

(19)

österreichisches  
patentamt

(10)

AT 009 863 U1 2008-04-15

(12)

## Gebrauchsmusterschrift

- (21) Anmeldenummer: GM 9005/04 (51) Int. Cl.<sup>8</sup>: G01N 33/53  
US04/  
008355 G01N 33/68
- (22) Anmeldetag: 2004-03-19
- (42) Beginn der Schutzdauer: 2008-02-15
- (45) Ausgabetag: 2008-04-15

(30) Priorität:  
06.06.2003 US 456771 beansprucht.

(73) Gebrauchsmusterinhaber:  
ADVANTAGE DIAGNOSTICS  
CORPORATION  
94085 SUNNYVALE (US).

### (54) DIAGNOSTISCHER TEST FÜR ANALYEN IN EINER PROBE

(57) Diagnosevorrichtungen und Verfahren sind vorgesehen. Die diagnostischen Vorrichtungen umfassen vorzugsweise einen Teststreifen mit einer Testzone 140. Die zu untersuchende Probe kontaktiert die Testzone, welche einen spezifischen Bindungspartner für den Analyten, an dem ein Interesse besteht, umfasst. Der Analyt, sofern in der Probe vorhanden, bindet an den immobilisierten Bindungspartner in der Testzone und wird anschließend mit einem Konjugat kontaktiert. Das Konjugat bindet spezifisch den Analyten und zeigt die Anwesenheit des Analyten visuell an. Die Vorrichtungen können für die Diagnose von bestimmten Krankheiten und Krankheitszuständen in einem Patienten, wie z.B. HIV oder Hepatitis, verwendet werden. Sie können auch verwendet werden, um zu bestimmen, ob ein Individuum schwanger ist.

AT 009 863 U1 2008-04-15

#### Wichtiger Hinweis:

Die in dieser Gebrauchsmusterschrift enthaltenen Ansprüche wurden vom Anmelder erst nach Zustellung des Recherchenberichtes überreicht (§ 19 Abs.4 GMG) und lagen daher dem Recherchenbericht nicht zugrunde. In die dem Recherchenbericht zugrundeliegende Fassung der Ansprüche kann beim Österreichischen Patentamt während der Amtsstunden Einsicht genommen werden.

*Hintergrund der Erfindung**Gebiet der Erfindung*

- 5 Die vorliegende Erfindung betrifft einen visuellen Lateral Flow-Schnelltest zum Nachweis von Analyten in einer Probe.

*Beschreibung des verwandten Standes der Technik*

- 10 Lateral Flow-Test-Vorrichtungen sind im Stand der Technik bekannt und können bei der klinischen Diagnose zur Feststellung des Vorhandenseins eines Analyten, an dem ein Interesse besteht, in einer Probe, wie einer Körperflüssigkeit, verwendet werden. Solche Vorrichtungen erforderten jedoch typischerweise ein relativ großes Probenvolumen und große Mengen an Konjugat. Sie hatten auch eine lange Wartezeit, bevor man die Testergebnisse ablesen konnte.

15 *Zusammenfassung der Erfindung*

Gemäß einem Aspekt ist ein immundiagnostischer Teststreifen zum Nachweis eines Analyten, an dem ein Interesse besteht, in einer Probe vorgesehen. Bei einigen Ausführungsformen ist der Analyt ein Antikörper, wie ein anti-Human-Immundefizienz-Virus(HIV)-Antikörper oder ein anti-Hepatitis C-Virus(HCV)-Antikörper. Bei anderen Ausführungsformen ist der Analyt ein Antigen, wie humanes Chorion-Gonadotropin (hCG).

Der Diagnose-Teststreifen umfasst vorzugsweise eine Konjugatquellen-Zone mit einem Konjugat, welches so ausgestaltet ist, dass es den Analyten, an dem ein Interesse besteht, bindet, eine Probenaufbringungszone, die sich der Konjugatquellen-Zone nachgeordnet befindet und so ausgestaltet ist, dass sie die flüssige Probe aufnimmt, und eine Testzone. Die Testzone befindet sich der Konjugatquellen-Zone nachgeordnet und weist ein immobilisiertes Bindungsmittel auf, das den Analyten, an dem ein Interesse besteht, spezifisch binden kann. Wenn z.B. der Analyt, an dem ein Interesse besteht, ein Antikörper ist, so weist die positive Testzone vorzugsweise immobilisiertes Antigen auf. Wenn der Analyt, an dem ein Interesse besteht, ein Antigen ist, weist die positive Testzone vorzugsweise immobilisierten Antikörper auf. Das Konjugat umfasst eine erste Bindungskomponente, die den Analyten, an dem ein Interesse besteht, binden kann, sowie eine zweite Visualisierungskomponente.

35 Die im Test verwendete Probe kann jede Flüssigkeit sein. Bevorzugte Proben inkludieren z.B. Blut, Serum, Plasma, Speichel und Harn. Die Probe wird auf die positive Testzone aufgebracht, und das Konjugat wird danach veranlasst, von der Konjugatquellen-Zone weg zu fließen. Das Konjugat fließt über die Membran und kontaktiert jeden an die positive Testzone gebundenen Analyten, wobei ein sichtbares Signal erzeugt wird.

Bei einer bevorzugten Ausführungsform weist der Teststreifen eine Testzone mit immobilisiertem HIV-Antigen auf und wird zum Nachweis von anti-HIV-Antikörpern verwendet. Bei dieser Ausführungsform ist der Test für die Diagnostizierung einer HIV-Infektion bei einem Patienten nützlich. Bei einer anderen bevorzugten Ausführungsform weist der Teststreifen eine Testzone mit immobilisiertem HCV-Antigen auf und wird für den Nachweis von anti-HCV-Antikörpern in einer Probe verwendet. Bei dieser Ausführungsform ist der Test für die Diagnostizierung einer HCV-Infektion bei einem Patienten nützlich. Bei einer weiteren Ausführungsform weist der Teststreifen eine Testzone mit immobilisierten anti-hCG-Antikörpern auf. Bei dieser Ausführungsform ist der Test geeignet, festzustellen, ob ein Individuum schwanger ist.

55 Die Konjugatquellen-Zone weist vorzugsweise ein getrocknetes Konjugat auf. Beispielsweise kann die Konjugatquellen-Zone ein Konjugat-Kissen sein, auf welchem Konjugat getrocknet wurde. Das Konjugatkissen ist mit der Membran vorzugsweise in Fluid-Verbindung. Bei einigen Ausführungsformen wird das Konjugat-Kissen nach Zugabe der Probe zur Probenaufbrin-

gungszone in Fluid-Verbindung mit der Membran bewegt. Bei einer anderen Ausführungsform ist die Konjugatquellen-Zone ein Teil der Membran, auf welcher Konjugat getrocknet wurde.

Getrocknetes Konjugat wird vorzugsweise resuspendiert und durch Kontaktieren der Konjugatquellen-Zone mit einem Waschpuffer zum Fließen veranlasst. Bei einer Ausführungsform weist der Waschpuffer etwa 0,1% Blockierungsmittel, vorzugsweise ein blockierendes Protein, wie Casein, auf. Der Waschpuffer weist vorzugsweise auch etwa 0,1% Detergens, vorzugsweise ein nicht-ionisches Detergens, wie Triton X100™, auf. Bei einer Ausführungsform weist der Waschpuffer etwa 0,025% HEPES, etwa 0,85% Natriumchlorid, etwa 0,1% EDTA, etwa 1% Mannit, etwa 0,1% Casein und etwa 1% Triton X100™ Detergens auf.

Bei einer weiteren Ausführungsform ist das Konjugat in Puffer suspendiert. Das Konjugat wird veranlasst, zur Testzone zu fließen, indem der das Konjugat aufweisende Puffer zur Konjugatquellen-Zone zugegeben wird.

Bei einer besonderen Ausführungsform weist das Konjugat mit kolloidalem Gold konjugiertes Protein A auf. Bei anderen Ausführungsformen weist das Konjugat einen mit kolloidalem Gold konjugierten Antikörper, vorzugsweise einen monoklonalen Antikörper, auf. Vorzugsweise hat das kolloidale Gold eine Partikelgröße von etwa 20 bis etwa 80 Nanometer.

Bei einer anderen Ausführungsform weist der Teststreifen zusätzlich eine Kontrollzone auf, die sich der Testzone nachgeordnet auf der Membran befindet. Die Kontrollzone weist vorzugsweise ein Kontroll-Bindungsmittel auf, das das Konjugat binden kann. Wenn z.B. der Analyt, an dem ein Interesse besteht, ein Antikörper ist und das Konjugat ein Antikörper-Bindungsmittel, wie Protein A, aufweist, so kann das Kontroll-Bindungsmittel Kaninchen-IgG sein. Wenn der Analyt, an dem ein Interesse besteht, ein Antigen ist und das Konjugat einen monoklonalen Antikörper aufweist, der für das Antigen spezifisch ist, so kann das Kontroll-Bindungsmittel beispielsweise Protein A sein.

Der Teststreifen kann eine oder mehrere zusätzliche Komponenten aufweisen. Ein Pufferkissen kann mit der Konjugatquellen-Zone in Fluid-Verbindung stehen, so dass die Zugabe von Waschpuffer zum Pufferkissen bewirkt, dass Konjugat von der Konjugatquellen-Zone weg und quer über die Membran fließt, um die Testzone zu kontaktieren. Ein absorbierender Streifen und ein absorbierendes Kissen können sich der Membran nachgeordnet befinden, um überschüssigen Puffer zu absorbieren, während er quer über die Membran fließt. Eine Trockenmittel-Tablette kann sich auch in der Nähe der Membran befinden, um überschüssige Flüssigkeit und Feuchtigkeit zu absorbieren.

Der Teststreifen kann gegebenenfalls in einem Gehäuse, wie einem Kunststoffgehäuse, vorliegen. Das Gehäuse weist vorzugsweise ein über den Test- und Kontrollzonen befindliches Proben-Fenster und ein stromaufwärts von der Testzone befindliches Puffer-Fenster auf.

Ein Verfahren zum Nachweis eines Analyten in einer flüssigen Probe ist ebenfalls vorgesehen, umfassend das Auftragen der Probe auf die Testzone einer Membran und das nachfolgende Kontakt-Bringen der Testzone mit einem Konjugat, das den Analyten, an dem ein Interesse besteht, binden und ein visuelles Signal, das die Bindung anzeigt, liefern kann.

#### *Kurze Beschreibung der Zeichnungen*

Fig. 1 zeigt eine Testkarte gemäß einem Aspekt der vorliegenden Erfindung.

Fig. 2 zeigt eine Draufsicht auf eine Testkarte gemäß einem Aspekt der Erfindung.

Fig. 3 zeigt eine Seitenansicht einer Testkarte gemäß einem Aspekt der Erfindung.

Fig. 4 zeigt eine aufgeschnittene Ansicht der Komponenten, die einen Teststreifen gemäß einer Ausführungsform umfassen.

Fig. 5 zeigt eine Testkarte mit einem positiven Ergebnis, das anzeigt, dass der Analyt, an dem ein Interesse besteht, in der Probe nachgewiesen wurde.

Fig. 6 zeigt eine Testkarte mit einem negativen Ergebnis, das anzeigt, dass der Analyt, an dem ein Interesse besteht, in der Probe nicht nachgewiesen wurde.

Fig. 7 zeigt einen Teststreifen mit einem Probenbecher gemäß einem weiteren Aspekt der Erfindung.

#### *Detaillierte Beschreibung der bevorzugten Ausführungsform*

Diagnose-Vorrichtungen und -Verfahren sind für die rasche Bestimmung des Vorhandenseins eines Analyten in einer Probe vorgesehen. Obwohl sie allgemein im Hinblick auf eine immundiagnostische Vorrichtung für den Nachweis eines Antikörpers oder Antigens in einer Probe beschrieben ist, wird der Fachmann erkennen, dass die vorliegende Erfindung für den Nachweis jedes Analyten, an dem ein Interesse besteht, leicht modifiziert werden kann.

In der Vergangenheit bedingten immundiagnostische Vorrichtungen typischerweise das vorherige Mischen eines Konjugats mit der auf das Vorhandensein eines Antikörpers zu analysierenden Probe. Beispielsweise wurde in einigen Vorrichtungen getrocknetes Konjugat durch Zugabe einer flüssigen Probe aufgelöst, wobei man das vorherige Mischen der Probe und des Konjugats ermöglichte. Der nachzuweisende Antikörper band, soferne vorhanden, an das Konjugat und wurde an einer nachgeordneten Testzone, die ein immobilisiertes Antigen aufwies, sichtbar gemacht. Bei diesem System führte jedoch eine unspezifische Wechselwirkung des Konjugats mit anderen Antikörpern oder anderen Verbindungen in der Probe zu einem Dämpfen des Konjugat-Signals. Folglich war eine große Menge an Konjugat notwendig. Wegen der großen Menge an verwendetem Konjugat dauerte es lange, bis die Reaktion deutlich war, was die für den Erhalt der Testergebnisse benötigte Zeit verlängerte. Außerdem war die Empfindlichkeit des Tests so, dass eine signifikante Menge an Antigen an der Testzone notwendig war, um ein sichtbares positives Signal zu erzeugen.

Die vorliegende Erfindung überwindet die Probleme des Standes der Technik, indem die Testzone direkt mit der Probe in Kontakt gebracht wird, wobei jeder Analyt, an dem ein Interesse besteht, spezifisch an immobilisiertes Bindungsmittel binden kann. Beispielsweise kann ein Antikörper, an dem ein Interesse besteht, an immobilisiertes Antigen binden. Folglich wird Konjugat der Testzone mit Puffer zugeführt. Die Lösungsmittel-Front des Puffers drängt nicht gebundene Verbindungen an der Testzone heraus, wodurch unspezifische Wechselwirkungen mit dem Konjugat verringert werden. Infolgedessen wird die benötigte Menge an Konjugat wesentlich reduziert, und die Geschwindigkeit der Reaktion wird dadurch erhöht. Außerdem wird die Empfindlichkeit der Reaktion erhöht, was die Verwendung von weniger Antigen an der Testzone gestattet.

Die beschriebenen Vorrichtungen und Verfahren können beispielsweise zur Diagnostizierung einer Krankheit oder einer Erkrankung bei einem Patienten, wie humarer Immundefizienz-Virus (HIV) oder Hepatitis-Virus, verwendet werden. Sie können auch verwendet werden, um festzustellen, ob ein Individuum schwanger ist. Andere Verwendungen sind für den Fachmann auf Basis der nachstehenden Offenbarung offensichtlich.

#### *Definitionen*

Sofern nicht anders definiert, haben alle hierin verwendeten technischen und wissenschaftlichen Begriffe dieselbe Bedeutung, wie sie von einem Durchschnittsfachmann auf dem Gebiet,

zu dem diese Erfindung gehört, verstanden wird. Alle Verfahren, Vorrichtungen und Materialien, die den hier beschriebenen ähnlich oder äquivalent sind, können bei der Ausübung dieser Erfindung verwendet werden.

- 5 Ein „Analyt, an dem ein Interesse besteht“ ist jedes Molekül oder jede Verbindung, deren Vorhandensein in einer Probe identifiziert werden soll. Analyten können, ohne Einschränkung darauf, virale Antigene, bakterielle Antigene, Hormone, wie Insulin, Follikel-stimulierendes Hormon (FSH), Thyrotropin, Relaxin, Somatotropin und Gonadotropin, Enzyme, Immunglobuline, Cytokine, Arzneistoffe, Krebs-Antigene, antigene Polysaccharide und Nukleinsäuren, sein.
- 10 Andere Analyten, die in Proben unter Verwendung der vorgesehenen Verfahren und Vorrichtungen identifiziert werden können, sind für den Durchschnittsfachmann offensichtlich. Besonders bevorzugte Analyten, an denen ein Interesse besteht, inkludieren anti-HIV-Antikörper, anti-HCV-Antikörper und humanes Chorion-Gonadotropin (hCG).
- 15 Der Begriff „Konjugat“ bezieht sich auf eine Zusammensetzung, die so gestaltet ist, dass sie an einen Analyten, an dem ein Interesse besteht, bindet und ein detektierbares Signal erzeugt. Das Konjugat weist typischerweise eine mit einer Markierung konjugierte Bindungskomponente auf. Die Bindungskomponente ermöglicht es dem Konjugat, an den Analyten, an dem ein Interesse besteht, und gegebenenfalls an eine Kontroll-Verbindung zu binden. Die Markierung erzeugt ein detektierbares Signal, vorzugsweise ein visuelles Signal. Bei einer Ausführungsform wird das visuelle Signal erst nach Bindung des Konjugats an den Analyten erzeugt. Bei einer bevorzugten Ausführungsform ist der Analyt, an dem ein Interesse besteht, ein Antikörper und weist das Konjugat eine Bindungskomponente auf, die Antikörper binden kann. Beispielsweise kann die erste Bindungskomponente Protein A sein, obwohl andere Moleküle, die Antikörper binden können, verwendet werden können. Bei einer anderen Ausführungsform ist der Analyt, an dem ein Interesse besteht, ein Antigen und weist die Bindungskomponente des Konjugats einen Antikörper auf, der das Antigen binden kann. Vorzugsweise ist der Antikörper ein monoklonaler Antikörper.
- 20
- 25
- 30 Die Markierung ist irgendein Molekül oder eine Verbindung, die an der Bindungskomponente befestigt oder damit konjugiert werden kann und die ein detektierbares Signal erzeugen kann. Eine bevorzugte Markierung ist koloidales Gold. Alternativ kann die Markierung z.B. gefärbte Latex-Partikel, koloidales Silber oder andere kolloidale Metalle, kolloidaler Ruß oder andere auf dem Gebiet bekannte Komponenten sein. Vorzugsweise hat die Markierung eine Partikelgröße, die die Fähigkeit der Bindungskomponenten, den Analyten, an dem ein Interesse besteht, zu binden, nicht stört. Wenn die Bindungskomponente beispielsweise Protein A ist, hat die Markierung vorzugsweise eine Partikelgröße von etwa 5 bis etwa 120 Nanometer, mehr bevorzugt von etwa 20 bis etwa 80 Nanometer.
- 35
- 40 Das Konjugat wird vorzugsweise in einem „Konjugat-Puffer“ hergestellt, der das Konjugat stabilisieren und konservieren kann. Bei einer Ausführungsform kann das Konjugat nach der Herstellung in Konjugat-Puffer auf ein „Konjugat-Kissen“ wie nachstehend genauer beschrieben, ange trocknet werden. Auf einem Substrat angetrocknetes Konjugat wird als „diffundierbar gebunden“ angesehen. Das Konjugat ist „diffundierbar gebunden“, wenn es zum Diffundieren oder Fließen veranlasst werden kann, wie indem man es mit einem Puffer in Kontakt bringt. Beispielsweise kann ein Konjugat, das durch Trocknen diffundierbar an die Konjugatquellen-Zone gebunden wurde, mit Puffer solubilisiert werden und so veranlasst werden, entlang der Membran des Teststreifens zu fließen.
- 45
- 50 Ein „Kontroll-Konjugat“ ist ein Konjugat, bei welchem die Bindungskomponente für eine Kontroll-Verbindung spezifisch ist. Ein Kontroll-Konjugat wird vorzugsweise verwendet, wenn es wahrscheinlich ist, dass das gesamte Konjugat an den Analyten an der Testlinie gebunden sein wird und nicht als Kontrolle dienen kann. Die Kontroll-Verbindung ist typischerweise eine, von der man weiß, dass sie in der unter Analyse befindlichen Probe vorhanden ist und die das Kontroll-Bindungsmittel auf dem Kontrollstreifen binden kann. Gegebenenfalls kann die Bindungskom-
- 55

ponente des Kontroll-Konjugats für eine Verbindung spezifisch sein, die in der Kontrollzone der Testmembran vorhanden ist.

Das Konjugat liegt vorzugsweise in einer „Konjugatquellen-Zone“ vor. Die Konjugatquellen-Zone weist typischerweise ein Konjugat auf, das diffundierbar daran gebunden ist, wie getrocknetes Konjugat. Alternativ kann die Konjugatquellen-Zone ein Konjugat aufweisen, das in einem Puffer, wie einem Waschpuffer oder Konjugat-Puffer, suspendiert worden ist. Bei einer Ausführungsform ist die Konjugatquellen-Zone ein ein getrocknetes Konjugat aufweisendes Konjugat-Kissen, das mit der Testmembran in Fluid-Verbindung steht. Bei einer anderen Ausführungsform ist die Konjugatquellen-Zone ein Teil der Testmembran, auf welchem Konjugat getrocknet wurde. Bei einer weiteren Ausführungsform ist die Konjugatquellen-Zone ein Puffer-Kissen, welchem ein einen Puffer aufweisendes Konjugat zugesetzt sein kann, und das mit der Testmembran in Fluid-Verbindung steht. Die Konjugatquellen-Zone befindet sich typischerweise stromaufwärts von der Testzone auf der Testmembran, so dass - nach Zugabe einer das Konjugat aufweisenden Lösung oder einer Solubilisierung des diffundierbar gebundenen Konjugats - das Konjugat quer über die Testmembran fließt, um die Testzone zu kontaktieren.

Das Konjugat wird vorzugsweise mit „Waschpuffer“, wie nachstehend genauer beschrieben, solubilisiert. Kurz gesagt ist Waschpuffer eine gepufferte Lösung, die vorzugsweise ein „Blockierungsmittel“ aufweist. Blockierungsmittel sind auf dem Gebiet wohlbekannt und inkludieren jegliche Moleküle oder Verbindungen, die unspezifische Wechselwirkungen, wie eine unspezifische Antikörperbindung, verringern. Bevorzugte Blockierungsmittel sind Proteine, wie Casein und Rinderserum-Albumin (bovine serum albumin, BSA). Andere verwendbare Blockierungsmittel sind im Handel erhältlich und für den Durchschnittsfachmann offensichtlich.

„Proben-Puffer“ ist eine gepufferte Lösung, die vorzugsweise kein Konjugat aufweist. Bei einigen Ausführungsformen weist der Proben-Puffer ein Blockierungsmittel auf, wogegen er dies bei anderen Ausführungsformen nicht aufweist. Proben-Puffer kann gegebenenfalls auf die Membran vor der Zugabe der Probe aufgetragen werden, wie nachstehend genauer besprochen.

Eine „Testmembran“ ist ein fester Träger, der eine Testzone und gegebenenfalls eine Kontrollzone aufweist. Die zu analysierende Probe wird typischerweise direkt auf die Testmembran aufgetragen, so dass sie die Testzone und die Kontrollzone kontaktiert. Die Testmembran kann jeder feste Träger sein, an welchem ein Analyten-Bindungsmittel und ein Kontroll-Bindungsmittel gebunden werden kann. Vorzugsweise ist die testmembran Nitrocellulose.

Die Testmembran sieht eine seitliche Fließbahn („lateral flow path“) für Flüssigkeiten vor. Man sagt, dass die Testmembran und andere Komponenten des Teststreifens in „Fluid-Verbindung“ stehen, wenn Flüssigkeit, wie eine flüssige Probe oder Puffer, von einer Komponente zu einer anderen fließen kann. Wenn Komponenten des Teststreifens miteinander in Kontakt stehen, befinden sie sich in „Fluid-Verbindung“. Wie jedoch für den Fachmann erkennbar ist, ist ein direkter Kontakt zwischen zwei bestimmten Komponenten für eine Fluid-Verbindung nicht notwendig.

„Testzone“, „Teststreifen“ und „Testlinie“ sind untereinander auswechselbar verwendet und beziehen sich auf eine Zone auf der Testmembran, auf welcher ein Analyten-Bindungsmittel gebunden ist.

Ein „Analyten-Bindungsmittel“, ein „spezifischer Bindungspartner“ oder eine „Bindungskomponente“ ist jedes Molekül oder jede Verbindung, die so gestaltet ist, dass sie an den Analyten, an dem ein Interesse besteht, spezifisch bindet. Beispielsweise kann - ohne Einschränkung darauf - das Analyten-Bindungsmittel Antigene, Antikörper, Rezeptoren, andere Polypeptide, Peptide, Haptene, Lectine, Nukleinsäure, einschließlich Oligonukleotide, oder kleine Moleküle umfassen. Bei einer Ausführungsform ist das Analyten-Bindungsmittel ein Antigen, das für einen in einer

Probe nachzuweisenden Antikörper spezifisch ist. Bei einer anderen Ausführungsform ist die Analyten-Bindungs-Verbindung ein Antikörper, der für ein Antigen, an dem ein Interesse besteht, spezifisch ist.

5 „Kontrollzone“, „Kontroll-Streifen“ und „Kontrolllinie“ sind untereinander auswechselbar verwendet und beziehen sich auf eine Zone auf der Membran, an welcher ein Kontroll-Bindungsmittel gebunden ist.

10 Ein „Kontroll-Bindungsmittel“ ist jedes Molekül oder jede Verbindung, die spezifisch an das Konjugat oder an ein Kontroll-Konjugat binden kann.

15 „Teststreifen“ bezieht sich auf eine vollständige Vorrichtung, die zum Nachweis des Vorhandenseins eines Analyten in einer Probe verwendet werden kann. Der Teststreifen weist vorzugsweise mindestens eine Testmembran mit einer Testzone und einer Kontrollzone auf. Wie nachstehend beschrieben, kann der Teststreifen in einem Gehäuse, wie einem Kunststoffgehäuse, vorliegen. Alternativ kann der Teststreifen auch ohne Gehäuse verwendet werden. Wenn er in einem Gehäuse vorliegt, können der Teststreifen und das Gehäuse zusammen als „Testkarte“ bezeichnet werden.

20 „Testkarten-Fenster“ und „Proben-Fenster“ beziehen sich auf ein Loch im Kunststoffgehäuse einer Testkarte, durch welches eine Probe aufgetragen werden kann. Das Testkarten-Fenster befindet sich vorzugsweise über der Testzone und der Kontrollzone. Das Testkarten-Fenster ermöglicht vorzugsweise auch eine Visualisierung der Testergebnisse.

25 „Puffer-Fenster“ bezieht sich auf ein Loch im Kunststoffgehäuse einer Testkarte, durch welches Puffer aufgetragen werden kann. Bei einer Ausführungsform ist das Puffer-Fenster vorzugsweise so angeordnet, dass der Puffer auf ein Puffer-Kissen aufgetragen werden kann. Bei einer anderen Ausführungsform ist das Puffer-Fenster so angeordnet, dass ein Aufbringen von Puffer direkt auf die Testmembran ermöglicht ist.

30 „Volumsindikator-Fenster“ bezieht sich auf ein Loch im Kunststoffgehäuse einer Testkarte, durch welche ein sichtbarer Proben-Volumsindikator gesehen werden kann. Das Volumsindikator-Fenster befindet sich dem Proben-Fenster nachgeordnet. Der Proben-Volumsindikator signalisiert, dass ein annehmbares Proben-Volumen die Testzone kontaktiert hat. Ein Proben-Volumsindikator kann beispielsweise Methylen-Blau oder eine andere färbige Verbindung sein, die direkt dem Volumsindikator-Fenster vorgeschaltet auf die Membran aufgetragen worden ist. Der Proben-Volumsindikator wird durch die Bewegung der Probe über das Volumsindikator-Fenster getragen, wobei er im Fenster ein visuelles Signal erzeugt. Bei anderen Ausführungsformen ist der Proben-Volumsindikator eine Verbindung, die bei Kontaktierung durch die Probe die Farbe verändert, wie ein pH-Indikator. Typischerweise wird ein Proben-Volumsindikator verwendet, wenn ein großes Proben-Volumen notwendig ist, z.B. wenn man annimmt, dass ein Analyt, an dem ein Interesse besteht, in einer geringen Konzentration in einer Probe vorhanden ist. Beispielsweise wird vorzugsweise ein Proben-Volumsindikator verwendet, wenn Harn auf das Vorhandensein von hCG analysiert wird.

45 „Probe“ bezieht sich auf jegliches Material, das auf das Vorhandensein eines Analyten, an dem ein Interesse besteht, analysiert werden soll. Die Probe liegt vorzugsweise in flüssiger Form vor. Beispielhafte Proben inkludieren - ohne Einschränkung darauf - Körperflüssigkeiten, wie Vollblut, Plasma, Serum, Speichel und Harn. Wie nachstehend genauer beschrieben, kann die Probe ein Feststoff sein. In diesem Fall wird jedoch die Probe vorzugsweise solubilisiert oder extrahiert, bevor sie im Test verwendet wird.

50 Die „Probenaufbringungszone“ ist jene Stelle auf der Membran, auf welche eine Probe aufgetragen wird. Die Probenaufbringungszone befindet sich vorzugsweise der Konjugatquellen-Zone nachgeordnet und der Testzone vorgeschaltet. Mehr bevorzugt weist die Probenaufbringungs-

zone die Testzone auf. Eine Probe kann auf der Probenaufbringungszone direkt, wie mittels einer Pipette, oder indirekt, wie durch einen Docht, der mit der Membran in Kontakt ist, aufgetragen werden.

- 5 Der Begriff „Antikörper“ wird in seiner weitesten Bedeutung verwendet und umfasst beispielsweise - ohne Einschränkung darauf - Gesamt-Antikörper sowie Einzelketten-Antikörper, Antikörper-Fragmente und chimäre Antikörper, solange sie die gewünschte Bindungsspezifität beibehalten.

10 *Die Testkarte*

Die hierin geoffneten Diagnose-Vorrichtungen umfassen vorzugsweise eine Testkarte 1, wie in den Fig. 1-3 veranschaulicht. Fig. 1 zeigt eine Testkarte 1, die ein Kunststoffgehäuse 10 mit einem oberen Teil 15 und einem unteren Teil 18, die zusammenschnappen, aufweist. Im oberen Teil 15 des Kunststoffgehäuses 10 gibt es zwei Öffnungen: ein Proben-Fenster 20 und ein Puffer-Fenster 30. Das Proben-Fenster 20 ermöglicht das Aufbringen einer Probe auf der Probenaufbringungszone einer im Kunststoffgehäuse 10 enthaltenen Membran. Die Probenaufbringungszone umfasst vorzugsweise eine Testzone 140. Eine Kontrollzone 150 befindet sich vorzugsweise der Testzone 140 nachgeordnet auf der Membran. Das Puffer-Fenster 30 ermöglicht das Auftragen von Puffer auf der Konjugatquellen-Zone 50. Die Membran ist Teil eines Teststreifens, der nachstehend genauer beschrieben ist.

Ein weiteres fakultatives (nicht gezeigtes) Volumsindikator-Fenster befindet sich bei einigen Ausführungsformen der Testzone nachgeordnet. Sofern vorhanden, ermöglicht es das Volumsindikator-Fenster dem Benutzer, einen Indikator, wie eine Farbveränderung, auf der Membran der Testzone nachgeordnet zu visualisieren. Der Indikator signalisiert, dass ein ausreichendes Volumen einer Probe die Testzone kontaktiert hat und dass der Benutzer dazu übergehen kann, die Testzone mit Konjugat in Kontakt zu bringen, um gebundenen Analyten nachzuweisen, wie nachstehend beschrieben, beispielsweise durch Aufbringen von Puffer auf die Konjugatquellen-Zone.

Fig. 2 veranschaulicht eine Draufsicht auf die Testkarte 1 und zeigt das Probenfenster 20 und das Puffer-Fenster 30 im Kunststoffgehäuse 10. Die Testzone der Membran 140 ist durch das Proben-Fenster 20 zugänglich, und die Konjugatquellen-Zone 50 ist durch das Puffer-Fenster 30 zugänglich. Eine Kontrollzone 150 befindet sich der Testzone 140 nachgeordnet. Obwohl mit einem rechteckigen Proben-Fenster 20 und einem kreisförmigen Puffer-Fenster 30 dargestellt, können die Fenster jegliche Form oder Größe aufweisen. Sie sind jedoch vorzugsweise von einer Form und Größe, dass die Probe zur Probenaufbringungszone der Membran 20 und der Puffer zur Konjugatquellen-Zone 50 gelenkt werden. Außerdem ist das Proben-Fenster so konfiguriert, dass die Visualisierung der Testzone 140, wenn ein positives Testergebnis erhalten ist, und die Kontrollzone 150 ermöglicht wird.

Fig. 3 veranschaulicht eine Seitenansicht einer beispielhaften Testkarte 1. Der obere Teil 15 und der untere Teil 18 des Kunststoffgehäuses 10 sind gezeigt. Das vergrößerte Ende (60) des oberen Teils 15 des Kunststoffgehäuses 10, welches distal zum (nicht gezeigten) Puffer-Fenster ist, ermöglicht das Platzieren von absorbierendem Material, wie eines absorbierenden Kissens oder einer Trockenmittel-Tablette im Inneren der Testkarte (1). Die Größe des vergrößerten Endes (60) hängt von der Menge des verwendeten absorbierenden Materials ab, welche wiederum vom Volumen der Probe und des Puffers, die im Test verwendet werden, abhängt.

50 *Der Teststreifen*

Ein Teststreifen umfasst eine Testmembran mit mindestens einer Testzone. Ein Analyten-Bindungsmittel, das für einen Analyten, an dem ein Interesse besteht, spezifisch ist, wird gebunden oder auf andere Weise an der Testzone immobilisiert. Mindestens ein Teil der Testzone

wird nach Beendigung des Tests sichtbar, wenn der Analyt, an dem ein Interesse besteht, in der Probe vorhanden ist. Bei einer besonderen Ausführungsform weist die Testzone immobilisiertes Antigen auf, und der Test ermöglicht die Identifizierung besonderer Antikörper in einer Probe, wie einem biologischen Fluid. Bei einer anderen Ausführungsform weist die Testzone gebundenen Antikörper auf, und der Test ermöglicht die Identifizierung eines bestimmten Antigens in einer Probe.

Die Probe wird auf eine Probenaufbringungszone aufgetragen, die sich der Konjugatquellen-Zone nachgeordnet, beispielsweise dem Konjugat-Kissen nachgeordnet, befindet. Bei einer bevorzugten Ausführungsform umfasst die Probenaufbringungszone die Testzone. Bei anderen Ausführungsformen befindet sich jedoch die Probenaufbringungszone der Testzone vorgelagert, und die Probe fließt von der Probenaufbringungszone zur Testzone.

Eine bevorzugte Ausführungsform des Teststreifens ist in Fig. 4 schematisch dargestellt. Ein Teststreifen 100 zum Testen einer Probe auf das Vorhandensein eines Analyten, an dem ein Interesse besteht, wie eines Antikörpers, weist vorzugsweise ein Puffer-Kissen 110 auf, das mit einem Konjugat-Kissen 120 in Kontakt steht. Das Konjugat-Kissen 120 befindet sich wiederum in Kontakt mit einer Testmembran 130, umfassend eine Testzone 140 und eine Kontrollzone 150. Die Membran 130 steht wiederum in Kontakt mit einem absorbierenden Kissen 160. Das absorbierende Kissen 160 steht gegebenenfalls mit einem weiteren absorbierenden Papier 170 in Kontakt. Das absorbierende Kissen 160 und/oder das fakultative absorbierende Papier 170 können weiter in Kontakt mit einem fakultativen Trockenmittel 180, wie einer Trockenmittel-Tablette, sein.

Bei einigen Ausführungsformen ist ein entfernbarer Filterhalter 190 am Teststreifen 100 befestigt. Der Filterhalter 190 weist ein Filterpapier 200 auf. Wenn der Filterhalter 190 am Teststreifen 100 befestigt ist, befindet sich das Filterpapier 200 direkt über der Probenaufbringungszone, welche vorzugsweise die Testzone 140 und eine Kontrollzone 150 umfasst.

Ausreichend Probe muss auf der Testzone vorgesehen werden, um eine sichtbare positive Ablesung nach Beendigung des Tests zu gewährleisten, wenn der Analyt in der Probe vorhanden ist. Somit ist für Analyten, die vermutlich in einer geringen Konzentration in der Probe vorhanden sind, z.B. Antigene wie hCG in Harn, ein größeres Proben-Volumen erforderlich. Der Teststreifen 100 kann so konfiguriert sein, dass er die größeren Proben-Volumina annimmt. Eine solche Ausführungsform ist in Fig. 7 gezeigt, wo ein Probenbecher 500 am Teststreifen 100 befestigt ist. Der Probenbecher 500 weist einen Behälter zum Halten eines Volumens einer flüssigen Probe auf. Typischerweise hat der Probenbecher eine Öffnung im Boden, die es der Probe ermöglicht, aus dem Probenbecher 500 heraus zu fließen und die Testmembran 130 zu kontaktieren. Daher ist der Probenbecher 500 so angeordnet, dass die Probe vom Probenbecher 500 zur Probenaufbringungszone der Testmembran 130 fließt und mit der Testzone 140 und der Kontrollzone 150 in Kontakt gelangt. Vorzugsweise weist die Probenaufbringungszone die Testzone 140 und die Kontrollzone 150 auf und befindet sich der Probenbecher 500 direkt über der Testzone 140 und der Kontrollzone 150. Der Probenbecher 500 kann gegebenenfalls einen Filter aufweisen, durch welchen die Probe hindurch tritt, bevor sie mit der Testmembran in Kontakt kommt.

Die Probe kann im Probenbecher deponiert werden, während er an der Testkarte befestigt ist. Bei einer anderen Ausführungsform wird die Probe im Probenbecher platziert, und der Probenbecher wird danach an der Testkarte befestigt und die Probe zur Probenaufbringungszone fließen lassen.

Es ist erwünscht, sicherzustellen, dass ein Volumen einer Probe, die eine nachweisbare Menge an Analyt aufweist, sofern er vorhanden ist, mit der Testzone 140 in Kontakt gelangt, bevor das Konjugat veranlasst wird, zur Testzone 140 zu fließen. Ein Proben-Volumsindikator, wie ein Indikator-Farbstoff, der der Testzone 140 und der Kontrollzone 150 nachgeordnet ist, kann

- verwendet werden, um festzustellen, dass eine ausreichende Menge an Probe mit der Testzone 140 und der Kontrollzone 150 in Kontakt gelangt ist. Beispielsweise kann ein Indikator-Farbstoff, wie Methylenblau, auf dem absorbierenden Kissen 160 oder am absorbierenden Papier 170 der Testmembran nachgeordnet aufgebracht werden. Das Fließen der flüssigen Probe entlang des absorbierenden Kissens 160 oder des absorbierenden Papiers 170 bewirkt, dass der Farbstoff fließt, wobei er ein sichtbares Signal, beispielsweise eine sichtbare blaue Farbe, erzeugt. Das Signal kann durch ein Volumsindikator-Fenster in einem Fenster in der Testkarte (nicht gezeigt) beobachtet werden.
- Bei einigen Ausführungsformen, insbesondere bei jenen, bei welchen ein großes Probenvolumen (mehr als etwa 50 µl) aufzutragen ist, befindet sich das Konjugat-Kissen 120 nicht in Fluid-Verbindung mit der Testmembran 130. Eine solche Ausführungsform ist in Fig. 7 veranschaulicht. Die Trennung von Konjugat-Kissen 120 und Testmembran 130 verhindert ein Mischen von Konjugat und Probe, bevor die Probe mit der Testzone 140 in Kontakt gelangt. Nachdem die Probe mit der Testzone 140 und der Kontrollzone 150 in Kontakt gekommen ist, wird das Konjugat-Kissen 120 bewegt, so dass es in Fluid-Verbindung mit der Testmembran 130 ist. Puffer wird dann auf das Puffer-Kissen 110 aufgetragen, um den Test zu beginnen. Puffer kann auf das Puffer-Kissen 110 direkt durch ein Puffer-Fenster aufgetragen werden, oder indem eine den Puffer haltende Ampulle 300 zerbrochen wird, wodurch bewirkt wird, dass der Puffer zum Puffer-Kissen 110 fließt. Bei einer Ausführungsform wird Puffer auf das Puffer-Kissen 110 aufgetragen, bevor das Konjugat-Kissen 120 bewegt wird, um mit der Membran 130 in Fluid-Verbindung zu kommen. Bei alternativen Ausführungsformen wird Puffer direkt auf das Konjugat-Kissen 120 aufgetragen.
- Das Verfahren, mit welchem das Konjugat-Kissen 120 veranlasst wird, sich in Fluid-Verbindung mit der Membran 130 zu bewegen, ist in keiner Weise eingeschränkt. Bei einer Ausführungsform schiebt der Benutzer einen beweglichen Teil des Gehäuses, an welchem das Konjugat-Kissen 120 und gegebenenfalls das Puffer-Kissen 110 befestigt sind, und bringt so das Konjugat-Kissen 120 in Kontakt mit der Membran 130. Der Mechanismus zum Bewegen des Konjugat-Kissens 120 in Fluid-Verbindung mit der Testmembran 130 veranlasst vorzugsweise auch das Aufbrechen der Puffer-Ampulle 300. Der Mechanismus kann auch bewirken, dass der Probenbecher 500 vom Teststreifen 110 entfernt wird.
- Eine Trockenmittel-Tablette 180 befindet sich vorzugsweise in Fluid-Verbindung mit dem absorbierenden Papier 170. Die Größe der Trockenmittel-Tablette 180 wird so gewählt, dass sie das gesamte Volumen der auf die Testmembran 130 aufgetragenen Probe absorbieren kann. Die Trockenmittel-Tablette und jegliches andere absorbierende Material ist der Probenaufbringungszone nachgeordnet und erleichtert das Fließen von Probe über die Testzone.
- Bei anderen Ausführungsformen ist der Probenbecher durch einen Docht ersetzt, der mit einer flüssigen Probe in Kontakt gebracht wird. Die Probe fließt den Docht entlang zur Probenaufbringungszone der Testmembran und kontaktiert die Testzone und die Kontrollzone. Bei einer besonderen Ausführungsform wird der Docht in den Harnstrahl platziert, um Harn auf das Vorhandensein eines Analyten, wie hCG, zu analysieren. Bei diesen Ausführungsformen befindet sich das Konjugat-Kissen vorzugsweise nicht in Fluid-Verbindung mit der Testmembran während der Zeit, während welcher die Probe auf den Docht aufgebracht wird. Nachdem genügend Probe die Testzone kontaktiert hat, wird das Konjugat-Kissen bewegt, damit es die Testmembran kontaktiert. Der Mechanismus zum Bewegen des Konjugat-Kissens kann auch dazu dienen, den Docht zu entfernen. Puffer wird danach dem Puffer-Kissen oder direkt dem Konjugat-Kissen zugesetzt, um den Test zu beginnen. Der Puffer kann dem Pufferkissen direkt durch ein Puffer-Fenster, wie oben beschrieben, zugesetzt werden. Alternativ kann der Puffer in einer Ampulle im Inneren der Testkarte vorliegen und veranlasst werden, zum Puffer-Kissen und/oder Konjugat-Kissen zu fließen, indem die Ampulle zerbrochen oder auf andere Weise geöffnet wird.

Der Teststreifen ist vorzugsweise in einem Gehäuse, wie in Fig. 2 gezeigt und voranstehend beschrieben, enthalten.

Fig. 5 veranschaulicht ein positives Testergebnis, das das Vorhandensein des Analyten, an dem ein Interesse besteht, in einer Probe anzeigt. Die Testzone 140 der Membran 130 ist als Linie quer über das Proben-Fenster 20 sichtbar. Außerdem ist die Kontrollzone 150 als Linie quer über das Proben-Fenster 20 sichtbar, was anzeigt, dass das Konjugat von der Konjugatquellen-Zone 50 quer über die Testzone 140 geflossen ist. Dagegen ist ein negatives Ergebnis in Fig. 6 veranschaulicht. Bei einem negativen Ergebnis ist nur die Kontrollzone 150 als Linie quer über das Proben-Fenster 20 sichtbar. Wiederum zeigt die Kontrolle an, dass das Konjugat von der Konjugatquellen-Zone 50 quer über die Testzone geflossen ist. Somit ist das Fehlen einer Linie an der Testzone 140 ein Ergebnis des Fehlens von gebundenem Analyten, an dem ein Interesse besteht.

#### 15 *Verwendung des Teststreifens*

Eine auf das Vorhandensein eines besonderen Analyten, an dem ein Interesse besteht, zu testende Probe wird auf die Probenaufbringungszone der Testmembran aufgetragen, so dass sie die Testzone kontaktiert. Bei der bevorzugten Ausführungsform wird die Probe auf die Membran aufgetragen und die Testzone kontaktieren gelassen, bevor das Konjugat mit der Testzone in Kontakt kommt. Somit hat in der Probe der Analyt, an dem ein Interesse besteht, sofern er vorhanden ist, die Möglichkeit, das Analyten-Bindungsmittel in der Testzone vor einer Konjugatbindung zu binden.

25 Wenn der Teststreifen in einem Gehäuse vorliegt, wird die Probe vorzugsweise durch ein Proben-Fenster aufgetragen. In diesem Fall weist die Membran eine Probenaufbringungszone auf, die durch das Proben-Fenster zugänglich ist. Vorzugsweise weist die Probenaufbringungszone mindestens eine positive Testzone auf. Mehr bevorzugt weist die Probenaufbringungszone eine Testzone und eine Kontrollzone auf. Alternativ kann die Probe durch einen Docht oder Becher 30 aufgetragen werden, so dass sie zur Probenaufbringungszone der Membran fließt und die Test- und Kontrollzonen kontaktiert.

Wenn sich der Teststreifen nicht in einem Gehäuse befindet, kann die Probe direkt auf die Probenaufbringungszone der Membran, welche vorzugsweise die Testzone und die Kontrollzonen aufweist, aufgebracht werden. Alternativ kann die Probe auf die Membran an einer Probenaufbringungszone stromaufwärts von der Testzone aufgetragen und über die Membran fließen gelassen werden, damit sie die Testzone kontaktiert. Vorzugsweise lässt man jedoch die Probe die Testzone kontaktieren, bevor Konjugat der Membran zugesetzt wird.

40 Bei einer Ausführungsform wird die Probe in einem Probenbecher gesammelt oder platziert. Der Becher ist am Gehäuse angebracht und ermöglicht es der Probe, zur Probenaufbringungszone der Membran zu fließen und die Testzone und die Kontrollzone zu kontaktieren. Ein Probenbecher wird vorzugsweise verwendet, wenn ein Probenvolumen von mehr als 10 µl verwendet werden soll. Der Probenbecher kann gegebenenfalls einen Filter aufweisen, durch welchen die Probe hindurch tritt, bevor sie mit der Membran in Kontakt kommt.

Bei einer weiteren Ausführungsform wird die Probe auf einen Docht aufgebracht, der mit der Membran in Kontakt steht. Der Docht ermöglicht es der Probe, sich zur Probenaufbringungszone der Membran zu bewegen und die Test- und Kontrollzonen zu kontaktieren. Der Docht besteht vorzugsweise aus Glaspapier, Polyester, Cellulose oder einem anderen Material, das es der Probe ermöglicht, zu der die Testzone aufweisenden Membran zu wandern. Wenn die Testkarte in einem Gehäuse vorliegt, kann der Docht aus dem Gehäuse vorstehen, was einen Zugang zum Docht zum Aufbringen der Probe ermöglicht. Wenn z.B. das Vorhandensein eines bestimmten Analyten in Harn bestimmt werden soll, wie hCG, kann der Docht in den Harnstrahl des getesteten Individuums gehalten werden. Bei einer anderen Ausführungsform kann der

Doch mit der zu analysierenden Probe, z.B. Körperflüssigkeiten, wie Speichel, in Kontakt gebracht werden.

Die zu testende Probe wird vorzugsweise in flüssiger Form auf der Probenaufbringungszone der Membran aufgetragen. Beispielhafte, analysierbare Proben inkludieren - ohne Einschränkung darauf - Serum, Plasma, Vollblut, Speichel und Harn. Feste oder halbfeste Proben können solubilisiert und auf die Membran aufgetragen oder vor dem Auftragen extrahiert werden.

Bei anderen Ausführungsformen wird Proben-Puffer, der vorzugsweise kein Konjugat enthält, auf die Membran aufgetragen, bevor die Probe aufgetragen wird. Bei einigen Ausführungsformen weist der Proben-Puffer ein Blockierungsmittel auf. Vorzugsweise wird der Proben-Puffer an der Probenaufbringungszone auf die Membran aufgetragen. Von etwa 1 bis etwa 25 µl Proben-Puffer werden vorzugsweise auf die Membran aufgetragen, mehr bevorzugt von etwa 1 bis etwa 10 µl, noch mehr bevorzugt etwa 1 bis 5 µl. Bei einer besonderen Ausführungsform werden 5 µl Proben-Puffer auf die Probenaufbringungszone der Membran aufgetragen, gefolgt von 5 µl Serum, Plasma, Vollblut oder einer anderen flüssigen Probe. Der Zusatz von Proben-Puffer vor dem Auftragen des Waschpuffers ist besonders bevorzugt beim Testen auf HCV, wie nachstehend beschrieben, und wenn viskose Proben verwendet werden. Die Verwendung von Proben-Puffer erhöht die Empfindlichkeit des Tests und bewirkt, dass viskose Proben schneller fließen.

Der Proben-Puffer weist vorzugsweise ein Puffermittel und ein Konservierungsmittel auf. Gegebenenfalls kann er auch einen oder mehrere Detergentien und/oder Zucker aufweisen. Jedes Puffermittel kann verwendet werden, vorzugsweise in einer Menge, die den gewünschten pH-Wert des Proben-Puffers aufrecht erhält. Vorzugsweise ist der pH-Wert des Proben-Puffers von etwa 7,2 bis etwa 7,6. Beispielsweise - und ohne Einschränkung darauf - kann der Puffer ausgewählt sein aus der Gruppe bestehend aus HEPES, Tris und Phosphat-Puffern. Bei einer bevorzugten Ausführungsform weist der Proben-Puffer von etwa 0,01% bis etwa 0,5% HEPES, mehr bevorzugt von etwa 0,02 bis etwa 0,05% HEPES, auf. Bei einer anderen Ausführungsform weist der Proben-Puffer von etwa 0,01% bis etwa 0,5% Phosphat, mehr bevorzugt von etwa 0,02 bis etwa 0,05% Phosphat, auf. Der Fachmann kann die Menge des Puffermittels einstellen, um den gewünschten pH-Wert aufrecht zu erhalten.

Der Proben-Puffer weist vorzugsweise auch ein Konservierungsmittel auf, wie Natriumazid oder Proclin. Bei einer bevorzugten Ausführungsform weist der Proben-Puffer von etwa 0,1% bis etwa 1,0% Natriumazid, mehr bevorzugt von etwa 0,1% bis etwa 0,2%, noch mehr bevorzugt etwa 0,2%, auf.

Je nach der Art der zu testenden Probe wird die Probe gegebenenfalls durch einen Filter auf die Membran aufgetragen. Beispielhafte Probenmaterialien, die vorzugsweise filtriert werden, inkludieren Vollblut, Stuhlproben, Harn, Nahrungsmittlextrakte und Schmutzextrakte („dirt extracts“). Bei einer Ausführungsform wird Vollblut durch einen Membranfilter aufgetragen. Der Filter entfernt Kontaminanten und lässt Analyten, wie Antikörper, hindurch treten, wodurch die Empfindlichkeit des Tests gesteigert wird. Der Filter ist vorzugsweise in einem Halter eingeschlossen, der nach Bedarf an der Testkarte oder am Teststreifen befestigt werden kann. Wenn er an einer Testkarte befestigt ist, ist der Filter vorzugsweise direkt über dem Proben-Fenster befestigt. Filtermedien werden auf Basis der zu filtrierenden Probenart ausgewählt. Eine solche Auswahl liegt im Können des Fachmanns. Beispielsweise kann für Vollblut-Proben das Filtermaterial - ohne Einschränkung darauf - Pall BTS-SP300™ sein.

Wie voranstehend besprochen, ist der Filter vorzugsweise am Teststreifen durch einen entfernbarer Filterhalter befestigt, obwohl für bestimmte Anwendungen der Filter permanent befestigt sein könnte. Der Filterhalter ist typischerweise eine Vorrichtung, die am Gehäuse der Testkarte einschnappt. Die Gestaltung und Art der Vorrichtung kann variieren, sie ist aber typischerweise aus Polystyrol, Polyethylen, Polypropylen oder einem anderen Kunststoff geformt.

Die Testzone ist ein Teil der Membran, der mit einem Bindungsmittel, vorzugsweise einem Protein, beschichtet ist, das den Analyten, an dem ein Interesse besteht, spezifisch binden kann. Beispielsweise kann die positive Testzone mit Antigen beschichtet sein, das für einen Antikörper, an dem ein Interesse besteht, spezifisch ist. Bei besonderen Ausführungsformen weist die Testzone gebundenes HIV-Antigen oder Hepatitis-Antigen auf, wie nachstehend in den Beispielen genauer beschrieben. Wenn die Testzone Antigen aufweist, werden vorzugsweise von etwa 0,025 bis etwa 0,4 µl Antigen verwendet.

Bei anderen Ausführungsformen wird ein Antikörper, der für ein Antigen, an dem ein Interesse besteht, spezifisch ist, an der Testzone immobilisiert. Der Antikörper kann ein polyklonaler oder monoklonaler Antikörper sein. Wenn die Testzone Antikörper aufweist, werden vorzugsweise von etwa 0,1 bis etwa 20 µl Antikörper aufgetragen, mehr bevorzugt von etwa 0,2 bis etwa 2 µg, noch mehr bevorzugt von etwa 0,5 bis etwa 1 µg. Bei einer besonderen Ausführungsform weist die Testzone einen Antikörper gegen hCG, vorzugsweise einen monoklonalen Antikörper gegen hCG, auf.

Das Bindungsmittel kann in jedem gewünschten Muster auf die Membran aufgetragen werden; daher kann das sichtbare Ergebnis eines positiven Tests jegliche Form haben. Bei einer bevorzugten Ausführungsform ist die Testzone linear und bildet eine sich von einer Seite der Membran zur anderen erstreckende Linie, so dass eine vertikale Linie quer über das Proben-Fenster erscheint, wenn ein positives Ergebnis erhalten wird, was das Vorhandensein des Analyten in der Probe anzeigen. Bei anderen Ausführungsformen ist die Testzone wie ein Symbol geformt, beispielsweise wie ein „+“.

Es ist möglich in einem einzigen Teststreifen mehr als eine Art von Analyt zu testen. In diesem Fall werden zusätzliche positive Testzonen auf der Testmembran hergestellt. Beispielsweise kann eine zweite positive Testzone ein Antigen gegen einen zweiten Antikörper-Typ oder einen Antikörper gegen einen zweiten Antigen-Typ aufweisen. Das Bindungsmittel an einer zusätzlichen positiven Testzone ist nicht unbedingt von derselben Art wie das Bindungsmittel an der ersten Testzone. So kann das Bindungsmittel an einer ersten Testzone ein Antikörper sein, während ein Bindungsmittel an einer zweiten Testzone ein Antigen sein kann. Auf diese Weise kann eine Probe auf das Vorhandensein von mehr als einer Art von Analyt analysiert werden.

Jede zusätzliche positive Testzone kann eine von der ersten Testzone verschiedene Form haben, um es dem Benutzer zu ermöglichen, das Wesen des positiven Ergebnisses leicht zu unterscheiden. Je nach der Art der zusätzlichen Analyten, auf die getestet werden soll, können zusätzliche Konjugate, die die verschiedenen Analyten binden, notwendig sein. Wenn z.B. die Analyten, an welchen ein Interesse besteht, zwei verschiedene Antikörper sind, kann ein einziges Konjugat, das Protein A aufweist, verwendet werden. Wenn jedoch ein Analyt ein Antikörper und ein zweiter Analyt ein Antigen ist, dann wären zwei verschiedene Konjugate notwendig, eines, das den Antikörper spezifisch bindet und eines, das das Antigen spezifisch bindet.

Die Kontrollzone weist vorzugsweise ein Kontroll-Bindungsmittel auf, das an das Konjugat bindet. Durch Vorsehen der Kontrollzone stromabwärts von der positiven Testzone zeigt eine Reaktion an der Kontrollzone an, dass das Konjugat an der Testzone vorbei gewandert ist, wo es verfügbar war, um zu reagieren, wenn der Analyt, an dem ein Interesse besteht, vorhanden war. Wenn das Konjugat so entworfen ist, dass es einen Antikörper erkennt, dann weist die Kontrollzone vorzugsweise ein Immunglobulin, wie Kaninchen-IgG, auf. Wenn das Konjugat einen Antikörper aufweist, dann weist die Kontrollzone vorzugsweise ein Antikörper-Bindungsmittel, wie Protein A, auf. Die Kontrollzone kann jede beliebige Form haben, wie eine Linie oder ein Symbol, z.B. „-“.

Bei anderen Ausführungsformen weist die Kontrollzone ein Kontroll-Bindungsmittel auf, das an ein Kontroll-Konjugat bindet. Beispielsweise kann die Kontrollzone β-gal aufweisen, und das Kontroll-Konjugat kann β-Galactosidase, die mit Gold konjugiert ist, aufweisen.

Das Bindungsmittel und das Kontroll-Bindungsmittel können mit jedem beliebigen, im Stand der Technik bekannten Verfahren auf die Testmembran aufgebracht werden. Sie werden typischerweise durch Kontaktieren der Testmembran mit dem Bindungsmittel, wie durch Aufsprühen oder Kontaktieren der Testmembran unter Verwendung eines Pumpen-Abgabesystems aufgebracht. Solche Systeme sind im Handel erhältlich, beispielsweise von Kinematic Automation.

Wenn die Probe die Testzone kontaktiert, wird der Analyt, an dem ein Interesse besteht, wenn er in der Probe vorhanden ist, an das Bindungsmittel an der Testzone binden. Überschüssiger ungebundener Analyt wird von der Testzone durch Wandern von Puffer entlang der Membran, wie nachstehend beschrieben, weg gewaschen.

Nachdem die Probe auf der Membran aufgetragen worden ist, wird Waschpuffer auf die Testmembran aufgebracht. Vorzugsweise werden anfänglich von etwa 1 bis etwa 20, mehr bevorzugt von etwa 1 bis 5 Tropfen Waschpuffer aufgetragen. Zusätzlicher Waschpuffer kann danach aufgetragen werden, wenn es zum Verdeutlichen der Reaktion notwendig ist.

Der Waschpuffer trägt vorzugsweise das Konjugat zur Testzone. Waschpuffer kann direkt auf die Testmembran aufgetragen werden. Bei der bevorzugten Ausführungsform wird jedoch Waschpuffer auf ein vorgelagertes Puffer-Kissen aufgetragen, von welchem er zur Testmembran fließt. Das Puffer-Kissen kann aus jedem Material sein, das den Puffer enthalten kann und ihn zur Membran in einer gewünschten Rate fließen lässt. Beispielsweise kann das Puffer-Kissen aus einem oder mehreren Materialien ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Glaspapier, Cellulose und Polyester, bestehen. Bei einer bevorzugten Ausführungsform ist das Puffer-Kissen Whatman GF/DVA Glaspapier. Der Fachmann kann ein geeignetes Material für das Puffer-Kissen auf Basis von Faktoren, wie Gehäuse-Gestalt des Lateral Flow-Teststreifens, gewünschte Fließrate und Menge des Puffers, der vom Puffer-Kissen gehalten werden soll, auswählen.

Der Waschpuffer kann direkt auf das Puffer-Kissen, wie mit einer Pipette oder einem Tropfglas, aufgetragen werden. Bei einer anderen Ausführungsform liegt jedoch die geeignete Menge an Waschpuffer in einem Behälter vor, der sich angrenzend an das Puffer-Kissen befindet. Beispielsweise kann der Waschpuffer in einer Glas- oder Kunststoff-Ampulle enthalten sein. Nach Zugabe der Testprobe wird der den Waschpuffer enthaltende Behälter zerbrochen oder auf andere Weise geöffnet, wodurch der Waschpuffer mit dem Puffer-Kissen in Kontakt gelangen kann.

Die Zusammensetzung des Waschpuffers kann variiert werden, um die Empfindlichkeit des Tests zu steigern. Vorzugsweise weist der Waschpuffer ein Puffermittel, ein Konservierungsmittel, ein Detergens, Zucker und andere Materialien auf, die zur Verringerung von Hintergrund- und/oder unspezifischer Bindung wirken.

Jedes Puffermittel, das den gewünschten pH-Wert des Puffers, vorzugsweise etwa 7,2 bis etwa 7,6, aufrecht erhält, kann verwendet werden. Beispielsweise - und ohne Einschränkung darauf - kann der Puffer ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus HEPES, Tris und Phosphat-Puffer. Bei einer bevorzugten Ausführungsform weist der Waschpuffer von etwa 0,01% bis etwa 0,5% HEPES, mehr bevorzugt von etwa 0,02 bis etwa 0,2% HEPES, und noch mehr bevorzugt von etwa 0,02 bis etwa 0,05% HEPES, auf. Bei einer besonders bevorzugten Ausführungsform weist der Waschpuffer 0,025% HEPES auf.

Der Waschpuffer kann auch ein Konservierungsmittel, wie Natriumazid oder Proclin, aufweisen. Bei einer bevorzugten Ausführungsform weist der Waschpuffer etwa 0,1 bis etwa 0,5% Natriumazid, mehr bevorzugt etwa 0,1 bis etwa 0,2%, auf.

Natriumchlorid oder ein vergleichbares Salz ist vorzugsweise in einer Konzentration von etwa

1%, mehr bevorzugt etwa 0,85%, vorhanden. EDTA kann vorhanden sein, vorzugsweise in einer Konzentration von etwa 0,1%. Ein Zucker, wie Mannit, kann ebenfalls vorhanden sein. Bevorzugte Mannit-Konzentrationen sind von etwa 1% bis etwa 5%. Bei einer bevorzugten Ausführungsform ist die Mannit-Konzentration etwa 1%.

5 Ein Blockierungsmittel ist vorzugsweise im Waschpuffer ebenfalls vorhanden. Das Blockierungsmittel kann jedes im Stand der Technik bekannte Blockierungsmittel sein. Vorzugsweise ist das Blockierungsmittel ein Protein, wie Casein oder Rinderserum-Albumin (BSA). Das Blockierungsmittel ist vorzugsweise im Waschpuffer in einer Konzentration von etwa 0,01 bis etwa 10 0,5%, mehr bevorzugt von etwa 0,02 bis etwa 0,2%, vorhanden. Bei einer besonders bevorzugten Ausführungsform ist Casein im Waschpuffer in einer Konzentration von etwa 0,1% vorhanden.

15 Der Waschpuffer weist typischerweise auch ein Detergens, vorzugsweise ein nicht-ionisches Detergens, wie Triton X100™ oder Tween, auf. Vorzugsweise ist das Detergens in einer Konzentration von etwa 0,05 bis etwa 1%, mehr bevorzugt etwa 0,1 bis etwa 0,5%, vorhanden. Bei einer besonders bevorzugten Ausführungsform weist der Puffer Triton X100 in einer Konzentration von etwa 0,1% auf.

20 Der pH-Wert des Waschpuffers wird auf zwischen etwa 7 und 8, mehr bevorzugt zwischen etwa 7,2 und 7,6, eingestellt. Bei einer besonders bevorzugten Ausführungsform ist der pH-Wert des Waschpuffers etwa 7,2.

25 Der Teststreifen weist auch eine Konjugatquellen-Zone auf. Bei einer bevorzugten Ausführungsform weist der Teststreifen ein Konjugat-Kissen auf, auf welchem Konjugat getrocknet wurde, wie nachstehend beschrieben. Waschpuffer fließt vom Puffer-Kissen zum Konjugat-Kissen, mit welchem es in Kontakt steht. Das Konjugat-Kissen steht wiederum mit der Testmembran in Kontakt. Bei einigen Ausführungsformen wird jedoch das Konjugat-Kissen mit der Membran in Kontakt gebracht, nachdem die Probe zugesetzt worden ist. Insbesondere wenn 30 ein großes Probenvolumen verwendet wird, wird das Konjugat-Kissen vorzugsweise mit der Membran in Kontakt gebracht, nachdem die Probe die Testzone kontaktiert hat.

35 Ausreichend Waschpuffer wird auf das Puffer-Kissen aufgetragen, um das diffundierbar an das Konjugat-Kissen gebundene Konjugat aufzulösen und zu bewirken, dass das Konjugat die Testmembran entlang zur Testlinie und zur Kontrolllinie fließt. Die zu verwendende Puffermenge kann vom Durchschnittsfachmann auf Basis von Faktoren, wie Menge des an das Konjugat-Kissen gebundenen Konjugats, Größe der Membran und Menge der zu analysierenden Probe, bestimmt werden. Vorzugsweise werden von 1 bis 10 Tropfen Pufferlösung auf das Puffer-Kissen aufgetragen, wenn das Pufferkissen etwa 2 cm mal 5 mm ist, mehr bevorzugt 2 bis fünf 40 Tropfen, und noch mehr bevorzugt 3 bis 4 Tropfen.

45 Bei alternativen Ausführungsformen ist kein Konjugat-Kissen vorhanden. Bei einer alternativen Ausführungsform ist das Konjugat im Waschpuffer in einer Konzentration im Bereich von etwa 0,2 OD bis etwa 1,0 OD/ml vorhanden. Der das Konjugat enthaltende Waschpuffer kann auf das Puffer-Kissen aufgebracht werden. Das Konjugat fließt somit mit dem Waschpuffer vom Puffer-Kissen zur Membran, wo es die Testzone und die Kontrollzone kontaktiert. Bei einer anderen Ausführungsform wird Konjugat enthaltender Waschpuffer direkt auf die Testmembran aufgetragen. Der das Konjugat enthaltende Waschpuffer kann in einer Ampulle vorliegen und durch Zerbrechen oder anderes Öffnen der Ampulle veranlasst werden, zur Membran zu fließen. Der das Konjugat enthaltende Waschpuffer wird vorzugsweise an einem Punkt stromaufwärts von der Testzone auf die Membran aufgebracht. Bei einigen Ausführungsformen wird der das Konjugat aufweisende Waschpuffer jedoch direkt auf die Testzone aufgebracht, nachdem die Probe aufgetragen worden ist.

55 Bei einer anderen Ausführungsform ist das Konjugat diffundierbar, wie durch Trocknen, direkt

an die Membran, die die Testzone und die Kontrollzone aufweist, gebunden. Waschpuffer kann dann auf ein Puffer-Kissen, welches mit der Membran in Kontakt steht, oder direkt auf die Testmembran aufgetragen werden. Der Waschpuffer löst das getrocknete Konjugat auf und trägt es die Testmembran entlang zur Testzone und zur Kontrollzone.

5 Der Konjugat aufweisende Waschpuffer kontaktiert vorzugsweise die Testzone, nachdem die Probe aufgebracht worden ist und jeglicher in der Probe vorhandener Analyt die Möglichkeit hatte, das immobilisierte Bindungsmittel zu binden. So wird der Waschpuffer vorzugsweise am Teststreifen aufgebracht, nachdem die Probe auf der Testzone aufgebracht worden ist.

10 Das im Detail voranstehend beschriebene Konjugat wird zur Verwendung im Test durch Verdünnen in Konjugat-Puffer zubereitet. Vorzugsweise wird ein Arbeits-Konjugat durch Verdünnen von Konjugat in Konjugat-Puffer auf etwa 3 OD/ml hergestellt. Die Zusammensetzung des Konjugat-Puffers kann je nach dem Wesen des Konjugats variiert werden. Beispielhafte Konjugat-Puffer umfassen einen Puffer wie HEPES, Tris, Phosphat oder andere ähnliche, auf dem Gebiet bekannte Puffer. Ein bevorzugter Konjugat-Puffer weist etwa 0,02 bis 0,2% HEPES-Puffer, mehr bevorzugt etwa 0,025% HEPES, auf. Der Konjugat-Puffer kann auch ein Salz, vorzugsweise Natriumchlorid, aufweisen. Natriumchlorid wird auf eine Konzentration von etwa 0,1%, mehr bevorzugt etwa 0,85%, zugegeben, ein Konservierungsmittel kann ebenfalls im Konjugat-Puffer mit inkludiert sein, wie Natriumazid oder Proclin, in einer Konzentration von etwa 0,1 bis etwa 0,2%.

15 Der Konjugat-Puffer weist vorzugsweise auch EDTA (etwa 0,1%), Casein in einer Konzentration von etwa 0,02 bis etwa 0,2%, mehr bevorzugt etwa 0,15%, Rinderserum-Albumin (BSA) in einer Konzentration von etwa 0,5 bis etwa 3%, mehr bevorzugt etwa 1%, Mannit in einer Konzentration von etwa 1% bis etwa 5%, mehr bevorzugt etwa 1%, Saccharose in einer Konzentration von etwa 1% bis etwa 5%, mehr bevorzugt etwa 1%, auf. Triton X100 kann im Puffer mit inkludiert sein, vorzugsweise in einer Konzentration von etwa 0,1 bis etwa 0,5%, mehr bevorzugt etwa 0,1%.

20 30 Der Konjugat-Puffer wird vorzugsweise auf einen pH-Wert von etwa 7,2 bis etwa 7,6, mehr bevorzugt auf einen pH-Wert von etwa 7,2, eingestellt.

35 Bei einer Ausführungsform wird, nach Zubereitung des Arbeits-Konjugats durch Verdünnen des Konjugats im Konjugat-Puffer, das Arbeits-Konjugat auf einem Konjugat-Kissen angetrocknet, beispielsweise mittels Vakuum-Trocknung. Das Konjugat-Kissen wird vorzugsweise zu Streifen von geeigneter Größe für die Verwendung im Teststreifen geschnitten. In den nachstehenden Beispielen wird das Konjugat-Kissen in Streifen von 5 mm x 5 mm geschnitten.

40 45 Das Konjugat-Kissen besteht vorzugsweise aus Glasfaser, Glaspapier, Polyester oder Cellulose-Papier. Solche Materialien sind auf dem Gebiet wohl bekannt und beispielsweise von Millipore, S&S und Whatman erhältlich. Bei einer bevorzugten Ausführungsform ist das Konjugat-Kissen ein im Handel erhältliches Glasfaser-Konjugat-Kissen GFCP203000 (Millipore).

50 Wie oben beschrieben löst der Waschpuffer das getrocknete Konjugat auf und bewirkt, dass es vom Konjugat-Kissen die Testmembran entlang, an der Testzone und der Kontrollzone vorbei fließt.

55 Die Testmembran kann jedes geeignete Material sein, an welchem ein Protein oder ein anderes Bindungsmittel - entweder kovalent oder nicht-kovalent - befestigt werden kann, und entlang welchem das Konjugat mit dem Waschpuffer fließen kann. Die Testmembran ist vorzugsweise eine Nitrocellulose-Membran. Andere Membranen mit höheren oder geringeren Fließraten können zur Verwendung als Testmembran vom Fachmann auf Basis von Faktoren wie gewünschter Empfindlichkeit und Testzeiten und -kosten, ausgewählt werden.

Während das Konjugat mit dem Waschpuffer quer über die Membran fließt, kontaktiert es die Testzone. Wenn der Analyt, an dem ein Interesse besteht, vorhanden und an das Bindungsmittel auf der Testzone gebunden ist, so wird Konjugat im Puffer an den Analyten binden.

- 5 Der Konjugat enthaltende Waschpuffer, der nicht an die Testzone gebunden hatte, wird weiterhin über die Membran zur Kontrollzone fließen. Konjugat wird an das Kontroll-Bindungsmittel binden. Der Waschpuffer wird auch ungebundene Probe aus den Test- und Kontrollzonen befördern.
- 10 Waschpuffer, der ungebundenes Konjugat und ungebundene Probe mit einschließt, wird dann zu einem absorbierenden Kissen fließen, das mit dem stromabwärts befindlichen Ende der Membran in Kontakt steht. Das absorbierende Kissen kann aus jedem auf dem Gebiet bekannten absorbierenden Material bestehen. Vorzugsweise ist das absorbierende Kissen ein absorbierendes Papier, wie S&S 900™-Papier. Andere absorbierende Papiere sind auf dem Gebiet wohl bekannt und können vom Fachmann je nach der endgültigen Konfiguration des Teststreifens ausgewählt werden.

Der Waschpuffer kann weiter durch das absorbierende Kissen hindurch und in ein absorbierendes Papier fließen, welches mit dem absorbierenden Kissen in Kontakt steht. Das absorbierende Papier wird vorzugsweise verwendet, wenn eine große Menge an Puffer absorbiert werden muss.

Eine Molekularsieb-Trockenmittel-Tablette kann ebenfalls im Teststreifen eingearbeitet sein. Bei einer Ausführungsform fließt der Puffer mit ungebundenem Konjugat vom absorbierenden Papier in die Trockenmittel-Tablette, mit der das Papier in Kontakt steht. Die Trockenmittel-Tablette nimmt das absorbierte Fluid auf und verhindert ein Rückfließen in den Teststreifen.

Die Trockenmittel-Tablette kann den Teststreifen auch vor der Verwendung trocken halten. Eine bevorzugte Trockenmittel-Tablette ist eine 0,395 g Tri-Sorb-Tablette, erhältlich von Süd-Chemie (Produkt Nr. 43-01).

Der Fachmann kann die geeignete Größe und das Material für das absorbierende Kissen, das absorbierende Papier und die Trockenmittel-Tablette je nach der endgültigen Konfiguration des Teststreifens, einschließlich dem Gesamtvolumen an Probe und Puffer, die zu verwenden sind, auswählen.

Der gesamte Teststreifen ist vorzugsweise in einem Gehäuse, wie einem Kunststoffgehäuse, enthalten, wie oben beschrieben, weist das Gehäuse bei einer Ausführungsform ein Proben-Fenster auf, durch welches die Probe der die Test- und Kontrollzonen enthaltenden Membran zugegeben werden kann. Das Gehäuse kann auch ein Puffer-Fenster aufweisen, durch welches Puffer auf das Puffer-Kissen oder auf die Membran aufgetragen werden kann. Das Gehäuse kann auch ein Volumsindikator-Fenster aufweisen, durch welches ein Signal gesehen werden kann, das anzeigt, dass ein ausreichendes Proben-Volumen die Testzone kontaktiert hat. Ein ausreichendes Proben-Volumen ist ein Volumen an Probe, von der man schätzt, dass sie genügend Analyt, an dem ein Interesse besteht, enthält, sofern er vorhanden ist, so dass ein sichtbares Signal an der Testzone nach Beendigung des Tests erzeugt wird, wenn der Analyt in der Probe vorhanden ist. Beispielsweise ist für einen Test zum Nachweis von hCG in Harn ein ausreichendes Proben-Volumen etwa 200 µl Harn.

50 Die Ergebnisse des Tests werden vorzugsweise etwa 1 bis etwa 5 min nach dem Zugeben des Waschpuffers auf den Teststreifen abgelesen. Bei einer Ausführungsform werden die Ergebnisse etwa 2 bis 4 min nach dem Zugeben von Waschpuffer, mehr bevorzugt etwa 3 bis 4 min nach dem Zugeben von Waschpuffer, abgelesen. Bei einer besonders bevorzugten Ausführungsform werden die Ergebnisse 1 min nach dem Zugeben von Waschpuffer abgelesen. Wie in Fig. 7 gezeigt, wird für ein positives Ergebnis die Testlinie (300) sichtbar. Ein sichtbarer

Kontrollstreifen (400) zeigt an, dass der Test richtig funktioniert hat. Wie in Fig. 6 veranschaulicht, ist, wenn die Kontrolllinie (400) sichtbar ist, die Testlinie jedoch nicht, ein negatives Ergebnis angezeigt.

5 *Beispiel 1 Konstruktion einer HIV-Testkarte*

Ein visueller Lateral Flow-Schnelltest zum Nachweis von Antikörpern gegen humanen Immundefizienz-Virus (HIV). Die Anordnung der Teststreifen war im Wesentlichen wie in Fig. 1 veranschaulicht.

10 Die Teststreifen wiesen eine Kunststoffverstärkung (6 cm x 5 mm) mit Klebstoff an beiden Seiten auf. Die Kunststoffverstärkung hatte eine Dicke von etwa 2 mil und etwa 20 mil.

15 Eine Testlinie und eine Kontrolllinie wurden auf Nitrocellulose-Membran (Millipore HF09004) durch Aufsprühen mit einem Pumpen-Abgabesystem (Kinematic Automation) hergestellt. Die Testlinie wies eine vertikale Linie aus HIV-Antigen auf. Das HIV-Antigen war eine Mischung von HIV-1 rekombinanten Glykoprotein-Antigenen (GP120 (etwa 0,15 mg/ml) und P24 (etwa 0,1 mg/ml)) und HIV-2 rekombinantem Glykoprotein-Antigen (GP36 (etwa 0,5 mg/ml), in einer Konzentration von etwa 0,5 bis etwa 1,0 mg/ml), hergestellt in PBS, das 5% Trehalose aufwies.

20 Eine Gesamtmenge von etwa 0,1 bis etwa 0,5 µg Antigen wurde auf die Testzone in einer vertikalen Linie aufgetragen.

Andere Teststreifen wurden hergestellt, die ein einziges HIV-1- oder HIV-2-Antigen auf der Testlinie aufwiesen.

25 Für alle Teststreifen wies die Kontrollzone eine vertikale Linie aus Kontroll-Antikörper auf. Der Kontroll-Antikörper war Kaninchen-IgG, verdünnt auf 1 mg/ml in PBS, das 5% Trehalose aufwies. Eine Gesamtmenge von Kontroll-Antigen, die ausreichte, um eine sichtbare Kontrolllinie nach Konjugat-Bindung zu erzeugen, wurde auf die Kontrollzone aufgetragen.

30 Für jeden Teststreifen wurde die geeignete Nitrocellulose-Membran in eine Größe von etwa 2,5 cm x 5 mm geschnitten und an der Kunststoffverstärkung befestigt.

35 An kolloidalem Gold befestigtes Protein A, im Handel erhältlich von Sigma, wurde als Konjugat für den Test verwendet. Das Konjugat wurde in Konjugat-Puffer auf eine Konzentration von etwa 3 OD/ml verdünnt. Der Konjugat-Puffer wies 0,25% HEPES, 0,85% Natriumchlorid, 0,1% Natriumazid, 0,1% EDTA, 0,1% Casein, 1% Rinderserumalbumin, 1% Mannit, 5% Saccharose und 0,1% Triton X100 auf. Der Puffer war auf einen pH-Wert von 7,2 eingestellt.

40 Konjugat wurde auf ein Glasfaser-Konjugat-Kissen (Millipore GFCP203000) aufgetragen, welches getrocknet und zu 5 mm x 5 mm-Streifen geschnitten wurde. Ein Streifen wurde an dem Ende der Nitrocellulose-Membran befestigt, das der Testzone jedes Teststreifens am nächsten war.

45 Ein Whatman GF/DVA-Glaspapier-Puffer-Kissen (2 cm x 5 mm) wurde dann am getrockneten Konjugat-Kissen jedes Teststreifens befestigt, um als Puffer-Kissen zu dienen.

50 Ein absorbierendes Kissen (2 cm x 5 mm), hergestellt aus S&S 900-Papier, wurde an dem Ende der Nitrocellulose-Membran befestigt, das der Kontrollzone am nächsten war, und ein weiteres absorbierendes Papier (2,5 cm x 5 mm; S&S 470) wurde am absorbierenden Kissen befestigt. Das absorbierende Papier stand wiederum in Kontakt mit einer 0,395 g Trockenmittel-Tablette (Tri-Sorb, Süd-Chemie).

55 Der Teststreifen wurde in ein Kunststoffgehäuse gegeben, um eine Testkarte ähnlich der in den Fig. 1-6 veranschaulichten zu erzeugen. Das Kunststoffgehäuse (10) wies ein Test-Fenster (20)

auf, das die Testzone (140) und die Kontrollzone (150) freilegte, sowie ein Puffer-Fenster (30) direkt über einem Puffer-Kissen. Das Kunststoffgehäuse war auch markiert, um die Stelle der Testlinie und der Kontrolllinie anzuzeigen. Die Testkarten wurden einzeln in Folie verpackt.

5 *Beispiel 2 Test auf HIV*

Serum oder Plasma wurde aus Vollblut hergestellt, das von einem auf HIV zu testenden Patienten unter Verwendung angemessener Venenpunktions-Techniken erhalten worden war. Die Proben wurden bei 2°C bis 8°C gelagert und innerhalb von 24 h verwendet oder bei -20°C eingefroren, um innerhalb von 2 Wochen verwendet zu werden. Gefrorene Proben wurden vor Verwendung aufgetaut.

Eine HIV-Testkarte, wie in Beispiel 1 beschrieben, die eine Mischung aus HIV-1- und HIV-2-Antigenen auf der Kontrollzone aufwies, wurde aus der Folien-Packung entfernt.

15 Etwa 5 µl Proben-Puffer, der 0,025% HEPES und 0,2% Natriumazid aufwies, wurde auf die Membran durch die Mitte des Testkarten-Fensters aufgetragen.

20 Eine Proben-Pipette, die zu testendes Serum oder Plasma enthielt, wurde in vertikaler Position über dem Testfenster auf der Testkarte gehalten, und 5 µl Probe wurden auf die Membran in der Mitte der Fensters gegeben.

25 Vier Tropfen Waschpuffer-Lösung (0,025% HEPES; 0,85% Natriumchlorid, 0,1% EDTA, 1% Mannit, 0,1% Casein, 1% Triton X100, pH 7,2) wurden auf das Puffer-Kissen zugegeben. Nach 3 Minuten, wenn die Reaktion nicht deutlich war, wurde ein zusätzlicher Tropfen Puffer auf das Puffer-Kissen zugegeben.

30 Die Ergebnisse des Tests wurden 1 bis 5 min nach dem Zugeben des ersten Puffers abgesehen.

35 Wie in Fig. 5 gezeigt, umfasst ein positives Ergebnis zwei sichtbare Linien quer über das Proben-Fenster: eine Testlinie (140) und eine Kontrolllinie (150). Ein positives Ergebnis wird erhalten, wenn zwei Linien sichtbar sind, selbst wenn eine der Linien dunkler ist als die andere. Ein negatives Ergebnis wird durch eine einzige Kontrolllinie angezeigt, die quer über das Proben-Fenster sichtbar ist, wie in Fig. 6 gezeigt.

*Beispiel 3 HCV-Testkarte*

40 Ein Teststreifen für die Diagnostizierung von Hepatitis C-Virus wurde wie in Beispiel 1 hergestellt. Anstatt des HIV-Antigens wurde jedoch eine Hepatitis C-Antigen-Mischung aufweisender Kern (0,3 mg/ml), NS3 (0,4 mg/ml) und NS4 (0,1 mg/ml) in einer Testlinie auf die Membran aufgesprührt, um die Testzone zu erzeugen. Eine Gesamtmenge von etwa 0,4 µg HCV-Antigen-Mischung wurde in der Testlinie aufgetragen. Kaninchen-IgG-, verdünnt auf 1 mg/ml, wurde in einer Kontrolllinie aufgesprührt.

45 *Beispiel 4 Test auf HCV*

50 Eine HCV-Testkarte, wie in Beispiel 3 beschrieben, die ein HCV-Antigen an der Testzone aufwies, wurde auf der Folien-Packung entfernt.

55 Etwa 5 µl Probenpuffer, der Phosphat-Puffer und 0,2% Natriumazid aufwies, wurde auf die Membran durch die Mitte des Testkarten-Fensters aufgetragen.

Serum oder Plasma wurde aus einer Vollblut-Probe zubereitet. Eine Proben-Pipette, die zu testendes Serum oder Plasma enthielt, wird in vertikaler Position über dem Testfenster auf der

Testkarte gehalten, und 5 µl Probe werden auf die Membran in der Mitte des Fensters gegeben.

Vier Tropfen Waschpuffer-Lösung (0,025% Phosphat, 0,85% Natriumchlorid, 0,1% EDTA, 1% Mannit, 0,1% Casein, 1% Triton X100, pH 7,2) wurden auf das Puffer-Kissen zugegeben. Nach 5 Minuten, wenn die Reaktion nicht deutlich war, wurden weitere 2 Tropfen Puffer auf das Puffer-Kissen zugegeben.

Die Ergebnisse des Tests wurden 1 bis 5 min nach dem Zugeben des ersten Puffers abgesehen.

10 Wie in Fig. 5 gezeigt, umfasst ein positives Ergebnis zwei sichtbare Linien quer über das Proben-Fenster: eine Testlinie (140) und eine Kontrolllinie (150). Ein positives Ergebnis wird erhalten, wenn zwei Linien sichtbar sind, selbst wenn eine der Linien dunkler ist als die andere. Ein negatives Ergebnis wird durch eine einzige Kontrolllinie angezeigt, die quer über das Proben-Fenster sichtbar ist, wie in Fig. 6 gezeigt.

#### *Beispiel 5 Schwangerschaftstest*

20 Visuelle Lateral Flow-Schwangerschafts-Schnelltests werden hergestellt. Die Anordnung der Teststreifen ist im Wesentlichen wie in Fig. 7 veranschaulicht.

Jeder Teststreifen weist eine Kunststoffverstärkung (6 cm x 5 mm) mit Klebstoff an beiden Seiten auf. Die Kunststoffverstärkung hat eine Dicke von etwa 2 mil bis etwa 20 mil.

25 Eine Testlinie und eine Kontrolllinie werden auf einer Nitrocellulose-Membran (Millipore HF09004) durch Aufsprühen mit einem Pumpen-Abgabesystem (Kinematic Automation) hergestellt. Die Testlinie weist eine vertikale Linie eines Antikörpers gegen humanes Chorion-Gonadotropin (hCG), vorzugsweise eines monoklonalen Antikörpers, auf. Antikörper gegen hCG sind im Handel weitverbreitet erhältlich, z.B. von Research Diagnostics Inc. (RDI-CBL74; 30 New Jersey, USA), Charles River Labs und anderen Quellen, oder können unter Verwendung von Standard-Verfahren hergestellt werden. Eine Gesamtmenge von etwa 0,2 bis etwa 1 µg Antikörper wird in einer vertikalen Linie auf der Testzone angebracht.

35 Die Kontrolllinie weist eine vertikale Linie aus Protein A auf. Eine Gesamtmenge an Protein A, die ausreicht, um nach Konjugatbindung ein sichtbares Signal zu erzeugen, wird auf die Kontrolllinie aufgebracht, typischerweise etwa 0,25 µg.

Für jeden Teststreifen wird die geeignete Nitrocellulose-Membran zu einer Größe von etwa 40 2,5 cm x 5 mm geschnitten und an der Kunststoffverstärkung befestigt.

Ein zweiter Antikörper gegen hCG wird an kolloidalem Gold für das Konjugat für den Test angebracht. Kolloidale Gold-hCG-Antikörper-Konjugate sind im Handel erhältlich, beispielsweise von Research Diagnostics Inc.. Alternativ können hCG-Antikörper-Konjugate unter Verwendung wohl bekannter Methoden hergestellt werden (vgl. z.B. U.S. Patent Nr. 6,485,982, durch Hinweis hierin mit einbezogen). Das Konjugat wird in Konjugat-Puffer auf eine Konzentration von etwa 3 OD/ml verdünnt. Der Konjugat-Puffer weist vorzugsweise 0,25% HEPES, 0,85% Natriumchlorid, 0,1% Natriumazid, 0,1% EDTA, 0,1% Casein, 1% Rinderserum-Albumin, 1% Mannit, 5% Saccharose und 0,1% Triton X100 auf. Der Puffer wird auf einen pH-Wert von 7,2 eingestellt.

50 Das Konjugat wird auf ein Glasfaser-Konjugat-Kissen (Millipore GFCP203000) aufgetragen, welches getrocknet und zu 5 mm x 5 mm-Streifen geschnitten wird.

Ein Whatman GF/DVA-Glaspapier-Puffer-Kissen (2 cm x 5 mm) wird am getrockneten Konjugat-Kissen jedes Teststreifens befestigt, um als Puffer-Kissen zu dienen.

Ein absorbierendes Kissen (2 cm x 5 mm), hergestellt aus S&S 900-Papier, wird an dem Ende der Nitrocellulose-Membran befestigt, das der Kontrollzone am nächsten ist, und ein weiteres absorbierendes Papier (2,5 cm x 5 mm; S&S 470) wird am absorbierenden Kissen befestigt. Das absorbierende Papier steht wiederum in Kontakt mit einer Trockenmittel-Tablette (z.B. Tri-Sorb, Süd-Chemie), die einen signifikanten Teil des Proben-Volumens absorbieren und somit Probe und Analyt quer über die Testzone ziehen kann.

Methylenblau oder ein anderer Indikator wird der Testzone nachgeordnet am absorbierenden Kissen oder am absorbierenden Papier abgelagert. Die Bewegung dieses Volumsindikators ist ein Signal, dass genügend Probe die Testzone kontaktiert hat, um einen genauen Test zu ermöglichen.

Der Teststreifen wird in ein Kunststoffgehäuse platziert, um eine Testkarte herzustellen. Das Kunststoffgehäuse weist über der Testzone und der Kontrollzone ein Testfenster auf, um ein Sichtbarmachen der Testergebnisse zu ermöglichen. Das Gehäuse weist auch ein Volumsindikator-Fenster auf, durch welches die Bewegung des Volumsindikators beobachtet werden kann.

Bei einigen Testkarten ist ein Probenbecher über dem Testfenster befestigt. Der Probenbecher weist einen Behälter zum Halten der Probe mit einem Auslass auf, um zu ermöglichen, dass die Probe durch das Probenfenster zur Probenaufbringungszone der Testmembran fließen kann. Der Probenbecher kann auch einen Filter im Auslass aufweisen. Nachdem die Probe auf die Membran zugegeben worden ist, wird der Becher entfernt, so dass man die Ergebnisse des Tests sehen kann.

Bei anderen Testkarten ist ein Docht vorhanden, der vom Ende oder von der Seite des Gehäuses absteht. Der Docht sieht einen Pfad vor, entlang welchem Probe zur Probenaufbringungszone und zur Testzone fließen kann.

Das Gehäuse hat auch einen Mechanismus, der es ermöglicht, das Konjugat-Kissen in Fluid-Verbindung mit der Membran zu bewegen.

Bei einigen Testkarten befindet sich auch eine Waschpuffer enthaltende Ampulle stromaufwärts vom Konjugat-Kissen im Gehäuse. Bei anderen Testkarten wird der Puffer durch ein Puffer-Fenster zum Puffer-Kissen zugegeben.

Eine Aktivierung des Mechanismus, der das Konjugat-Kissen in Kontakt mit der Test-Membran bewegt, bricht die Ampulle, wodurch Puffer zum Konjugat-Kissen fließen kann. Vorzugsweise kontaktieren etwa 5 Tropfen Waschpuffer das Konjugat-Kissen. Die Aktivierung des Mechanismus entfernt auch den Probenbecher oder Docht vom Gehäuse.

Das Kunststoffgehäuse ist markiert, um die Stelle der Testlinie und der Kontrolllinie im Probenfenster anzuzeigen.

#### *Beispiel 6 Verwendung von Schwangerschaftstest mit Probenbecher*

Visuelle Lateral Flow-Schwangerschafts-Schnelltests mit einem Probenbecher werden wie in Beispiel 5 beschrieben hergestellt.

Harn des Individuums wird gesammelt, und etwa 500 µl werden in einen Probenbecher gegeben, welcher an der Testkarte über dem Proben-Fenster befestigt wird. Wenn eine blaue Farbe im Volumsindikator-Fenster beobachtet wird, wird der Mechanismus aktiviert, der das Konjugat-Kissen in Fluid-Verbindung mit der Membran bringt. Das bricht die den Puffer enthaltende Ampulle und startet den Test. Der Probenbecher wird entfernt, und die Ergebnisse des Tests werden im Proben-Fenster 1 bis 5 Minuten später sichtbar gemacht.

Wie in Fig. 5 gezeigt, weist ein positives Ergebnis zwei sichtbare Linien quer über das Proben-Fenster auf: eine Testlinie 140 und eine Kontrolllinie 150. Ein positives Ergebnis ist angezeigt, wenn zwei Linien sichtbar sind, selbst wenn eine der Linien dunkler als die andere ist. Ein negatives Ergebnis ist durch eine einzige Kontrolllinie 150 angezeigt, die quer über das Proben-Fenster sichtbar ist, wie in Fig. 6 gezeigt.

#### *Beispiel 6 Verwendung von Schwangerschaftstest mit Docht*

Visuelle Lateral Flow-Schwangerschafts-Schnelltests mit einem Docht werden wie in Beispiel 5 beschrieben hergestellt.

Das Individuum platziert den Docht in seinen Harnstrahl. Eine im Volumsindikator-Fenster beobachtete blaue Farbe zeigt an, dass ein ausreichendes Proben-Volumen die Testzone kontaktiert hat.

Ein Mechanismus am Gehäuse wird aktiviert und bringt das Konjugat-Kissen in Fluid-Verbindung mit der Membran. Dies bricht auch die Puffer enthaltende Ampulle im Gehäuse und startet den Test, indem bewirkt wird, dass Puffer zum Konjugat-Kissen fließt. Der Docht wird entfernt, und die Ergebnisse des Tests werden im Proben-Fenster 1 bis 5 Minuten später sichtbar gemacht.

Wie in Fig. 5 gezeigt, umfasst ein positives Ergebnis zwei sichtbare Linien quer über das Proben-Fenster, eine Testlinie 140 und eine Kontrolllinie 150. Ein positives Ergebnis ist angezeigt, wenn zwei Linien sichtbar sind, selbst wenn eine der Linien dunkler als die andere ist. Ein negatives Ergebnis ist durch eine einzige Kontrolllinie angezeigt, die quer über das Proben-Fenster sichtbar ist, wie in Fig. 6 gezeigt.

Obgleich die Erfindung unter Bezugnahme auf bestimmte, bevorzugte Ausführungsformen beschrieben wurde, ist es für den Fachmann verständlich, dass verschiedene Veränderungen vorgenommen und Äquivalente für Elemente davon substituiert werden können, ohne vom Bereich der Erfindung abzuweichen. Außerdem können viele Modifikationen vorgenommen werden, um die hierin angegebene Lehre an eine besondere Situation anzupassen, ohne vom wesentlichen Bereich der Erfindung abzuweichen. Daher ist beabsichtigt, dass die Erfindung nicht auf irgendeine besondere, geoffenbare Ausführungsform eingeschränkt sein soll, sondern dass die Erfindung alle Ausführungsformen inkludiert, die in den Bereich der beigefügten Patentansprüche fallen.

### **Ansprüche:**

1. Immundiagnostische Vorrichtung zum Nachweis eines Analyten, an dem ein Interesse besteht, in einer flüssigen Probe, umfassend:
  - ein Pufferkissen zur Aufnahme einer Pufferlösung;
  - eine Konjugatquellen-Zone in feuchtigkeitsleitender Verbindung mit dem Pufferkissen, die ein Konjugat aufweist, welche Konjugatquellen-Zone mindestens ein im getrockneten Zustand und mit der Pufferlösung lösliches Konjugat umfasst;
  - eine Probenaufbringungszone, die sich der Konjugatquellen-Zone nachgeordnet befindet und zur Aufnahme der flüssigen Probe ausgestaltet ist;
  - eine Testzone, die sich der Konjugatquellen-Zone nachgeordnet befindet, darin immobilisiert ein Bindungsmittel, das für den Analyten, an dem ein Interesse besteht, spezifisch ist; und eine Membran, die in Kontakt mit und oberhalb der Testzone angeordnet ist, so dass bei Aufbringung der flüssigen Probe, der Analyt, an dem Interesse besteht, an das Bindungsmittel in der Testzone bindet, dann der Analyt oder das Bindungsmittel mit dem vom Puffer aus der Konjugatquellen-Zone gelösten Konjugat in Kontakt gebracht wird und die Pufferlösung die flüssige Probe aus der Testzone wäscht.

2. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 1, wobei die Probenaufbringungszone die Testzone umfasst.
3. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 1, wobei der Analyt, an dem ein Interesse besteht, ein Antikörper ist.
4. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 3, wobei der Analyt, an dem ein Interesse besteht, ein Antikörper gegen humanes Immundefizienz-Virus (HIV) ist.
5. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 3, wobei der Analyt, an dem ein Interesse besteht, ein Antikörper gegen Hepatitis C-Virus (HCV) ist.
10. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 1, wobei der Analyt, an dem ein Interesse besteht, ein Antigen ist.
15. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 6, wobei der Analyt, an dem ein Interesse besteht, humanes Chorion-Gonadotropin (hCG) ist.
20. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 1, wobei die Konjugate gefärbte Partikel sind.
25. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 8, wobei die Konjugatquellen-Zone ein Konjugat-Kissen aufweist, welches getrocknetes Konjugat umfasst, und welches mit der Testzone in Fluid-Verbindung steht.
30. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 8, wobei die Konjugatquellen-Zone ein Teil des Teststreifens ist.
35. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 1, wobei das Konjugat veranlasst wird, zur Testzone zu fließen, indem die Konjugatquellen-Zone mit Waschpuffer kontaktiert wird.
40. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 11, wobei der Waschpuffer ein Blockierungsmittel-Protein und ein nicht-ionisches Detergens aufweist.
45. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 12, wobei der Waschpuffer 0,1% Casein und 1% octoxinol-9 aufweist.
50. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 1, wobei das zumindest eine Konjugat in der Lage ist den Analyten zu detektieren und eine Bindungskomponente und eine Markierung aufweist.
55. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 14, wobei die Bindungskomponente Protein A ist.
60. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 14, wobei die Markierung ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus kolloidalem Gold, kolloidalem Silber, kolloidalem Ruß und gefärbten Latex-Partikeln.
65. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 16, wobei die Markierung kolloidales Gold ist.
70. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 17, wobei das kolloidale Gold eine Partikelgröße von etwa 20 bis etwa 80 Nanometer hat.
75. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 1, wobei das Konjugat mit kolloidalem

- Gold konjugiertes Protein A aufweist.
20. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 1, wobei das Konjugat einen mit kolloidalen Gold konjugierten Antikörper aufweist.
- 5 21. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 1, umfassend eine Nitrocellulose-Membran.
- 10 22. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 1, zusätzlich umfassend eine der Testzone nachgeordnete Kontrollzone, wobei die Kontrollzone ein immobilisiertes Kontroll-Bindungsmittel aufweist, das das Konjugat binden kann.
- 15 23. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 22, wobei die Kontrollzone immobilisiertes Kaninchen-IgG aufweist.
- 20 24. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 22, wobei die Kontrollzone immobilisiertes Protein A aufweist.
- 25 25. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 1, welcher zusätzlich ein absorbierendes Kissen in Fluid-Verbindung mit der Membran an einer der Testzone nachgeordneten Position aufweist.
- 30 26. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 1, welcher zusätzlich einen Proben-Filter aufweist, der sich direkt über der Probenaufbringungszone befindet.
- 35 27. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 1 gestaltet zum Bestimmen von anti-HIV-Antikörper in einer Probe, wobei das Bindungsmittel ein immobilisiertes HIV-Antigen aufweist.
- 40 28. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 27, wobei das HIV-Antigen eines oder mehrere Antigene ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus GP120, P24 und GP36 aufweist.
- 45 29. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 27, wobei das Konjugat Protein A aufweist.
- 30 30. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 29, wobei das Protein A mit kolloidalem Gold konjugiert ist.
- 40 31. Verfahren zum Nachweis eines Antikörpers, an dem ein Interesse besteht, in einer flüssigen Probe, welches aufweist:  
Kontaktieren der Testzone einer immundiagnostischen Vorrichtung nach Anspruch 1 mit der Probe und  
nachfolgendes Kontaktieren der Testzone mit einem Konjugat, das konfiguriert ist, um den Antikörper, an dem ein Interesse besteht, zu binden.
- 50 32. Verfahren nach Anspruch 31, wobei das Konjugat Protein A aufweist.
33. Verfahren nach Anspruch 32, wobei das Protein A mit kolloidalem Gold konjugiert ist.
- 55 34. Verfahren nach Anspruch 31, wobei der Antikörper, an dem ein Interesse besteht, ein anti-HIV-Antikörper ist.
35. Verfahren nach Anspruch 34, wobei die Testzone immobilisiertes Antigen ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus HIV-1-und HIV-2-Antigenen, aufweist.

36. Verfahren nach Anspruch 35, wobei das HIV-1-Antigen ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus GP120 und P24.

37. Verfahren nach Anspruch 35, wobei das HIV-2-Antigen GP36 ist.

5

38. Verfahren nach Anspruch 31, wobei die flüssige Probe ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Vollblut, Serum und Plasma.

10

39. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 1 gestaltet zur Bestimmung von Schwan-

gerschaft,  
wobei das in der Testzone immobilisierte Bindungsmittel einen ersten anti-hCG-Antikörper aufweist;

wobei das mindestens eine Konjugat an hCG bindet, und

wobei sich die Konjugatquellen-Zone der Probenaufbringungszone und der Testzone vor-  
15 gelagert befindet.

15

40. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 39, welche zusätzlich einen Docht auf-  
weist, der mit der Probenaufbringungszone in Fluid-Verbindung steht.

20

41. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 39, welche zusätzlich einen Becher zum  
Sammeln einer Harnprobe aufweist.

42. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 39, wobei das Konjugat einen zweiten  
hCG-Antikörper aufweist.

25

43. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 42, wobei der zweite hCG-Antikörper mit  
kolloidalem Gold konjugiert ist.

30

44. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 1, wobei die Konjugatquellen-Zone ein  
bewegliches Konjugat-Kissen aufweist, welches in feuchtigkeitsleitender Verbindung mit  
der Testzone gestaltet ist, nachdem die flüssige Probe mit der Testzone in Kontakt ge-  
bracht wird.

35

45. Immundiagnostische Vorrichtung nach Anspruch 1, wobei die Probenaufbringungszone in  
Kontakt und unmittelbar oberhalb der Testzone angeordnet ist.

40

## Hiezu 6 Blatt Zeichnungen

45

50

55

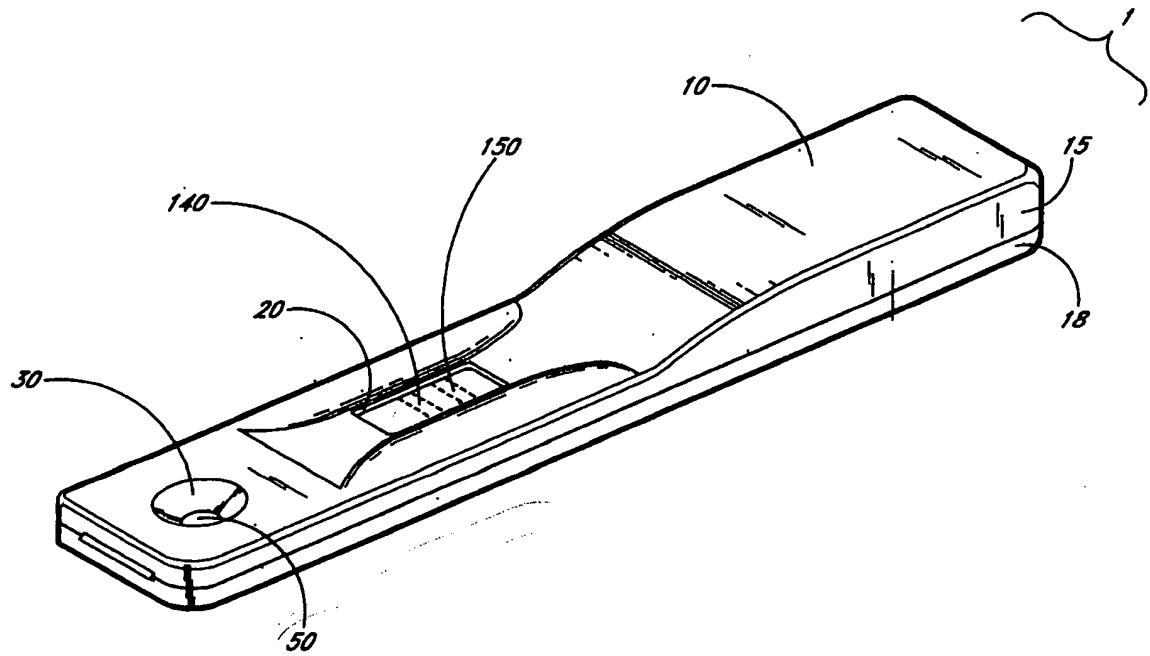
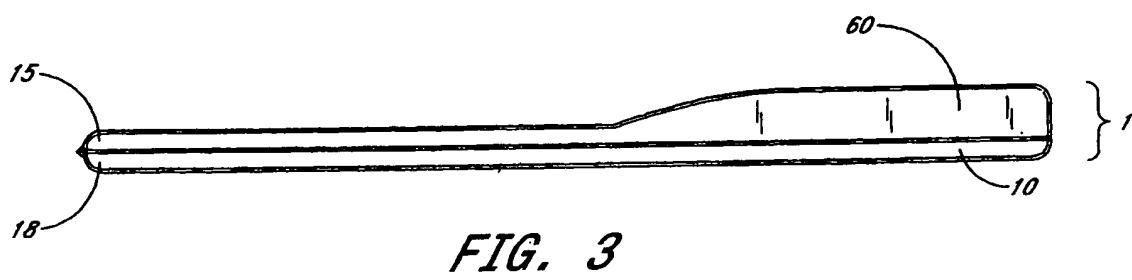
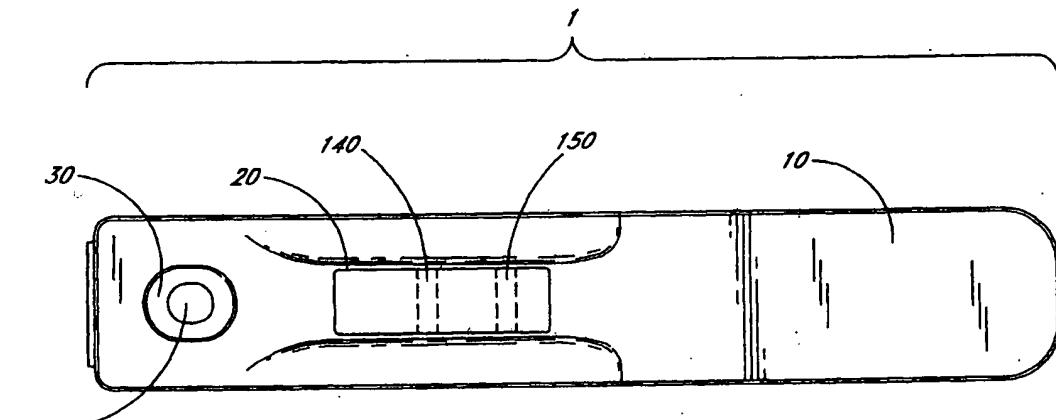


FIG. 1



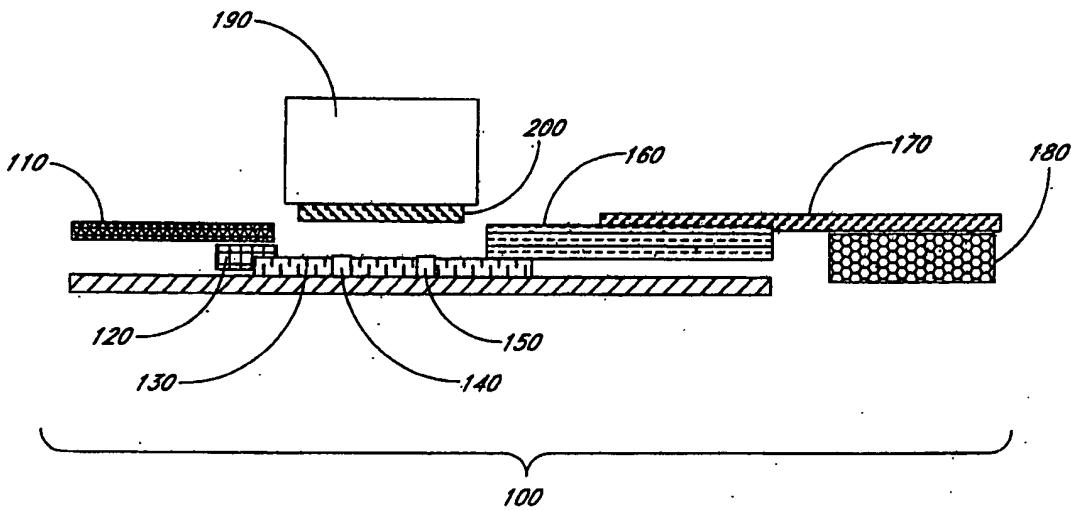
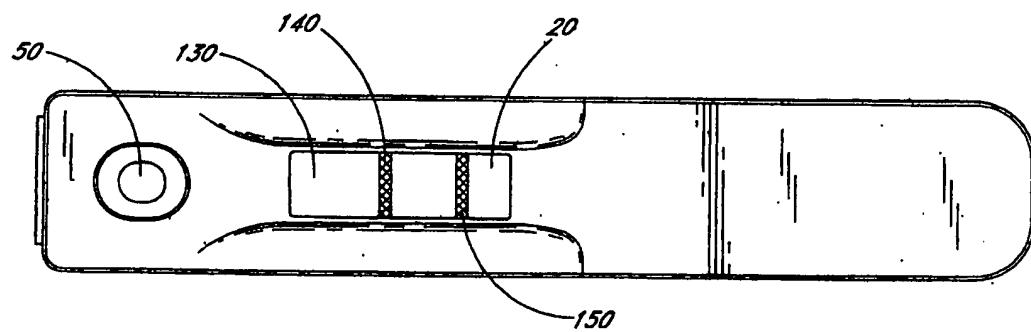
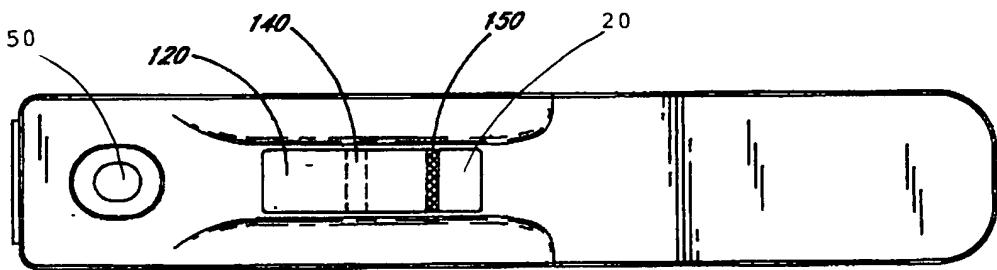


FIG. 4



*FIG. 5*



*FIG. 6*

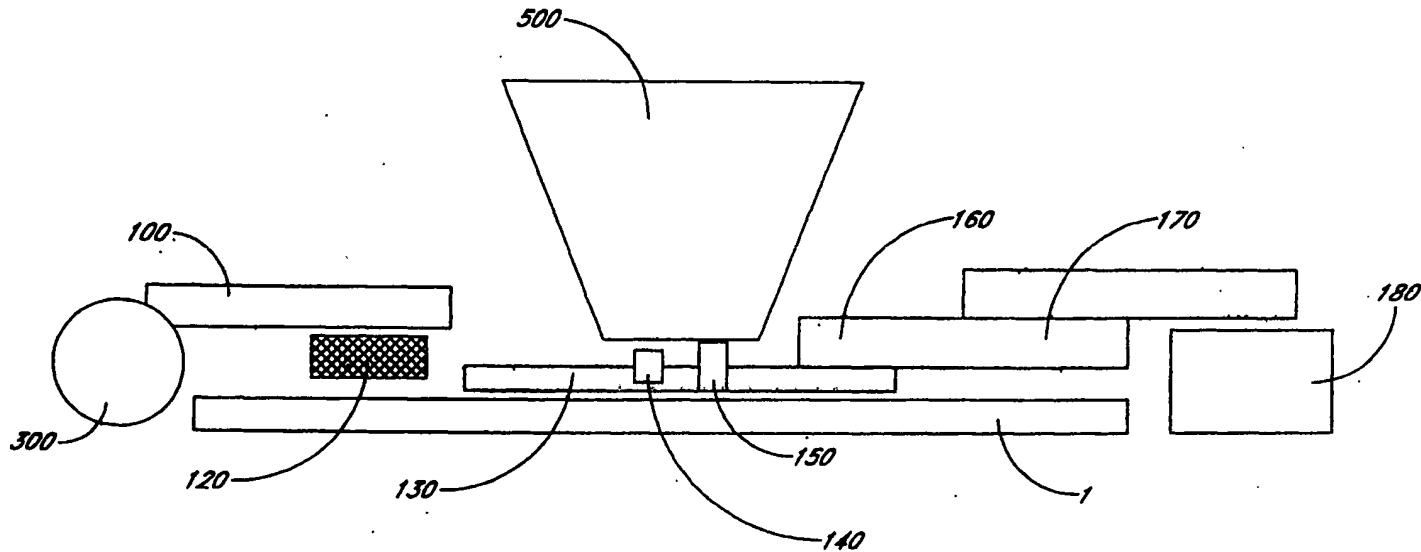


FIG. 7

Klassifikation des Anmeldungsgegenstands gemäß IPC <sup>8</sup> : <b>G01N 33/53 (2006.01); G01N 33/68 (2006.01)</b>		<b>AT 009 863 U1</b>
Klassifikation des Anmeldungsgegenstands gemäß ECLA: <b>G01N 33/53, G01N 33/68, G01N 33/68B</b>		
Recherchierter Prüfstoff (Klassifikation): <b>G01N</b>		
Konsultierte Online-Datenbank: <b>WPI, EPODOC, PAJ, Internet, Pubmed</b>		
Dieser Recherchenbericht wurde zu den am <b>24.01.2007</b> eingereichten Ansprüchen erstellt.		
Die in der Gebrauchsmusterschrift veröffentlichten Ansprüche könnten im Verfahren geändert worden sein (§ 19 Abs. 4 GMG), sodass die Angaben im Recherchenbericht, wie Bezugnahme auf bestimmte Ansprüche, Angabe von Kategorien (X, Y, A), nicht mehr zutreffend sein müssen. In die dem Recherchenbericht zugrundeliegende Fassung der Ansprüche kann beim Österreichischen Patentamt während der Amtsstunden Einsicht genommen werden.		
Kategorie <sup>1</sup> )	Bezeichnung der Veröffentlichung: Ländercode, Veröffentlichungsnummer, Dokumentart (Anmelder), Veröffentlichungsdatum, Textstelle oder Figur soweit erforderlich	Betreffend Anspruch
X	US2002045195A1 (Hubscher et al.) 18. April 2002 (18.04.2002) *[0026], [0028] [0045], [0052], [0053], [0058], Ansprüche 1-10, Figuren 1, 3*	28-39
X	--  EP0296398B1 (Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College) 28. Dezember 1988 (28.12.1988) *Spalten 3 bis 5, Beispiel 5*	32, 33, 34
X	--  EP0973034A1 (Microbe Scope AG) 19. Jänner 2000 (19.01.2000) *[0010], [0013], [0016], Figuren, Ansprüche*	32
A	--  US5656503A (Unilever Patent Holdings B.V.) 12. August 1997 (12.08.1997) *Ganzes Dokument*	1-44
<sup>1</sup> Kategorien der angeführten Dokumente:		
X	Veröffentlichung von <b>besonderer Bedeutung</b> : der Anmeldungsgegenstand kann allein aufgrund dieser Druckschrift nicht als neu bzw. auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden.	A Veröffentlichung, die den <b>allgemeinen Stand der Technik</b> definiert.
Y	Veröffentlichung von <b>Bedeutung</b> : der Anmeldungsgegenstand kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren weiteren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese <b>Verbindung für einen Fachmann naheliegend</b> ist.	P Dokument, das von <b>Bedeutung</b> ist (Kategorien X oder Y), jedoch nach dem <b>Prioritätstag</b> der Anmeldung <b>veröffentlicht</b> wurde.  E Dokument, das von <b>besonderer Bedeutung</b> ist (Kategorie X), aus dem ein <b>älteres Recht</b> hervorgehen könnte (früheres Anmelde datum, jedoch nachveröffentlicht, Schutz in Österreich möglich, würde Neuheit in Frage stellen).  & Veröffentlichung, die Mitglied derselben <b>Patentfamilie</b> ist.
Datum der Beendigung der Recherche: 5. Februar 2007		<input checked="" type="checkbox"/> Fortsetzung siehe Folgeblatt
		Prüfer(in): Dr. GÖRNER

Fortsetzungsblatt		Betreffend Anspruch
Kategorie*)	Bezeichnung der Veröffentlichung: Ländercode, Veröffentlichungsnummer, Dokumentart (Anmelder), Veröffentlichungs- datum, Textstelle oder Figur soweit erforderlich	
A	WO00/42434A1 (PEVEC) 20. Juli 2000 (20.07.2000) <i>*Ganzes Dokument*</i>  --	1-44
A	WO95/13542A1 (Unipath Limited) 18. Mai 1995 (18.05.1995) <i>*Ganzes Dokument*</i>  ----	1-44