



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0704641-3 B1



(22) Data do Depósito: 28/11/2007

(45) Data de Concessão: 03/12/2019

(54) Título: KIT DE TESTE RÁPIDO E MÉTODO PARA DETECÇÃO E LOCALIZAÇÃO DE ÚLCERAS E OUTROS SANGRAMENTOS DO TRATO DIGESTIVO EM EQUINOS UTILIZANDO ANTICORPOS MONOCLONAIS E POLICLONAIS DE HEMOGLOBINA E ALBUMINA EQUINA

(51) Int.Cl.: G01N 33/577; G01N 33/549; G01N 33/545; G01N 33/532; G01N 33/68; (...).

(30) Prioridade Unionista: 28/11/2006 US 11/563,998.

(73) Titular(es): FREEDOM HEALTH, LLC.

(72) Inventor(es): FRANKLIN L. PELLEGRINI; SCOTT D. CARTER.

(57) Resumo: KIT DE TESTE RÁPIDO E MÉTODO PARA DETECÇÃO E LOCALIZAÇÃO DE ÚLCERAS E OUTROS SANGRAMENTOS DO TRATO DIGESTIVO EM EQUINOS UTILIZANDO ANTICORPOS MONOCLONAIS E POLICLONAIS DE HEMOGLOBINA E ALBUMINA EQUINA. Um kit para teste e diagnóstico e método relacionado para o uso dos mesmos são revelados os quais derivam e utilizam anticorpos para albumina equina e hemoglobina equina em aparelhos de teste, kits, e métodos para detectar e localizar úlceras gástricas e do cólon ou sangramento em cavalos. Lançamentos fecais de um cavalo a serem analisados são colocados num recipiente junto com uma solução líquida tamponada e misturados vigorosamente, seguido do que várias gotas de líquido do recipiente são colocadas dentro de um kit de teste. Marcações visuais nos kits de teste significam a detecção dos indicadores de hemoglobina equina e albumina equina, que são respectivamente indicativas da presença de úlceras gástricas e/ou do cólon ou sangramento.

“KIT DE TESTE RÁPIDO E MÉTODO PARA DETECÇÃO E LOCALIZAÇÃO DE ÚLCERAS E OUTROS SANGRAMENTOS DO TRATO DIGESTIVO EM EQUINOS UTILIZANDO ANTICORPOS MONOCLONAIS E POLICLONAIS DE HEMOGLOBINA E ALBUMINA EQUINA”

5 Fundamento da Invenção

Campo da Invenção

A presente invenção se refere de modo geral, e mais particularmente a anticorpos de hemoglobina eqüina e albumina eqüina e o uso destes em kits e aparelhos de análise e métodos para detectar e localizar úlceras gástricas e do cólon e outros sangramentos do trato digestivo em cavalos.

Antes de discutirmos o teste e o diagnóstico de úlceras em cavalos, é benéfico discutirmos a anatomia um tanto exclusiva do trato digestivo de cavalos a qual contribui para uma alta incidência de úlceras do trato digestivo em cavalos. No caso de seres humanos e na maioria dos outros animais, o ácido gástrico é secretado no estômago em resposta a ingestão de alimento. Ao contrário, cavalos desenvolveram ao longo de milênios como animais que se alimentam aos poucos (comendo lentamente, mas mais ou menos continuamente ao longo de quase todo o dia), e seus sistemas digestivos estão destinados a tal dieta, com uma produção contínua de sucos gástricos e secreção de bÍlis dentro do intestino dianteiro a partir do fÍgado. Assim, o estômago de um cavalo pode ser imaginado como uma bomba de ácido que produz ácido gástrico mais ou menos continuamente ao longo do dia, se ou não o cavalo estiver se alimentando.

Como consequência de sua anatomia e das práticas modernas de alimentação e cuidados, todos os cavalos, e particularmente cavalos de competição, apresentam uma incidência muito alta de úlceras gástricas (estômago). Em cavalos de corrida, por exemplo, cerca de noventa por cento da população dos cavalos de corrida têm sido relatado apresentar úlceras no trato digestivo, com a porcentagem de cavalos de apresentação tendo úlceras no trato digestivo ficando apenas levemente para trás. Mesmo potros de cavalos de apresentação têm sido infligidos com esta condição, com aproximadamente sessenta por cento dos potros de cavalos de

apresentação tendo úlceras no trato digestivo. Enquanto cavalos para lazer têm uma incidência menor de úlceras no trato digestivo do que cavalos de apresentação, o aumento da incidência de úlceras do trato digestivo nas últimas duas décadas tem sido se significativo em todos os segmentos da população de cavalos, incluindo cavalos para lazer.

Enquanto incidências de úlceras no cólon (úlceras no ceco e/ou cólon de cavalos) estiveram largamente inexploradas, estas podem também representar um tema de saúde diferente e igualmente grave para cavalos. Um dos únicos estudos científicos até esta data, observou especificamente a incidência de úlceras colônicas e mostrou resultados surpreendentes. Neste estudo, um acaso Neste estudo, uma amostragem randômica de cavalos apresentaram aproximadamente cinquenta e cinco por cento de incidência de úlceras gástricas e quarenta por cento de incidência de úlceras no cólon. As incidências de úlceras gástricas e de cólon não foram idênticas, significando que alguns cavalos tiveram apenas úlceras gástricas e outros cavalos tiveram apenas úlceras no cólon. Contudo, uma grande porcentagem dos cavalos que tinham úlceras no cólon também apresentaram úlceras gástricas, com menos de trinta por cento de toda a população de cavalos não apresentando tanto úlceras gástricas ou no cólon. Como acima mencionado, a incidência de úlceras no trato digestivo para cavalos de apresentação e cavalos de corrida é ainda maior do que estas estatísticas para a população geral de cavalos.

Há várias soluções para o problema de úlceras do trato digestivo em cavalos que foram utilizadas no estado da técnica. Tais soluções têm incluído o uso de antiácidos para neutralizar temporariamente o ácido no estômago, o uso de drogas para inibir a produção de ácido gástrico e repouso estendido e uma dieta de forragem. Mais recentemente, um novo suplemento dietético altamente efetivo foi desenvolvido para tratar e/ou prevenir úlceras gástricas e úlceras do cólon, como revelado no pedido de patente US No. 10/435.367, depositada em 9 de maio de 2003, intitulada "Suplemento Dietético e Método para o Tratamento e Prevenção de Úlceras do Trato Digestivo em Eqüinos e Outros Animais" cujo pedido de patente foi depositado pelo requerente da presente invenção e cujo pedido de patente é aqui

incorporado como referência na sua totalidade.

Enquanto tais tratamentos estão disponíveis, continua extremamente difícil diagnosticar úlceras gástricas em cavalos com um grau alto de precisão e não tem sido possível diagnosticar úlceras do cólon em cavalos. O método de diagnóstico de úlceras eqüinas mais comumente utilizado é a observação dos sintomas (que são freqüentemente vagos, sinais não específicos como perda de peso, perda de apetite, letargia ou febre intermitente) combinado com os resultados percebidos com o tratamento, o que tem mostrado ser quase completamente não confiável. Isto é devido ao fato de poder haver muitas causas em potencial dos mesmos sintomas, e nem todos os cavalos mostram os mesmos sintomas ou mesmos sintomas marcantes de ulceração. Assim, o uso desta técnica é frequentemente pouco melhor do que um jogo de adivinhação.

O único modo seguro de diagnosticar úlceras gástricas em cavalos tem sido o uso de um vídeo endoscópio de três metros que tem as desvantagens significantes de ser caro, demorado e estressante (tanto para o cavalo quanto para o treinador/proprietário). O custo para adquirir um vídeo endoscópio de três metros é bastante alto e é proibitivamente caro para os proprietários e todos exceto a maioria da elite de treinadores. A cima do custo do endoscópio está o fato do procedimento ser incômodo e demorado. Proprietários, treinadores e veterinários que não possuem um vídeo endoscópio de três metros deve consultar um clínico ou um veterinário que tenha um endoscópio. Isto é caro e toma tempo, além de ser mais estressante para o cavalo, e frustrante uma vez que tira o tratamento do cavalo das mãos do proprietário, treinador ou do veterinário habitual.

Além disso, mesmo se um vídeo endoscópio de três metros está disponível e é usado, os resultados ficam restritos ao que é visível ao aparelho, isto é os tecidos de estômago. Enquanto tal dispositivo é efetivo em visualizar e diagnosticar úlceras de estômago, a diagnose de ulceração nos noventa e cinco por cento restantes do trato digestivo de um cavalo ainda é impossível com este dispositivo. O intestino traseiro (aproximadamente setenta e cinco pés (22,86 metros) do intestino delgado, ceco e cólon) não podem ser vistos usando um

endoscópio uma vez que os endoscópios de comprimento suficiente não estão disponíveis e o uso de um endoscópio requereria esvaziar suficientemente o intestino traseiro, o que provavelmente mataria o cavalo. Na realidade, apenas recentemente é que a alta incidência de úlceras do cólon em cavalos foi documentada, e isso foi

5 somente determinado através do uso da análise visual pós-morte.

Consequentemente, o objetivo principal da presente invenção é que esta apresenta um kit de teste para úlcera eqüina e sangramento do trato digestivo e um método relacionado para o uso do kit de teste que são eficazes no diagnóstico de ambas as úlceras gástricas ou sangramentos e úlceras do cólon ou sangramentos em

10 cavalos. Um objetivo relacionado da presente invenção é prover uma indicação altamente específica sobre a presença de úlceras gástricas ou sangramentos ou úlceras do cólon ou sangramento ou ambos. Um outro objetivo relacionado da presente invenção é ser altamente confiável tanto na identificação da existência de úlceras ou sangramentos em um cavalo bem como a identificação dos tipos de

15 úlceras que estão presentes no cavalo, e que não produzem excessivas leituras de falsos positivos.

Um outro objetivo da presente invenção é o teste ser tanto simples quanto rápido de executar, e de não requerer nenhuma habilidade especial ou treinamento para que um usuário execute o teste. Um objetivo adicional da presente

20 invenção é ser completamente auto-suficiente, requerendo nenhuma análise de laboratório ou equipamento de processamento adicional de forma a poder ser executado em qualquer lugar como um teste de campo. Ainda é outro objetivo da presente invenção é prover os resultados do teste rapidamente, em minutos em lugar de requerer um tempo extenso.

O kit de teste para úlcera eqüina ou sangramento da presente invenção também deve ser de construção que seja durável e não deve também requerer condições especiais de armazenamento para os kits de teste para assegurar que eles tenham uma vida útil extensa. De modo a aumentar o apelo de mercado do kit de teste para úlcera eqüina ou sangramentos da presente invenção, deve ser também de

30 construção barata para deste modo disponibilizá-lo a um mercado o mais amplo

3

possível. Finalmente, também é um objetivo que todas as vantagens e objetivos supracitados do kit de teste para úlcera eqüina ou sangramentos e método da presente invenção são alcançados sem incorrer qualquer desvantagem relativa significativa.

5 Resumo da Invenção

As desvantagens e limitações da arte anterior discutidas acima são solucionadas pela presente invenção. Com esta invenção, um kit de teste para úlcera eqüina e sangramento do trato digestivo e um método de utilização do kit de teste são providos, os quais são capazes de prover uma identificação altamente sensível e específica da presença tanto de úlceras gástricas e do cólon ou ambas e outros sangramentos do trato digestivo em cavalos, com o kit de teste para úlcera eqüina ou sangramento e úlceras do cólon ou sangramento. O teste para úlcera ou sangramento da presente invenção é referido como um teste para sangue fecal, uma vez que este identifica componentes de sangue contidos nas fezes do cavalo que está sendo analisado.

10
15

De acordo com os ensinamentos da presente invenção, dois componentes sanguíneos têm sido identificados os quais são respectivamente altamente indicativo da presença de uma úlcera gástrica ou sangramento e/ou uma úlcera do cólon ou sangramento. Os inventores da presente invenção têm determinado que a presença de albumina eqüina intacta que está contida nas fezes é muito provavelmente de origem colônica. Isto é devido ao fato de que a albumina eqüina de sangue de uma úlcera gástrica (e de qualquer outro sangue craniano para o duodeno, para este propósito) seria degradada pelos ácidos e peptidases no estômago, tornando a albumina eqüina não detectável nas fezes. Contudo, a hemoglobina eqüina contida no sangue a partir de uma úlcera gástrica ou sangramento sobreviverá aos ácidos e peptidases no estômago pelo menos em parte, tornando-as detectáveis nas fezes.

20
25

Assim, a presença de albumina eqüina intacta nas fezes é indicativa da existência de uma úlcera ou sangramento do cólon, enquanto que a presença de hemoglobina eqüina é indicativa da existência de tanto uma úlcera gástrica quanto

30

4

um sangramento ou uma úlcera do cólon ou sangramento ou ambas as úlcera gástrica ou sangramento e uma úlcera do cólon ou sangramento. Ainda será apreciado por aqueles versados na arte que um kit de teste para úlcera eqüina ou sangramento e método utilizando como indicadores a albumina eqüina e a hemoglobina eqüina
5 fornecerão um bom indicador de ambas as presença e localização de uma ou mais úlceras ou sangramentos no cavalo. A forma preferida do kit de teste para úlcera eqüina ou sangramento e método da presente invenção é um imunoensaio que é projetado para detectar a presença dos indicadores albumina eqüina e hemoglobina eqüina, e especificamente o teste para úlcera eqüina ou sangramento da realização
10 preferida da presente invenção é um Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (um teste de “ELISA”), que é um método tipicamente empregado em bioquímica para detectar se ou não uma substância em particular está presente numa amostra.

Os testes de ELISA são testes imunológicos rápidos que envolvem um anticorpo ou um antígeno (moléculas imunológicas) e uma enzima (uma proteína
15 que catalisa uma reação bioquímica). Um teste de ELISA é usado para detectar uma substância que apresenta propriedades antigênicas, proteínas principalmente (em oposição a moléculas pequenas e íons tais como glicose e potássio), tais anticorpos, antígenos bacterianos, e hormônios. Um teste de ELISA então chamado “rápido” é um teste de Imunoensaio de Fluxo Lateral (“LFI”) que consiste de uma membrana
20 que possui um caminho fluido de uma extremidade desta que é ligada a uma fonte de fluido a outra extremidade desta que é ligada a um tanque coletor de fluido, com três áreas distintas e separadas ao longo da membrana.

A primeira área contém um anticorpo marcado, que é o anticorpo ligado a um agente de cor, tal como pérolas de látex coloridas ou um corante um
25 ouro coloidal. Os anticorpos marcados se movem com o fluxo do fluido da primeira área para a segunda e terceira áreas, e por fim o tanque coletor de fluido. Se a substância de interesse estiver no fluido, esta se ligará aos anticorpos marcados. A segunda área, que é tipicamente uma linha que se estende através da membrana, contém anticorpos que estão ligados à membrana.

30 Os anticorpos na segunda área têm afinidade pela (e atração e juntar-

se-ão) substância de interesse, criando um “sanduíche” com os anticorpos marcados e a substância de interesse ficando ligada aos anticorpos na segunda área, criando deste modo uma linha colorida que é uma leitura positiva que indica a presença da substância de interesse. Quanto mais a substância de interesse estiver contida no fluido, mais os anticorpos marcados que estarão ligados a substância de interesse se ligarão aos anticorpos da segunda área.

A terceira área, que é tipicamente também uma linha que se estende através da membrana, utiliza uma reação diferente anticorpo/antígeno que criará uma linha colorida se o fluxo e volume for suficiente, independentemente da presença da substância de interesse. Esta age como um controle para indicar que o sistema de teste está operando adequadamente. A terceira área fica no lado oposto da segunda área a partir da primeira área para indicar que o fluido que está sendo testado passou através da segunda área, indicando deste modo que o sistema de teste foi suprido suficientemente com fluido a ser testado para o sistema de teste trabalhar adequadamente.

Tal sistema de teste é genericamente ilustrado na patente US No. 5.602.040, de May et al., que é baseada em dois anticorpos. As partículas incluindo um primeiro grupo de anticorpos são ligadas à superfície de látex colorido ou partículas de ouro coloidal que foram secas sobre a membrana de nitrocelulose numa primeira extremidade desta, e representa a primeira área acima referenciada. Um segundo grupo de anticorpos é ligado a uma membrana de nitrocelulose na forma de uma linha, e representa a segunda área acima referenciada.

O teste é realizado através da absorção de uma amostra líquida pela membrana de nitrocelulose na primeira extremidade. As partículas na primeira área são liberadas pelo fluxo de líquido e o analito a ser detectado se liga ao anticorpo nas ditas partículas. Na segunda área, o analito a ser detectado se liga também ao outro anticorpo que está presente na linha, e uma linha colorida visível é formada para mostrar a presença do dito analito. Este tipo de técnica de ensaio imunocromatográfico é baseada no fluxo através da membrana, e pode ser referido como uma “técnica de fluxo lateral”. A patente US No. 5.602.040 é aqui

16

incorporada como referência, como a patente US No. 5.712.170 de Kouvonen et al., que fornece um resumo excelente da arte anterior nesta área.

Existe um segundo formato que pode ser empregado o qual utiliza uma técnica de “exclusão competitiva” para gerar um resultado positivo ou negativo. Além do ensaio de sanduíche acima descrito, antígeno purificado (albumina eqüina ou hemoglobina eqüina) é fixado numa tira, e o antígeno alvo está contido na fase móvel. Quando nenhum antígeno alvo está presente na amostra testada, o anticorpo fica livre para se mover na fase móvel e se tornará ligado ao antígeno fixado sobre a tira, resultando numa linha sobre a tira. Consequentemente, a presença de uma linha indica um resultado negativo.

Se, por outro lado, o antígeno alvo está presente na amostra de teste, então o antígeno se ligará ao anticorpo na fase móvel, tornando-o indisponível para se ligar a tira de teste, que resultará no não surgimento de uma linha. Consequentemente, a ausência de uma linha neste teste indica um resultado positivo. Este tipo de técnica de ensaio de exclusão competitiva é descrita ser utilizada no teste de drogas fabricado sob a marca registrada “ONTRAK TESTCUP” pela “Varian, Inc.” e exclusivamente vendida pela “Roche Diagnostics”. Isto está descrito na patente US No. 6.375.897, de Bachand, cuja patente está aqui incorporada como referência.

Os testes de LFI são relativamente baratos para o fabricante, fáceis de operar, e fornecem análises rápidas sem a necessidade de equipamentos de laboratório. Os anticorpos nos testes LFI são tipicamente obtidos inoculando-se num animal a substância de interesse, após o que o animal produz anticorpos para aquela substância. Esta relação bioquímica é deste modo utilizada como o mecanismo para isolar e detectar a substância de interesse. Os testes LFI são tanto sensíveis quanto específicos, e se comparam bem com os testes radioimune ensaios (“RIA”). Os testes LFI apresentam a vantagem adicional de não necessitar de radioisótopos ou de um aparelho de contagem de radiação.

A realização preferida do kit de teste para úlcera eqüina ou sangramento da presente invenção inclui duas tiras de teste que estão contidas tanto

TX

em um ou dois estojos plásticos. Os lançamentos fecais de um cavalo a serem testados são colocados num recipiente (que pode ser, por exemplo, uma bacia, balde, bolsa plástica, ou um copo), uma solução (que pode ser água ou água com um tampão tal como sal) é adicionada, e a mistura é agitada, misturada ou massageada para misturá-la perfeitamente. Um aplicador tal como um conta-gotas é usado para pingar várias gotas do líquido do recipiente sobre as tiras de teste nos estojos.

Por um período de tempo que preferencialmente fica na faixa de aproximadamente cinco minutos a aproximadamente trinta minutos, as duas tiras de teste fornecerão uma marcação visual que representará o indicador de controle, e, se os indicadores forem testados quanto a sua presença, marcações visuais que significam a detecção daqueles indicadores que são respectivamente indicativos da presença de úlceras gástricas ou sangramentos ou úlceras do cólon ou sangramentos. A presente invenção utiliza dois indicadores, um dos quais é indicativo da presença de uma úlcera gástrica ou sangramento e o outro o qual é indicativo da presença de uma úlcera do cólon ou sangramento.

Na realização preferida, a substância de interesse que, quando detectada, fornecerá uma indicação da presença de uma úlcera do cólon ou sangramento é albumina eqüina, e a substância de interesse que, quando detectada, fornecerá uma indicação da presença de uma úlcera gástrica ou sangramento ou uma úlcera do cólon ou sangramento ou ambas as úlceras gástricas e do cólon é hemoglobina eqüina. O kit de teste para úlcera eqüina ou sangramento e método da presente invenção diagnostica deste modo úlceras gástricas e/ou do cólon ou sangramentos, fornecendo uma base imediata para tratamento.

Deste modo pode se ver que a presente invenção ensina um kit de teste para úlcera eqüina ou sangramento e um método relacionado para o uso do kit de teste que são eficazes no diagnóstico de ambas úlceras gástricas ou sangramento e úlceras do cólon ou sangramento bem como outros sangramentos do trato digestivo em cavalos. O kit de teste para úlcera eqüina ou sangramento e método da presente invenção fornece uma indicação altamente específica quanto à presença tanto de úlceras gástricas ou sangramento quanto de úlceras do cólon ou sangramento ou

ambos. O kit de teste para úlcera eqüina ou sangramento e método da presente invenção são altamente confiáveis tanto na identificação da existência de úlceras ou sangramentos num cavalo bem como na identificação dos tipos de úlceras que estão presentes no cavalo, e não produz excessivas leituras falsas positivo.

5 O kit de teste para úlcera eqüina ou sangramento e método da presente invenção são ambos simples e rápidos de se realizar, e não requerem nenhuma habilidade especial ou treinamento para um usuário realizar o teste. O kit de teste para úlcera eqüina ou sangramento da presente invenção é completamente auto-suficiente, e não requer nenhuma análise laboratorial ou equipamento de
10 processamento adicional, possibilitando deste modo ser executado em qualquer lugar como um teste de campo. O kit de teste para úlcera eqüina ou sangramento e método da presente invenção fornece os resultados do teste rapidamente, em minutos em lugar de requerer um tempo extenso.

O kit de teste para úlcera eqüina ou sangramento da presente invenção
15 também é de uma construção que é durável e os kits de teste não requerem condições especiais de armazenamento e tem uma vida útil extensa. O kit de teste para úlcera eqüina ou sangramentos da presente invenção é também de construção barata para aumentar seu apelo de mercado e deste modo disponibilizá-lo a um mercado o mais amplo possível. Finalmente, todas as vantagens e objetivos
20 supracitados do kit de teste para úlcera eqüina ou sangramentos e método da presente invenção sejam alcançados sem incorrer qualquer desvantagem relativa significativa.

Descrição dos Desenhos

Estas e outras vantagens da presente invenção são mais bem
25 compreendidas com referência aos desenhos, em que:

A figura 1 é um desenho esquemático de um cavalo que mostra a anatomia do trato digestivo do cavalo;

A figura 2 é uma vista isométrica mostrando um kit de teste para
30 úlcera eqüina ou sangramento que é construído e usado de acordo com os ensinamentos da presente invenção e que apresenta um primeiro estojo contendo

10

uma tira de teste para úlcera gástrica ou sangramento e um segundo estojo contendo uma tira de teste para úlcera do cólon ou sangramento.

A figura 3 é uma vista isométrica mostrando uma realização alternativa do kit de teste para úlcera eqüina ou sangramento também construído e utilizado de acordo com os ensinamentos da presente invenção e que apresenta um estojo único contendo ambas as tiras de teste para úlcera gástrica ou sangramento e úlcera do cólon ou sangramento; e

A figura 4 é um quadro ilustrando os resultados do kit de teste para úlcera eqüina ou sangramento como indicado pela presença ou ausência detectada de albumina eqüina e a presença ou ausência detectada de hemoglobina eqüina.

Descrição Detalhada da Realização Preferida

Antes de discutirmos o kit de teste para úlcera eqüina ou sangramento e método da presente invenção, será útil discutirmos brevemente a anatomia do sistema digestivo de um cavalo. Em referência a figura 1, uma vista lateral de um cavalo 20 é ilustrada, esquematicamente ilustrando o trato digestivo do cavalo. O trato digestivo do cavalo 20 pode ser separado em intestino dianteiro, que é indicado geralmente pela referência numérica 22, e um intestino traseiro, que é indicado geralmente pela referência numérica 24.

O trato digestivo do cavalo 20 começa na sua boca 26, e sequencialmente se estende através de um esôfago 28 dentro de um estômago 30 e então dentro de um intestino delgado 32, que juntos constituem o intestino dianteiro 22 do cavalo 20. O intestino dianteiro 22 do cavalo 20 constitui aproximadamente trinta e cinco a quarenta por cento da capacidade relativa do trato digestivo do cavalo 20.

A partir do intestino delgado 32, o trato digestivo se estende através de um ceco 34, um grande cólon 36, e um pequeno cólon 38 que termina num reto 40. Estes elementos do trato digestivo do cavalo 20 juntos constituem o intestino traseiro 24 do cavalo 20. O intestino traseiro 24 constitui aproximadamente sessenta a sessenta e cinco por cento da capacidade relativa do trato digestivo do cavalo 20.

A realização preferida do kit de teste para úlcera eqüina ou

sangramento da presente invenção é mostrado na figura 2. Um primeiro estojo 50 que contém um kit de teste para úlcera eqüina ou sangramento para detectar úlceras gástricas ou sangramentos é ilustrado. O primeiro estojo 50 possui uma abertura 52 localizada neste na qual o fluido a ser analisado será introduzido. Também localizado no primeiro estojo 50 está uma janela de visualização 54 através da qual uma tira de membrana de teste 56 que apresenta uma zona indicativa do teste 58 e uma zona indicativa de controle 60 localizadas nesta é visível. A zona indicativa de teste 58 se tornará visível quando a presença da substância de interesse for detectada, fornecendo deste modo uma indicação da presença de uma úlcera gástrica ou sangramento.

A figura 2 também mostra um segundo estojo 70 que contém um kit de teste para úlcera eqüina ou sangramento para detectar úlceras do cólon ou sangramentos é ilustrado. O segundo estojo 70 possui uma abertura 72 localizada neste na qual o fluido a ser analisado será introduzido. Também localizado no segundo estojo 70 está uma janela de visualização 74 através da qual uma tira de membrana de teste 76 que apresenta uma zona indicativa do teste 78 e uma zona indicativa de controle 80 localizadas nesta é visível. A zona indicativa de teste 78 se tornará visível quando a presença da substância de interesse for detectada, fornecendo deste modo uma indicação da presença de uma úlcera do cólon ou sangramento. Embora estas sejam mostradas juntas, o primeiro estojo 50 e o segundo estojo 70 são separados na realização ilustrada na figura 2.

Em referência agora a figura 3, uma realização alternativa do kit de teste é ilustrada a qual apresenta um estojo único 90. O estojo 90 apresenta uma única abertura (porém larga) 92 localizada neste na qual o fluido a ser analisado será introduzido. O estojo 90 também apresenta uma primeira e segunda janelas de visualização 94 e 96 localizadas neste sobre lados opostos. Através da primeira janela de visualização 94 fica visível uma tira de membrana de teste 98 que apresenta uma zona indicativa do teste 100 e uma zona indicativa de controle 102 localizadas neste. A zona indicativa de teste 100 se tornará visível quando a presença da substância de interesse for detectada, fornecendo deste modo uma indicação da

61

presença de uma úlcera gástrica ou sangramento. A zona indicativa de controle 102 se tornará visível quando fluido suficiente for introduzido no estojo 90 através da abertura 92.

5 Através da segunda janela de visualização 96 fica visível uma tira de membrana de teste 104 que apresenta uma zona indicativa do teste 106 e uma zona indicativa de controle 108 localizadas neste. A zona indicativa de teste 106 se tornará visível quando a presença da substância de interesse for detectada, fornecendo deste modo uma indicação da presença de uma úlcera gástrica ou sangramento. A zona indicativa de controle 108 se tornará visível quando fluido
10 suficiente for introduzido no estojo 90 através da abertura 92.

 A construção das tiras de teste 56 e 76 na figura 2 e nas tiras de teste 98 e 104 na figura 3 são conhecidas por aqueles versados na técnica. Similarmente, a construção de vários outros tipos de kits de teste que apresentam diferentes desenhos de estojo são também conhecidos por aqueles versados na técnica. As
15 porções chave dos dispositivos de teste mostrados nas figuras 2 e 3 são o tipo e derivação dos anticorpos que são utilizados para fornecer os testes para úlceras gástricas e do cólon ou sangramentos, que serão abaixo discutidas.

 Antes desta discussão, uma breve descrição da operação dos kits de teste mostrados nas figuras 2 e 3 serão fornecidas. Um veterinário, treinador, ou o
20 proprietário do cavalo coleta uma amostra fecal representativa (na faixa de umas poucas gramas a uma evacuação inteira) de um cavalo a ser analisado. A amostra fecal é então colocada num recipiente tal como uma bacia ou balde ou bolsa plástica, e uma solução aquosa (que pode ser água ou água com um tampão tal como um sal) é misturada com este por agitação, mistura ou massagem. Utilizando um conta-gotas
25 ou qualquer outro mecanismo conveniente, o veterinário, treinador, ou proprietário do cavalo coloca então uma poucas gotas do fluido dentro do(s) dispositivo(s) de teste através das aberturas 52 e 72 nos estojos 50 e 70, respectivamente para a realização da figura 1, ou através da abertura 92 no estojo 90 na realização da figura 2.

30 Em poucos minutos, as zonas indicativas de controle 60 e 80 ficarão

62

visíveis para a realização da figura 1, ou as zonas indicativas de controle 102 e 108 ficarão visíveis para a realização da figura 2, indicando que a operação do kit de teste foi adequada. Se a albumina eqüina é detectada, a zona indicativa de teste 58 ficará visível para a realização da figura 1, ou a zona indicativa de teste 100 ficará visível para a realização da figura 2. Similarmente, se hemoglobina eqüina é detectada, a zona indicativa de teste 78 ficará visível para a realização da figura 1, ou a zona indicativa de teste 106 ficará visível para a realização da figura 2. O teste deste modo diagnostica úlceras gástricas e/ou do cólon ou sangramentos, fornecendo a base para tratamento imediato se uma ou ambas forem detectadas.

10 Enquanto as realizações ilustradas nas figuras 2 e 3 mostram tiras de membranas separadas 56 e 76 para a realização ilustrada na figura 2, e tiras de teste separadas 98 e 104 para a realização ilustrada na figura 3, aqueles versados na técnica apreciarão imediatamente que é possível combinar ambos os testes acima descritos em que o surgimento de um indício de teste indica a detecção de albumina eqüina ou hemoglobina eqüina.

Na realização preferida do kit de teste para úlcera eqüina ou sangramento e método da presente invenção, a substância de interesse que, quando detectada, fornecerá uma indicação da presença de uma úlcera de cólon ou sangramento é albumina eqüina, e a substância de interesse que, quando detectada, fornecerá uma indicação da presença de uma úlcera gástrica ou sangramento é hemoglobina eqüina. A escolha de albumina eqüina para indicar a presença de uma úlcera do cólon ou sangramento fornece especificidade devido a albumina eqüina detectada nas fezes do cavalo poder apenas ter se originado do cólon. Isto é porque o sangue proveniente das úlceras gástricas ou sangramentos (e para qualquer material sanguíneo craniano para o duodeno) seria degradado pelos ácidos e peptidases no estômago, tornando deste modo extremamente improvável que a albumina eqüina detectada nas fezes teria origem de uma úlcera gástrica ou sangramento.

Contudo, a ação de ácidos e peptidases no estômago é improvável de degradar ou digerir completamente a hemoglobina eqüina. A hemoglobina eqüina detectada nas fezes poderia ter se originado no estômago e/ou no cólon, indicando

63

deste modo tanto uma úlcera gástrica ou sangramento, uma úlcera do cólon ou sangramento ou ambas as úlceras gástrica ou sangramento e do cólon ou sangramento. A diferenciação das úlceras gástricas e do cólon ou sangramento está assim associada a presença ou ausência de albumina eqüina.

5 Em referência a figura 4, pode se ver que se a albumina eqüina é detectada, uma úlcera do cólon ou sangramento está certamente presente. Se a albumina eqüina não é detectada mas a hemoglobina eqüina é detectada, uma úlcera gástrica ou sangramento está provavelmente presente. Se nem albumina eqüina nem hemoglobina eqüina são detectadas, nem úlceras gástricas ou sangramentos, nem
10 úlceras do cólon ou sangramentos estão provavelmente presentes. Finalmente, se a albumina eqüina e a hemoglobina eqüina são detectadas, úlceras do cólon ou sangramentos ou ambas as úlceras gástrica ou sangramento e úlceras do cólon ou sangramento estão provavelmente presentes. Assim, aqueles versados na técnica apreciarão que o kit de teste para úlcera eqüina ou sangramento e método da
15 presente invenção fornecem deste modo um mecanismo e método par diagnosticar úlceras gástricas e/ou do cólon ou sangramentos, possibilitando que tratamento para estas úlceras seja provido com confiança.

O Teste para Albumina Eqüina

O teste para albumina eqüina é um imunoenensaio
20 monoclonal/policlonal altamente sensível. Há quatro etapas distintas na criação de tal imunoenensaio, sejam elas, imunização, fusão, clonagem e produção. O primeiro estágio é a imunização, em que um coelho, camundongo, rato ou porquinho da índia, ou outro animal de teste adequado é injetado com as seqüências peptídicas de albumina eqüina derivadas da seqüência genética para albumina eqüina, que é única
25 para as espécies eqüinas. Isto provocará uma reação imune no animal de teste, que criará quantidades abundantes de anticorpos no seu sangue e no seu baço.

Em cerca de seis semanas, o sangue pode ser retirado dos animais e testado para os anticorpos utilizando um teste de ELISA. Isto envolve reagir o sangue do animal de teste com o soro do cavalo *in vitro*. Se os anticorpos estiverem
30 presentes, o ELISA mudará de cor. Se um nível insuficiente de anticorpos estiver

64

presente, os animais de teste podem requerer uma ou mais injeções reforçadoras de albumina equina. Estas primeiras sangrias podem ser usadas para produzir anticorpos policlonais. Este estágio tipicamente leva aproximadamente três meses. Anticorpos policlonais deste estágio podem ser usados para a construção do kit de teste.

O segundo estágio é a fusão, em que os animais de teste são sacrificados e seus baços são macerados para liberar as células que geram os anticorpos equinos. Estas células podem então ser fundidas com uma linhagem de células de mieloma de modo a imortaliza-las, como descrito na patente US No. 5.552.295, de Skanker et al., cuja patente é aqui incorporada como referência. Uma vez imortalizadas, estas células podem ser cultivadas indefinidamente para fornecer um suprimento contínuo de anticorpos.

Os hibridomas (células fundidas) são então plaqueadas em várias placas de microtitulação de noventa e seis poços. Estas células são testadas com um outro teste de ELISA, e aquelas que mostrarem a reação de anticorpo adequada podem ser expandidas em poços de microtitulação adicionais. Estas células são ainda testadas por ELISA para fornecerem uma linhagem pura de células que produzem os anticorpos desejados, com este estágio tipicamente levando aproximadamente de cinco a seis semanas.

O terceiro estágio é de clonagem, onde as células que deram resultado positivo no segundo estágio são clonadas e ainda testadas por ELISA. Vários ciclos de clonagem podem ser requeridos de modo a desenvolver clones estáveis. Estes clones podem então ser injetados nos abdomens de camundongos, onde estes produzem ascites. Os anticorpos monoclonais são purificados a partir dos fluidos ascites e estão então prontos para uso. Ficará prontamente aparente para aqueles versados na técnica que esta técnica produzirá anticorpos monoclonais novos com alvo especificamente para albumina equina. O terceiro estágio leva tipicamente aproximadamente três meses.

Alternativamente, frangos podem ser imunizados com o antígeno, e produzirão anticorpos nas gemas de seus ovos. Esta técnica não precisa dos estágios

b/r

de clonagem acima mencionados, uma vez que o frango colocará ovos suficientes para fornecer os anticorpos. Contudo, os estágios de purificação destes anticorpos são similares às aquelas descritas acima.

O quarto e último estágio é a produção de kits de teste. Os anticorpos são corados sobre uma membrana de nitrocelulose porosa ou nylon como é convencional no estado da técnica. Quando a albumina eqüina é colocada sobre o dispositivo de teste esta é absorvida através da membrana, pega os anticorpos marcados carregando um agente de cor, e é aprisionado pelos anticorpos na zona indicativa de teste. Lá, a concentração de anticorpos marcados causará uma mudança de cor indicando claramente a presença de albumina eqüina nas fezes do cavalo que está sendo testado. Assim, será apreciado por aqueles versados na técnica que este novo teste de anticorpo é tanto extremamente sensível (a sensibilidade pode ser tão alta quanto aproximadamente uma parte por milhão (uma micrograma por mililitro)) quanto específica para albumina eqüina.

15 Teste para Hemoglobina Eqüina

O teste para hemoglobina eqüina é um imunoenensaio monoclonal/policlonal altamente sensível. Há quatro etapas distintas na criação de tal imunoenensaio, sejam elas, imunização, fusão, clonagem e produção. O primeiro estágio é a imunização, em que um coelho, camundongo, rato ou porquinho da índia, ou outro animal de teste adequado é injetado com as seqüências peptídicas de hemoglobina eqüina derivadas da seqüência genética para hemoglobina eqüina, que é única para as espécies eqüinas. Isto provocará uma reação imune no animal de teste, que criará quantidades abundantes de anticorpos no seu sangue e no seu baço.

Em cerca de seis semanas, o sangue pode ser retirado dos animais e testado para os anticorpos utilizando um teste de ELISA. Isto envolve reagir o sangue do animal de teste com o soro do cavalo *in vitro*. Se os anticorpos estiverem presentes, o ELISA mudará de cor. Se um nível insuficiente de anticorpos estiver presente, os animais de teste podem requerer uma ou mais injeções reforçadoras de hemoglobina eqüina. Estas primeiras sangrias podem ser usadas para produzir anticorpos policlonais. Este estágio tipicamente leva aproximadamente três meses.

bb

Anticorpos policlonais deste estágio podem ser usados para a construção do kit de teste.

O segundo estágio é a fusão, em que os animais de teste são sacrificados e seus baços são macerados para liberar as células que geram os anticorpos eqüinos. Estas células podem então ser fundidas com uma linhagem de células de mieloma de modo a imortalizá-las, como descrito por Skanker et al. patente acima referida. Uma vez imortalizadas, estas células podem ser cultivadas indefinidamente para fornecer um suprimento contínuo de anticorpos.

Os hibridomas (células fundidas) são então plaqueadas em várias placas de microtitulação de noventa e seis poços. Estas células são testadas com um outro teste de ELISA, e aquelas que mostrarem a reação de anticorpo adequada podem ser expandidas em poços de microtitulação adicionais. Estas células são ainda testadas por ELISA para fornecerem uma linhagem pura de células que produzem os anticorpos desejados, com este estágio tipicamente levando aproximadamente de cinco a seis semanas.

O terceiro estágio é de clonagem, onde as células que deram resultado positivo no segundo estágio são clonadas e ainda testadas por ELISA. Vários ciclos de clonagem podem ser requeridos de modo a desenvolver clones estáveis. Estes clones podem então ser injetados nos abdomens de camundongos, onde estes produzem ascites. Os anticorpos monoclonais são purificados a partir dos fluidos ascites e estão então prontos para uso. Ficará prontamente aparente para aqueles versados na técnica que esta técnica produzirá anticorpos monoclonais novos com alvo especificamente para hemoglobina eqüina. O terceiro estágio leva tipicamente aproximadamente três meses.

Alternativamente, frangos podem ser imunizados com o antígeno, e produzirão anticorpos nas gemas de seus ovos. Esta técnica não precisa dos estágios de clonagem acima mencionados, uma vez que o frango colocará ovos suficientes para fornecer os anticorpos. Contudo, os estágios de purificação destes anticorpos são similares àquelas descritas acima.

O quarto e último estágio é a produção de kits de teste. Os anticorpos

64

são corados sobre uma membrana de nitrocelulose porosa ou nylon como é convencional no estado da técnica. Quando a hemoglobina eqüina é colocada sobre o dispositivo de teste esta é absorvida através da membrana, pega os anticorpos marcados carregando um agente de cor, e é aprisionado pelos anticorpos na zona
5 indicativa de teste. Lá, a concentração de anticorpos marcados causará uma mudança de cor indicando claramente a presença de hemoglobina eqüina nas fezes do cavalo que está sendo testado. Assim, será apreciado por aqueles versados na técnica que este novo teste de anticorpo é tanto extremamente sensível (a sensibilidade pode ser tão alta quanto aproximadamente uma parte por milhão (uma micrograma por
10 mililitro)) quanto específica para hemoglobina eqüina.

Teste Combinado

Combinando-se o teste para albumina eqüina com o teste para hemoglobina eqüina num único kit para teste, um teste de diagnóstico específico simples, barato, altamente sensível para úlceras eqüinas ou sangramentos pode ser
15 criado. Alternativamente, os dois testes podem ser providos em kits de teste separados. Na realização preferida, as duas tiras de teste são conectadas por um único poço, tal que uma única aplicação do líquido fecal será suficiente para ambos.

Se o teste para albumina eqüina é positivo, uma úlcera do cólon ou sangramento é indicada. Se apenas o teste para hemoglobina eqüina é positivo, uma
20 úlcera gástrica ou sangramento é indicada. Se ambos os resultados forem positivo, então tanto uma úlcera do cólon ou sangramento ou ambas as úlceras gástrica ou sangramento e úlcera do cólon ou sangramento são indicadas. Será apreciado por aqueles versados na técnica que este teste duplo pode fornecer um teste conveniente, não invasivo para úlceras gástricas ou sangramento (que são atualmente difíceis e
25 caras de diagnosticar) bem como úlceras do cólon ou sangramento (para a qual não há teste atualmente capaz de fornecer um diagnóstico acurado).

Embora o kit de teste para úlcera eqüina ou sangramento e método da presente invenção estejam na realização preferida almejada no diagnóstico de ambas
úlceras gástrica ou sangramento e úlceras do cólon ou sangramentos em cavalos, é
30 contemplado e fica dentro do escopo da presente invenção que este possa ser usado

68

para o diagnóstico de úlceras gástricas ou sangramentos e úlceras do cólon ou sangramento em outros animais. O kit de teste para úlcera eqüina ou sangramento em particular pode ser projetado especificamente para o animal em particular com o qual será utilizado para detectar albumina e hemoglobina do animal em particular.

5 Alternativamente, um kit de teste mais genérico para úlcera gástrica ou sangramento e úlceras do cólon ou sangramento em animais pode ser feito para fornecer um anticorpo para albumina que especificamente se liga a albumina de uma pluralidade de animais diferentes e um anticorpo para hemoglobina que se liga especificamente a hemoglobina de uma pluralidade de animais diferentes.

10 Põe-se deste modo ser apreciado a partir da descrição detalhada acima da realização preferida da presente invenção que ensina um kit de teste para úlcera ou sangramento do trato digestivo eqüino e método para uso do kit de teste que são eficazes no diagnóstico de ambas as úlceras gástricas ou sangramento e úlceras do cólon ou sangramento em cavalos. O kit de teste para úlcera eqüina ou sangramento e método da presente invenção fornece uma indicação altamente específica sobre a presença de tanto úlceras gástricas ou sangramento quanto úlceras do cólon ou sangramento, ou ambas. O kit de teste para úlcera eqüina ou sangramento e método da presente invenção são altamente confiáveis tanto na identificação da existência de úlceras ou sangramentos em um cavalo bem como na
15 identificação do(s) tipo(s) de úlceras ou a localização do sangramento que estão presentes no cavalo, e não produzem excessivas leituras falsas positivas.

O kit de teste para úlcera eqüina ou sangramento e método da presente invenção são tanto simples quanto rápidos de se executar, e não requerem nenhuma habilidade especial ou treinamento para que o usuário possa realizar o teste. O kit de teste para úlcera eqüina ou sangramento da presente invenção é completamente auto-suficiente, e não requer nenhuma análise laboratorial ou equipamento de processamento adicional, possibilitando deste modo ser realizado em qualquer lugar como um ensaio de campo. O kit de teste para úlcera eqüina ou sangramento e método da presente invenção fornecem resultados rapidamente, em minutos ao invés
25 de requerer um tempo extenso.

69

O kit de teste para úlcera eqüina ou sangramento e método da presente invenção é de uma construção que é durável e os kits de teste não requerem condições especiais de armazenamento e tem uma vida útil extensa. O kit de teste para úlcera eqüina ou sangramentos da presente invenção é também de construção barata para aumentar seu apelo de mercado e deste modo disponibilizá-lo a um mercado o mais amplo possível. Finalmente, todas as vantagens e objetivos supracitados do kit de teste para úlcera eqüina ou sangramentos e método da presente invenção são alcançados sem incorrer qualquer desvantagem relativa significativa.

10 Embora a descrição acima mencionada do kit de teste para úlcera eqüina ou sangramento da presente invenção tenha sido mostrado e descrito com referência a realizações e aplicações particulares destes, estes foram apresentados com o propósito de ilustração e descrição e não são pretendidos para exaurir ou limitar a invenção as realizações e aplicações particulares reveladas. Ficará aparente para aqueles versados na arte que um número de mudanças, modificações, variações, ou alterações da invenção como aqui descrito podem ser feitas, nenhuma das quais saem do espírito ou escopo da presente invenção. As realizações e aplicações particulares foram selecionadas e descritas para fornecer a melhor ilustração dos princípios da invenção e suas aplicações práticas para deste modo possibilitar aqueles versados na técnica a utilizarem a invenção em várias realizações e com várias modificações conforme forem adequadas para um uso em particular contemplado. Todas tais mudanças, modificações, variações, e alterações devem deste modo ser vistas como estando dentro do escopo da presente invenção conforme determinado pelas reivindicações anexas quando interpretadas de acordo com a amplitude a qual estas estão bastante, legalmente e justamente intituladas.

15

20

25

20

REIVINDICAÇÕES

1. Kit de teste rápido para a detecção e localização de sangramentos ou úlceras do trato digestivo em equinos, **CARACTERIZADO** por compreender:

uma primeira tira de teste para um imunoensaio rápido ou reação com peroxidase para detectar a presença de úlcera ou sangramento gástrico e/ou úlcera ou sangramento no cólon em um equino,

em que a dita primeira tira de teste detecta a presença de hemoglobina equina, a qual é indicativa da presença de úlcera ou sangramento gástrico e/ou úlcera ou sangramento no cólon em um equino; e

uma segunda tira de teste para um imunoensaio rápido para detectar a presença de úlcera ou sangramento no cólon em um equino;

em que a dita segunda tira de teste detecta a presença de albumina equina a qual é indicativa da presença de úlcera ou sangramento no colón em um equino.

2. Kit de teste rápido, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pela dita primeira tira de teste conter um anticorpo anti-hemoglobina equina que se liga especificamente à hemoglobina equina.

3. Kit de teste rápido, de acordo com a reivindicação 2, **CARACTERIZADO** pelo dito anticorpo antihemoglobina equina ser um anticorpo monoclonal.

4. Kit de teste rápido, de acordo com a reivindicação 2, **CARACTERIZADO** pelo dito anticorpo antihemoglobina equina ser um anticorpo policlonal.

5. Kit de teste rápido, de acordo com a reivindicação 2, **CARACTERIZADO** pelo dito anticorpo antihemoglobina equina ser isolado do soro sanguíneo ou de baços macerados de coelhos, camundongos, ratos ou porquinhos da índia inoculados.

6. Kit de teste rápido, de acordo com a reivindicação 2, **CARACTERIZADO** pelo dito anticorpo antihemoglobina equina ser produzido por uma linhagem de células híbridoma que produz e secreta anticorpos monoclonais que

se ligam especificamente à hemoglobina equina.

7. Kit de teste rápido, de acordo com a reivindicação 2, **CARACTERIZADO** pelo dito anticorpo antihemoglobina equina ser produzido pela expressão de anticorpos de hemoglobina equina a partir de células imunológicas que foram hibridizadas com linhagens de mieloma imortal.

8. Kit de teste rápido, de acordo com a reivindicação 7, **CARACTERIZADO** pelas ditas células imunológicas serem isoladas do soro sanguíneo ou de baços macerados de coelhos, camundongos, ratos ou porquinhos da índia inoculados.

9. Kit de teste rápido, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pela dita primeira tira de teste também conter um indicador de controle para demonstrar que o teste foi realizado adequadamente.

10. Kit de teste rápido, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pela dita segunda tira de teste conter um anticorpo antialbumina equina que se liga especificamente à albumina equina.

11. Kit de teste rápido, de acordo com a reivindicação 10, **CARACTERIZADO** pelo dito anticorpo antialbumina equina ser um anticorpo monoclonal.

12. Kit de teste rápido, de acordo com a reivindicação 10, **CARACTERIZADO** pelo dito anticorpo antialbumina equina ser um anticorpo policlonal.

13. Kit de teste rápido, de acordo com a reivindicação 10, **CARACTERIZADO** pelo dito anticorpo antialbumina equina ser isolado do soro sanguíneo ou de baços macerados de coelhos, camundongos, ratos ou porquinhos da índia inoculados.

14. Kit de teste rápido, de acordo com a reivindicação 10, **CARACTERIZADO** pelo dito anticorpo antialbumina equina ser produzido por uma linhagem de células hibridoma que produz e secreta anticorpos monoclonais que se ligam especificamente à albumina equina.

15. Kit de teste rápido, de acordo com a reivindicação 10,

CARACTERIZADO pelo dito anticorpo antialbumina equina ser produzido pela expressão de anticorpos de albumina equina a partir de células imunológicas que foram hibridizadas com linhagens de mieloma imortal.

16. Kit de teste rápido, de acordo com a reivindicação 15, **CARACTERIZADO** por as referidas células imunológicas serem isoladas a partir do soro sanguíneo ou de baços macerados de coelhos, camundongos, ratos ou porquinhos da índia inoculados.

17. Kit de teste rápido, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pela dita segunda tira de teste conter um indicador de controle para demonstrar que o teste foi realizado adequadamente.

18. Kit de teste rápido, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelas ditas primeira e segunda tiras de teste compreenderem:

uma única tira de teste para detectar tanto a presença de hemoglobina equina, que é indicativa da presença de sangramento gástrico e/ou sangramento no cólon em um equino que pode ser em parte indicativo da existência de uma úlcera gástrica e/ou uma úlcera de cólon em um equino, quanto a presença de albumina equina que é indicativa da presença de sangramento no cólon em um equino que pode ser em parte indicativo da existência de uma úlcera do cólon em um equino.

46

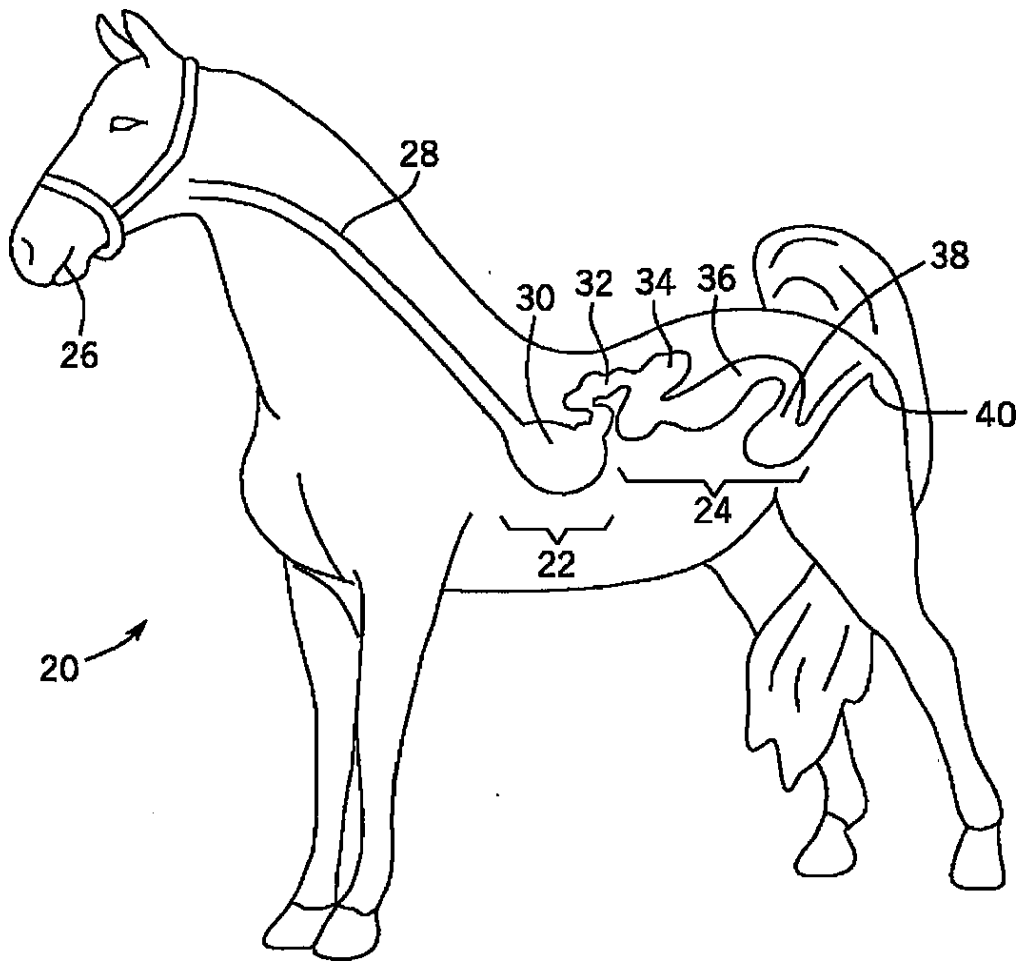


FIG. 1

44

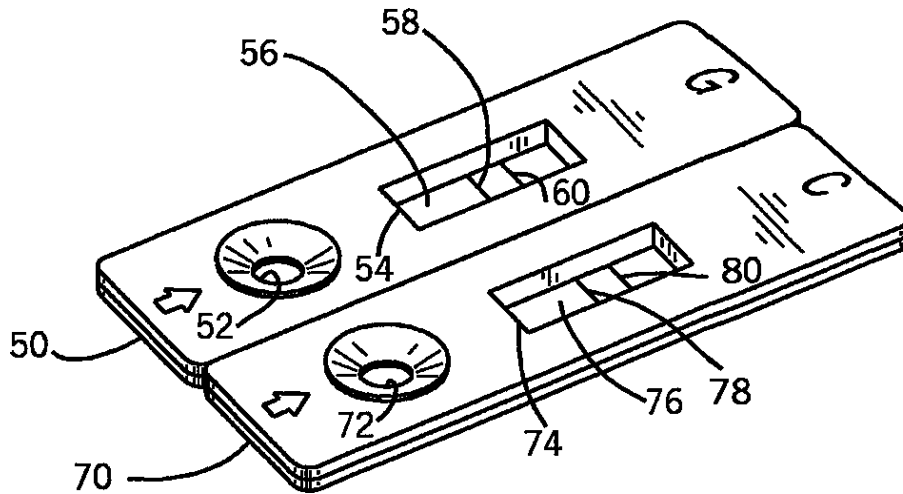


FIG. 2

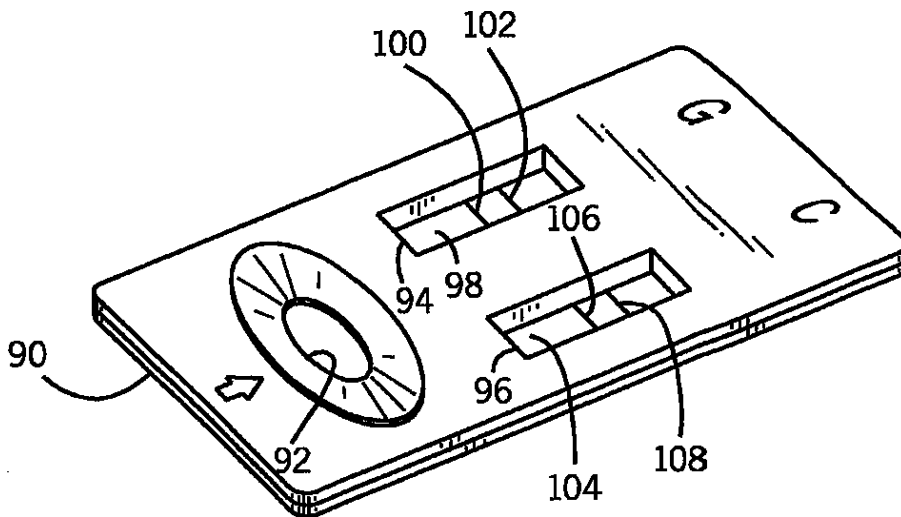


FIG. 3

48

	NO ALBUMEN	ALBUMEN PRESENT
NO HEMOGLOBIN	ULCERS NOT PRESENT	COLONIC ULCERS DETECTED
HEMOGLOBIN PRESENT	GASTRIC ULCERS DETECTED	COLONIC ULCERS OR BOTH GASTRIC AND COLONIC ULCERS DETECTED

FIG. 4