevorzugt wird die Enzymmarkierung eingesetzt, insbesondere mit Peroxidase, Glucoseoxidase, β -Galactosidase oder alkalischer Phosphatase. Im Fall einer indirekten Markierung des hCG-spezifischen Bindungspartners ist oder sind die entsprechenden

Reaktionspartner stromabwärts vom ersten Bereich und vor dem zweiten Bereich (Nachweiszone) am Träger vorgesehen.

Bei Verwendung eines Markierungsreagenzes ist es von Vorteil, an den ersten spezifischen Bindungspartner, wie oben angeführt, mit z.B. Biotin, Avidin oder Streptavidin, zu binden. Dadurch wird eine „neue“ Bindungsstelle für das Markierungsreagenz bereitgestellt.

Besonders bevorzugt werden erfindungsgemäß Farbstoffe eingesetzt, welche vorzugsweise ausgewählt sind aus der Gruppe bestehend aus optisch sichtbaren Farbstoffen, umfassend lösliche optisch sichtbare Farbstoffe, wie Pigmente, Küpenfarbstoffe, schwefelhaltige Farbstoffe, Beizfarbstoffe, Leukoformen von Küpenfarbstoffen und Farbstoffarten, wie Fluorescein, Rhodamin und Derivate davon (wie Sulphorhodamin, Rhodaminhydrid und Rhodaminhydrazid), wie auch Oxazinfarbstoffe, Cyaninfarbstoffe und Azolfarbstoffe. Spezielle Beispiele von geeigneten Farbstoffen sind beispielsweise Texas-Rot-Hydrazin, Congo-Rot, Trypan-Blau, Lissamin-Blau, Remazol-Schwarz, Remazol-Rot, Rhodamine-B-Isothiocyanat, Cy5-Osu-monofunktionell-reaktiver Farbstoff, Reaktiv-Orange 16, Uniblue A usw.

Gemäß einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung umfasst die Aufgabezone und/oder Saugzone ein Saugvlies oder saugfähiges zellulosehaltiges Material, wie z.B. Papier oder Zellstoff. Selbstverständlich könnte dieses Material z.B. mit Polyester und dgl. vermischt sein. Als mögliche saugfähige, kapillaraktive Materialien kommen grundsätzlich auch solche in Frage, die beispielsweise in der US 4,861,711, US 5,591,645 oder EP 0 291 194 beschrieben sind, und zur Flüssigkeitsaufnahme eingesetzt werden können. Als vorteilhaft haben sich hierfür beispielsweise poröse Materialien, wie Membranen, beispielweise Nitrocellulosemembranen erwiesen. Es können jedoch auch faserige, saugfähige Matrixmaterialien wie Vliese, Gewebe oder Gewirke eingesetzt werden. Vliese sind besonders bevorzugt. Faserige Matrixmaterialien können Glas, Cellulose, Cellulosederivate, Polyester Polyamid, aber auch Viskose, Zellwolle oder/und Polyvinylalkohol enthalten. Vliese aus Fasern auf der Basis von Cellulose, Polymerisatfasern auf Basis von Polyester und/oder Polyamid und einem organischen Bindemittel, das OH- und/oder Estergruppen aufweist, wie sie aus EP 0 326 135 bekannt sind, sind beispielsweise erfindungsgemäß einsetzbar. Vliesmaterialien,

enthaltend schmelzbare Copolyesterfasern, Cellulosefasern oder Cellulosederivatefasern, wie sie in der EP 0 571 941 beschrieben sind, können auch erfindungsgemäß eingesetzt werden.

Das in der Aufgabezone und/oder Saugzone eingesetzte Material weist vorzugsweise eine Saugfähigkeit (bei Wasser) von 200 bis 2000 ml/m² bei einer Dicke von 1 cm, vorzugsweise von 500 bis 1500 ml/m² bei einer Dicke von 1 cm, noch mehr bevorzugt von 800 bis 1000 ml/m² bei einer Dicke von 1 cm, auf.

Das erfindungsgemäße Saugvlies kann beispielsweise ein Glasfaservlies sein.

Gemäß einer weiteren Ausführungsform der vorliegenden Erfindung umfasst der poröse saugfähige Träger der Nachweiszone Nitrozellulose, vorzugsweise in Form einer Nitrozellulosemembran.

Gemäß einer besonders bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist der in der Probe zu bestimmende Analyt hCG, ein Hormon, welches am Beginn einer Schwangerschaft einer Frau bis zum Erreichen eines Plateaus stetig und signifikant ansteigt und beispielsweise im Urin nachweisbar ist. Daher kann eine Vorrichtung gemäß der vorliegenden Erfindung zum Bestimmen der Schwangerschaftswoche bzw. einer vorhandenen Schwangerschaft verwendet werden.

Wie eingangs erläutert steigt die Konzentration von hCG im Körper von schwangeren Frauen im Laufe der Schwangerschaft kontinuierlich bis ca. zur 8. Schwangerschaftswoche und bleibt im Anschluss daran im Wesentlichen konstant auf einem bestimmten Niveau, wobei ab der ca. 10. Schwangerschaftswoche das hCG-Niveau leicht abfällt. Aufgrund der anfänglichen Steigung der hCG-Konzentration während einer Schwangerschaft ist es somit möglich, in diesem Zeitraum die Schwangerschaftswoche genau zu bestimmen, da in einer definierten Woche eine bestimmte Konzentration von hCG im Körper vorzufinden ist, die sich aus einem Durchschnittswert vieler Messungen von schwangeren Frauen ergibt (siehe z.B. Johnson SR et al., Curr Med Res Opin 25(2009):741-748).

Die erfindungsgemäße Vorrichtung kann u.a. zur Bestimmung von Infektionskrankheiten wie *H. pylori*, *C. trachomatis* (Chlamydia), Streptokokken oder *H. influenza*-Infektionen oder von Drogen und Dopingmitteln verwendet werden. Entsprechende Teststreifen sind in der Fachwelt hinreichend bekannt. Das Konzept der erfindungsgemäßen Testvorrichtung lässt sich auf derartige Test-

streifen anwenden.

Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft ein Verfahren zum Bestimmen eines Analyten in einer Probe umfassend den Schritt des Auftragens der Probe auf mindestens eine Probenaufgabezone einer Vorrichtung gemäß der vorliegenden Erfindung.

Mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung kann die Menge an hCG in einer Probe bestimmt werden. Daher kann das Verfahren auch zur Bestimmung der Schwangerschaftswoche oder dem Vorliegen einer Schwangerschaft herangezogen werden.

Der Gegenstand der vorliegenden Erfindung wird in der folgenden Figur und Beispielen eingehender dargelegt, ohne jedoch auf diese beschränkt zu sein.

Fig. 1 zeigt eine erfindungsgemäße Testvorrichtung 1, welche ein Trägermaterial 2 umfasst, auf das eine Probenaufgabezone 3, eine Nachweiszone 4 und eine Saugzone 5 aufgebracht sind. In der Probenaufgabezone 3 ist eine Probenaufgabematrix 6 angeordnet, welche mit der Nachweiszone 4 überlappt, welche wiederum mit der Saugzone 5 in Verbindung steht. In der Probenaufgabematrix 6 sind alle diejenigen Reagenzien untergebracht, die zur Bildung eines Komplexes mit dem nachzuweisenden Analyten erforderlich sind. Als Trägermaterial 2 kann eine Polyesterfolie verwendet werden. Als Probenaufgabematrix 6 kann ein Polyestervlies verwendet werden. Als Saugzone 5 kann ein Glasfaservlies verwendet werden. Als Nachweiszone 4 kann eine Nitrocellulosemembran eingesetzt werden. Die Saugzone 4 ist mit einer perforierten Membran bzw. Folie 7 bedeckt. Die einzelnen Komponenten werden vorzugsweise, wie in Fig. 1 gezeigt, mittels Schmelzkleber leicht überlappend auf das Trägermaterial 2 aufgeklebt.

BEISPIEL:

Um den Einfluss der perforierten Folie bzw. des perforierten Trägermaterials an der Saugzone zu untersuchen, wurden mehrere baugleiche Teststreifen zur Bestimmung von hCG (Schwangerschaftstest) bereitgestellt, bei denen die Saugzone mit einer wasserundurchlässigen Folie bedeckt wurde. Bei einem Teil dieser Teststreifen wurde diese Folie und der entsprechende Bereich am Trägermaterial perforiert (Durchmesser der Lochöffnungen 0,4 mm; 30 Perforationen /cm²).

Als Positiv-Kontrolle wurde WHO-Standard Lot.: 75/589 verwendet.

Es wurde eine hCG Positiv-Kontrolle mit einer Konzentration

von 5 mIU/ml angesetzt.

Um die Reproduzierbarkeit zu bestätigen und die Fehlerquelle zu eliminieren, wurden die Tests jeweils 3 Mal durchgeführt (insgesamt 6 Teststreifen: 3 mit perforierter Folie/Trägermaterial; 3 ohne Perforationen).

Die Ergebnisse wurden nach 10 Minuten abgelesen.

Nach 10 Minuten Wartezeit wurde bei den „perforierten“ Teststreifen eine positive Testlinie sichtbar. Bei den „nicht-perforierten“ Teststreifen wurde die positive Testlinie erst nach 14 Minuten sichtbar.

Ansprüche:

1. Vorrichtung (1) zur Bestimmung von Analyten umfassend mindestens eine Aufgabezone (3), eine Saugzone (5) und eine zwischen der Aufgabezone und Saugzone befindliche Nachweiszone (4), wobei die Nachweiszone (4) einen porösen saugfähigen Träger umfasst, welcher einen ersten Bereich, der mit mindestens einem an den zu bestimmenden Analyten bindenden ersten spezifischen Bindungspartner, welcher in feuchtem Zustand des Trägers im Träger frei beweglich ist, imprägniert ist, und einen zweiten Bereich, der mindestens einen auf dem Träger immobilisierten, an den zu bestimmenden Analyten bindenden zweiten spezifischen Bindungspartner umfasst, aufweist, wobei der erste spezifische Bindungspartner markiert oder mit einem stromabwärts vom ersten Bereich am Träger mobilisierbar gebundenen Markierungsreagenz markierbar ist, wobei die mindestens eine Aufgabezone (3), die Nachweiszone (4) und die Saugzone (5) in flüssigkeitsübertragendem Kontakt zueinander stehen, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens 50% der Saugzone (5) mit einer perforierten Folie aus wasserundurchlässigem Material bedeckt ist.

2. Vorrichtung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der an den zu bestimmenden Analyten bindende erste und zweite spezifische Bindungspartner ein Antikörper oder ein funktionelles Fragment davon ist.

3. Vorrichtung gemäß Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass stromabwärts zur Aufgabezone (3) in der Nachweiszone (4) ein Kontrollbereich vorgesehen ist, in dem Bindungspartner immobilisiert sind, die spezifisch an den zu bestimmenden Analyten bindenden ersten spezifischen Bindungspartner binden.

4. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass der erste spezifische Bindungspartner mit einem Goldpartikel, einem Latexpartikel, Biotin, Avidin, Streptavidin oder einem Farbstoff markiert ist.

5. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass das Markierungsreagenz ein an den ersten Bindungspartner bindender Antikörper oder ein Fragment davon ist,

welches an einem Goldpartikel, einem Latexpartikel oder einem Farbstoff konjugiert oder gebunden ist.

6. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass der zu bestimmende Analyt hCG (humanes Choriongonadotropin), eine Droge, ein Dopingmittel, hHb (humanes Hämoglobin) oder ein Antigen von *H. pylori*, *C. trachomatis*, Streptokokken oder *H. influenza* ist.

7. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass die Aufgabebzone (3) und/oder Saugzone (5) ein Saugvlies umfasst.

8. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass der poröse saugfähige Träger der Nachweiszone (4) Nitrozellulose umfasst.

9. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass das Trägermaterial (2) im Bereich der Saugzone (5) perforiert ist.

10. Verfahren zum Bestimmen eines Analyten in einer Probe umfassend den Schritt des Auftragens der Probe auf mindestens eine Probenaufgabebzone einer Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 9.

Ansprüche:

1. Vorrichtung (1) zur Bestimmung von Analyten umfassend mindestens eine Aufgabezone (3), eine Saugzone (5) und eine zwischen der Aufgabezone und Saugzone befindliche Nachweiszone (4), wobei die Nachweiszone (4) einen porösen saugfähigen Träger umfasst, welcher einen ersten Bereich, der mit mindestens einem an den zu bestimmenden Analyten bindenden ersten spezifischen Bindungspartner, welcher in feuchtem Zustand des Trägers im Träger frei beweglich ist, imprägniert ist, und einen zweiten Bereich, der mindestens einen auf dem Träger immobilisierten, an den zu bestimmenden Analyten bindenden zweiten spezifischen Bindungspartner umfasst, aufweist, wobei der erste spezifische Bindungspartner markiert oder mit einem stromabwärts vom ersten Bereich am Träger mobilisierbar gebundenen Markierungsreagenz markierbar ist, wobei die mindestens eine Aufgabezone (3), die Nachweiszone (4) und die Saugzone (5) in flüssigkeitsübertragendem Kontakt zueinander stehen, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens 50% der Saugzone (5) mit einer perforierten Folie (7) aus wasserundurchlässigem Material bedeckt ist.
2. Vorrichtung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der an den zu bestimmenden Analyten bindende erste und zweite spezifische Bindungspartner ein Antikörper oder ein funktionelles Fragment davon ist.
3. Vorrichtung gemäß Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass stromabwärts zur Aufgabezone (3) in der Nachweiszone (4) ein Kontrollbereich vorgesehen ist, in dem Bindungspartner immobilisiert sind, die spezifisch an den zu bestimmenden Analyten bindenden ersten spezifischen Bindungspartner binden.
4. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass der erste spezifische Bindungspartner mit einem Goldpartikel, einem Latexpartikel, Biotin, Avidin, Streptavidin oder einem Farbstoff markiert ist.
5. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass das Markierungsreagenz ein an den ersten Bindungspartner bindender Antikörper oder ein Fragment davon ist,

welches an einem Goldpartikel, einem Latexpartikel oder einem Farbstoff konjugiert oder gebunden ist.

6. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass der zu bestimmende Analyt hCG (humanes Choriongonadotropin), eine Droge, ein Dopingmittel, hHb (humanes Hämoglobin) oder ein Antigen von *H. pylori*, *C. trachomatis*, Streptokokken oder *H. influenza* ist.

7. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass die Aufgabezone (3) und/oder Saugzone (5) ein Saugvlies umfasst.

8. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass der poröse saugfähige Träger der Nachweiszone (4) Nitrozellulose umfasst.

9. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass das Trägermaterial (2) im Bereich der Saugzone (5) perforiert ist.

10. Verfahren zum Bestimmen eines Analyten in einer Probe umfassend den Schritt des Auftragens der Probe auf mindestens eine Probenaufgabezone einer Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 9.

Klassifikation des Anmeldegegenstands gemäß IPC: G01N 33/543 (2006.01); G01N 33/538 (2006.01)		
Klassifikation des Anmeldegegenstands gemäß CPC: G01N 33/54386 (2013.01); G01N 33/538 (2013.01)		
Recherchiertes Prüfobjekt (Klassifikation): G01N		
Konsultierte Online-Datenbank: Wpi, Epodoc		
Dieser Recherchenbericht wurde zu den am 27.11.2012 eingereichten Ansprüchen 1-10 erstellt.		
Kategorie*)	Bezeichnung der Veröffentlichung: Ländercode, Veröffentlichungsnummer, Dokumentart (Anmelder), Veröffentlichungsdatum, Textstelle oder Figur soweit erforderlich	Betreffend Anspruch
X	WO 03052379 A2 *Seite 5 letzter Absatz ff; Anspruch 1; Figuren 1 und 2*	1-10
X	WO 9635123 A1 *Seite 13 2ter Absatz; Figuren 1A, 1B, 2-4*	1-10
X	US 2006172435 A1 *Figuren; [0036]; [0048]*	1-10
X	US 2008311595 A1 *[0035]; Anspruch 7; Figur 1, 2*	1-10
X	EP 2251691 A1 *[0006]; Fig 10A und B*	1-10
Datum der Beendigung der Recherche: 25.07.2013		Seite 1 von 1
		Prüfer(in): GÖRNER Wolfram
*) Kategorien der angeführten Dokumente: X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung : der Anmeldegegenstand kann allein aufgrund dieser Druckschrift nicht als neu bzw. auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden. Y Veröffentlichung von Bedeutung : der Anmeldegegenstand kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren weiteren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist.		A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert. P Dokument, das von Bedeutung ist (Kategorien X oder Y), jedoch nach dem Prioritätstag der Anmeldung veröffentlicht wurde. E Dokument, das von besonderer Bedeutung ist (Kategorie X), aus dem ein „ älteres Recht “ hervorgehen könnte (früheres Anmeldedatum, jedoch nachveröffentlicht, Schutz ist in Österreich möglich, würde Neuheit in Frage stellen). & Veröffentlichung, die Mitglied der selben Patentfamilie ist.

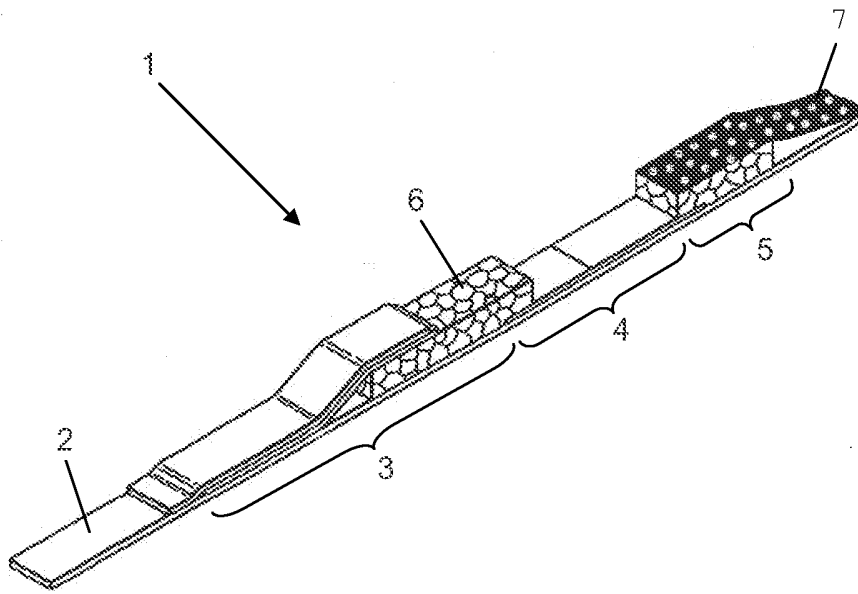


Fig. 1