

(11) Número de Publicação: **PT 1031036 E**

(51) Classificação Internacional:

G01N 33/531 (2007.10) **G01N 21/78** (2007.10)

G01N 33/543 (2007.10) **G01N 33/558** (2007.10)

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

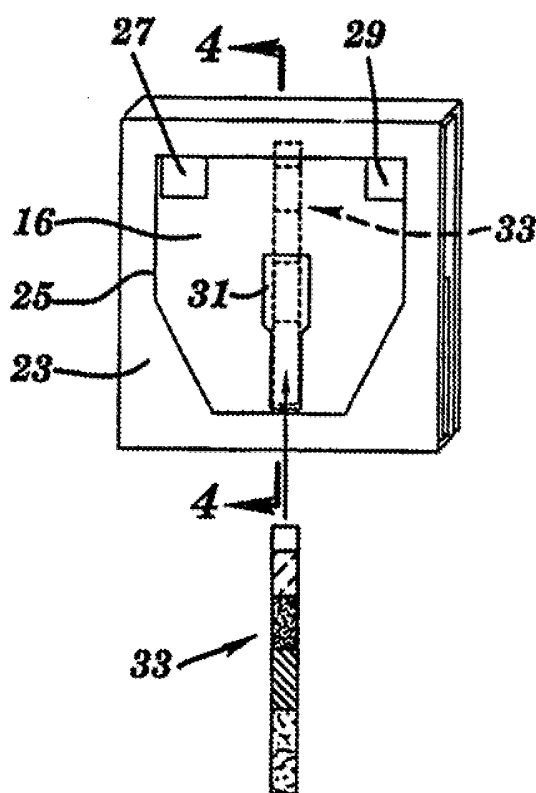
(22) Data de pedido: 1998.10.05	(73) Titular(es): ENTERIX INC.
(30) Prioridade(s): 1997.10.06 US 944858 1998.05.11 AU PP346198	857 PRINCES POINT ROAD YARMOUTH, MAINE 04096 US
(43) Data de publicação do pedido: 2000.08.30	(72) Inventor(es): HOWARD MILNE CHANDLER AU
(45) Data e BPI da concessão: 2008.05.14 162/2008	(74) Mandatário: ANTÓNIO JOÃO COIMBRA DA CUNHA FERREIRA R DAS FLORES 74 4 AND 1249-235 LISBOA PT

(54) Epígrafe: **APARELHO E MÉTODO PARA DETECÇÃO DE ANALITO**

(57) Resumo:

RESUMO**"Aparelho e método para detecção de analito"**

É descrito um dispositivo de teste e métodos para a identificação de um analito de interesse numa amostra. Numa concretização preferida, o dispositivo de teste inclui um painel frontal que tem, pelo menos, uma abertura de aplicação de amostras; um painel traseiro que tem, pelo menos, uma abertura de aplicação de solvente; uma matriz de recolha de amostras disposta entre o painel traseiro e o painel frontal, estando a matriz de recolha de amostras em comunicação com as aberturas de aplicação de amostras e o solvente dos painéis frontal e traseiro; e, pelo menos, uma faixa de teste inserível que contém um reagente que permite a detecção do analito de interesse.



DESCRIÇÃO

"Aparelho e método para detecção de analito"

CAMPO DO INVENTO

Este invento refere-se a um aparelho e método para a detecção directa ou indirecta de um analito numa amostra, em particular mas não exclusivamente, para a detecção de um analito numa amostra biológica. O presente invento é útil, em particular, para verificar o estado de saúde de um ser humano, ou de outro animal, ou de uma planta, ou de outra forma de vida, ou do estado ambiental de uma localização geográfica, ou industrial, pela confirmação da presença ou ausência de um analito.

ANTECEDENTES DO INVENTO

Foi desenvolvida uma variedade de dispositivos de diagnóstico para a detecção de um analito de interesse numa amostra. Nos dispositivos em que as funções de recolha de amostra e teste não estão ligadas, a transferência da amostra recolhida para o aparelho de teste introduz uma potencial fonte de erro. Nos dispositivos em que as funções de recolha de amostra e testes estão ligadas, os dispositivos estão dedicados na sua totalidade à detecção de um analito particular e não são facilmente adaptáveis a uma gama alargada de detecção de analitos.

A questão do auto-diagnóstico de doenças graves, tais como cancro ou SIDA tem sido muito considerada. Existe consenso geral de que o auto-diagnóstico de tais estados patológicos não é preferido. Em vez disso, é geralmente aceite que um diagnóstico positivo para um tal estado patológico deve ser comunicado por um médico, juntamente com informação referente à disponibilidade de serviços de aconselhamento.

Em relação aos sistemas de mamíferos (por exemplo seres humanos), as amostras tratáveis para análise utilizando o dispositivo de teste do presente invento incluem fluidos biológicos (por exemplo sangue, urina, sémen, saliva, etc.)

ou excrementos. Tais fluidos biológicos podem transportar uma variedade de analitos, cuja presença pode ser o diagnóstico para um estado patológico particular. Um exemplo importante de um estado patológico que é caracterizado pela presença de um analito específico de patologia num fluido biológico é a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA). Utilizando o dispositivo e método do presente invento, é detectável a presença de anticorpos específicos para o vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), o agente causador da SIDA, numa amostra sanguínea.

A aplicação do assunto do invento à detecção de estados patológicos em humanos é de importância primordial. No entanto, para além da utilização no contexto do diagnóstico de estados patológicos graves, o presente invento também é útil numa variedade de outros contextos. Aplicações em ligação com a análise de micróbios, plantas, animais, alimentos e água são todas previstas.

Por exemplo, amostras de águas subterrâneas podem ser analisadas para a presença de contaminantes tais como atrazina. Alimentos, tais como carne picada, podem ser analisados para a presença de contaminação por bactérias tal como a E. coli. No reino das plantas, o presente invento pode ser aplicado na análise de, por exemplo, pólenes, esporos e fluidos vasculares de plantas. De uma forma geral, o único requisito para a detecção utilizando o dispositivo e método do presente invento é que o analito de interesse deve ser solúvel ou em suspensão numa solução aquosa.

O dispositivo e método do presente invento são particularmente úteis para a detecção de sangramento gastrointestinal oculto. A detecção de sangramento gastrointestinal oculto é um método comum de detectar cancro colo-rectal. Normalmente referido como o teste de sangue fecal oculto (FOB), é conhecida uma variedade de formatos na arte (ver por exemplo, as patentes US n.º 3,996,006; 4,225,557; 4,789,629; 5,064,766; 5,100,619; 5,106,582; 5,171,528; 5,171,529; e 5,182,191).

A maioria dos formatos de teste são baseados na detecção química de grupos heme presentes nas fezes, como um produto

da decomposição do sangue. Em tais testes, a natureza da pseudoperoxidase do grupo heme é utilizada para catalizar uma reacção colorimétrica entre um corante indicador e peróxido. O corante sensível ao oxigénio pode ser goma de guaiaco, orto-dianisidina, tetrametilbenzidina, ou semelhantes, sendo o guaiaco preferido.

Embora os testes FOB com base em guaiaco sejam baratos e simples de utilizar, existem desvantagens associadas à sua utilização. Por exemplo, os testes com base em guaiaco indicam só a presença de compostos de peroxidase e pseudoperoxidase, tais como heme, que estão presentes numa amostra. Consequentemente, estes testes não são específicos para o sangue humano e por conseguinte estão sujeitos a falsos resultados positivos se as fezes do paciente estiverem contaminadas com compostos de reacção cruzada. Tais compostos de reacção cruzada incluem, por exemplo, produtos de decomposição do sangue não humano a partir de carne mal passada, certos produtos vegetais e alguns medicamentos. De acordo com a prática médica actualmente aceite, um paciente que demonstre um resultado positivo deve em seguida ser submetido a uma colonoscopia ou sigmoidoscopia flexível para identificar a fonte do sangramento no cólon ou recto. Estes procedimentos podem ser invasivos, medicamente complicados e dispendiosos. Para minimizar falsas reacções positivas e os desnecessários procedimentos de acompanhamento, os testes com base em guaiaco requerem uma dieta restritiva até três dias antes do teste.

Relatórios recentes na literatura (Allison, et. al. N. Eng. J. Med. 344: 155-159 (1996); e Favennec et. al., Annales de Biologie Clinique 50: 311-313 (1992)) sugeriram que a triagem por guaiaco e confirmação dos resultados positivos por um teste imunológico, com especificidade absoluta para o sangue humano, iria aumentar o valor dos resultados dos testes FOB. Por este meio, só aqueles pacientes com sangramento gastrointestinal confirmado seriam sujeitos aos procedimentos de acompanhamento dispendiosos, conduzindo a significativas poupanças nos custos de fornecimento de cuidados de saúde e menor inconveniência para o paciente.

O presente invento refere-se a um dispositivo que é útil inter alia para a detecção de qualquer analito aquoso solúvel ou em suspensão que seja detectável, por exemplo, com base nas propriedades químicas e/ou imunológicas. Um exemplo de um analito detectado pelas suas propriedades imunológicas inclui, mas não está limitado a, uma molécula de interacção imune tal como um antigénio, hapteno, imunoglobulina ou molécula de ligação a antigénio derivada de célula T. Um exemplo de um analito detectado pelas propriedades químicas inclui um enzima, catalizador, ou ligando. Deste modo, em relação aos testes FOB, o dispositivo do presente invento pode ser adaptado para testes com base em guaiaco, ou testes imunológicos. O formato preferido para testes imunológicos é imunocromatografia. Este formato é descrito geralmente nas patentes US n.º 5,591,645 e 5,622,871, cujas descrições são incorporadas neste documento por referência.

Antes de explicar o invento com maior detalhe, irá ser proporcionada uma breve revisão do processo de imunocromatografia para estabelecer certos princípios. Para detectar um analito de interesse por imunocromatografia, podem ser empregues dois reagentes de ligação que ligam especificamente e não competitivamente ao analito de interesse. Um primeiro reagente de ligação específica é marcado e é livre de migrar. Quando é introduzido numa amostra a ser testada pela presença do analito de interesse, o primeiro reagente de ligação específica liga-se ao analito de interesse, se presente. O segundo reagente de ligação específica está imobilizado numa zona de detecção sobre um material de fase sólida condutor de líquido, a zona de detecção sendo remota e a jusante da localização do contacto inicial entre o primeiro reagente de ligação e o analito de interesse. Uma frente de solvente transportando o primeiro reagente de ligação específica móvel complexado com o analito de interesse (se presente) migra ao longo do material de fase sólida condutor de líquido através da zona de detecção. Se o analito estiver presente na amostra, o segundo reagente de ligação específica imobilizado liga-se ao analito formando por esse meio um complexo de sanduíche imobilizado compreendendo o primeiro reagente de ligação específica (que está marcado), o analito de interesse e o segundo reagente de ligação específica (que está imobilizado). A detecção do

marcador imobilizado, na zona de detecção, é indicativa da presença do analito de interesse na amostra. Na maioria das concretizações, o primeiro e segundo reagentes de ligação específica são anticorpos policlonais ou monoclonais.

RESUMO DO INVENTO

O presente invento refere-se a um dispositivo de teste e métodos para a identificação de um analito de interesse numa amostra. O dispositivo de teste oferece uma variedade de vantagens sobre os dispositivos da arte anterior. Uma característica importante do dispositivo de teste do presente invento é que o dispositivo único apresenta uma função de recolha e teste. No entanto, a função de teste não está ligada à recolha. Isto é, a recolha de uma amostra (por exemplo por um paciente na sua casa) e aplicação ao dispositivo de teste não produz um resultado de teste. A fim de determinar o resultado de teste, tem de ser inserido no dispositivo um elemento de teste inserível e se a amostra tiver sido seca ou dessecada previamente a amostra tem de ser rehidratada. Na prática, o elemento de teste não será fornecido com o dispositivo e por conseguinte, o paciente não terá auto-diagnóstico em casa.

Num aspecto, o presente invento proporciona um dispositivo de teste para a identificação de um analito de interesse numa amostra, compreendendo:

- (a) uma matriz de aplicação de amostras, adaptada para a recepção de uma amostra e
- (b) pelo menos, um elemento de teste inserível, adaptado para comunicação com a matriz de aplicação de amostras, de modo que componentes da amostra são transportados da matriz de aplicação de amostras para os elementos ou elemento de teste.

De preferência, a amostra é uma amostra contendo líquido. A própria amostra pode ser um líquido ou pode ter a forma de partículas ou sólida, tal como hidratos antes do teste.

De acordo com este invento, o ou cada elemento de teste está adaptado para ser inserido no dispositivo de teste, de maneira que o elemento de teste fica em comunicação por condução de líquido com a matriz de aplicação de amostras como foi descrito acima.

Tal como é utilizado neste documento, o termo "comunicação por condução de líquido" deve ser utilizado para significar que um líquido aplicado a uma matriz de aplicação de amostras é capaz de ficar em comunicação por condução de líquido com um elemento de teste sob condições suficientes de hidratação.

Num aspecto não essencial mas preferido deste invento, o dispositivo de teste está adaptado de maneira que uma amostra aplicada ao dispositivo (por exemplo, por um paciente na sua casa) possa ser seca ou dessecada sobre a matriz de aplicação de amostras. Consequentemente, neste aspecto, o dispositivo de teste compreende:

(a) uma matriz de aplicação de amostras adaptada para:

i. a recepção de uma amostra contendo líquido;

ii. a dessecação da amostra contendo líquido in situ; e

iii. a rehidratação da amostra contendo líquido dessecada, para transferência para um elemento de teste; e

b) pelo menos, um elemento de teste inserível, adaptado para comunicação por condução de líquido com a matriz de aplicação de amostras, de modo que após a rehidratação, os componentes redissolvidos ou ressuspensos da amostra contendo líquido são transportados da matriz de aplicação de amostras para os elementos ou elemento de teste.

Numa concretização deste invento, o dispositivo de teste pode compreender:

- a) um painel frontal que tem, pelo menos, uma abertura de aplicação de amostras;
- b) um painel traseiro que tem, pelo menos, uma abertura de aplicação de tampão;
- c) uma matriz de aplicação de amostras, disposta entre o painel traseiro e o painel frontal, estando a matriz de aplicação de amostras em comunicação com as aberturas de aplicação de amostras e tampão dos painéis frontal e traseiro; e
- (d) pelo menos, um elemento de teste inserível, adaptado para comunicação por condução de líquido com a matriz de aplicação de amostras, de modo que os componentes da amostra contendo líquido são transportados da matriz de aplicação de amostras para os elementos ou elemento de teste.

De preferência, o ou cada elemento de teste inserível compreende um reagente ou reagentes que permitem a detecção do analito de interesse.

O presente invento também proporciona um método para condução de um ensaio para a identificação de um analito de interesse numa amostra, compreendendo:

- a) o fornecimento de um dispositivo de teste, que compreende uma matriz de aplicação de amostras, adaptada para a recepção de uma amostra contendo líquido;
- b) a aplicação de uma amostra, que contém líquido, à matriz de aplicação de amostras;
- c) a inserção no dispositivo de teste de, pelo menos, um elemento de teste inserível em comunicação por condução de líquido com a matriz de aplicação de amostras, de modo que os componentes da amostra contendo líquido são transportados da matriz de aplicação de amostras para os elementos ou elemento de teste; e
- d) a determinação dos resultados de teste.

Numa concretização, o método compreende:

(a) o fornecimento de um dispositivo de teste, que compreende:

(i) um painel frontal tendo no mesmo, pelo menos, uma abertura de aplicação de amostras;

(ii) um painel traseiro tendo no mesmo, pelo menos, uma abertura de aplicação de tampão; e

(iii) uma matriz de aplicação de amostras, disposta entre o painel traseiro e o painel frontal, estando a matriz de aplicação de amostras em comunicação com as aberturas de aplicação de amostras e tampão dos painéis frontal e traseiro;

(b) a aplicação de uma amostra que contém líquido à matriz de aplicação de amostras;

(c) a inserção no dispositivo de teste de, pelo menos, um elemento de teste inserível em comunicação por condução de líquido com a matriz de aplicação de amostras, por exemplo uma faixa de teste imunocromatográfico, compreendendo um material de fase sólida condutor de líquido e um material de reforço, a faixa de teste imunocromatográfico inserível tendo uma zona de contacto que, a seguir à inserção, contacta a matriz de aplicação de amostras e conduz uma frente de solvente da matriz de aplicação de amostras através de uma zona de detecção que contém um reagente de ligação específica, sendo a zona de detecção espacialmente distinta da zona de contacto;

(d) a aplicação de tampão à matriz de aplicação de amostras; e

(e) a determinação dos resultados de teste, por exemplo ao observar os resultados imunocromatográficos.

Ao longo deste fascículo, a não ser que o contexto o exija de outro modo, a palavra "compreende" e ou variações

tais como "compreendido" ou "compreendendo", serão entendidas como implicando a inclusão de um inteiro declarado ou passo ou grupo de inteiros ou passos mas não a exclusão de qualquer outro inteiro ou passo ou grupo de inteiros ou passos.

As concretizações preferidas do presente invento compreendem um alojamento tendo um painel frontal e um painel traseiro; uma matriz de aplicação de amostras disposta entre o painel frontal e o painel traseiro, estando o alojamento adaptado para aplicação da amostra à matriz de aplicação de amostras; uma janela de inserção de elemento de teste no alojamento; e, pelo menos, um elemento de teste inserível que, quando inserido, comunica com a matriz de aplicação de amostras. Em concretizações preferidas, está proporcionada, pelo menos, uma abertura no alojamento que está em comunicação directa com a matriz de aplicação de amostras. Esta abertura proporciona acesso à matriz de aplicação de amostras para o fim de aplicar a amostra.

Noutras concretizações, são proporcionadas múltiplas aberturas no alojamento para aplicação da amostra facilitando por esse meio, por exemplo, o teste de amostras recolhidas em múltiplos dias num único teste ou em alternativa, o teste de múltiplas amostras recolhidas num único dia num único teste.

Numa concretização importante do presente invento, o dispositivo compreende dois ou mais elementos de teste inseríveis, cada um dos quais, quando inserido, comunica com a matriz de aplicação de amostras. Nesta concretização, os elementos de teste podem ser o mesmo ou podem ser diferentes. No caso anterior, podem ser realizados testes duplicados sobre a amostra ou amostras aplicadas à matriz de aplicação de amostras. No último caso, podem ser realizados testes diferentes sobre a mesma amostra ou amostras aplicadas à matriz de aplicação de amostras. A título de exemplo, no teste FOB para triagem de cancro colo-rectal, um elemento de teste inserível pode ser um elemento de teste FOB com base em guaiaco, enquanto outro elemento de teste inserível pode ser um elemento de teste imunocromatográfico.

O alojamento é construído de preferência por um material resistente à água flexível que pode ser enrrugado. Exemplos

de um tal material incluem papel revestido ou material em bruto de cartão, ou material em bruto de folha de plástico fina. Em concretizações preferidas, o alojamento é construído a partir de uma única folha de material em bruto que é dobrada para criar uma pluralidade de painéis ou faces, incluindo o painel frontal e o painel traseiro. Em alternativa, múltiplas bandas podem ser laminadas juntas para construir uma estrutura similar.

A matriz de aplicação de amostras está disposta entre o painel frontal e traseiro e pode ser fixa a cada um dos dois painéis com um adesivo não solúvel. A selecção de um material para a matriz de aplicação de amostras é, até um grau, dependente do tipo de amostra a ser aplicada. No entanto, de uma forma geral, é preferida uma matriz inerte quimicamente de célula aberta (por exemplo, plástico poroso, papel de filtro, fibras de vidro). Uma tal matriz de célula aberta permite rápida e completa dessecação da amostra in situ. A rápida e completa dessecação minimiza a possibilidade de decomposição da amostra devido, por exemplo, a presença microbiana. A seguir à aplicação da amostra, o dispositivo de teste é devolvido para um médico ou laboratório de teste para completar o processo de teste.

Dada a descrição que se segue, um especialista na arte irá reconhecer que os elementos ou elemento de teste podem ser proporcionados num conjunto de concretizações alternativas. Com referência à concretização imunocromatográfica, por exemplo, um elemento necessário da faixa de teste é um material de fase sólida condutor de líquido no qual um reagente de detecção (descrito acima como o segundo reagente de ligação específica) pode ser imobilizado. Este material de fase sólida é de preferência nitrocelulose. A nitrocelulose é uma matriz carregada, na qual um reagente apropriadamente carregado, tal como um anticorpo monoclonal, pode ser imobilizado sem tratamento químico anterior. Também podem ser utilizadas alternativas tal como papel de filtro, no entanto, é necessário acoplamento químico (por exemplo, acoplamento CNBr) para fixar um reagente carregado tal como um anticorpo a uma matriz deste tipo.

Um material preferido de fase sólida condutor de líquido é uma membrana de nitrocelulose, tendo um tamanho de poro de, pelo menos, cerca de 1 micron. As membranas de nitrocelulose melhor adaptadas para serem utilizadas em ligação com a imunocromatografia deste tipo têm um tamanho de poro de cerca de 5 a 20 micron. A selecção de tamanhos de poro particulares dita o caudal. Dependendo da aplicação particular, pode ser indicado um caudal mais rápido ou mais lento e é seleccionado um material de fase sólida apropriado.

Para facilitar o manuseamento, é desejável proporcionar um reforço para a membrana de nitrocelulose. Um material em bruto de folha de plástico fina (por exemplo, lexan ou poliestireno) pode ser cortado para proporcionar um reforço resistente à água adequado para o suporte sólido. Tal material em bruto de folha é seleccionado de maneira a não interferir com a leitura de um resultado de teste. Por exemplo, a selecção de um material em bruto de folha clara ou branca é geralmente preferido. Numa concretização alternativa, o material de fase sólida condutor de líquido pode ser ensanduichado entre um tal material em bruto de folha resistente a água.

Quando inserido no alojamento, o ou cada elemento de teste está projectado para comunicar com a matriz de aplicação de amostras. Embora esta comunicação possa ser directa entre a matriz de aplicação de amostras e o suporte sólido condutor de líquido, numa concretização preferida de imunocromatografia, são incorporados elementos adicionais. Por exemplo, pode estar proporcionada uma almofada de conjugação. Em utilização, a almofada de conjugação está disposta entre a matriz de aplicação de amostras e o suporte sólido condutor de líquido do elemento de teste. Como irá ser discutido em maior detalhe abaixo, a almofada de conjugação proporciona uma matriz para a deposição de um reagente de detecção marcado que é livre de migrar quando rehidratado (o primeiro reagente de ligação específica na breve revisão da imunocromatografia proporcionada acima). A amostra é dessecada no interior da matriz de aplicação de amostras antes da inserção do elemento de teste. Na altura da rehidratação durante o passo de teste, o reagente de detecção marcado no interior da almofada de conjugação também é

ressuspenso e redissolvido. Se estiver presente analito na amostra, o reagente marcado liga-se ao analito e o complexo é transportado juntamente com a frente de solvente para a zona de detecção do elemento de teste. Embora a almofada de conjugação possa comunicar directamente não só com o suporte sólido condutor de líquido mas também com a matriz de aplicação de amostras, podem ser incorporados elementos adicionais como é discutido na secção de Descrição de Concretizações Preferidas que se segue.

Na extremidade do elemento de teste distal em relação à matriz de aplicação de amostras, quando em utilização, está fixa uma almofada absorvente opcional, em comunicação com o material de fase sólida condutor de líquido. Esta almofada proporciona um reservatório de solvente, que impulsiona a migração da amostra líquida através da zona de detecção. É importante que a almofada absorvente tenha volume suficiente para impulsionar a migração para que substancialmente todo o reagente de detecção marcado livre seja transportado além da zona de detecção do elemento de teste. Um especialista na arte irá reconhecer que uma almofada absorvente é um elemento não essencial. A necessidade deste elemento pode ser eliminada, por exemplo, ao prolongar o comprimento do material de fase sólida condutor de líquido além da zona de detecção de modo que seja transportado um volume suficiente através da zona de detecção.

Em utilização, é aplicada uma amostra à matriz de aplicação de amostras, de preferência através de uma abertura no alojamento que está em comunicação directa com a dita matriz. A amostra é aplicada à matriz de aplicação de amostras de uma maneira convencional. Por exemplo, pode ser aplicado um esfregaço fecal à matriz de aplicação de amostras. Em alternativa, a água de sanita pode sofrer amostragem utilizando uma zaragatoa absorvente. No último método de amostragem, pode ser permitido um curto tempo para a hemoglobina se difundir das fezes antes da amostragem, ou a zaragatoa pode ser utilizada para dispersar as fezes na água da sanita. A zaragatoa é em seguida utilizada para amostrar a água e transferi-la tocando ou "pintando" a matriz de recolha de amostras. A amostra líquida transferida é tipicamente quase sem cor.

Dependendo da natureza do analito, o dispositivo de teste com a amostra aplicada pode ser armazenado nesta forma durante um período de dias, semanas ou meses antes do teste. Para determinar a presença de um analito a amostra é rehidratada ao adicionar uma solução apropriada à matriz de aplicação de amostras. A solução pode ser adicionada através da mesma abertura(s) de alojamento através da qual a amostra foi aplicada. No entanto, na maioria dos casos é preferível proporcionar uma segunda abertura, ou série de aberturas, no alojamento através das quais o solvente é aplicado. Esta segunda abertura, ou série de aberturas, também está em comunicação com a matriz de aplicação de amostras. De preferência, o solvente aplicado através de uma abertura de aplicação de solvente tem de migrar através da região da matriz de aplicação de amostras onde a amostra foi realmente aplicada, antes de alcançar o ponto sobre a matriz de aplicação de amostras que comunica com o elemento de teste.

O reagente de detecção marcado pode ser introduzido no ensaio de imunocromatografia numa variedade de maneiras. Por exemplo, o reagente de detecção marcado pode ser dissolvido na solução utilizada para rehidratar o conteúdo da matriz de aplicação de amostras antes da redissolução dos componentes da amostra. Em alternativa, como foi discutido acima, o reagente de detecção marcado pode ser introduzido na solução na almofada de conjugação e dessecado *in situ*. Nesta concretização, o reagente de detecção marcado é redissolvido à medida que a solução redissolvida migra da matriz de aplicação de amostras para o elemento de teste. Ainda noutra concretização, uma solução contendo o reagente de detecção marcado pode ser adicionada à matriz de aplicação de amostras antes da aplicação da amostra. Esta solução é em seguida dessecada *in situ*. Nesta concretização, o analito de interesse, se presente e o reagente de detecção marcado irão ser dissolvidos a partir da matriz de aplicação de amostras seca na altura do teste.

Das concretizações descritas no parágrafo precedente, a utilização de uma almofada de conjugação é preferida para a maioria das concretizações. A adição do reagente de detecção marcado à solução de redissolução antes da redissolução da amostra tem a desvantagem de utilizar o reagente de detecção

dispendioso (que poderia necessitar armazenamento a 4°C) de uma maneira ineficaz. Em relação à dessecação *in situ* do reagente de detecção marcado na almofada de aplicação de amostra antes da aplicação de amostra, iria resultar no estabelecimento de um dispositivo de teste no qual o elemento de alojamento está dedicado a um ensaio particular. Um dos muitos benefícios do dispositivo descrito é o facto do alojamento (juntamente com outros elementos do dispositivo excluindo o elemento de teste) ser totalmente genérico. Deste modo, o componente de alojamento de teste do dispositivo de teste pode ser comprado a granel e armazenado como necessário para qualquer uma variedade de requisitos de teste. O componente específico de teste relativamente dispendioso é o elemento de teste que pode ser seleccionado para uma necessidade particular e utilizado em conjunto com o alojamento genérico.

De preferência o reagente de detecção marcado é um anticorpo policlonal ou monoclonal específico para um primeiro epitopo do analito de interesse, acoplado a um marcador detectável. O marcador detectável pode ser acoplado ao anticorpo através de qualquer uma das técnicas aplicáveis conhecidas na arte incluindo, por exemplo, ligação covalente e absorção passiva.

O marcador detectável pode ser um marcador directo ou um indirecto. Um marcador directo é um marcador que é visível de imediato no seu estado natural, a olho nu, ou com a ajuda de dispositivos ópticos. Um marcador que é visível só na presença de estimulação externa, tal como luz ultravioleta, também é considerado um marcador directo. Exemplos de marcadores directos incluem sol corante (por exemplo carbono coloidal), sol metálico (por exemplo ouro e ferro), partículas fluorescentes e partículas de látex coloridas.

Os marcadores indirectos requerem a adição de um ou mais reagentes de revelação, tal como substratos, para facilitar a detecção. Tais marcadores incluem, por exemplo, enzimas tais como fosfatase alcalina e peroxidase de rábano.

O reagente de captura imobilizado também é tipicamente um anticorpo monoclonal ou policlonal que é específico para

um segundo epitopo ou gama de epitopos no analito de interesse. Deste modo, o analito presente na amostra, ligado pelo reagente de detecção ou não, é ligado pelo reagente de ligação imobilizado na zona de detecção. Num caso em que é empregue um marcador directo, aparece uma linha visível sobre o suporte sólido condutor de líquido à medida que o marcador ligado se acumula na zona de detecção. A aparência desta linha pode ser um diagnóstico da presença do analito de interesse na amostra.

Também pode ser integrada uma zona de controlo opcional no elemento de teste. A função de uma zona de controlo é transportar um sinal irrelevante para o utilizador que só indica que o processo de teste está completo e que a interacção de ligação que resulta no sinal irrelevante detectável aconteceu como esperado. Por exemplo, a zona de controlo pode compreender um anticorpo policlonal imobilizado "anti-rato" para o material de fase sólida condutor de líquido, de preferência a jusante da zona de detecção. Assumindo que o reagente de detecção é um anticorpo monoclonal murino, ligado a um marcador detectável, os reagentes de detecção não ligados na zona de detecção através de uma interacção de sanduíche envolvendo o analito de interesse irão ligar-se em última análise na zona de controlo. Na ausência de um sinal na zona de detecção, um sinal de zona de controlo iria indicar ao utilizador que, por exemplo, a amostra não continha nada que resultasse em interferência geral com um ensaio imunológico. Pode-se imaginar, por exemplo, que concentrações extremas de pH ou sal podiam resultar em interferência geral através de alterações adaptáveis ou destruição física de um ou mais dos participantes na interacção com base imunológica a ser detectada. A inclusão de uma zona de controlo funciona para proporcionar um grau de confiança em relação a tais variáveis.

O analito de interesse é determinado antecipadamente sendo um que seja diagnóstico de uma patologia particular. Por exemplo, em ligação com testes POB, o analito de interesse é de preferência hemoglobina humana.

O método e aparelho do presente invento são aplicáveis à detecção de analitos em seres humanos e outros animais. Outros animais incluem primatas, gado (por exemplo vacas, ovelhas, cavalos, burros, porcos), animais para testes de laboratório (por exemplo coelhos, ratos, ratazanas, porquinhos da índia, hamsteres), animais de companhia (por exemplo cães, gatos) e animais selvagens em cativeiro. O presente invento também se estende à detecção de analitos em plantas (por exemplo monocotiledóneas e dicotiledóneas) e outras formas de vida (por exemplo micróbios, leveduras, fungos, bolores). O presente invento também pode ser utilizado para detectar analitos em localizações geográficas e industriais, incluindo solo, oceanos, rios, regiões de armazenagem de água, lixeiras tóxicas, sítios de construção, áreas mineiras (por exemplo carvão, bauxita, urânio, grafite entre muitos outros) bem como no ar. O estado de saúde dos seres humanos e outros animais ou plantas ou outras formas de vida pode se deduzido ou determinado na presença ou nível de analito ou pela ausência de analito. O estado ambiental também pode ser averiguado tal como ao determinar a presença de contaminantes em várias localizações geográficas ou industriais.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

A FIG. 1 é uma vista em perspectiva da frente do dispositivo do presente invento.

A FIG. 2 é uma vista em perspectiva da traseira do dispositivo do presente invento.

A FIG. 3 é uma vista em corte transversal explodida do elemento de teste do presente invento.

A FIG. 4 é uma vista em corte transversal do dispositivo do presente invento ao longo da linha 4-4 na FIG. 2B.

A FIG. 5 é uma vista de cima do dispositivo do presente invento tal como é mostrado na forma pré-dobrada.

A FIG. 6 é uma vista de cima de uma concretização alternativa do dispositivo do presente invento, mostrada na forma pré-dobrada.

DESCRIÇÃO DE CONCRETIZAÇÕES PREFERIDAS

Apenas a título de exemplo, certas concretizações preferidas do invento irão ser descritas agora em detalhe com referência aos desenhos em anexo.

Com referência à FIG. 1, o dispositivo de teste do presente invento é mostrado como configurado para a detecção de sangue fecal oculto nas fezes por métodos imunocromatográficos. A FIG. 1A mostra o dispositivo do presente invento com uma cobertura de painel frontal (10) compreendendo duas abas de cobertura de aplicação de amostra (11 e 13) na posição fechada. Ao elevar a aba (11), um paciente expõe uma primeira abertura de aplicação de amostras (14) no painel frontal (17) do dispositivo (FIG. 1B). A primeira abertura de aplicação de amostras está em comunicação com uma matriz de aplicação de amostras (18) (mostrada na FIG. 4). A amostra é aplicada à matriz de aplicação de amostras (18) por intermédio da abertura de aplicação de amostras (14). A seguir à aplicação da amostra, a aba de cobertura (11) é fechada e selada. É proporcionado para este fim um adesivo sensível à pressão com uma faixa posterior removível (19). O processo é em seguida repetido num segundo dia consecutivo e a amostra é aplicada por intermédio da abertura de aplicação de amostras localizada por trás da aba (13). Embora a concretização mostrada nas FIGS. 1A e 1B só tenha duas aberturas de aplicação de amostras, isto destina-se a ser não limitativo. O dispositivo de teste selado é em seguida encaminhado para o consultório de um médico ou laboratório de teste para determinação dos resultados do teste.

Após recepção, um técnico no consultório do médico ou laboratório de teste abre a janela de teste (25) localizada na cobertura de painel traseiro (23), como é mostrado na FIG. 2A. São proporcionadas perfurações para a abertura e remoção da janela de teste para facilitar o acesso. A abertura ou remoção da janela de teste (25) revela várias aberturas que

caracterizam o painel traseiro (16). Estas incluem aberturas de aplicação de solvente (27 e 29) e abertura de inserção de elemento de teste (31). Em seguida é inserido um elemento de teste (33) na abertura de inserção de elemento de teste (31). O elemento de teste (33) contém um reagente que permite a detecção do analito de interesse na amostra.

O elemento de teste é mostrado na FIG. 3 em corte transversal explodido. O elemento de teste é compreendido por um material de fase sólida condutor de líquido (35) que de preferência é uma membrana de nitrocelulose. Para facilitar o manuseamento, é proporcionada uma folha de reforço (39). Os plásticos não absorventes tais como o "lexan" ou o poliestireno são materiais de folha de reforço preferidos. As concretizações preferidas incluem também uma ou mais camadas de material de condução de líquido de alta capacidade referido neste documento como "camadas de ligação em ponte". É mostrada uma camada de ligação em ponte (38) na FIG. 3. Na concretização da FIG. 3, está disposta uma almofada de conjugação (37) entre a camada de ligação em ponte (38) e o material de fase sólida condutor de líquido (35). Como foi discutido acima em ligação com as concretizações imunocromatográficas preferidas, a almofada de conjugação contém reagente de detecção marcado dessecado in situ. Também está proporcionada uma almofada absorvente (41) como um componente do elemento de teste (33). A almofada absorvente (41) funciona como um reservatório de solvente impulsionando por esse meio a migração da frente de solvente. Os elementos mostrados na FIG. 3 são montados utilizando um adesivo não solúvel em água. Será evidente que a sobreposição dos elementos tais como a camada de ligação em ponte (38) e a almofada de conjugação (37) cria um efeito de cunha progressivo que resulta em bom contacto condutor de líquido entre a matriz de aplicação de amostras (18) e o elemento de teste (33), a seguir à inserção do elemento de teste (33) na abertura de inserção de elemento de teste (31). O reagente de captura imobilizado está fixo ao material de fase sólida condutor de líquido criando por esse meio uma zona de detecção (43) sobre o elemento de teste (33).

A FIG. 4 é um corte transversal do dispositivo com o elemento de teste (33) inserido. A FIG. 4 mostra muitos dos

elementos discutidos previamente incluindo, por exemplo, o elemento de teste (33) e elementos individuais do mesmo (almofada absorvente (41), material de fase sólida condutor de líquido (35), almofada de conjugação (37), camada de ligação em ponte (38) e folha de reforço (39)); aba de cobertura de aplicação de amostra (13); painel frontal (17) com abertura de aplicação de amostras (15); painel traseiro (16); cobertura de painel traseiro (23) com janela de teste (25); e matriz de aplicação de amostras (18). Também é mostrado um elemento opcional não discutido previamente. Este elemento opcional é referido como um painel de espaçamento (42). O painel de espaçamento, que é mostrado em maior detalhe na FIG. 5, funciona para criar um espaço vazio de inserção de elemento de teste entre a matriz de aplicação de amostras (18) e o painel frontal (17) no dispositivo montado. O painel de espaçamento (42) inclui uma segunda abertura de inserção de elemento de teste (44) e ponto gravado em relevo (48) também mostrado na FIG. 5. Tal como é mostrado na FIG. 4, quando o elemento de teste (33) é inserido, ocupa este espaço vazio de inserção de elemento de teste. O efeito de cunha progressivo referido previamente em ligação com a FIG. 3 resulta num bom contacto condutor de líquido entre a matriz de aplicação de amostras (18) e o elemento de teste (33).

Referindo de novo a FIG. 4, a seguir à inserção do elemento de teste, o técnico rehidrata a amostra ao adicionar um solvente à matriz de aplicação de amostras (18) por intermédio da abertura de solvente (29) no painel traseiro (16). O solvente solubiliza os componentes de amostra na matriz de aplicação de amostras (18) e transporta os componentes dissolvidos através da camada de ligação em ponte (38) e para a almofada de conjugação (37) com a frente de solvente. Na almofada de conjugação (37), o reagente de detecção marcado é dissolvido e liga-se ao analito se estiver presente na amostra. A frente de solvente e quaisquer materiais solúveis transportados com a frente de solvente, em seguida movem-se para cima do material de fase sólida condutor de líquido (35). Se estiver presente analito na amostra, forma-se na zona de detecção (43) um complexo detectável visivelmente compreendendo analito, reagente de detecção marcado e reagente de captura imobilizado.

Numa concretização preferida, a cobertura de painel frontal (10), cobertura de painel traseiro (23), painel frontal (17), painel traseiro (16) e painel de espaçamento (42) são produzidos a partir de uma única folha de material em bruto por corte e dobragem apropriados. Com referência à FIG. 5, é proporcionada uma folha de material em bruto geralmente rectangular. As aberturas de aplicação de solvente (27 e 29) e uma abertura de inserção de elemento de teste (31) são cortadas no painel traseiro (16). As aberturas de aplicação de amostras (14 e 15) são cortadas no painel frontal (17). O contorno da janela de diagnóstico (25) é perfurado na cobertura de painel traseiro (23). A cobertura de painel frontal (10) é cortada para formar duas abas (11 e 13) que irão selar as aberturas de aplicação de amostras a seguir à aplicação de amostra. É proporcionado adesivo sensível à pressão (19) para selar as abas de cobertura de aplicação de amostra (11 e 13). O painel de espaçamento (42) é cortado para proporcionar uma segunda abertura de inserção de elemento de teste (44). Além disso, o painel de espaçamento (42) é opcionalmente gravado em relevo em pontos gravados em relevo (46 e 48). Como uma alternativa aos pontos gravados em relevo (46 e 48), podem ser fixos elementos espaçadores opcionais ao painel de espaçamento (42) utilizando um adesivo. A função dos pontos gravados em relevo opcionais (46 e 48) ou dos elementos espaçadores opcionais alternativos, é aumentar o espaço vazio de inserção de elemento de teste entre a matriz de aplicação de amostras (18) e o painel frontal (17) no dispositivo montado, se for desejável. Se forem ou não incluídos tais elementos opcionais dependendo, por exemplo, da espessura relativa da matriz de aplicação de amostras (18) e do material em bruto a partir do qual o alojamento é produzido. São feitas dobras ao longo das linhas D-D, C-C, B-B, e A-A para formar o alojamento. Antes da dobragem, a matriz de aplicação de amostras é posicionada correctamente e é aplicado um adesivo em localizações apropriadas para ajudar a manter a relação dos elementos no interior do alojamento dobrado.

É mostrada na FIG. 6, uma concretização alternativa do dispositivo do presente invento, tal como foi descrito em detalhe nas FIGS. 1 a 5, que incorpora mais do que um elemento de teste inserível. Nesta concretização o painel

traseiro (16) está provido de duas aberturas de inserção de elemento de teste (31, 32) e a matriz de aplicação de amostras (18) está configurada de maneira a proporcionar bom contacto condutor de líquido entre a matriz de aplicação de amostras (18) e os elementos de teste individuais (33) inseridos em cada abertura (31, 32). O painel de espaçamento (42) inclui duas segundas aberturas de inserção de elemento de teste (44, 45) correspondendo em posição às aberturas (31, 32) de maneira que os elementos de teste individuais (33) ocupem cada um o espaço vazio de elemento de teste como previamente descrito e cada um esteja em bom contacto condutor de líquido com a matriz de aplicação de amostras. Como é claro, podem ser configurados dispositivos similares para serem utilizados com mais do que dois elementos de teste inseríveis. Como foi descrito previamente, nesta concretização alternativa, os dois ou mais elementos de teste inseríveis (33) podem ser o mesmo (proporcionando testes duplicados da mesma amostra aplicada à matriz de aplicação de amostras), ou podem ser elementos de teste diferentes (de maneira a proporcionar testes diferentes da mesma amostra aplicada à matriz de aplicação de amostras). Numa concretização particularmente preferida para ser utilizada no teste FOB, um elemento pode ser um elemento de teste com base em guaiaco e o outro elemento pode ser um elemento de teste imunocromatográfico.

Para além da acumulação e agregação de amostras de origem temporal discreta (isto é amostras recebidas em dias separados) como foi discutido neste documento acima, o presente invento pode ser utilizado vantajosamente para acumular e agregar amostras de origem biológica e/ou espacial discretas.

Um exemplo de amostras distintas espacialmente inclui amostras de solo e/ou água subterrânea obtidas a partir de várias fontes e/ou localizações geográficas distintas. Desta maneira, para além das aplicações de diagnóstico médico descritas acima, o presente invento pode ser utilizado em testes não médicos, tais como para detecção de toxinas ambientais.

Exemplos de amostras biologicamente distintas incluem urina, sangue, suor e saliva, que podem ser particularmente úteis em aplicações tais como triagem de medicamentos, nas quais um analito particular pode estar presente numa ou mais de tais amostras.

As amostras podem ser aplicadas substancialmente em qualquer forma, isto é, líquida ou seca e podem ser aplicadas a uma ou mais localizações da matriz de aplicação de amostras 18. Por exemplo, podem estar providas várias aberturas de aplicação de amostras (14, 15, etc.), com uma única amostra a ser aplicada a cada abertura. Em alternativa, pode ser aplicada uma pluralidade de amostras a uma única abertura de aplicação. A este respeito, as amostras líquidas podem ser misturadas num dispositivo separado (isto é um tubo de teste), antes da aplicação a uma abertura de amostra. Similarmente, pode ser possível aplicar múltiplas amostras líquidas sequencialmente a uma única abertura de aplicação. Num exemplo desta abordagem, as amostras líquidas podem ser deixadas secar in situ antes da aplicação de amostras subsequentes.

Também podem ser aplicadas à matriz amostras líquidas subsequentes sem ter de esperar que as amostras líquidas aplicadas anteriormente sequem, tal como com um conta gotas, etc., pelo que as amostras líquidas irão ser absorvidas pela matriz. Estas amostras líquidas misturadas podem ser dessecadas subsequentemente in situ. Um especialista na arte irá reconhecer que o número de amostras que podem ser aplicadas desta maneira é limitado pela porosidade e volume da matriz, isto é não podem ser aplicadas amostras adicionais assim que a matriz esteja totalmente saturada.

Similarmente, as amostras sólidas ou secas, por exemplo amostras secas sobre discos de papel, podem ser acumuladas por empilhamento dos discos no interior de uma única abertura. A subsequente aplicação de líquido para hidratar a matriz solubiliza as amostras, permitindo que passem através do material de disco de papel poroso e se agreguem da maneira descrita acima neste documento.

A utilização do invento tal como foi descrito permite vantajosamente a identificação de analitos expressos intermitentemente, como é o caso de testes FOB de múltiplos dias para sangramento intermitente. Além disso, o invento permite a triagem com sucesso no caso dos níveis de analito serem baixos, talvez abaixo do limite de detecção para uma única amostra, ao agregar o sinal gerado por múltiplas amostras para o elevar para níveis que podem ser detectados.

Os especialistas na arte irão reconhecer que qualquer combinação das amostras mencionadas anteriormente, tal como qualquer combinação de amostras secas e líquidas, de origem temporal, espacial, biológica distinta e/ou não distinta, pode ser aplicada a uma única localização ou múltiplas sobre a matriz de aplicação de amostras, sem afastamento do espírito e âmbito do presente invento.

EXEMPLIFICAÇÃO

CONSTRUÇÃO DO DISPOSITIVO DE TESTE

Foram fabricados elementos de teste por laminação dos seguintes componentes para um suporte de plástico branco (poliestireno de alto impacto, 0,5 mm), revestido numa superfície com adesivo (fita de transferência #465 da 3M, St. Paul, MN), como é mostrado na FIG. 3:

- 1) membrana de nitrocelulose (Tipo STHF0200, 18mm da Millipore, Bedford, MA,) com listas com anticorpo monoclonal de hemoglobina anti-humana a 2mg/ml;
- 2) absorvente para a almofada absorvente (Grade 904, 18mm da Ahlstrom, Mt. Holly Spring, PA,);
- 3) almofada de conjugação (10mm de fita polida UHMWPE de 25 micron da General Polymeric, Reading, PA), infiltrada e seca in situ com anticorpo policlonal de hemoglobina anti-humana conjugada com ouro coloidal (EY Laboratories, San Mateo, CA); e
- 4) papel condutor para camada de ligação em ponte (Grade 1281 da Ahlstrom).

A seguir à laminação, foram abertas fendas na banda em intervalos de 6 mm para formar elementos de teste individuais.

Foram fabricados alojamentos (73 mm x 76,2 mm), tal como representado na FIG. 5, a partir de cartão à prova de água SBS (poli-revestido). A matriz de aplicação de amostras (Porex, Fairburn, GA, HDPE Tipo 4588) foi aplicada ao painel traseiro do alojamento com adesivo de transferência (3M, #465).

EXEMPLO 1

Foi diluído sangue humano 1:10000 e 1:100000 em água destilada. Para cada uma das diluições do sangue e para uma amostra de controlo de água destilada, foi adicionado 25 µl a cada uma das duas aberturas de aplicação de amostras de um dispositivo de teste e deixada secar ao ar durante duas horas. 100 µl de reagente de reconstituição (P.B.S. contendo 0,5% de albumina de soro bovino, 1% Triton X100 e 0,1% azida de sódio) foi adicionado a cada abertura de aplicação de solvente e inserida uma faixa de teste. Desenvolveu-se uma linha vermelha clara sobre a faixa de teste com as duas diluições de sangue, isto é detecção positiva, ao passo que a amostra de água não forneceu nenhum sinal detectável (isto é um resultado negativo).

Numa experiência de outro modo idêntica, as mesmas diluições de sangue foram adicionadas (25 µl para cada) a cartões Hemocult (SmithKline Diagnostics, Palo Alto, CA) e a uma almofada de teste (um dispositivo para detectar sangue na água da sanita, que é adicionado directamente à sanita) ColoCare (Helena Laboratories, Beaumont, TX).

RESULTADOS

	10^{-4}	10^{-5}	Água
Hemocult	+	-	-
ColoCare	+	-	-
Dispositivo do presente invento	+	+	-

EXEMPLO 2

Foi adicionado sangue humano fresco (50 µl) à água numa sanita (~2L). Após total dispersão do sangue adicionado, a água foi sujeita a amostra com uma zaragatoa Dacron (produtos Hardwood, Guildford, ME) e transferida para um cartão Hemoccult e para a matriz de aplicação de amostras do dispositivo do presente invento. A seguir à amostragem, foi adicionada uma almofada ColoCare à sanita e observou-se qualquer alteração na cor.

RESULTADOS

O dispositivo do presente invento detectou de imediato o sangue, ao passo que a água retirada da sanita antes da adição do sangue deu teste negativo. Os testes Hemoccult e ColoCare permaneceram claramente negativos com a água à qual o sangue tinha sido adicionado.

Lisboa, 2008-08-07

REIVINDICAÇÕES

1 - Dispositivo de teste para a identificação de um analito de interesse numa amostra, que compreende:

- a) um alojamento tendo uma matriz de aplicação de amostras para recepção de uma amostra, e
- b) pelo menos, um elemento de teste inserível, o qual, ao ser inserido no alojamento, entra em comunicação directa por condução de líquido com a matriz de aplicação de amostras, de modo que os componentes da amostra são transportados da matriz de aplicação de amostras para os elementos ou elemento de teste.

2 - Dispositivo de teste de acordo com a reivindicação 1, em que a matriz de aplicação de amostras é para:

- a)
 - i. a recepção de uma amostra contendo líquido;
 - ii. a dessecação da amostra contendo líquido in situ; e
 - iii. a rehidratação da amostra contendo líquido dessecada, para transferência para um elemento de teste; e
- b) quando o, pelo menos, um elemento de teste inserível entra em comunicação directa por condução de líquido com a matriz de aplicação de amostras após rehidratação, os ditos componentes da amostra redissolvidos ou ressuspensos são transportados da matriz de aplicação de amostras para os elementos ou elemento de teste.

3 - Dispositivo de teste de acordo com a reivindicação 1, para a identificação de um analito de interesse, no qual o alojamento compreende ainda:

- a) um painel frontal que tem, pelo menos, uma abertura de aplicação de amostras;

b) um painel traseiro que tem, pelo menos, uma abertura de aplicação de solvente; e

c) uma matriz de recolha de amostras, disposta entre o painel traseiro e o painel frontal, estando a matriz de recolha de amostras em comunicação com as aberturas de aplicação de amostras e solvente dos painéis frontal e traseiro.

4 - Dispositivo de teste de acordo com a reivindicação 3, em que o ou cada elemento de teste inserível compreende um reagente ou reagentes, que permitem a detecção do analito de interesse.

5 - Dispositivo de teste de acordo com a reivindicação 3, que compreende ainda uma cobertura de painel frontal e uma cobertura de painel traseiro, as quais, quando fechadas, restringem o acesso à abertura de aplicação de amostras e à abertura de aplicação de solvente.

6 - Dispositivo de teste de acordo com a reivindicação 5, compreendendo ainda um painel de espaçamento, disposto entre o painel frontal e o painel traseiro, estando o dito painel de espaçamento projectado para criar um espaço vazio de inserção de elemento de teste, entre a matriz de aplicação de amostras e o painel frontal no dispositivo montado.

7 - Dispositivo de teste de acordo com a reivindicação 1, em que:

a) a matriz de aplicação de amostras está adaptada para recepção de uma pluralidade de amostras em localizações discretas sobre a mesma e para agregação das amostras;

b) quando da inserção do, pelo menos, um elemento de teste e hidratação, os componentes dissolvidos ou suspensos da dita pluralidade de amostras são transportados da dita matriz de aplicação de amostras para os ditos elementos ou elemento de teste, nos quais pode ser realizado um único teste para determinar simultaneamente a presença do analito de interesse numa pluralidade de amostras, que têm origem discreta.

8 - Dispositivo de teste de acordo com a reivindicação 7, em que a dita matriz de aplicação de amostras está adaptada para a recepção de uma amostra seca.

9 - Dispositivo de teste de acordo com a reivindicação 1, em que:

a) o alojamento tem, pelo menos, um orifício de amostras, que pode ser aberto e selado selectivamente para admissão e manutenção, de modo selado, de uma pluralidade de amostras no seu interior e, pelo menos, um orifício de teste, adaptado para inserção dos elementos ou elemento de teste no seu interior;

b) a matriz de aplicação de amostras está disposta no interior do dito alojamento, em comunicação com o dito, pelo menos, um orifício de amostras e o dito, pelo menos, um orifício de teste, e está adaptada para:

i. recepção da pluralidade de amostras; e

ii. agregação da pluralidade de amostras, em que a pluralidade de amostras de origem discreta está adaptada para ser aplicada e selada no interior do dito dispositivo de teste e, subsequentemente, testadas no agregado;

c) o, pelo menos, um elemento de teste inserível está adaptado para a inserção no alojamento através do ou de cada dito orifício de teste, para teste da pluralidade de amostras.

10 - Dispositivo de teste de acordo com a reivindicação 9, em que a dita matriz de aplicação de amostras está adaptada para receber a pluralidade de amostras numa única localização na mesma.

11 - Dispositivo de teste de acordo com a reivindicação 10, em que a pluralidade de amostras são misturadas umas com as outras antes de serem recebidas pela dita matriz.

12 - Dispositivo de teste de acordo com a reivindicação 9, em que a dita matriz de aplicação de amostras está adaptada para receber a pluralidade de amostras em localizações discretas na mesma, estando a dita matriz adaptada para agregar as amostras após a dita inserção dos elementos ou elemento de teste.

13 - Dispositivo de teste de acordo com a reivindicação 9, em que o dito, pelo menos, um orifício de amostras compreende ainda uma pluralidade de orifícios de amostras que podem ser abertos e selados selectivamente, para admitirem e manterem de um modo selado a pluralidade de amostras no interior dos mesmos.

14 - Dispositivo de teste de acordo com a reivindicação 8, em que a dita matriz de aplicação de amostras está ainda adaptada para hidratação da pluralidade de amostras.

15 - Dispositivo de teste de acordo com a reivindicação 14, em que, pelo menos, uma da pluralidade de amostras contém líquido e a dita matriz de aplicação de amostras está ainda adaptada para:

dessecação da, pelo menos, uma da pluralidade de amostras in situ;

rehidratação da, pelo menos, uma amostra dessecada; e

agregação dos componentes redissolvidos ou ressuspensos da dita, pelo menos, uma amostra com, pelo menos, uma outra da pluralidade de amostras para teste.

16 - Dispositivo de teste de acordo com a reivindicação 1 para a identificação de um analito de interesse a partir de uma pluralidade de amostras, pelo menos, uma da pluralidade de amostras, que contém líquido, no qual a matriz de aplicação de amostras está adaptada para:

recepção da pluralidade de amostras em localizações discretas na mesma;

dessecação da, pelo menos, uma da pluralidade de amostras in situ;

hidratação da pluralidade de amostras; e

agregação dos componentes dissolvidos ou suspensos da pluralidade de amostras líquidas para análise do analito, em que pode ser realizado um único teste para determinar simultaneamente a presença do analito de interesse numa pluralidade de amostras tendo origem discreta.

17 - Dispositivo de teste de acordo com a reivindicação 1 ou 3, em que a ou cada faixa de teste inserível é uma faixa de teste imunocromatográfico, que compreende, de preferência, um material de fase sólida condutor de líquido fixo a um material de reforço.

18 - Dispositivo de teste de acordo com a reivindicação 17, em que a ou cada faixa de teste imunocromatográfico é composta por uma zona de contacto que, a seguir à inserção, contacta a matriz de recolha de amostras e conduz uma frente de solvente da matriz de recolha de amostras através de uma zona de detecção, a qual contém um reagente de ligação específico, sendo a zona de detecção espacialmente distinta da zona de contacto.

19 - Dispositivo de teste de acordo com a reivindicação 18, em que o reagente de ligação específico na zona de detecção é um anticorpo específico para um componente do sangue humano, de preferência hemoglobina ou um fragmento da mesma.

20 - Método para condução de um ensaio para identificação de um analito de interesse numa amostra, que compreende:

a) o fornecimento de um dispositivo de teste, que compreende um alojamento, que tem uma matriz de aplicação de amostras para recepção de uma amostra;

b) a aplicação de uma amostra à matriz de aplicação de amostras;

c) a inserção no dispositivo de teste de, pelo menos, um elemento de teste inserível, o qual, quando da inserção no alojamento, entra em comunicação directa por condução de líquido com a matriz de aplicação de amostras, de modo que os componentes da amostra são transportados da matriz de aplicação de amostras para os elementos ou elemento de teste; e

d) a determinação dos resultados do teste.

21 - Método de acordo com a reivindicação 20, que tem as características definidas em qualquer das reivindicações 2 a 18.

22 - Método de acordo com a reivindicação 20, em que o analito de interesse é uma molécula de interacção imune, de preferência, um anticorpo, um antigénio, um hapteno, um a imunoglobulina ou uma molécula de ligação a antigénio, derivada de célula T, ou uma molécula capaz de interacção com a mesma.

23 - Método de acordo com a reivindicação 22, em que o analito de interesse é um antigénio ou um hapteno que é um indicador de diagnóstico de um estado patológico num organismo, de preferência, um ser humano.

24 - Método de acordo com a reivindicação 23, em que o estado patológico é seleccionado do grupo que consiste em cancro e infecção patogénica.

25 - Método para teste da presença de um analito de interesse, utilizando o método da reivindicação 20, em que o analito de interesse é um antigénio ou um hapteno, que é um contaminante em alimentos ou água.

26 - Método de acordo com a reivindicação 23, em que o estado patológico é caracterizado por sangramento gastrointestinal oculto em que, de preferência, o analito de interesse é a hemoglobina, ou um fragmento da mesma.

27 - Método de acordo com a reivindicação 19, em que a amostra é material fecal.

28 - Método de acordo com a reivindicação 26, em que o material fecal é obtido por amostragem de água da sanita.

29 - Método de acordo com a reivindicação 20, que compreende:

a) o fornecimento de um dispositivo de teste tal como definido na reivindicação 3;

b) a aplicação de uma amostra que contém líquido à matriz de aplicação de amostras;

c) a inserção no dispositivo de teste de, pelo menos, um elemento de teste inserível em comunicação por condução de líquido com a matriz de aplicação de amostras, compreendendo o ou cada dito elemento de teste faixas de teste como definido nas reivindicações 16 e 17.

d) a aplicação de solvente à matriz de aplicação de amostras; e

e) a determinação dos resultados do teste ao observar resultados imunocromatográficos.

30 - Método de acordo com a reivindicação 20, em que a amostra é um fluido corporal ou excrementos.

31 - Método de acordo com a reivindicação 20 para teste de uma pluralidade de amostras, que utiliza o dispositivo de teste de acordo com a reivindicação 8, em que a pluralidade de amostras é de origem temporal discreta, ou origem espacial discreta ou origem biológica discreta e em que a pluralidade de amostras são agregadas e é utilizado um único teste para determinar simultaneamente a presença do analito de interesse na pluralidade de amostras.

32 - Método de acordo com a reivindicação 20, em que uma pluralidade de amostras é aplicada à matriz, utilizando por

isso um único teste para determinar simultaneamente a presença do analito de interesse na pluralidade de amostras.

33 - Método de acordo com a reivindicação 32, em que a pluralidade de amostras é hidratada para agregar os componentes da pluralidade de amostras para análise do analito.

34 - Método de acordo com a reivindicação 32, em que as amostras são misturadas antes da sua aplicação à matriz.

35 - Método de acordo com a reivindicação 34, em que as amostras são misturadas num estado líquido.

36 - Método de acordo com a reivindicação 34, em que as amostras são misturadas num estado seco.

37 - Método de acordo com a reivindicação 34, em que a pluralidade de amostras são empilhadas num estado seco na matriz de aplicação de amostras.

Lisboa, 2008-08-07

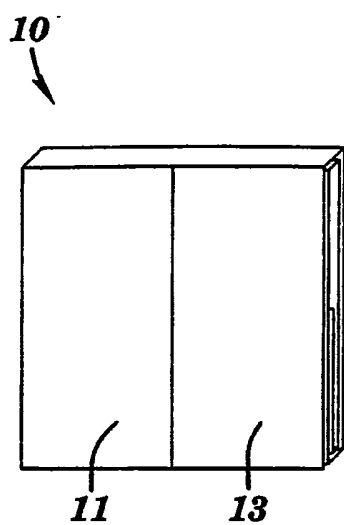
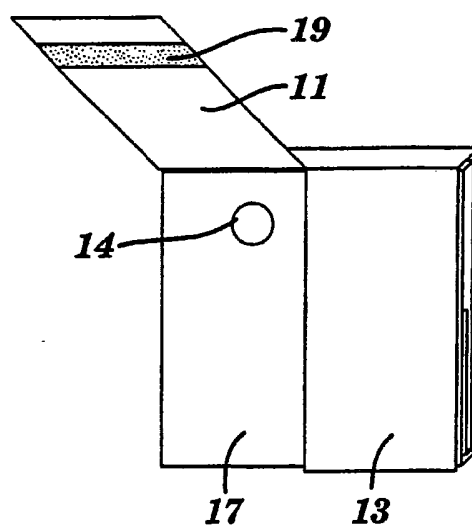
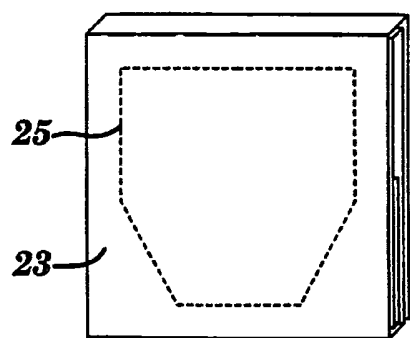
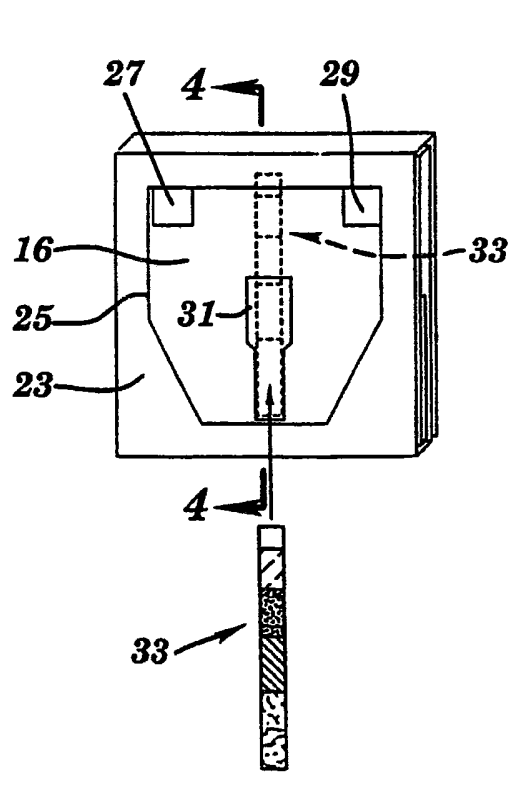
**FIG. 1A****FIG. 1B****FIG. 2A****FIG. 2B**

FIG. 3

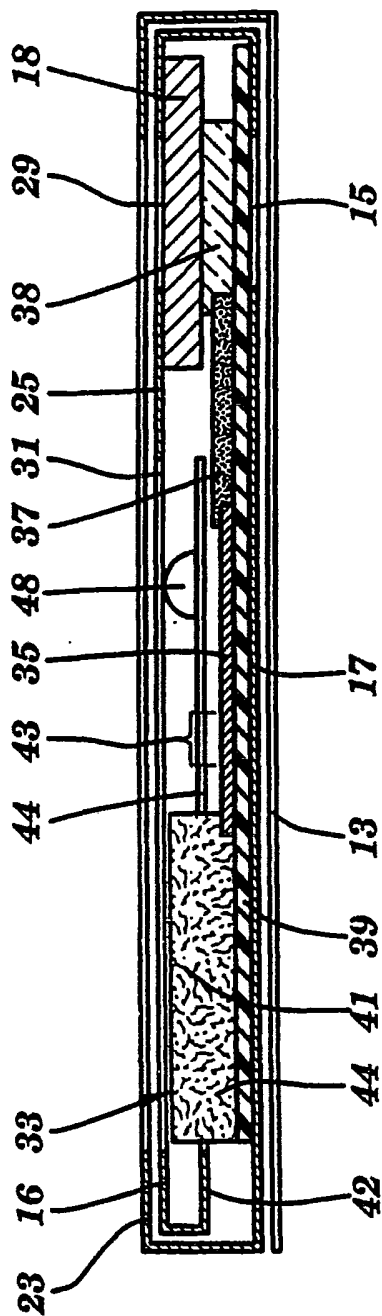
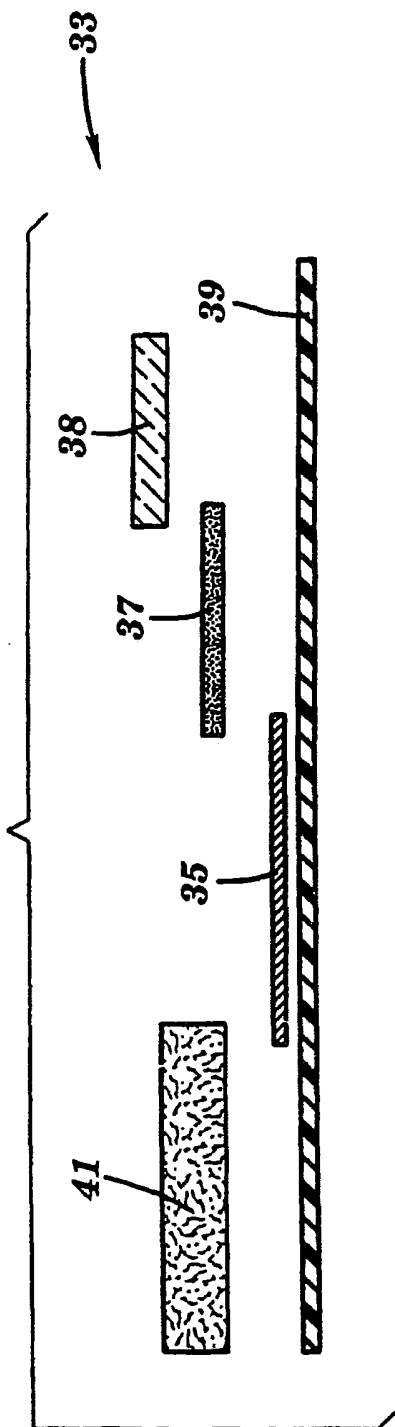
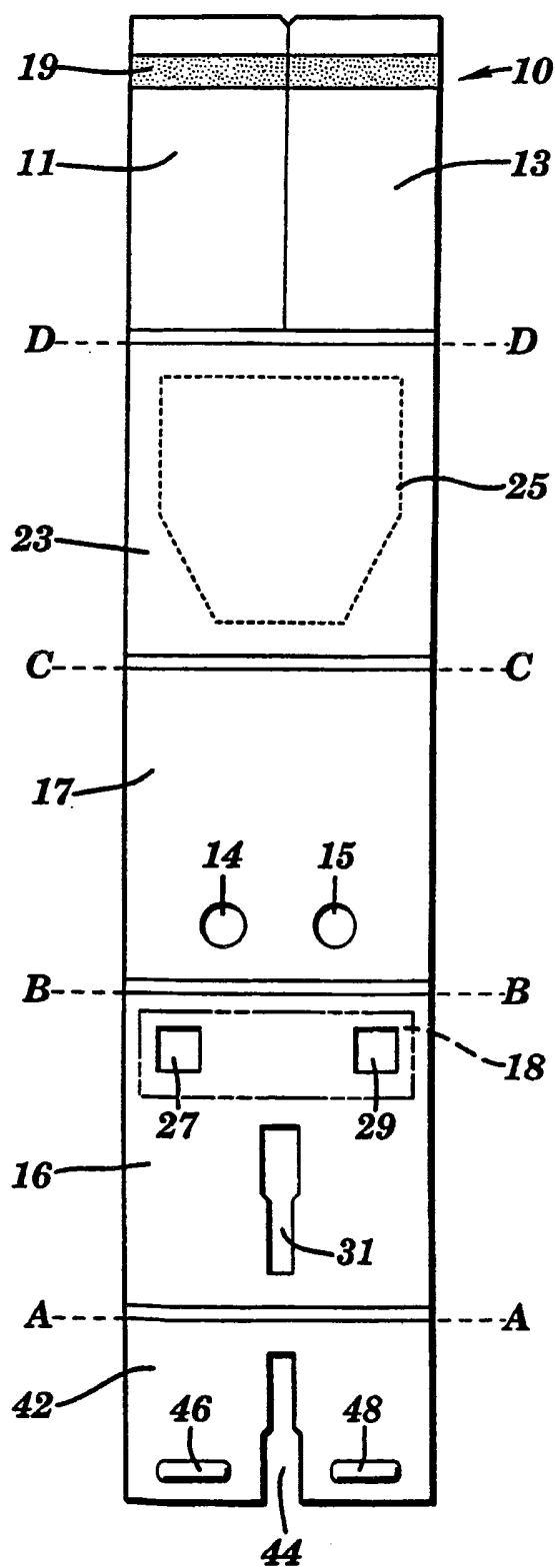
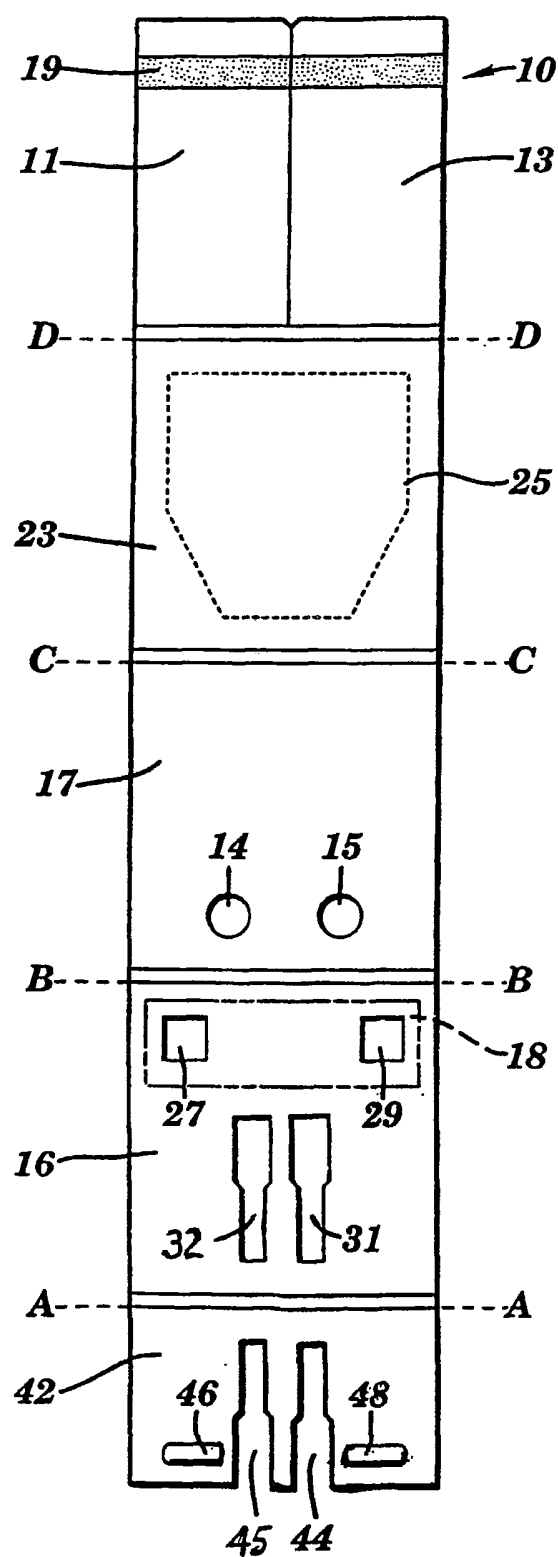


FIG. 4

**FIG. 5**

**FIG. 6**