



(19)  
Bundesrepublik Deutschland  
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 603 09 837 T2** 2007.07.05

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 475 152 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **603 09 837.1**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **03 076 382.5**

(96) Europäischer Anmeldetag: **08.05.2003**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **10.11.2004**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **22.11.2006**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **05.07.2007**

(51) Int Cl.<sup>8</sup>: **B01L 3/00** (2006.01)  
**G01N 33/543** (2006.01)

(73) Patentinhaber:  
**CEDI Diagnostics B.V., Lelystad, NL**

(74) Vertreter:  
**Uexküll & Stolberg, 22607 Hamburg**

(84) Benannte Vertragsstaaten:  
**AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR**

(72) Erfinder:  
**Keizer, Gerrit Dirk, 3845 BV Harderwijk, NL;**  
**Schielen, Wilhelmus Joseph Gerardus, 8245 CN Lelystad, NL**

(54) Bezeichnung: **Test-Vorrichtung**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

**Beschreibung**

## GEBIET DER ERFINDUNG

**[0001]** Die Erfindung liegt auf dem Gebiet der biomedizinischen Untersuchung und bezieht sich auf eine Vorrichtung zum Detektieren des Vorhandenseins chemischer und/oder biologischer Substanzen in einer Fluidprobe.

## HINTERGRUND DER ERFINDUNG

**[0002]** Es sind laterale Fließtests, -verfahren und -vorrichtungen oder immunchromatographische Tests, Verfahren und Vorrichtungen zur Detektion des Vorhandenseins oder der Konzentration von chemischen und/oder biologischen Rückständen oder Analyten oder im Allgemeinen von Substanzen in flüssigen Proben entwickelt worden (siehe unter anderem US 6,319,466, US 6,372,516, US 6,171,870, US 6,214,629, WO 01/36099, US 6,146,590). Ein Beispiel einer solchen Testvorrichtung umfasst den wohlbekannten Früherkennungs-Mittelstrahl-Schwangerschaftstest zur Detektion des humanen Chorion-Gonadotropin oder hCG.

**[0003]** Insbesondere im Bereich der Nahrungsmittelsicherheit ist es seit langem erkannt worden, dass Substanzdetektion und insbesondere Rückstandsdetektion genau, kostengünstig und leicht durchzuführen sein sollte. Verbraucher und Regierungen werden sich zunehmend der Notwendigkeit zum Testen von Nahrungsmitteln auf das Vorhandensein unerwünschter Rückstände bewußt, die natürlich oder auf andere Weise auftreten.

**[0004]** Zum Beispiel erfordert Viehhaltung auf Milchhöfen gelegentlich aus Gesundheitsgründen eine antibiotische Behandlung der Tiere. Als eine Folge können in der Milchversorgung antibiotische Rückstände auftreten. In manchen Fällen haben Behörden gesetzliche Grenzwerte für bestimmte Rückstände in Nahrungsmitteln festgelegt, wie etwa antibiotische Rückstände in Milch. Nur Rückstandsniveaus unterhalb des gesetzlichen Grenzwerts werden als "sicher" angesehen. Es ist daher wichtig, dass Detektionsverfahren zusätzlich dazu, dass sie kostengünstig und leicht durchzuführen sind, genau und bevorzugt dazu in der Lage sind, sehr geringe Substanzmengen zu detektieren, d.h. dass sie sensitiv sind.

**[0005]** Ein Problem bei den Testvorrichtungen des Standes der Technik besteht darin, dass die quantitative Genauigkeit hochgradig von der Genauigkeit der Probennahme abhängt, d.h. von der Fähigkeit, dem Test genaue Probenvolumina zuzuführen. Daher erfordern Untersuchungssysteme gewöhnlich das Pipettieren der Probe in oder auf ein Proben aufnehmendes Ende der Vorrichtung durch Verwendung von entweder volumetrischen Kunststoffpipetten

oder volumetrischen Glaspipetten. Derartige Fluidtransportvorrichtungen werden bevorzugt nicht bereitgestellt, wenn der Laie den Test verwenden soll, wie etwa in dem Fall, dass ein einzelner Landwirt seine Milch auf mögliche Kontamination testet. Dieses Problem kann durch solche Maßnahmen gelöst werden, wie das Ausstatten der Testvorrichtung mit einer Probenaufnahmeeinrichtung, wie sie heutzutage in den Mittelstrahl-Schwangerschaftstest verwendet wird, die ein körniges Element aufweist, das ein definiertes Fluidvolumen, wie z.B. 0,5 oder 1,0 ml, halten kann, wenn sie kurz mit der zu testenden Probe in Kontakt gebracht wird.

**[0006]** Das Prinzip des lateralen Fließens oder der Immunchromatographie, auf dem diese Vorrichtungen basieren, verursachen nun das folgende Problem. Im Wesentlichen wird das Probenfluid nach der Aufnahme anschließend in Richtung auf einen Bereich des chromatographischen Strömungsweges, der ein Reaktionsmittel aufweist, das das Vorhandensein der getesteten Substanz anzeigen kann, in diesen Bereich hinein und an diesem Bereich vorbei transportiert. Der Transport erfolgt durch Kapillarkraft. Auf diese Weise kann die getestete Substanz oder der getestete Analyt nur einmal einen Kontakt mit dem anzeigenden Reaktionsmittel herstellen. Als eine Folge fehlt einem solchen Test des Standes der Technik Sensitivität, oder er ist zumindest unzureichend sensitiv, weil es keinen anhaltenden Kontakt zwischen dem Analyten und dem anzeigenden Reaktionsmittel oder zumindest nur eine zeitliche Möglichkeit zur Herstellung eines solchen Kontaktes gibt. Außerdem sind solche Messungen nicht quantitativ, weil es kein Gleichgewicht gibt.

**[0007]** Noch ein weiteres Problem bei biomedizinischen Substanztestvorrichtungen des Standes der Technik bezieht sich auf ihren relativ schnellen Verfall. Die Vorrichtungen des Standes der Technik können entweder nicht in einer einfachen Weise ausreichend geschlossen werden, um den Eintritt von Mikroorganismen vollständig zu verhindern, die für die Lagerbeständigkeit solcher Vorrichtungen schädlich sind oder für den Test selbst schädlich sind, oder sie können nicht einfach geöffnet werden, um den Test in einer bequemen Weise auszuführen.

## ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

**[0008]** Die vorliegende Erfindung stellt nun eine Testvorrichtung zum Bestimmen eines Analyten in einer Probe bereit, wobei die Vorrichtung einen Reagensabschnitt (1), der in einem zylindrischen Gehäuse (2) enthalten ist, das zumindest ein erstes offenes Ende hat, und eine Probenaufnahmeeinrichtung (3), die ebenfalls in dem zylindrischen Gehäuse (2) enthalten ist, und eine Betätigungseinrichtung (4) aufweist, die in der Lage ist, den Reagensabschnitt (1) und/oder die Probenaufnahmeeinrichtung (3) zu be-

wegen, und wobei der Reagensabschnitt (1) und die Probenaufnahmeeinrichtung (3) in wenigstens zwei Positionen relativ zueinander sein können, wobei die Positionen eine erste Position, in der die Probenaufnahmeeinrichtung (3) nicht in analytenaustauschbarem Kontakt mit dem Reagensabschnitt (1) ist, und eine zweite Position umfassen, in der die Probenaufnahmeeinrichtung (3) in analytenaustauschbarem Kontakt mit dem Reagensabschnitt (1) ist.

**[0009]** Die vorliegende Erfindung stellt ferner ein Verfahren zum Bestimmen der Anwesenheit eines Analyten in einer Probe bereit, das die folgenden Schritte aufweist:

- a) Bereitstellen einer Testvorrichtung zum Bestimmen eines Analyten in einer Probe, wobei die Vorrichtung einen Reagensabschnitt (1), der in einem zylindrischen Gehäuse (2) enthalten ist, das zumindest ein erstes offenes Ende hat, und eine Probenaufnahmeeinrichtung (3), die ebenfalls in dem zylindrischen Gehäuse (2) enthalten ist, und eine Betätigungseinrichtung (4) aufweist, die in der Lage ist, den Reagensabschnitt (1) und/oder die Probenaufnahmeeinrichtung (3) zu bewegen, und wobei der Reagensabschnitt (1) und die Probenaufnahmeeinrichtung (3) in wenigstens zwei Positionen relativ zueinander sein können, wobei die Positionen eine erste Position, in der die Probenaufnahmeeinrichtung (3) nicht in analytenaustauschbarem Kontakt mit dem Reagensabschnitt (1) ist, und eine zweite Position umfassen, in der die Probenaufnahmeeinrichtung (3) in analytenaustauschbarem Kontakt mit dem Reagensabschnitt (1) ist,
- b) Inkontaktbringen der Probenaufnahmeeinrichtung (3) mit der Probe,
- c) Bringen des Reagensabschnitts (1) und der Probenaufnahmeeinrichtung (3) in die zweite Position, wodurch ein Austausch des Analyten und/oder von Reagenzien zwischen dem Reagensabschnitt (1) und der Probenaufnahmeeinrichtung (3) ermöglicht wird und das Auftreten einer Reaktion zwischen Analyt und Reagenzien und die Bildung eines detektierbaren Produkts ermöglicht wird, und
- d) Bestimmen der Anwesenheit des Analyten in der flüssigen Probe durch visuelle Prüfung des Reagensabschnitts (1) und/oder der Probenaufnahmeeinrichtung (3) auf die Anwesenheit des detektierbaren Produkts.

**[0010]** In einem Aspekt bezieht sich die vorliegende Erfindung auf die Verwendung der Testvorrichtung gemäß der Erfindung zur Bestimmung eines Analyten in einer Probe.

#### BESCHREIBUNG DER ZEICHNUNGEN

**[0011]** [Fig. 1](#) zeigt eine schematische Darstellung von einer der Ausführungsformen der Testvorrich-

tung der vorliegenden Erfindung (siehe nachfolgende Beschreibung für Details).

**[0012]** [Fig. 2](#) zeigt eine schematische Darstellung der Testvorrichtung der [Fig. 1](#), wobei sich der Reagensabschnitt (1) und die Probenaufnahmeeinrichtung (3) in einer ersten Position befinden, wobei die Probenaufnahmeeinrichtung (5) in dem zylindrischen Gehäuse (2) angeordnet ist, wobei sich die Betätigungseinrichtung (4) in einer durch Position A gekennzeichneten ersten Verweilposition befindet, was bedeutet, dass eine Schulter oder ein Vorsprung (19) von ihr an dem Rand des ersten offenen Endes des zylindrischen Gehäuses angeordnet ist, wie es in [Fig. 1](#) gezeigt ist, und wobei die Betätigungseinrichtung (4) mit einem Verschlussmittel (7) ausgestattet ist, das hier in der Form eines einfachen Flansches vorgesehen ist (siehe Text für Details).

**[0013]** [Fig. 3](#) zeigt eine schematische Darstellung der Testvorrichtung der vorliegenden Erfindung, wobei sich der Reagensabschnitt (1) und die Probenaufnahmeeinrichtung (3) in einer zweiten Position befinden, was bedeutet, dass die Probenaufnahmeeinrichtung (3) nun in analytenaustauschbarem Kontakt mit dem Reagensabschnitt ist, nachdem die Betätigungseinrichtung (4) weiter in das zylindrische Gehäuse (2) in Richtung auf eine Endposition B geschoben wird, wie sie in [Fig. 1](#) gekennzeichnet ist, und wobei die Probenaufnahmeeinrichtung (3) und der Reagensabschnitt (1) nicht in analytenaustauschbarem Kontakt sind (siehe Text für Details).

**[0014]** [Fig. 4](#) zeigt eine Anordnung von Testvorrichtungen im Mikrovertiefungsformat oder im Format mit 96 Vertiefungen, die Massentests, Automation und Robotisierung zulässt.

**[0015]** [Fig. 5](#) zeigt eine schematische Darstellung einer alternativen Ausführungsform der Testvorrichtung der vorliegenden Erfindung, wobei der Reagensabschnitt (1) einen Lateralflussstreifen aufweist.

**[0016]** [Fig. 6](#) zeigt eine schematische Darstellung einer alternativen Ausführungsform der Testvorrichtung der vorliegenden Erfindung, wobei die Probenaufnahmeeinrichtung (3) mehrere Schichten von Materialien aufweist und wobei der Reagensabschnitt (1) eine Stützkonstruktion (14) mit Testzonen (12) aufweist.

**[0017]** [Fig. 7](#) zeigt eine schematische Darstellung einer alternativen Ausführungsform der Testvorrichtung der vorliegenden Erfindung, wobei der Reagensabschnitt (1) in vier unterschiedliche Abschnitte unterteilt ist. In [Fig. 7A](#) ist der Reagensabschnitt (1) auf dem Boden oder der Basis des zylindrischen Gehäuses (2) angeordnet. [Fig. 7B](#) stellt eine Ansicht von oben in der Richtung des Bodens des zylindrischen Gehäuses (2) der Testvorrichtung dar, wie sie

in Fig. 7A gezeigt ist.

**[0018]** Fig. 8 zeigt eine Darstellung einer Probenahmeeinrichtung (5), wobei die Probenaufnahmeeinrichtung (3) mit Hilfe eines Verbindungselements (9) fest mit der Betätigungseinrichtung (4) der Testvorrichtung der vorliegenden Erfindung verbunden ist, wobei die Probenaufnahmeeinrichtung (3) mehrere Schichten von Materialien aufweist und wobei die Probenaufnahmeeinrichtung (3) ferner ein Sondenelement (15) und Öffnungen (16) aufweist.

**[0019]** Fig. 9 zeigt eine schematische Darstellung von noch einer weiteren alternativen Ausführungsform der Testvorrichtung der vorliegenden Erfindung, wobei die Probenaufnahmeeinrichtung (3) zwischen dem Reagensabschnitt (1) und dem zweiten offenen Ende des zylindrischen Gehäuses (2) angeordnet ist, wobei die Probenaufnahmeeinrichtung (3) ein Sondenelement (15) aufweist und wobei das zweite offene Ende des zylindrischen Gehäuses einen abnehmbaren Deckel (17) aufweist.

**[0020]** Fig. 10 zeigt eine schematische Darstellung einer alternativen Ausführungsform der Testvorrichtung der vorliegenden Erfindung, wobei die Probenaufnahmeeinrichtung zwischen dem Reagensabschnitt (1) und dem zweiten offenen Ende des zylindrischen Gehäuses angeordnet ist, wobei das zweite offene Ende in der Form einer kleineren Öffnung vorgesehen ist und wobei sich ein Probennehmelement (18) von der Öffnung erstreckt, die einen abnehmbaren Deckel (17) aufweisen kann.

**[0021]** Fig. 11 zeigt die verschiedenen Positionen, in denen die Probenaufnahmeeinrichtung (3) und der Reagensabschnitt (1) relativ zueinander in einer Testvorrichtung der Erfindung angeordnet sein können, wie sie in Fig. 10 während der Verwendung gezeigt ist. Die Vorrichtung im Lagerzustand ist in Feld A gezeigt, und die Vorrichtung kann nach Entfernung des abnehmbaren Deckels (17), wie es in Feld B gezeigt ist, über das Probennehmelement (18) in Kontakt mit der Probe gebracht werden, und ein in der Betätigungseinrichtung (4) enthaltener Kolben wird nach außen gezogen, um in dem zylindrischen Gehäuse (1) einen Unterdruck zu erzeugen, als Folge dessen eine (flüssige) Probe in die Probenaufnahmeeinrichtung (3) strömt. Das Schieben der Betätigungseinrichtung (4) in das zylindrische Gehäuse treibt überschüssiges Fluid aus dem Gehäuse durch eine Öffnung in der Probenaufnahmeeinrichtung (3) und bringt den Reagensabschnitt (1) in analytentauschbaren Kontakt mit der Probenaufnahmeeinrichtung (3) (Feld C). Daraufhin beginnt der Test, und zum Beispiel der Analyt tritt in den Reagensabschnitt ein und hat die Bildung eines detektierbaren Produktes zur Folge, dessen Anwesenheit durch visuelle Prüfung des Reagensabschnitts (1) bestimmt werden kann (Feld D).

## DETAILLIERTE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

**[0022]** Viele diagnostische Testsysteme beruhen auf der Verwendung vorbestimmter Probenmengen (z.B. Vollblut, Serum, Plasma, Urin, Speichel usw.), um den Test mit seinen vollständigen Spezifikationen auszuführen. Das Probenvolumen kann sowohl die Testsensitivität als auch die Spezifität beeinflussen. Es gibt viele Wege, genaue Probenmengen zu nehmen, jedoch wird allgemein eine Pipette oder ein Kapillarröhrchen verwendet. Daher sind häufig (Einweg-) Pipetten, Pipettenspitzen, Kapillaren oder andere Probenahmeeinrichtungen in der Verpackung von Tests enthalten.

**[0023]** Die Testvorrichtung gemäß der vorliegenden Erfindung erlaubt es Personen, die normalerweise nicht in analytischen Testverfahren ausgebildet sind, genaue Probenvolumina zu nehmen. Dazu ist die Vorrichtung der vorliegenden Erfindung mit einer Probenaufnahmeeinrichtung als einem integralen Teil des Testsystems selbst ausgestattet, wodurch die Wahrscheinlichkeit des Begehens von Fehlern bei dem Probenahmeprozess verringert wird. Die nachstehende detaillierte Beschreibung wird die Vorteile ihrer Verwendung erläutern.

**[0024]** Tests auf antibiotische Rückstände sind äußerst wichtig, um Lebensmittel, und insbesondere Milch, vor dem Auftreten von Rückständen zu schützen. Kühe können Mastitis entwickeln und werden höchstwahrscheinlich mit Antibiotika behandelt. Die Milch kann legal in die Nahrungskette nur nach einem Zurückbehaltungszeitraum eintreten, bei dem Milch, die übermäßige Mengen an antibiotischen Rückständen enthält, weggeworfen wird und die andauert, bis die Milch weniger als den zulässigen maximalen Rückstandsgrenzwert des verwendeten Antibiotikums enthält.

**[0025]** Neben dem Problem möglicher Allergien bei Verbrauchern sollte das Vorhandensein von antibiotischer Restaktivität in Milch auch aus ökonomischen Gründen verhindert werden. Wenn die Milch bei der Herstellung von Käse verwendet wird, können dabei angewendete bakterielle Starterkulturen mit verminderten Geschwindigkeiten wachsen oder sie können überhaupt nicht wachsen, oder die Spezieszusammensetzung der komplexen Starterkulturen kann geändert werden. Alle derartigen Änderungen führen zu Käse unvorhersagbarer Qualität.

**[0026]** Es befinden sich unterschiedliche Arten von Antibiotikarückstandstests auf dem Markt, die in zwei größere Gruppen unterteilt werden können

1. Schnelltests mit engem Spektrum, wie die Delvo-X-Press- (DSM, Niederlande), SNAP- (Idexx, USA), Penzym- und beta-Star- (UCB, Belgien) und MRL- und SRL-Nachweisverfahren (Charm

Sciences, USA).

2. Mikrobielle Nachweisverfahren mit breitem Spektrum, wie die Delvotest- (DSM, Niederlande), die P&S ATK-Nachweisverfahren (Copan, Italien), der BRT-Test (AIM, Deutschland), der Eclipse-Test (Spanien) und der Charm-Farm-Test (Charm Sciences, USA).

**[0027]** Die erste Gruppe besteht aus Tests des ELISA-Typs oder aus Trockenchemie-Vorrichtungen (Messstäbchen). Typischerweise wird eine Milchprobe durch die Verwendung einer Präzisionspipette oder einer Einwegvorrichtung genommen, und exakte Mengen von Reagenzien werden zu der Probe hinzugefügt. Diese Tests basieren auf einem Indikatorbindungshemmungsprinzip (tracerbinding inhibition principle), und die Menge an Milchprobe beeinflusst im Allgemeinen die Sensitivität des Tests und ist daher von großer Wichtigkeit.

**[0028]** Die Trockenchemie-Vorrichtungen erfordern eine Inkubation bei erhöhten Temperaturen, gewöhnlich in einer Inkubationsvorrichtung. In einigen Fällen wird die gesamte Testvorrichtung erwärmt (SNAP, CHARM MRL), während in anderen Fällen eine Vorinkubation eines Konjugats (beta-Star) verwendet wird, nach der der Teststreifen hinzugefügt wird. Alle Tests erfordern die Verwendung einer Pipette als Probenahmeeinrichtung vor dem Beginn des Nachweisverfahrens.

**[0029]** Die zweite Gruppe, die Tests mit breitem Spektrum auf Rückstände von Antibiotika, haben im Allgemeinen zwei Formate. Ein ELISA-Platten-Format (Format mit 96 Vertiefungen) oder ein Ampullenformat. Das Ampullenformat besteht aus einer verschlossenen (Schraubdeckel, Aluminiumfolie) Ampulle, die eine kleine Menge an Agar enthält. Der Agar enthält bakterielle Sporen, einen pH-Indikator oder einen Reduktionsmittel-Oxidationsmittel- (Redox-) Indikator und gelegentlich die Nährstoffe, die es den Bakterien erlauben, zu wachsen. In dem Fall, dass die Nährstoffe anfänglich in dem Agar fehlen, werden sie aus einer Tablette hinzugefügt, die unmittelbar vor dem Aufbringen der Milch (Delvotest) zu der Oberseite des Agars hinzugefügt wird. Nach dem Zuführen einer vorbestimmten Menge von Milch zu der Vorrichtung wird die Ampulle auf 64°C erwärmt. Die Sporen keimen zu Bakterien. Als eine Folge bakteriellen Wachstums werden Säure und andere Verbindungen erzeugt, die den Redox-Indikator beeinflussen. Typischerweise ändert das Agar-Medium in der Abwesenheit antibiotischer Rückstände seine Farbe nach 2 bis 3 Stunden Inkubation. Eine Probe ist als negativ definiert, wenn sich die Farbe innerhalb eines vorbestimmten Zeitraums ändert. Die Probe wird als positiv angesehen, wenn sie ihre Farbe nicht ändert, was das Vorhandensein von Antibiotika in der Probe anzeigt. Die Farbänderung bei 2/3 der Agar-Säule ergibt den Messwert.

**[0030]** Diese Verfahren leiden an einer bestimmten Anzahl von Nachteilen. Wenn dem Agar während der Herstellung Nährstoffe zugeführt werden, kann der Agar ein perfektes Medium zur Entwicklung aller Arten unerwünschter Mikroorganismen sein, was zu einem Verderben des Tests führt. Dieses Problem kann durch die Verwendung aseptischer Füllmethoden während der Herstellung oder dadurch umgangen werden, dass die Nährstoffe separat in Tablettenform unmittelbar vor dem Beginn des Nachweisverfahrens hinzugefügt werden. Der letztere Ansatz erzeugt einen zusätzlichen Schritt, bevor das Nachweisverfahren durchgeführt werden kann (Zuführen einer Tablette durch Verwendung einer Pinzette), aber erfordert auch die Aufnahme eines separaten Fläschchens in den Testkit selbst, gewöhnlich zusätzlich zu den Pipettierwerkzeugen.

**[0031]** Außerdem ziehen die Tabletten, wenn sie ungeeignet aufbewahrt werden, Feuchtigkeit an und lösen sich bei dem Hinzufügen der Probe nicht richtig auf. Gewöhnlich wird dies durch die Hinzufügung eines Siliziumdioxid-Siegelrandbeutels zu den Tablettenfläschchen verhindert, was die Herstellungskosten erhöht.

**[0032]** Der Nährstoff enthaltende Agar ist bei ungeeigneter Lagerung der Ampullen sogar noch anfälliger gegenüber Infektionen. Darüber hinaus können diese Tests an Ableseschwierigkeiten leiden, weil die Milch häufig dazu neigt, zwischen die Ampullenwand und den Agar zu sickern. Da Milch lichtundurchlässig ist und dazu neigt, die Indikatoren zu einem gewissen Maße zu absorbieren, wird das richtige Ablesen des Testergebnisses in starkem Maße beeinflusst. In dem Fall der Verwendung von Tabletten dient die Tablette als ein "absorbierendes Kissen" auf dem Agar und verhindert dadurch, dass dieses Problem auftritt. Dieser absorbierende Effekt kann jedoch auch nachteilig werden. Bei längerer Inkubation oder unrichtiger Abdeckung der Ampullen während der Inkubation bei erhöhten Temperaturen kann die Oberseite des Agars beginnen, auszutrocknen, und dadurch möglicherweise falsch-positive Ergebnisse erzeugen.

**[0033]** Es ist ein Ziel der vorliegenden Erfindung, eine Testvorrichtung bereitzustellen, die zumindest einige der Probleme löst, die oben beschrieben wurden.

**[0034]** Die Vorrichtung gemäß der vorliegenden Erfindung hat den eindeutigen Vorteil, ein einschrittiges Verfahren zur Probennahme und zum Probentesten bereitzustellen. Das Eintauchen eines Teils der Vorrichtung in eine Flüssigkeit, wie zum Beispiel Milch, liefert ohne die Notwendigkeit der Verwendung von Präzisionspipetten eine vorbestimmte Menge an Probe.

**[0035]** Während der Herstellung der Vorrichtung

wird ein Absorber oder eine Probenaufnahmeeinrichtung (zum Beispiel ein Absorptionskissen, das als eine Probenaufnahmeeinrichtung dient, die optional mit einem reagierenden Stoff [Nährstoffe und dergleichen] geladen und getrocknet ist) in einem zylindrischen Gehäuse befestigt oder angeordnet, das auch einen Reagensabschnitt enthält. Die Testvorrichtung existiert dann als eine unabhängige Einheit. Die Ausgestaltung wird in einer solchen Weise vorgenommen, dass bei der Herstellung in einer Fertigungsanlage eine Probenaufnahmeeinrichtung in ein zylindrisches Gehäuse der Vorrichtung in einer ersten Position eingebracht wird, in der kein analytenaustauschbarer Kontakt zwischen der Probenaufnahmeeinrichtung und dem Reagensabschnitt möglich ist. Nachdem die Probenaufnahmeeinrichtung und der Nachweisverfahrensteil so miteinander verbunden worden sind, ergibt sich eine geschlossene Vorrichtung. Der Vorteil eines solchen geschlossenen Systems besteht darin, dass es auf diese Weise für längere Zeiträume ohne das Risiko einer Kontamination oder Austrocknung der Vorrichtung gelagert werden kann. Ein weiterer Vorteil dabei besteht darin, dass eine Testvorrichtung der vorliegenden Erfindung keine zusätzliche Verpackung erfordert, um eine solche Austrocknung oder Kontamination zu vermeiden. Der Benutzer wird dann unmittelbar vor der Verwendung lediglich die Probenaufnahmeeinrichtung mit der Probe in Kontakt bringen und dadurch die Probenaufnahmeeinrichtung mit Analyt laden, was auf verschiedene Weisen vorgenommen werden kann, wie es in verschiedenen Ausführungsformen der Vorrichtung beispielhaft gezeigt ist. Anschließend wird der Benutzer die Probenaufnahmeeinrichtung in analytenaustauschbaren Kontakt mit dem Reagensabschnitt in einer zweiten Position bringen und dadurch den Austausch von Analyt und/oder Reagenzien zwischen der mit Probe geladenen Probenaufnahmeeinrichtung und dem Reagensabschnitt ermöglichen. Die auf diese Weise zusammengebrachten Probenaufnahmeeinrichtung und Reagensabschnitt resultieren in der Durchführung des Nachweisverfahrens.

**[0036]** In alternativen Ausführungsformen einer Testvorrichtung der vorliegenden Erfindung muss die Probenaufnahmeeinrichtung zur Probennahme nicht von dem zylindrischen Gehäuse getrennt werden. In derartigen Ausführungsformen umfasst das Nachweisverfahren die Entfernung eines Verschlussdeckels, das Eintreten eines Sonderelements oder Probennehmelements in die Probe, das Ermöglichen, dass sich die Probenaufnahmeeinrichtung mit Flüssigkeit füllt, und das Bringen der Probenaufnahmeeinrichtung und des Reagensabschnitts in die zweite Position.

**[0037]** Die Testvorrichtungen der vorliegenden Erfindung kann eine Einzeltestvorrichtung zur Durchführung eines einzelnen Tests sein. Die Testvorrichtung kann jedoch auch eine oder mehrere Testzonen

einsetzen, die sich auf eine Vielzahl von Tests beziehen. Im Folgenden und in den Figuren werden verschiedene Ausführungsformen dargestellt.

**[0038]** Die Testvorrichtung ist zum Detektieren von Analyten in jeder Flüssigkeit geeignet, aber bevorzugt in Körperflüssigkeiten, wie etwa zum Beispiel in Milch, Kolostrum, Urin, (Voll)-Blut, Serum, Plasma, Pleuralflüssigkeit, Magenflüssigkeit, Duodenumflüssigkeit, Intraokularflüssigkeit, Aszites-Flüssigkeit, Peritonealflüssigkeit, amniotischer Flüssigkeit, Gelenkflüssigkeit, Zystenflüssigkeit, Cerebrospinal-Flüssigkeit, Vaginalflüssigkeit (einschließlich Menstruationsflüssigkeiten), Samen, Sputum, Speichel, Extrakten von Fäkalien oder Dung, Schweiß oder Exsudat von Läsionen.

**[0039]** Die Testvorrichtung ist auch zum Detektieren von Analyten in Zellkulturüberständen, Wasser (einschließlich Trink-, Kühlturm-, Ab- und Prozesswasser), Bodenextrakten oder anderen Flüssigkeiten, wie etwa Öl, geeignet.

**[0040]** Die Probe kann entweder in der Form eines Schlamms (slurry), einer Suspension, einer Lösung, einer eingeweichten Masse, eines Homogenisats, einer Gewebeprobe aus einer Biopsie oder dergleichen vorgesehen sein. Bevorzugt ist die Probe eine Fluidprobe oder ein Fluid aus einer Probe.

**[0041]** Die Testvorrichtung ist besonders bei der Detektion von Analyten nützlich, die bei einem bestimmten vorbestimmten Niveau bestimmt werden müssen, wie etwa Toxine, Pestizide und Antibiotika. Die Testvorrichtung ist besonders nützlich, um die maximalen Rückstandsanalytengrenzen in einer Probe zu detektieren. Die meisten der Elemente für jeden Test sind mit Ausnahme der chemischen Zusammensetzung der Detektionsreagenzien dieselben, die auf die spezielle Analytendetektion zugeschnitten sind.

**[0042]** Die Testvorrichtung ist auch bei der Detektion von Analyten wie etwa Nukleotiden, Peptiden, Sacchariden oder Polymeren von diesen nützlich. Außerdem können Antikörper, Antigene, Enzyme, Co-Faktoren, Hormone, Viren, Bakterien, Pilze, Dioxine oder jegliche andere chemische oder biologische Substanz, für die ein, im Prinzip chromogenes, Nachweisverfahren entwickelt werden kann, durch Verwendung der vorliegenden Testvorrichtung bestimmt werden. Bevorzugt werden durch solche Nachweisverfahren visuell detektierbare Reaktionsprodukte erzeugt.

**[0043]** Der Analyt kann in der Probe entweder in suspensierter oder gelöster Form vorliegen. Bevorzugt liegt der Analyt in der Testprobe in gelöster Form vor.

**[0044]** Die Testvorrichtung der vorliegenden Erfin-

ung weist im Wesentlichen ein zylindrisches Gehäuse (2) auf. Die Form des Reagensabschnitts (1) ist im Prinzip zylindrisch, wobei seine Basis jede Form wie quadratisch, rechteckig, kreisförmig usw. haben kann, mit einem Innendurchmesser von 1 bis 50 mm, bevorzugt 2 bis 22 mm, und einer Höhe von 4 bis 100 mm, bevorzugt 5 bis 55 mm. Das zylindrische Gehäuse (2) ist bevorzugt kreiszylindrisch. Das zylindrische Gehäuse (2) kann aus einem flexiblen oder harten Material konstruiert sein, wie etwa Polystyrol, Polypropylen oder Polyethylen oder einem anderen thermoplastischen Harz. Bevorzugt ist das zylindrische Gehäuse lichtundurchlässig, mehr bevorzugt zumindest lokal transparent, um eine visuelle Untersuchung des Reagensabschnitts (1) und/oder der Probenaufnahmeeinrichtung (3) auf das Vorhandensein eines detektierbaren Produktes hin zu ermöglichen. In einer Ausführungsform wird ein zylindrisches Gehäuse (2) verwendet, wie etwa ein einstückiges, integrales, spritzgegossenes, vollständig transparentes Kunststoffmaterial.

**[0045]** In einer ersten Ausführungsform, wie sie in den [Fig. 1](#) bis [Fig. 3](#) dargestellt ist, ist das zylindrische Gehäuse (2) an einem Ende offen, so dass die Probenaufnahmeeinrichtung (3) zum Nehmen einer Probe von dem Gehäuse getrennt werden kann, woraufhin die die Testprobe enthaltende Probenaufnahmeeinrichtung (3) mit dem Reagensabschnitt (1) in Kontakt gebracht werden kann, der in dem zylindrischen Gehäuse (2) enthalten ist. Der in dem zylindrischen Gehäuse (2) enthaltene Reagensabschnitt (1) gibt den Teil oder Abschnitt des zylindrischen Gehäuses an, der als eine Halteeinrichtung oder Lagerplatz für Reagenzien dient und genauer für Reagenzien, die bei der Detektion des Analyten beteiligt sind. Alternativ und in anderen Ausführungsformen dargestellt kann der Reagensabschnitt (1) als inerter Träger für Reagenzien oder als ein Gefäß oder Behälter für Reaktionsprodukte oder eine flüssige Testprobe dienen. Auch wenn der Reagensabschnitt (1) hierin so definiert ist, dass er gegenüber dem offenen Ende des zylindrischen Gehäuses (2) angeordnet ist, wird der Leser verstehen, dass in dem Fall eines fluidischen Reagensabschnitts auf den Ort der Reagenzien in Bezug auf die Standardposition der Vorrichtung Bezug genommen wird, die so ist, dass das offene Ende des zylindrischen Gehäuses nach oben gerichtet ist.

**[0046]** Die Reagenzien in dem Reagensabschnitt (1) können entweder trocken oder gelöst sein oder können geeignet in einer Flüssigkeit, wie etwa einem Puffer, suspendiert gehalten sein. Die Reagenzien in dem Reagensabschnitt (1) können auch in oder an einer Matrix, wie etwa einer Gel- oder Siliziumdioxid-Matrix, oder jeder anderen Art fester Matrix immobilisiert sein, die für Flüssigkeiten und Analyten zugänglich ist. In dem Fall, dass die Reagenzien trocken sind, ist kein analytenaustauschbarer Kontakt,

wie er hierin definiert ist, zwischen dem Reagensabschnitt (1) und der Probenaufnahmeeinrichtung (3) möglich, und wenn sie nicht benetzt oder befeuchtet werden, resultieren Reagenzien in der trockenen Form in einer ersten Position, wie sie hierin definiert ist, zwischen dem Reagensabschnitt (1) und der Probenaufnahmeeinrichtung (3). Wie angegeben kann sich die Form des Reagensabschnitts (1) und/oder der festen Matrix zwischen verschiedenen Ausführungsformen unterscheiden und ist nicht auf diejenigen beschränkt, die hierin dargestellt sind. Wenn die Reagenzien in oder an einer Matrix immobilisiert sind, findet die Diffusion oder der Fluss oder im Allgemeinen die Bewegung des Analyten durch solche Kräfte wie Brownsche Bewegung, Kapillarkraft oder Konvektion statt und ereignet sich im Wesentlichen, wenn auch nicht ausschließlich, von der Probenaufnahmeeinrichtung (3) zu dem Reagensabschnitt (1). Bei einem Kontakt zwischen Analyt und Reagens wird als eine Folge dieses Kontaktes ein detektierbares Produkt gebildet. In diesem Fall dient der Reagensabschnitt (1) als eine Testzone.

**[0047]** Alternativ können die Reagenzien in dem Reagensabschnitt (1) vollständig mobil sein, wie etwa dann, wenn sie in einem Fluid oder einem Puffer gelöst sind. Wenn die Reagenzien mobil sind, diffundieren sie oder strömen sie oder – im Allgemeinen – bewegen sie sich durch solche Kräfte wie Brownsche Bewegung, Kapillarkraft oder Konvektion von dem Reagensabschnitt (1) zu der Probenaufnahmeeinrichtung (3). Somit findet der Kontakt zwischen Analyt und Reagens und die Bildung eines detektierbaren Produktes als eine Folge dieses Kontaktes entweder in dem Reagensabschnitt (1) statt, oder er kann in der Probenaufnahmeeinrichtung (3) stattfinden, und daher können der Reagensabschnitt (1) und/oder die Probenaufnahmeeinrichtung (3) als eine Testzone dienen.

**[0048]** Der Reagensabschnitt (1) kann alle Reagenzien enthalten, die notwendig sind, um bei einem Kontakt zwischen der analytenbeladenen Probenaufnahmeeinrichtung (3) und dem Reagensabschnitt (1) die Bildung eines detektierbaren Produktes zu ermöglichen. Alternativ kann ein Reagens oder können mehrere Reagenzien, das bzw. die für die Bildung eines detektierbaren Produktes erforderlich ist bzw. sind, in dem Reagensabschnitt (1) enthalten sein, während ein anderes Reagens oder mehrere Reagenzien, das bzw. die für die Bildung eines detektierbaren Produktes erforderlich ist bzw. sind, in der Probenaufnahmeeinrichtung (3) enthalten sein. Ein Reagens oder mehrere Reagenzien, das bzw. die in der Probenaufnahmeeinrichtung (3) enthalten ist bzw. sind, kann bzw. können zum Beispiel in dieser in trockener Form enthalten sein und kann bzw. können sich nur bei Kontakt mit dem Probenfluid lösen und beweglich werden.

**[0049]** Der Reagensabschnitt (1) kann solche Reagenzien wie Antikörper, Antigene, Fluorochrome, Quencher, elektrochemische Reagenzien, biolumineszente oder chemilumineszente Reagenzien, Pilz- oder Bakteriensporen, Bakterien, Viren oder jede andere Substanz enthalten, die dazu in der Lage ist, die Bildung eines detektierbaren Analyten bei einem Kontakt zwischen einem oder mehreren Reagenzien und einem Analyten zu unterstützen, vermitteln, erzeugen oder im Allgemeinen bei dieser Bildung teilzunehmen. In alternativen Ausführungsformen enthält der Reagensabschnitt (1) Indikatoren, wie etwa Redox-, pH-, usw. Indikatoren, die zum Beispiel als eine Indikatorschicht (Indikatorschichten) in dem Reagensabschnitt (1) vorgesehen ist (sind). In einer Ausführungsform eines Reagensabschnitts (1) kann eine pH-sensitive Schicht zum Beispiel einen Farbentwicklungsbereich darstellen oder einen pH-Indikator oder kann darin enthalten sein. Der Reagensabschnitt (1) kann auch absorbierende Materialien oder Kombinationen absorbierender Materialien enthalten, die zusammengemischt oder in einer geschichteten Anordnung gestapelt sind, wobei sie sich mit (semi)permeablen Membranen abwechseln oder durch diese getrennt sind, oder verschiedene Schichten können durch Brücken chromatographischer Materialien verbunden sein, oder der Reagensabschnitt (1) kann Stützstrukturen aufweisen.

**[0050]** Der Analyt kann geeignet in seiner Eigenschaft als ein Ligand detektiert werden. Allgemein können die Testvorrichtung und das Verfahren der Erfindung verwendet werden, um jeden Liganden, der bisher unter Verwendung bekannter Immuntest-Verfahren nachgewiesen worden ist oder von dem bekannt ist, dass er durch solche Verfahren detektierbar ist, unter Verwendung polyklonaler oder monoklonaler Antikörper oder anderer Proteine zu detektieren, die Bindungsstellen für solche Liganden aufweisen. Viele spezielle Testprotokolle, Reagenzien und Analyte, die in der Praxis der Erfindung nützlich sind, sind per se bekannt, siehe z.B. US-Patent Nr. 4,313,734 und US-Patent Nr. 4,366,241.

**[0051]** Die Testvorrichtung der Erfindung weist eine Probenaufnahmeeinrichtung (3) auf. Die Probenaufnahmeeinrichtung (3) weist ein absorbierendes, schwammartiges, saugfähiges und/oder poröses Material zur Aufnahme der Fluidtestprobe auf. Geeignete absorbierende Materialien oder Sorptionsmittel umfassen leicht vernetzte Polyacrylat-Superabsorptionsmittel in granularer oder faserförmiger Form, die gewöhnlich in Einwegwindeln verwendet werden, wie zum Beispiel Drytech<sup>®</sup> von Dow Chemical Company, Midland, MI, USA, Norsocryl<sup>®</sup> und AquaKeep<sup>®</sup> von Atofina, Paris, Frankreich und HySorb<sup>®</sup> von BASF Aktiengesellschaft, Ludwigshafen, Deutschland. Das absorbierende Material kann alternativ aus biopolymeren Materialien zusammengesetzt sein, wie etwa Stärken oder Cellulosen, wobei die flüssige Testpro-

be unter Ausdehnung des Sorptionsmittels aufgenommen werden kann. Eine solche Ausdehnung kann geeignet verwendet werden, um für das Auftreten der zweiten Position zum Testen der Vorrichtung zu sorgen, d.h. um einen Kontakt zwischen der Probenaufnahmeeinrichtung (3) und dem Reagensabschnitt (1) herzustellen. Alternative Sorptionsmittel zur Aufnahme von Testflüssigkeiten umfassen Polyethylen (PE), Polypropylen (PP), Ethylen-Vinyl-Acetat (EVA), Polystyrol (PS), Epoxidglas, Phenolglas oder andere geeignete Materialien in der Form gesinteter Granulate oder von Sintergut. Solche Materialien sind kommerziell erhältlich, wie etwa von GenPore, Reading, PA, USA oder Porex Corporation, Fairburn, GA, USA.

**[0052]** Die Probenaufnahmeeinrichtung (3) kann auch Kombinationen absorbierender Materialien enthalten, die zusammengemischt oder in einer geschichteten Anordnung gestapelt sind oder sich mit (semi)permeablen Membranen abwechseln oder durch diese getrennt sind, oder verschiedene Schichten können durch Brücken chromatographischer Materialien verbunden sein, oder die Probenaufnahmeeinrichtung (3) kann Stützstrukturen aufweisen. Nicht alle in der Probenaufnahmeeinrichtung (3) enthaltenen Materialien sind notwendigerweise absorbierend. Einige Materialien können enthalten sein, um der Probenaufnahmeeinrichtung (3) entweder als eine interne Stützeinrichtung oder als eine externe (permeable) Stützschiene Stärke zu verleihen. Die Probenaufnahmeeinrichtung (3) kann eine starre, flexible, weiche, expandierbare oder irgendeine andere geeignete Struktur sein. Der Fachmann wird verstehen, dass in Bezug auf die Probenaufnahmeeinrichtung (3) viele Anordnungen möglich sind, von denen alle in dem Bereich der vorliegenden Erfindung liegen. In einer Ausführungsform der Testvorrichtung sind sowohl Nährstoffe als auch Sporen in der Probenaufnahmeeinrichtung (3) enthalten. Es können verschiedene Schichten eingesetzt werden, um eine Behinderung des Wachstums von Bakterien durch sogenannte "natürliche Inhibitoren" wie Laktin und Ferritin zu verhindern. Eine Membran mit einem niedermolekularen Cut-Off-Niveau kann die verschiedenen Schichten in der Probenaufnahmeeinrichtung (3) trennen.

**[0053]** Die Probenaufnahmeeinrichtung (3) kann ferner Reagenzien aufweisen, bevorzugt solche Reagenzien, wie sie für die Vollendung der beabsichtigten Reaktion notwendig sind und die noch nicht in dem Reagensabschnitt (1) enthalten sind.

**[0054]** Da es entscheidend ist, dass die Probenaufnahmeeinrichtung (3) und der Reagensabschnitt (1) in unmittelbarem Kontakt sein können, weisen die Struktur, Form und Abmessungen der Probenaufnahmeeinrichtung (3) eine Beziehung zu der Struktur, der Form und den Abmessungen des Reagensabschnitts



(1) auf. Wenn zum Beispiel der Reagensabschnitt (1) eine Flüssigkeit aufweist, kann die Probenaufnahme-einrichtung (3) einfach in diese eingetaucht sein oder in Kontakt mit ihrer Oberfläche stehen. Alternativ kann die Probenaufnahme-einrichtung (3) dann, wenn der Reagensabschnitt (1) ein Gel oder einen Festkörper aufweist, dessen Oberfläche berühren. Als eine Folge können die Form und Abmessungen der Probenaufnahme-einrichtung (3) durch die Form und Struktur des Reagensabschnitts (1) bestimmt sein, aber müssen nicht notwendigerweise in Form oder Abmessungen davon gleich sein.

**[0055]** Auch weisen die Struktur, Form und Abmessungen der Probenaufnahme-einrichtung (3) eine Beziehung zu der Struktur, der Form und den Abmessungen des zylindrischen Gehäuses (2) auf, aber sind nicht notwendigerweise dadurch beschränkt, solange die Probenaufnahme-einrichtung (3) in dem zylindrischen Gehäuse (2) enthalten sein kann.

**[0056]** Die Testvorrichtung der Erfindung weist ferner eine Betätigungseinrichtung (4) auf, die in der Lage ist, den Reagensabschnitt (1) und/oder die Probenaufnahme-einrichtung (3) zu bewegen. Die Betätigungseinrichtung kann auch das Schließen des ersten offenen Endes des zylindrischen Gehäuses gewährleisten, bevorzugt einen luftdichten Verschluss des zylindrischen Gehäuses, und kann daher geeignet ein Verschlussmittel (7) aufweisen, zum Beispiel in der Form eines flexiblen Dichtflansches, der zwischen einem Teil der Betätigungseinrichtung (4), der in das zylindrische Gehäuse (2) eintritt, und der Wand (8) des zylindrischen Gehäuses (2), bevorzugt sowohl in der ersten als auch in der zweiten Position, eingeklemmt wird. Der luftdichte Verschluss des zylindrischen Gehäuses verhindert, dass der Inhalt Feuchtigkeit anzieht oder austrocknet oder mikrobiell kontaminiert wird. Ein Verschlussmittel (7), zum Beispiel in der Form eines flexiblen Dichtflansches, wird geeignet aus einer Verbindung wie etwa Polypropylen hergestellt. Der flexible Dichtflansch kann ein einzelner Flansch sein, aber kann auch mehrere Flanschschichten aufweisen. Alternativ können mehrere Flansche für einen noch besseren Verschluss vorgesehen sein.

**[0057]** Die Betätigungseinrichtung (4) kann ferner eine Halte- oder Greiffunktion haben, d.h. wenn die Probenaufnahme-einrichtung (3) fest mit der Betätigungseinrichtung verbunden ist, um eine Probenahme-einrichtung (5) zu bilden, um das Nehmen von Proben und das Handhaben der Probenahme-einrichtung (5) getrennt von dem Reagensabschnitt im zylindrischen Gehäuse zu erleichtern.

**[0058]** Während der Herstellung und Lagerung wird die Probenaufnahme-einrichtung (3) in dem zylindrischen Gehäuse in einer solchen Weise angeordnet, dass kein analytenaustauschbarer Kontakt zwischen

der Probenaufnahme-einrichtung (3) und dem Reagensabschnitt (1) in einer ersten Position möglich ist ([Fig. 2](#)). In dieser Position ist das offene Ende des zylindrischen Gehäuses (2) durch die Betätigungseinrichtung (4) verschlossen, um ein Austrocknen oder eine Kontamination der Reagenzien zu vermeiden.

**[0059]** Die Verwendung der Vorrichtung umfasst das Inberührungbringen der Probenaufnahme-einrichtung (3) mit der Probe und dann das Inberührungbringen der Probenaufnahme-einrichtung (3) mit dem Reagensabschnitt (1) in einer zweiten Position ([Fig. 3](#)). In dieser Position ist das offene Ende des zylindrischen Gehäuses (2) immer noch durch die Betätigungseinrichtung (4) verschlossen, aber die Probenaufnahme-einrichtung (3) ist in analytenaustauschbarem Kontakt mit dem Reagensabschnitt (1).

**[0060]** In vielen Ausführungsformen, wie etwa denjenigen, die in den [Fig. 1](#) bis [Fig. 8](#) dargestellt sind, umfasst der erste Schritt bei der funktionellen Verwendung der Vorrichtung zum Zwecke des Testens einer Testprobe auf das Vorhandensein eines Analyten die Trennung der Probenaufnahme-einrichtung (3) von dem zylindrischen Gehäuse (2). Die Probenaufnahme-einrichtung (3) wird dann so mit einer Testprobe in Berührung gebracht, dass ihr eine Menge der Probe zugeführt wird. Bevorzugt wird die Probenaufnahme-einrichtung (3) mit der Testprobe in Berührung gebracht, um vollständig mit einer flüssigen Probe gesättigt zu werden, so dass der Probenaufnahme-einrichtung (3) eine Standardmenge an Probe zugeführt wird und separate Probenahmevorgänge wiederholbare Probenvolumina ergeben.

**[0061]** Die Probenaufnahme-einrichtung (3) kann über ein Verbindungselement (9) mit der Betätigungseinrichtung (4) verbunden sein und kann mit dem Reagensabschnitt (1) in Berührung gebracht werden, nachdem die Probe absorbiert worden ist. (Schiebe oder Schraube in die "zweite Position" [[B](#) in [Fig. 1](#); [Fig. 3](#)]). Beide Verfahren, die im Stand der Technik verwendet worden sind, können unter Verwendung dieses Systems ausgeführt werden. Um das Verfahren unter Verwendung der Nährstofftablette auszuführen, kann die Probenaufnahme-einrichtung (3) während der Herstellung der Testvorrichtung in einer Nährstofflösung getränkt und dann getrocknet werden, wodurch sie während des Nachweisverfahrens als ein Proben- und Nährstoff-Zufuhrsystem dient. Um das Verfahren unter Verwendung der enthaltenen Nährstoffe auszuführen, wird die Probenaufnahme-einrichtung (3) nur als ein Probenapplikator verwendet. Im Unterschied zu den Ausführungsformen des Standes der Technik ist jedoch das Risiko einer Kontamination mit anderen Mikroorganismen als eine Folge ungeeigneter Abdichtung oder Lagerung stark reduziert, da die Probenaufnahme-einrichtung (3) mit der gesamten Oberfläche des agarverfestigten Reagensabschnitts in Berührung kommt.

**[0062]** Weil die Probenaufnahmeeinrichtung (3) als eine absorbierende Schicht dient, neigt die Milch außerdem nicht dazu, zwischen den Agar und die Wand des zylindrischen Gehäuses (2) zu sickern, und daher wird das Ablesen des Nachweisverfahrens erleichtert.

**[0063]** Nachdem die geladene Probenaufnahmeeinrichtung (3) in analytenaustauschbaren Kontakt mit dem Reagensabschnitt (1) gebracht worden ist, wird ermöglicht, dass einige Zeit verstreicht, während derer ein Austausch von Analyt und/oder Reagenzien zwischen dem Reagensabschnitt (1) und der Probenaufnahmeeinrichtung (3) zugelassen wird, wobei diese Zeit als der Reaktionszeitraum bezeichnet wird. Dieser Austausch von Analyt und/oder Reagenzien hat einen Kontakt zwischen dem Analyten und einem oder mehreren Reagenzien und das Auftreten einer Reaktion zwischen diesen zur Bildung eines detektierbaren Produktes zur Folge.

**[0064]** Es ist nicht wesentlich, dass sich die Probenaufnahmeeinrichtung (3) während des gesamten Reaktionszeitraums in analytenaustauschbarem Kontakt mit dem Reagensabschnitt (1) befindet. Zum Beispiel kann die Vorrichtung gelegentlich umgedreht werden, so dass die gelösten Reagenzien in dem Reagensabschnitt (1) in erneuten Kontakt mit der Probenaufnahmeeinrichtung (3) gebracht werden.

**[0065]** Der Begriff "analytenaustauschbarer Kontakt", wie er hierin verwendet wird, bezieht sich auf einen Zeitraum des Kontaktes zwischen der Probenaufnahmeeinrichtung (3) und dem Reagensabschnitt (1), der ausreichend ist, damit zumindest etwas von dem Analyten, der in der Probenaufnahmeeinrichtung (3) enthalten ist, auf die Reagenzien des Reagensabschnitts (1) treffen kann, und der sich unter Bedingungen ereignet, bei denen ein Austausch von Analyt und/oder Reagenzien zwischen dem Reagensabschnitt (1) und der Probenaufnahmeeinrichtung (3) möglich ist. Solche Bedingungen umfassen somit bevorzugt Bedingungen, unter denen Diffusion stattfinden kann, wie etwa feuchte oder nasse Bedingungen.

**[0066]** Wenn ausreichend Zeit verstrichen ist, wird das Ergebnis des Nachweisverfahrens durch visuelle Prüfung des Reagensabschnitts (1) und/oder der Probenaufnahmeeinrichtung (3) bestimmt, wobei das Vorhandensein des Analyten durch das Vorhandensein eines detektierbaren Produktes angezeigt wird. Ein solches detektierbares Produkt kann in Abhängigkeit von der Art der gewählten Reaktion eine Färbung von (einem Teil) des Reagensabschnitts (1) oder der Probenaufnahmeeinrichtung (3), die Bildung einer Trübung darin oder die Erzeugung lumineszenter oder fluoreszenter Signale sein.

**[0067]** In [Fig. 5](#) ist eine schematische Darstellung

einer alternativen Ausführungsform der Testvorrichtung der vorliegenden Erfindung gezeigt, wobei der Reagensabschnitt (1) einen Lateralflossstreifen (lateral flow strip)(10) aufweist. Dieser Lateralflossstreifen (10) erstreckt sich von dem oberen Ende bzw. der Oberseite des Reagensabschnitts (1) entweder in eine oder in mehrere Richtungen zu der Wand (8) des zylindrischen Gehäuses (2) und verläuft entlang der Wand in einer Richtung in Richtung auf den Boden oder das geschlossen Ende des zylindrischen Gehäuses (2). Der Lateralflossstreifen (10) kann sich in Kontakt mit dem oberen Ende bzw. der Oberseite des Reagensabschnitts (1) befinden, und der Teil des Lateralflossstreifens (11), der an dem oberen Ende bzw. auf der Oberseite des Reagensabschnitts (1) angeordnet ist, ist bevorzugt so angeordnet, dass zumindest ein analytenaustauschender Kontakt zwischen dem Lateralflossstreifen (10) und der Probenaufnahmeeinrichtung (3) möglich ist. Der Reagensabschnitt (1) weist hierin auch ein Stützelement zum Halten des Lateralflossstreifens (10) auf. Als eine Folge ist die Bewegung des Analyten auf Kapillarbewegung durch den Lateralflossstreifen (10) in einem Strömungsweg beschränkt, dessen Richtung durch den Pfeil in [Fig. 5](#) gekennzeichnet ist. In einer solchen Ausführungsform können die notwendigen Reagenzien zum Beispiel in (einem Teil von) dem Lateralflossstreifen (10) oder in den Testzonen (12) enthalten sein. Diese Testzonen (12) stellen Bindungszonen oder im Allgemeinen Reaktionszonen für den Analyten dar und können optional eine oder mehrere Kontrollzonen zur Bewertung der Reaktion aufweisen. Der Reagensabschnitt (1) kann ein absorbierendes oder saugfähiges Material zum Ziehen der Flüssigkeits-Testprobe bzw. der Flüssigkeit aus der Testprobe aus der Probenaufnahmeeinrichtung (3) in den Teil (11) des Lateralflossstreifens, durch den Lateralflossstreifen (10) in eine oder mehrere Richtungen in Richtung auf die Wand und ferner in Richtung auf den Boden des zylindrischen Gehäuses (2) in den Reagensabschnitt (1) aufweisen. Der Analyt, der in der Flüssigkeit (aus) der Testprobe enthalten ist, wird dadurch an den verschiedenen Testzonen (12) vorbei und durch diese hindurch geleitet. Um eine direkte Diffusion des Analyten in ein absorbierendes Material des Reagensabschnitts (1) zu verhindern, kann der Lateralflossstreifen zum Beispiel auf einer Seite eine nicht-permeable Schicht aufweisen, wobei diese Seite dann in Richtung auf den Reagensabschnitt (1) gerichtet ist und mit diesem in Kontakt ist, während die andere Seite einen analytenaustauschenden Kontakt mit der Probenaufnahmeeinrichtung (3) herstellen und Analyt aus dieser ziehen kann. Darüber hinaus können dann diejenigen Teile des oberen Endes bzw. der Oberseite des Reagensabschnitts (1), die nicht durch den Lateralflossstreifen bedeckt sind, durch ein nicht-permeables Material bedeckt werden, das verhindert, dass Analyt unmittelbar in das in dem Reagensabschnitt (1) enthaltene absorbierende Material eintritt. Irgendein Teil des Lateralflossstreifens

(10), der entlang der Wand des zylindrischen Gehäuses (2) in die Richtung des Bodens des zylindrischen Gehäuses (2) verläuft, ist bevorzugt dazu in der Lage, in einer Position (13), die in der Richtung des Strömungsweges jenseits der Testzonen (12) liegt, einen analytenaustauschenden Kontakt mit dem in dem Reagensabschnitt (1) enthaltenen absorbierenden oder saugfähigen Material herzustellen. Ein solcher analytenaustauschender Kontakt kann zum Beispiel erreicht werden, indem die nicht-permeable Schicht von dem Lateralflossstreifen (10) in der Position (13) entfernt wird, um das Eintreten von Testfluid aus dem Lateralflossstreifen (10) in das absorbierende Material des Reagensabschnitts (1) zu ermöglichen. Eine Testvorrichtung in einer Ausführungsform, wie sie in Fig. 5 gezeigt ist, ist dazu in der Lage, mehrere Analyten gleichzeitig zu messen, da verschiedenen Testzonen (12) vorgesehen sein können. Außerdem in einer solchen Testvorrichtung mehrere Lateralflossstreifen (10) enthalten sein, einschließlich derjenigen, die kommerziell erhältlich sind.

**[0068]** Eine weitere Ausführungsform einer Testvorrichtung der vorliegenden Erfindung ist in Fig. 6 gezeigt. Der Reagensabschnitt (1) weist hierin Reagenzien auf, die zum Beispiel in einem (flüssigen) Reaktionspuffer enthalten sind. Der Reagensabschnitt (1) ist bevorzugt so angeordnet, dass ein analytenaustauschender Kontakt zwischen dem Reagensabschnitt (1) und der Probenaufnahmeeinrichtung (3) möglich ist. Der (die) in der Flüssigkeit (aus) der Testprobe enthaltene(n) Analyt(en) diffundiert (diffundieren) dann von der Probenaufnahmeeinrichtung (3) in den Reagensabschnitt (1). Der Reagensabschnitt weist ferner eine Stützstruktur (14) auf, die Testzonen (12) aufweist, die Bindungszonen oder im Allgemeinen Reaktionszonen für den Analyten darstellen. Die Testzonen (12) können optional eine oder mehrere Kontrollzonen zur Bewertung der Reaktion aufweisen. In einer solchen Ausführungsform können die notwendigen Reagenzien somit in dem Reagensabschnitt (1) und in den Testzonen (12) enthalten sein. Die Stützstruktur (14), die die Testzonen (12) aufweist, ist bevorzugt entlang der Wand (8) des zylindrischen Gehäuses (2) angeordnet, kann daran durch jedes im Stand der Technik bekannte Mittel befestigt sein, kann jede geeignete Form annehmen und kann jeden geeigneten Teil der Wand (8) bedecken. Sogar mehrere Stützstrukturen (14) können somit an der Wand des zylindrischen Gehäuses (2) befestigt sein. Die Testzonen (12) an der Stützstruktur (14) sind so angeordnet, dass ein analyten- und reagensaustauschender Kontakt zwischen den Analyten und den in dem Reagensabschnitt (1) und den Testzonen (12) enthaltenen Reagenzien möglich ist. Eine solche Ausführungsform unterscheidet sich daher dadurch von derjenigen, die in Fig. 5 dargestellt ist, dass in der vorliegenden Ausführungsform der (die) Analyt(en) in durchgehendem Kontakt mit den Reagenzien in dem Reagensabschnitt (1) und in den Testzo-

nen (12) ist (sind). Bei längerem Kontakt kann sich ein Reaktionsgleichgewicht einstellen. Der Vorteil dieser Ausführungsform betrifft somit ihre hohe Sensitivität und Fähigkeit zu quantitativen Messungen.

**[0069]** In noch einer weiteren alternativen Ausführungsform kann der Reagensabschnitt (1) auf eine flache Oberfläche an dem Boden des zylindrischen Gehäuses (2) reduziert sein. Eine solche flache Oberfläche kann zum Beispiel aus einem Reagenzien enthaltenen Streifen bestehen, der etwa einem pH-Testpapier oder jedem anderen Reagensstreifen. Bei einem Kontakt zwischen der Probenaufnahmeeinrichtung (3) und dem flachen Reagensabschnitt (1) wird die Reaktion gestartet.

**[0070]** Um gleichzeitig mehrere Tests in einer Testvorrichtung durchzuführen, kann der Reagensabschnitt (1) in jeder Ausführungsform einer Testvorrichtung der vorliegenden Erfindung in zwei oder mehr unterschiedliche Abschnitte unterteilt sein, von denen jeder dieselben oder unterschiedliche Reagenzien aufweisen kann, die für eine oder mehrere spezifische Reaktionen geeignet sind. Fig. 7B ist eine Draufsicht in der Richtung des Bodens des zylindrischen Gehäuses, wie es in Fig. 7A gezeigt ist, wobei ein (flacher) Reagensabschnitt (1) dargestellt ist, der in vier unterschiedliche Abschnitte unterteilt ist, von denen jeder dazu in der Lage ist, ein unterschiedliches Nachweisverfahren zu unterstützen. Bevorzugt befindet sich ein isolierter Teil der Probenaufnahmeeinrichtung (3) in analytenaustauschbarem Kontakt mit einem ebenfalls isolierten Teil des Reagensabschnitts (1) mit mehreren Abschnitten, und daher ist die Anordnung der Probenaufnahmeeinrichtung (3) gegenüber dem Reagensabschnitt (1) bevorzugt fest. Dazu kann das zylindrische Gehäuse zum Beispiel mit einer Nut und die Probenaufnahmeeinrichtung (3) mit einer entsprechenden Vertiefung versehen sein, so dass ihre Orientierung relativ zueinander fest ist. Außer verschiedenen Ausführungsformen in der Ausgestaltung und Funktionalität des Reagensabschnitts (1) einer Testvorrichtung der vorliegenden Erfindung können auch die Probenaufnahmeeinrichtung (3) und die Betätigungseinrichtung (4) in verschiedenen Ausführungsformen vorgesehen sein. In Fig. 8 ist eine schematische Darstellung einer alternativen Ausführungsform der Probenaufnahmeeinrichtung (3) der Testvorrichtung der vorliegenden Erfindung gezeigt. In dieser ist die Probenaufnahmeeinrichtung (3) mit einem Sondenelement (15) ausgestattet. Das Sondenelement (15) kann durchstoßend, einschneidend, durchstechend oder schneidend sein und kann in der Form einer Kanüle, einer (hohlen) Nadel, einer Klinge, eines Skalpells oder dergleichen vorgesehen sein. Das Sondenelement ist zum Zwecke der Probennahme vorgesehen, wie etwa zum Beispiel des Nehmens von Blutproben oder Biopsien von Menschen oder Tieren. Der Zweck einer hohlen Nadel, wie sie in Fig. 8 gezeichnet ist,

würde darin bestehen, eine Haut zu durchdringen und, z.B. durch Kapillarwirkung, Blut in die Probenaufnahmeeinrichtung (3) zu ziehen. Dazu kann die hohle Nadel mit kleinen Öffnungen (17) versehen sein, durch die Blut oder eine andere Probenflüssigkeit in eine oder mehrere Regionen der Probenaufnahmeeinrichtung (3) eintreten kann. Der Zweck eines Skalpells als ein Sondenelement (15) würde darin bestehen, einen Hauteinschnitt oder eine Wunde zu erzeugen, deren Größe von der Größe des Skalpells abhängen würde. Indem die Testvorrichtung, wie sie in [Fig. 8](#) gezeigt ist, gegen ein menschliches oder tierisches Subjekt gedrückt wird, würde das Skalpell durch die Haut getrieben und auf diese Weise eine blutende Wunde erzeugt werden. Indem die Testvorrichtung und insbesondere die Probenaufnahmeeinrichtung (3) gegen die Haut gedrückt gehalten wird, würde aus dieser Wunde austretendes Blut in der Probenaufnahmeeinrichtung (3) absorbiert und eine Blutprobe erhalten werden. Das Sondenelement (15) könnte bei der Probennahme auch kurz aus der Probenaufnahmeeinrichtung (3) hervortreten und sich dann in diese zurückziehen, wie etwa zum Beispiel durch eine Federwirkungsbetätigung. Durch Federwirkung betätigte Nadeln sind in z.B. Hauteinstechvorrichtungen für Blutzuckeruntersuchungen wohlbekannt. Die Konstruktion für einen solchen Mechanismus kann in der Probenaufnahmeeinrichtung (3) und/oder einem anderen Teil der Testvorrichtung vorgesehen sein. Das Sondenelement (15) kann zum Beispiel Teil des Verbindungselements (9) zwischen der Probenaufnahmeeinrichtung (3) und der Betätigungseinrichtung (4) sein. Es ist jedoch für den Fachmann klar, dass das Sondenelement (15) in jeder geeigneten Weise in die Testvorrichtung integriert oder an dieser befestigt sein kann.

**[0071]** In einer Testvorrichtung der vorliegenden Erfindung sind noch weitere alternative Ausführungsformen möglich. [Fig. 9](#) zeigt eine Ausführungsform einer Testvorrichtung der Erfindung, bei der die Probenaufnahmeeinrichtung (3) zwischen dem Reagensabschnitt (1) und dem zweiten offenen Ende angeordnet ist. In diesem Fall ist das zylindrische Gehäuse (2) an beiden Enden offen oder hat zumindest an beiden Enden Öffnungen. In der dargestellten Ausführungsform verläuft das Verbindungselement (9) durch den Reagensabschnitt (1). Als eine Folge befinden sich die Betätigungseinrichtung (4) und die Probenaufnahmeeinrichtung (3) an gegenüberliegenden Stellen des Reagensabschnitts (1). Während der Lagerung ist das zweite offene Ende des zylindrischen Gehäuses (2) mit Hilfe eines abnehmbaren Deckels (17) verschlossen, und die Probenaufnahmeeinrichtung (3) befindet sich nicht in analytentauschbarem Kontakt mit dem Reagensabschnitt (1). Vor der Probennahme wird der abnehmbare Deckel (17) entfernt. Die Probennahme umfasst dann das Halten der Testvorrichtung gegen ein Objekt zum Testen, wodurch sich die Probenaufnahmeeinrich-

tung (3) in Kontakt mit dem Objekt zum Testen befindet und dadurch eine Probe von dem Objekt holt, und das Zurückziehen der Probenaufnahmeeinrichtung (3) in das zylindrische Gehäuse (2) in eine Position, durch die die Probenaufnahmeeinrichtung (3) in analytentauschbarem Kontakt mit dem Reagensabschnitt (1) kommt. Der Vorteil einer solchen Ausführungsform besteht darin, dass das Nehmen und Testen einer Probe mit äußerster Leichtigkeit durchgeführt werden kann und die Probenaufnahmeeinrichtung (3) nicht von dem Gehäuse (2) getrennt werden muss. Insbesondere in dem Fall von zum Beispiel der Blutuntersuchung von Schweinen minimiert ein Verfahren, das eine solche Testvorrichtung verwendet, den Stress für die Tiere. Insbesondere umfasst das Verfahren in Ausführungsformen, in denen ein Sondenelement (15) in dem zweiten Element enthalten ist, nur einen einzigen Vorgang des Drückens, Haltens, Holens und Untersuchens.

**[0072]** Anstatt die Probenaufnahmeeinrichtung (3) mit einem Sondenelement (15) auszustatten, kann auch das zylindrische Gehäuse (2) ein Sondenelement aufweisen. Ein in einer solchen Ausführungsform sehr geeignetes Sondenelement enthält ein Probennehmelement (18), wie etwa eine Pipettenspitze oder eine Nadel. Eine solche Ausführungsform ist in den [Fig. 10](#) und [Fig. 11](#) gezeigt, wobei die zweite Öffnung des zylindrischen Gehäuses (2) mit einem Probennehmelement (18) ausgestattet ist, das sich in der Form einer Pipettenspitze von dem zweiten offenen Ende des zylindrischen Gehäuses (2) erstreckt. Die Pipettenspitze kann durch einen abnehmbaren Deckel (17) bedeckt sein. Die Betätigungseinrichtung (4) und die Probenaufnahmeeinrichtung (3) befinden sich wieder an gegenüberliegenden Stellen des Reagensabschnitts (1). Während der Lagerung befindet sich die Probenaufnahmeeinrichtung (3) nicht in analytentauschbarem Kontakt mit dem Reagensabschnitt (1). Vor der Probennahme wird der abnehmbare Deckel (17) entfernt ([Fig. 11](#), Feld B). Die Probennahme umfasst dann, dass das Probennehmelement (18) in ein Objekt zum Testen oder eine Probe gedrückt wird, dass ermöglicht wird, dass Probe von der Probenaufnahmeeinrichtung (3) geholt wird, indem zum Beispiel ein fest mit dem Reagensabschnitt verbundener Kolben gezogen wird, um einen Bereich reduzierten Druckes hinter der Probenaufnahmeeinrichtung (3) zu erzeugen, und dass dann die gesamte Betätigungseinrichtung (4) in das zylindrische Gehäuse (2) gedrückt wird, um den Reagensabschnitt in analytentauschbarem Kontakt mit der Probenaufnahmeeinrichtung (3) zu treiben.

**[0073]** Solche Ausführungsformen, in denen Probe durch Verdrängung oder Luftverdrängung in die Testvorrichtung gezogen wird, sind sehr geeignet, um feste Volumina von Proben zu erhalten, und können zum Beispiel in der Form und dem Mechanismus vorgesehen sein, wie er in manuellen oder elektroni-

schen Ein- oder Mehrkanalpipetten verwendet wird, wie etwa Luftverdrängungspipetten oder Verdrängungspipetten, wie sie durch Gilson oder Eppendorf bereitgestellt werden, wobei Teile, wie etwa ein Kolben, eine Dichtung, ein O-Ring und ein Spitzenhalter integriert sind.

**[0074]** Eine Vorrichtung der vorliegenden Erfindung kann zum Testen von Milch verwendet werden, wie es hierin beschrieben ist, oder zum Testen von Blut oder Gewebe auf das Vorhandensein bestimmter Agentien, wie etwa BSE oder Infektionen, wie etwa Virusinfektionen oder bakterielle oder Pilzinfektionen.

**[0075]** Die Erfindung wird weiter aus den folgenden nicht-beschränkenden Beispielen verständlich.

## BEISPIELE

### Beispiel 1

**[0076]** Ein kommerziell erhältlicher Untersuchungstest auf antibiotische Rückstände im Ampullenformat (CH ATK) wurde von Copan (Brescia, Italien) bezogen. Dieser Test besteht aus Pipetten zur Milchprobenahme und Teströhrchen, die Sporen von *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* enthalten, die in einer Agar-Gel-Matrix eingeschlossen sind, die ferner Nährstoffe und einen (violett) pH-Indikator enthält. Die Teströhrchen sind mit Aluminiumfolie verschlossen. Um den Test zu starten, wird die Folie mit der Pipette oder Pipettenspitze durchstoßen, und eine Milchprobe wird auf die Agaroberfläche aufgebracht. Anschließend werden die Teströhrchen für 2 Stunden und 30 Minuten bei  $64 \pm 0,5^\circ\text{C}$  inkubiert.

**[0077]** In dem Fall, dass die getestete Milch keine antibiotischen Rückstände enthält, ändert sich die Farbe des Reaktionsmediums (Reaktionszone) als eine Folge der durch die in der Reaktionszone wachsenden Bakterien erzeugten Säure von violett in gelb (d.h. die Sporen keimen aus, und die Bakterien beginnen zu wachsen).

**[0078]** In dem Fall, dass die Milch gewisse Mengen antibiotischer Rückstände enthält, ist das Bakterienwachstum gehemmt. Als eine Folge ändert die Reaktionszone nach der Inkubation ihre Farbe nicht, da aufgrund der Unfähigkeit der Bakterien zum Wachstum keine Säure erzeugt wird.

**[0079]** Der oben beschriebene CH ATK-Test wurde in dem folgenden Beispiel als Kontrolle verwendet: Unter Verwendung einer Pipette wurden  $150 \mu\text{l}$  antibiotikafreier Milch auf der Reaktionszone von drei Teströhrchen (Dreifachansatz) angeordnet. Unter Verwendung desselben Aufbringverfahrens wurden drei andere Teströhrchen mit  $150 \mu\text{l}$   $10 \text{ ppb}$  Penicillin G enthaltender Milch geladen.

**[0080]** Die CH ATK-Teströhrchen dienen als zylindrische Gehäuse und Reagensabschnitte einer Testvorrichtung gemäß der vorliegenden Erfindung, und eine Probenaufnahmeeinrichtung und eine Betätigungseinrichtung gemäß der vorliegenden Erfindung wurden vorbereitet und in Verbindung damit verwendet.

**[0081]** Es wurden verschiedene Arten von mit Betätigungseinrichtungen verbundenen Probenaufnahmeeinrichtungen gemäß der vorliegenden Erfindung hergestellt. Verschiedene Arten von Whatman-Filterpapier wurden auf Plastikstäbe aufgebracht, die in die Teströhrchen passten. Das Whatman-Filterpapier diente als Probenaufnahmeeinrichtung. Die Papierscheiben hatten denselben Durchmesser wie der Innendurchmesser der CH ATK-Teströhrchen auf der Höhe der Agaroberfläche. Die Dicke der Probenaufnahmeeinrichtung wurde in einer solchen Weise angepasst, dass sie  $140$  bis  $160 \mu\text{l}$  Milch absorbieren konnte. Die Dicke wurde experimentell bestimmt.

**[0082]** Die Probenaufnahmeeinrichtungen mit den verschiedenen Filterpapieren wurden für 5 Sekunden in verschiedene Milchproben eingetaucht oder in diesen getränkt, um die erforderliche Menge Testfluid zu absorbieren. Für jede Art von Filter wurden drei Probenaufnahmeeinrichtungen in antibiotikafreier Milch getränkt, und drei wurden in Milch getränkt, die  $10 \text{ ppb}$  Penicillin G enthielt. Die Probenaufnahmeeinrichtungen wurden aus der Milch herausgenommen und so in die Teströhrchen eingeführt, dass die Probenaufnahmeeinrichtungen in analytenaustauschbaren Kontakt mit der Agaroberfläche des CH ATK-Tests waren.

**[0083]** Die Teströhrchen wurden in einem Inkubator angeordnet und bei  $64^\circ\text{C}$  für 2 Stunden und 30 Minuten erwärmt. Der pH-Indikator in dem Reagensabschnitt der Teströhrchen, die antibiotikafreie Milch enthielten, änderte die Farbe von violett in gelb, während die Teströhrchen mit der  $10 \text{ ppb}$  Penicillin G enthaltenden Testmilch die Farbe nicht einmal nach anhaltender Inkubation änderten.

**[0084]** Es wurde eine Titrationskurve erzeugt, wobei verschiedene Mengen Penicillin G einer Testmilch hinzugefügt wurden. Die Ergebnisse zeigten, dass die Sensitivität eines Tests, bei dem die Milch unter Verwendung einer Probenaufnahmeeinrichtung gemäß der vorliegenden Erfindung aufgebracht wurde, ähnlich zu dem ursprünglichen CH ATK-Test war, bei dem die Milchproben durch eine Pipette aufgebracht wurden. Alle Tests waren dazu in der Lage, Penicillin G-Zugaben von  $3 \text{ ppb}$  zu detektieren, und waren nicht dazu in der Lage, Penicillin G-Zugaben von weniger als oder gleich  $1 \text{ ppb}$  zu detektieren.

## Beispiel 2

**[0085]** Um einen weiteren Vorteil der Verwendung einer Testvorrichtung der vorliegenden Erfindung zu zeigen, wurde das Experiment von Beispiel 1 mit Teströhrchen des CH ATK-Tests wiederholt, die durch Kraftereinwirkung in einer solchen Weise in Kontakt mit einer harten Oberfläche (Tischplatte) gebracht wurden, dass sich die Agar-Gel-Matrix von der Wand des Teströhrchens löste. Als eine Folge wurde ein luftgefüllter Raum zwischen der Wand des Teströhrchens und der Agar-Gel-Matrix erzeugt.

**[0086]** Das Anordnen von 150 µl Milch auf der Agar-Gel-Matrix durch Verwenden einer Pipette hatte zur Folge, dass Milch in den Raum zwischen der Agar-Gel-Matrix und der Teströhrchenwand eintrat und sich eine lichtundurchlässige Zone zwischen diesen ausbildete. Bei einer Inkubation bei 64°C störte diese Zone eine klare Ablesung der Vorrichtung, insbesondere bei suboptimalen Konzentrationen von Penicillin G. Die Sensitivität des Tests wurde auf einen Wert zwischen 2 und 5 ppb Penicillin G reduziert. Eine verlässliche Bestimmung der exakten Sensitivität konnte als eine Folge von Schwierigkeiten bei der Ablesung aufgrund der lichtundurchlässigen, violetten/gelben Zone zwischen der Gefäßwand und der Reaktionszone nicht vorgenommen werden.

**[0087]** Die Verwendung einer Probenaufnahmeeinrichtung aus Filterpapier mit niedriger Kapillarkapazität hatte einen weniger intensiven, wenn auch ähnlichen Effekt. Jedoch war weniger Milch zwischen der Teströhrchenwand und dem Agar detektierbar, was eine bessere Ablesbarkeit der Farbänderung zur Folge hatte.

**[0088]** Die Verwendung von Filterpapier mit kleineren Hohlräumen (d.h. höheren Kapillarkräften) zeigte entweder keine Spuren von Milch oder eine minimale Menge von Milch zwischen der Teströhrchenwand und dem Agar. Die Ablesung des Tests wurde nicht beeinflusst, und die Sensitivität lag zwischen 1 und 3 ppb.

**[0089]** Die Verwendung von scheibenförmigen Probenaufnahmeeinrichtungen mit einem Durchmesser, der etwas kleiner als der Innendurchmesser des Teströhrchens war, zeigte die besten Ergebnisse. Es konnte keine Milch zwischen der Teströhrchenwand und dem Agar detektiert werden, und die Sensitivität des Tests wurde nicht beeinflusst.

## Beispiel 3

**[0090]** Ein kommerziell verfügbarer Untersuchungstest auf antibiotische Rückstände im Teströhrchenformat (Delvotest® SP; US 3,941,658) wurde von DSM Food Specialties (Delft, Niederlande) bezogen. Dieser Test ist in der Hinsicht ähnlich zu dem oben be-

schriebenen CH ATK-Test, dass er aus einzelnen Testampullen oder Teströhrchen besteht, die ein festes und gepuffertes Agarmedium enthalten, das einen pH-Indikator (Bromkresolviolett) und Sporen von *Bacillus stearothermophilus* enthält. Die Teströhrchen sind durch Aluminiumfolie verschlossen. Um den Test zu starten, wird die Folie durch eine Pipette oder Pipettenspitze durchstoßen, eine Nährstofftablette wird durch Verwendung einer Pinzette oder eines geeigneten Spenders oben auf dem Agar angeordnet, und eine Milchprobe wird durch Verwendung einer Spritze mit Pipettenspitzen zugeführt.

**[0091]** Der oben beschriebene Delvotest® SP-Test wurde als Kontrolle in dem folgenden Beispiel verwendet: Eine Nährstofftablette wurde auf dem Agarmedium von sechs Teströhrchen angeordnet. Unter Verwendung der Spritze und der Pipettenspitzen wurden 100 µl antibiotikafreier Milch den auf diese Weise vorbereiteten drei Teströhrchen zugeführt (Dreifachansatz). Unter Verwendung desselben Verfahrens wurden drei andere Teströhrchen mit 100 µl Milch geladen, die 10 ppb Penicillin G enthielt. Während der Inkubation waren die Teströhrchen mit einer Klebefolie bedeckt, um ein Austrocknen zu verhindern.

**[0092]** Die Delvotest® SP-Teströhrchen dienen als zylindrisches Gehäuse und Reagensabschnitt einer Testvorrichtung gemäß der vorliegenden Erfindung, und eine Probenaufnahmeeinrichtung und eine Betätigungseinrichtung gemäß der vorliegenden Erfindung wurden vorbereitet und in Verbindung damit verwendet.

**[0093]** Es wurden verschiedene Arten von Probenaufnahmeeinrichtungen gemäß der vorliegenden Erfindung hergestellt. Verschiedene Arten von Whatman-Filterpapier wurden auf Plastikstäbe gebracht, die in die Teströhrchen passten. Das Whatman-Filterpapier diente als Probenaufnahmeeinrichtung. Die Papierscheiben hatten denselben Durchmesser wie der Innendurchmesser der Delvotest® SP-Teströhrchen auf der Höhe der Agaroberfläche. Die Dicke des probenaufnehmenden Bereiches wurde in einer solchen Weise angepasst, dass er 90 bis 110 µl Milch absorbieren konnte. Die Dicke wurde experimentell bestimmt.

**[0094]** Die Probenaufnahmeeinrichtung wurde mit Nährstofflösung geladen und getrocknet. Die Nährstofflösung wurde durch Verdünnen von Nährstofftabletten aus dem Delvotest® SP-Test in destilliertem Wasser hergestellt. Es wurde ein Äquivalent von 100 µl destilliertem Wasser pro Tablette verwendet. Jeder probenaufnehmende Bereich wurde vor dem Trocknen mit 100 µl dieser Lösung geladen.

**[0095]** Die Probenaufnahmeeinrichtungen mit den unterschiedlichen nährstoffgeladenen Filterpapieren

wurden für 5 Sekunden in verschiedene Milchproben eingetaucht oder in diesen getränkt, um die erforderliche Menge Testflüssigkeit zu absorbieren. Für jede Art von Filter wurden drei Probenaufnahmeinrichtungen in antibiotikafreier Milch getränkt, und drei wurden in Milch getränkt, die 10 ppb Penicillin G enthielt. Die Probenaufnahmeinrichtungen wurden aus der Milch herausgenommen und so in die Teströhrchen eingeführt, dass sich die Probenaufnahmeinrichtung davon in analytenaustauschbarem Kontakt mit der Agaroberfläche der Delvotest® SP-Agaroberfläche befand.

**[0096]** Die Kontrolltests (ursprünglicher Delvotest® SP) und die modifizierten Tests (mit Probenaufnahmeinrichtungen gemäß der vorliegenden Erfindung) wurden in einem Inkubator angeordnet und bei 64°C für 2 Stunden und 45 Minuten erwärmt. Der pH-Indikator in dem Reagensabschnitt von antibiotikafreier Milch enthaltenden Teströhrchen änderte die Farbe von violett in gelb, während die Teströhrchen mit der 10 ppb Penicillin G enthaltenden Testmilch die Farbe nicht einmal nach anhaltender Inkubation änderten.

**[0097]** Eine Titrationskurve wurde erzeugt, bei der verschiedene Mengen Penicillin G zu einer Testmilch hinzugefügt wurden. Die Ergebnisse zeigten, dass die Sensitivität eines Tests, bei dem die Milch durch Verwendung einer Probenaufnahmeinrichtung gemäß der vorliegenden Erfindung zugefügt wurde, ähnlich zu dem ursprünglichen Delvotest® SP-Test war, bei dem die Milchproben durch eine Pipette einer Nährstofftablette zugeführt wurden. Alle Tests waren dazu in der Lage, Penicillin G-Zugaben von 2 ppb zu detektieren, und keiner war dazu in der Lage, Penicillin G-Zugaben von weniger als 1 ppb zu detektieren.

#### Beispiel 4

**[0098]** Um die Effektivität eines flexiblen Dichtungsflansches für einen luftdichten Verschluss eines Teströhrchens zu untersuchen, wurde das Experiment von Beispiel 3 nur mit antibiotikafreier Milch wiederholt. Für die Kontrollen wurde die Aluminiumfolie des Delvotest® SP-Tests vollständig durchstoßen und entfernt, und die Inkubation bei 64°C wurde durchgeführt, ohne die Teströhrchen mit Klebefolie zu bedecken, wie sie durch den Hersteller geliefert und empfohlen wird. Nach 2 Stunden und 45 Minuten Inkubation war die Reaktionszone teilweise austrocknet. Die Nährstofftablette hatte einen Teil der Milch absorbiert, und ein anderer Teil war verdampft. Dieses Austrocknen führte zu einem violetten Band in dem oberen Teil der Reaktionszone, was zu einer falschen positiven Testbewertung führen konnte.

**[0099]** Die Verwendung einer Probenaufnahmeinrichtung, die die Nährstoffe enthielt und mit einer Betätigungseinrichtung mit einem flexiblen Dichtungs-

flansch zum luftdichten Verschluss des Teströhrchens verbunden war, führte nicht zu einem Austrocknen der Probenreaktionszone. Nach 2 Stunden und 45 Minuten Inkubation war die Probenreaktionszone des Delvotests vollständig gelb, was anzeigte, dass die Milch frei von Antibiotika war.

#### Patentansprüche

1. Testvorrichtung zum Bestimmen eines Analyten in einer Probe, wobei die Vorrichtung einen Reagensabschnitt (1), der in einem zylindrischen Gehäuse (2) enthalten ist, wobei das zylindrische Gehäuse (2) wenigstens ein erstes offenes Ende hat, und eine Probenaufnahmeinrichtung (3), die ebenfalls in dem zylindrischen Gehäuse (2) enthalten ist, und eine Betätigungseinrichtung (4) aufweist, die in der Lage ist, den Reagensabschnitt (1) und/oder die Probenaufnahmeinrichtung (3) zu bewegen, und wobei der Reagensabschnitt (1) und die Probenaufnahmeinrichtung (3) in wenigstens zwei Positionen relativ zueinander sein können, wobei die Positionen eine erste Position, in der die Probenaufnahmeinrichtung (3) nicht in analytenaustauschbarem Kontakt mit dem Reagensabschnitt (1) ist, und eine zweite Position umfassen, in der die Probenaufnahmeinrichtung (3) in analytenaustauschbarem Kontakt mit dem Reagensabschnitt (1) ist.

2. Testvorrichtung nach Anspruch 1, bei der die Probenaufnahmeinrichtung (3) und die Betätigungseinrichtung fest verbunden sind, so dass sie eine Probenaufnahmeinrichtung (5) bilden.

3. Testvorrichtung nach Anspruch 2, bei der die Probenaufnahmeinrichtung (5) von dem zylindrischen Gehäuse entfernt werden kann.

4. Testvorrichtung nach Anspruch 1 oder 2, bei der das zylindrische Gehäuse (2) ein zweites offenes Ende aufweist, das durch einen abnehmbaren Deckel (17) verschlossen werden kann, und bei der die Probenaufnahmeinrichtung (3) zwischen dem Reagensabschnitt (1) und dem zweiten offenen Ende angeordnet ist.

5. Testvorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, bei der die Betätigungseinrichtung (4) ferner ein Verschlussmittel (7) zum luftdichten Verschließen des ersten offenen Endes aufweist.

6. Testvorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, bei der die Probenaufnahmeinrichtung (3) absorbierende Materialien aufweist, wobei die absorbierenden Materialien bevorzugt miteinander vermischt und/oder in Schichten gestapelt sind, wobei sich die Schichten optional mit einer oder mehreren (semi)permeablen Membranen abwechseln oder durch diese getrennt sind.

7. Testvorrichtung nach Anspruch 6, bei der die Menge absorbierender Materialien definierte Probenolumina bereitstellt, wenn sie in Probenflüssigkeit getränkt sind.

8. Testvorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, bei der die Probenaufnahmeeinrichtung (3) ein Sondenelement (15) aufweist.

9. Testvorrichtung nach einem der Ansprüche 4 bis 8, bei der sich ein Probennehmelement (18) von dem zweiten offenen Ende erstreckt.

10. Testvorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, bei der die Probenaufnahmeeinrichtung (3) Reagenzien aufweist.

11. Verfahren zum Bestimmen der Anwesenheit eines Analyten in einer Probe mit den Schritten:

- a) Bereitstellen einer Testvorrichtung zum Bestimmen eines Analyten in einer Probe, wobei die Vorrichtung einen Reagensabschnitt (1), der in einem zylindrischen Gehäuse (2) enthalten ist, wobei das zylindrische Gehäuse (2) wenigstens ein erstes offenes Ende hat, und eine Probenaufnahmeeinrichtung (3), die ebenfalls in dem zylindrischen Gehäuse (2) enthalten ist, und eine Betätigungseinrichtung (4) aufweist, die in der Lage ist, den Reagensabschnitt (1) und/oder die Probenaufnahmeeinrichtung (3) zu bewegen, und wobei der Reagensabschnitt (1) und die Probenaufnahmeeinrichtung (3) in wenigstens zwei Positionen relativ zueinander sein können, wobei die Positionen eine erste Position, in der die Probenaufnahmeeinrichtung (3) nicht in analytenaustauschbarem Kontakt mit dem Reagensabschnitt (1) ist, und eine zweite Position umfassen, in der die Probenaufnahmeeinrichtung (3) in analytenaustauschbarem Kontakt mit dem Reagensabschnitt (1) ist,
- b) Inkontaktbringen der Probenaufnahmeeinrichtung (3) mit der Probe,
- c) Bringen des Reagensabschnitts (1) und der Probenaufnahmeeinrichtung (3) in die zweite Position, wodurch ein Austausch des Analyten und/oder von Reagenzien zwischen dem Reagensabschnitt (1) und der Probenaufnahmeeinrichtung (3) ermöglicht wird und das Auftreten einer Reaktion zwischen Analyt und Reagenzien und die Bildung eines detektierbaren Produkts ermöglicht wird, und
- d) Bestimmen der Anwesenheit des Analyten in der flüssigen Probe durch visuelle Prüfung des Reagensabschnitts (1) und/oder der Probenaufnahmeeinrichtung (3) in Bezug auf die Anwesenheit des detektierbaren Produkts.

12. Verfahren nach Anspruch 11, bei dem die Probenaufnahmeeinrichtung (3) durch die Verwendung eines an der Testvorrichtung vorgesehenen Sondenelements (15) oder eines an der Testvorrichtung vorgesehenen Probennehmelements (18) in Kontakt mit der Probe gebracht wird.

13. Verwendung der Testvorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 10 zur Bestimmung eines Analyten in einer Probe.

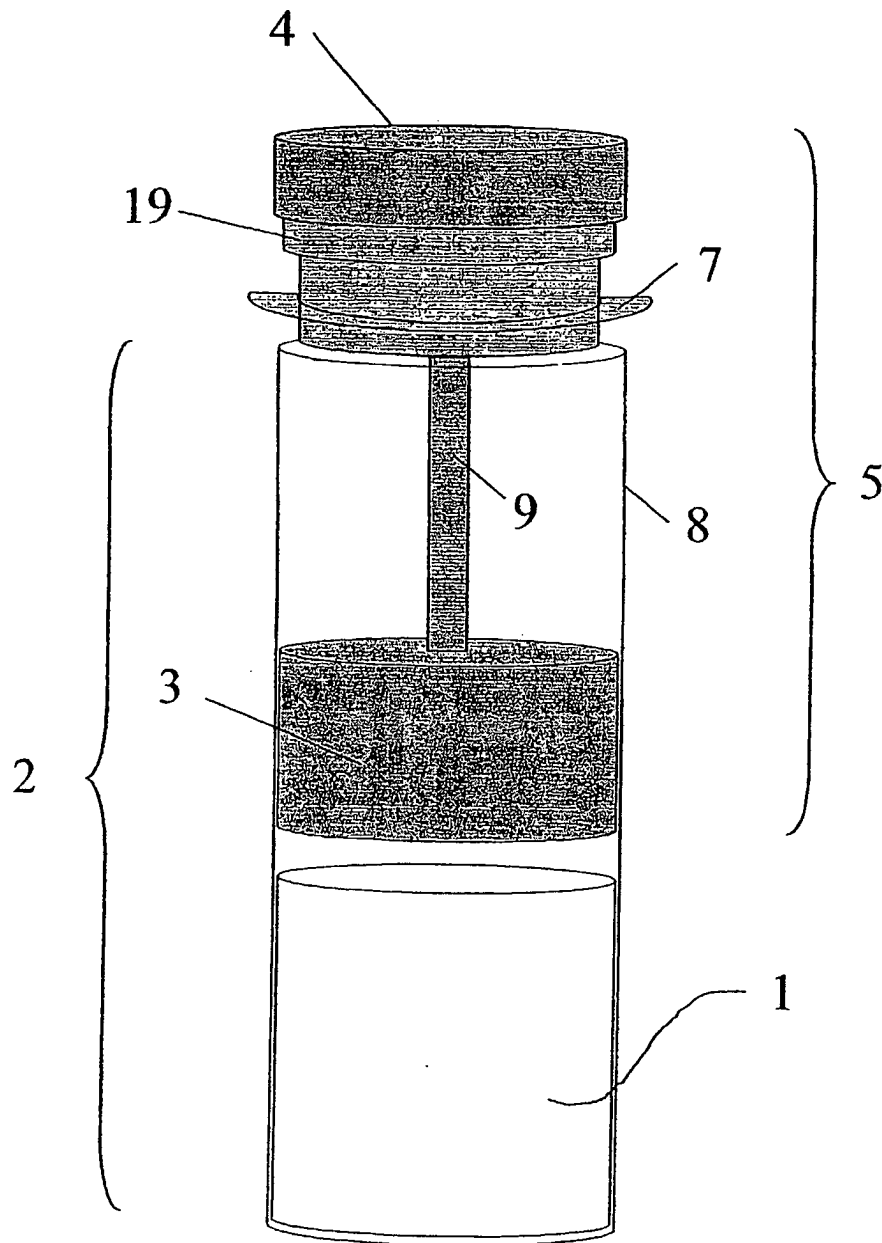
14. Verwendung nach Anspruch 13, bei der die Probe Milch, Körperflüssigkeit, Serum, Plasma und/oder Vollblut ist.

15. Verwendung nach Anspruch 13 oder 14, bei der das Analyt ein Nukleotid, ein Peptid und/oder ein Saccharid und/oder ein Polymer davon ist.

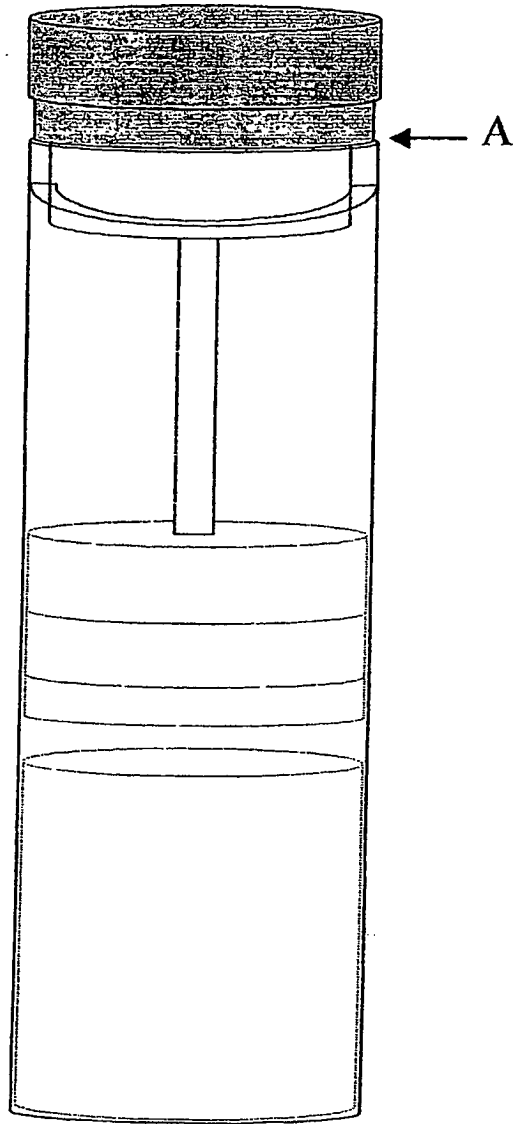
16. Verwendung nach einem der Ansprüche 13 bis 14, bei der das Analyt ein Toxin, ein Pestizid, ein Antibiotikum, ein Antikörper, ein Antigen, ein Enzym, ein Co-Faktor, ein Hormon, ein Virus, ein Bakterium und/oder ein Pilz ist.

Es folgen 11 Blatt Zeichnungen

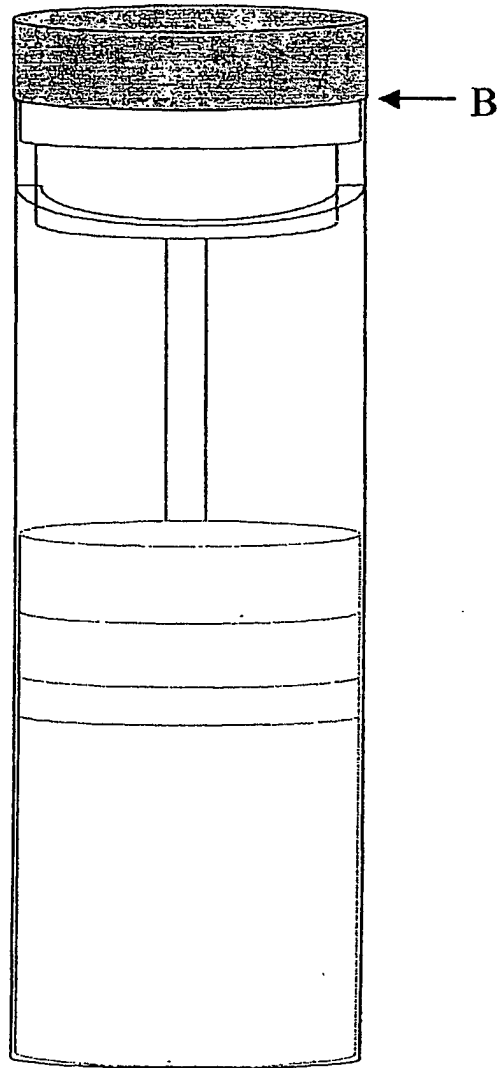




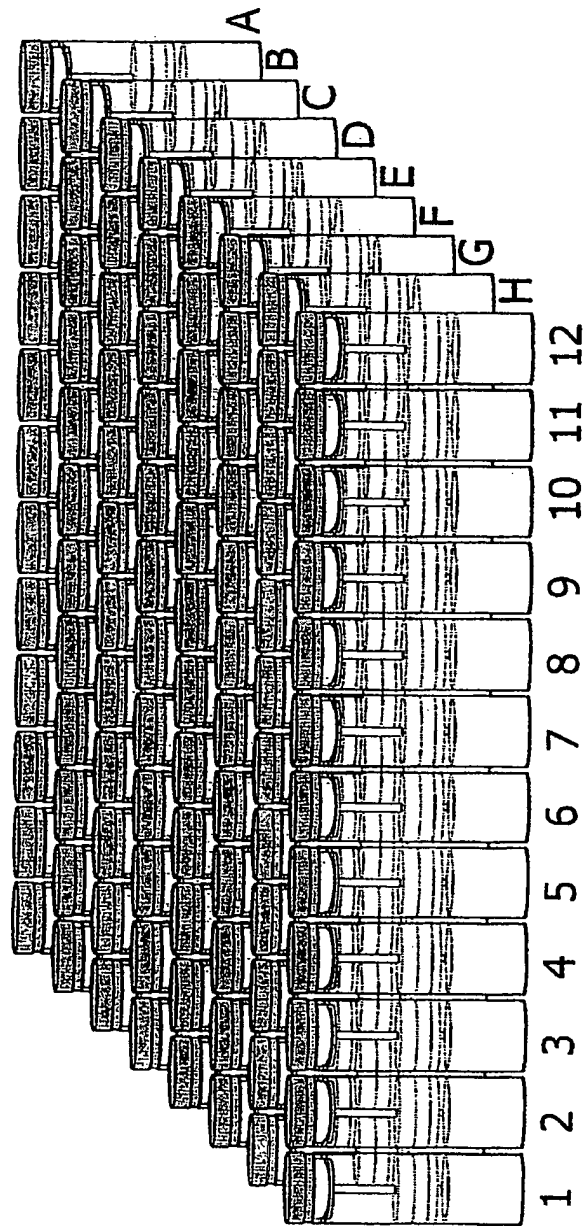
Figur 1



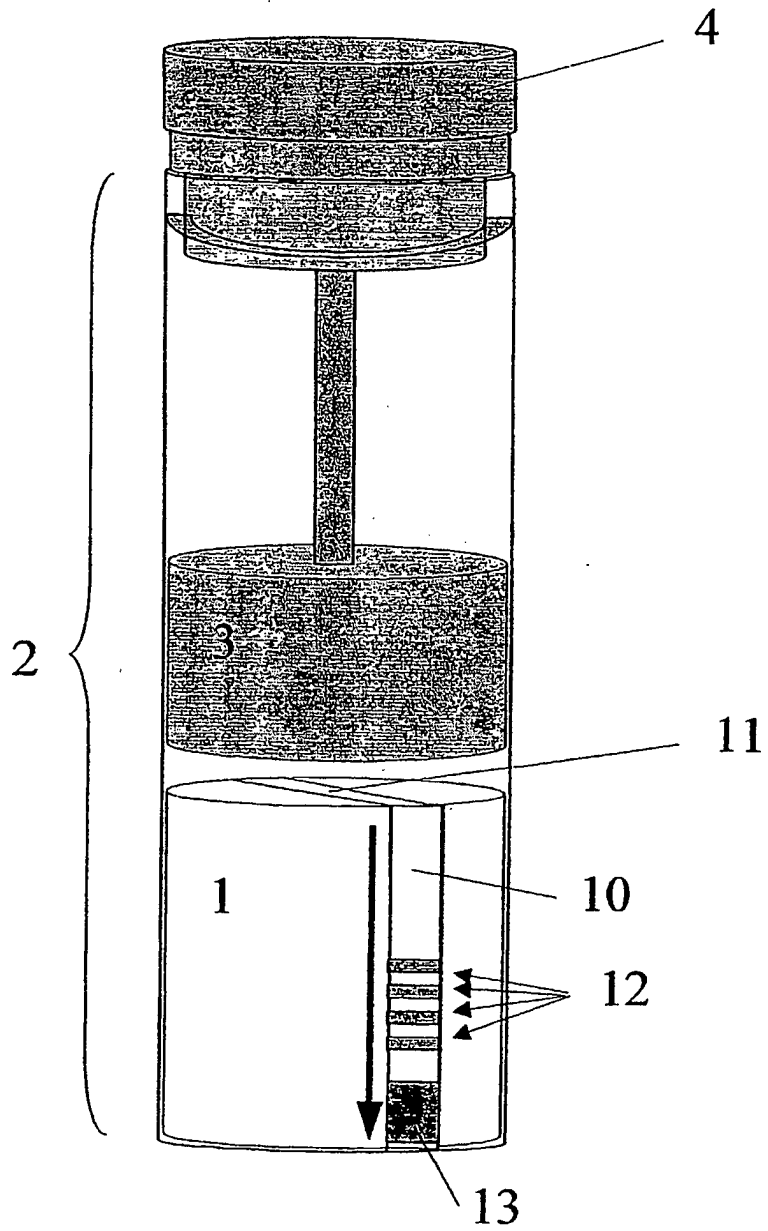
Figur 2



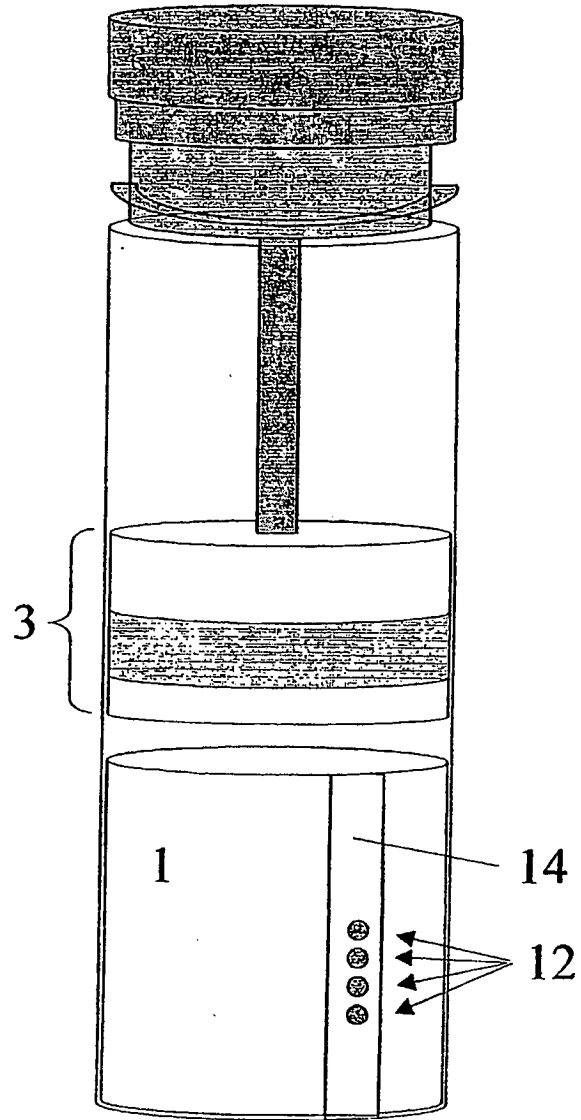
Figur 3



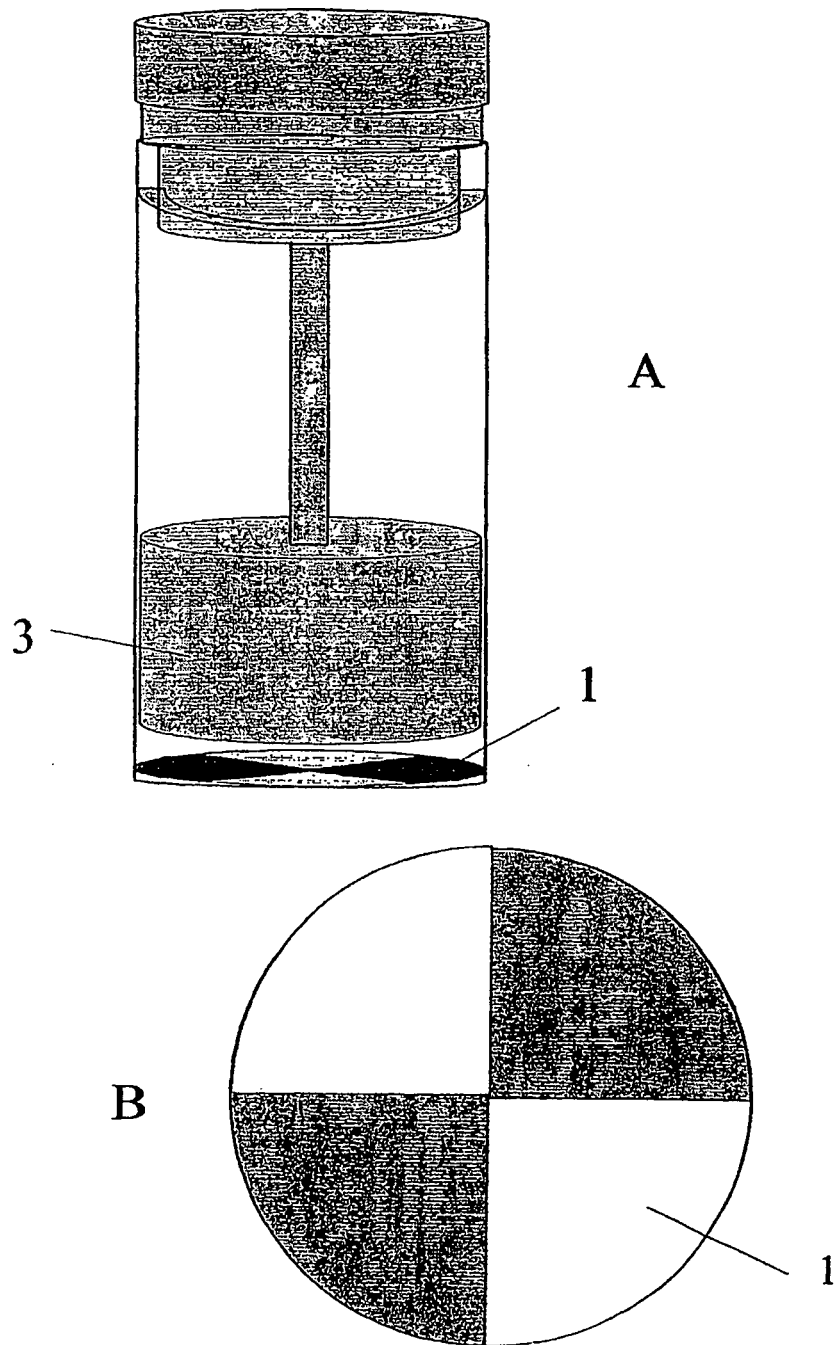
Figur 4



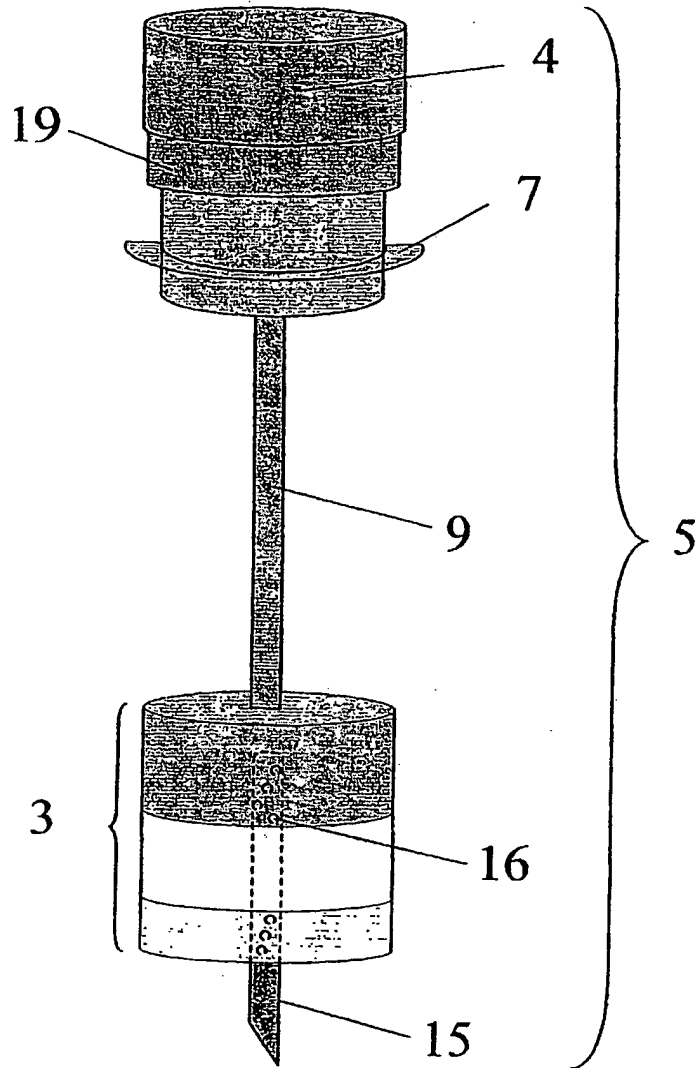
Figur 5



Figur 6

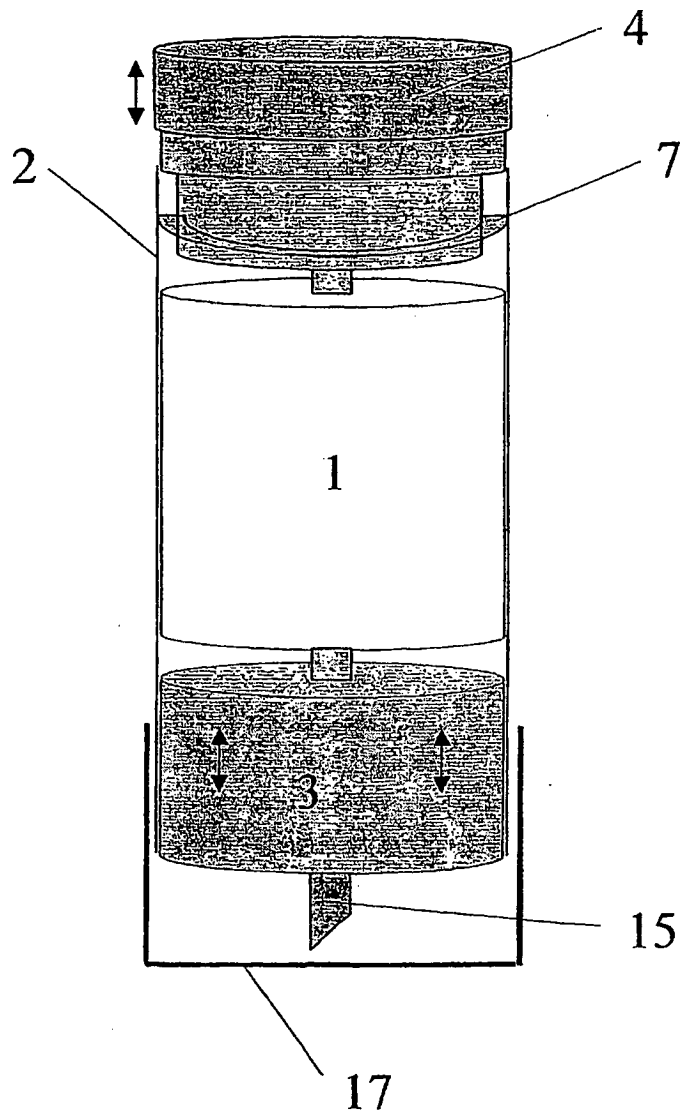


Figur 7

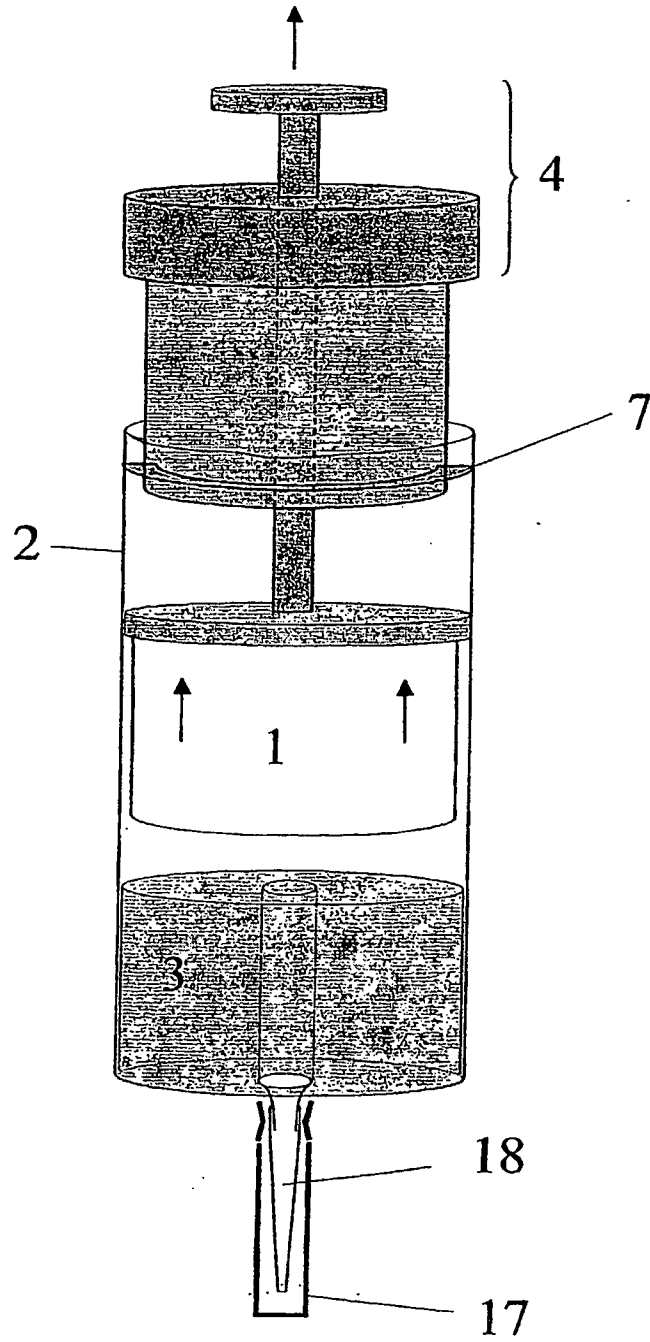


Figur 8

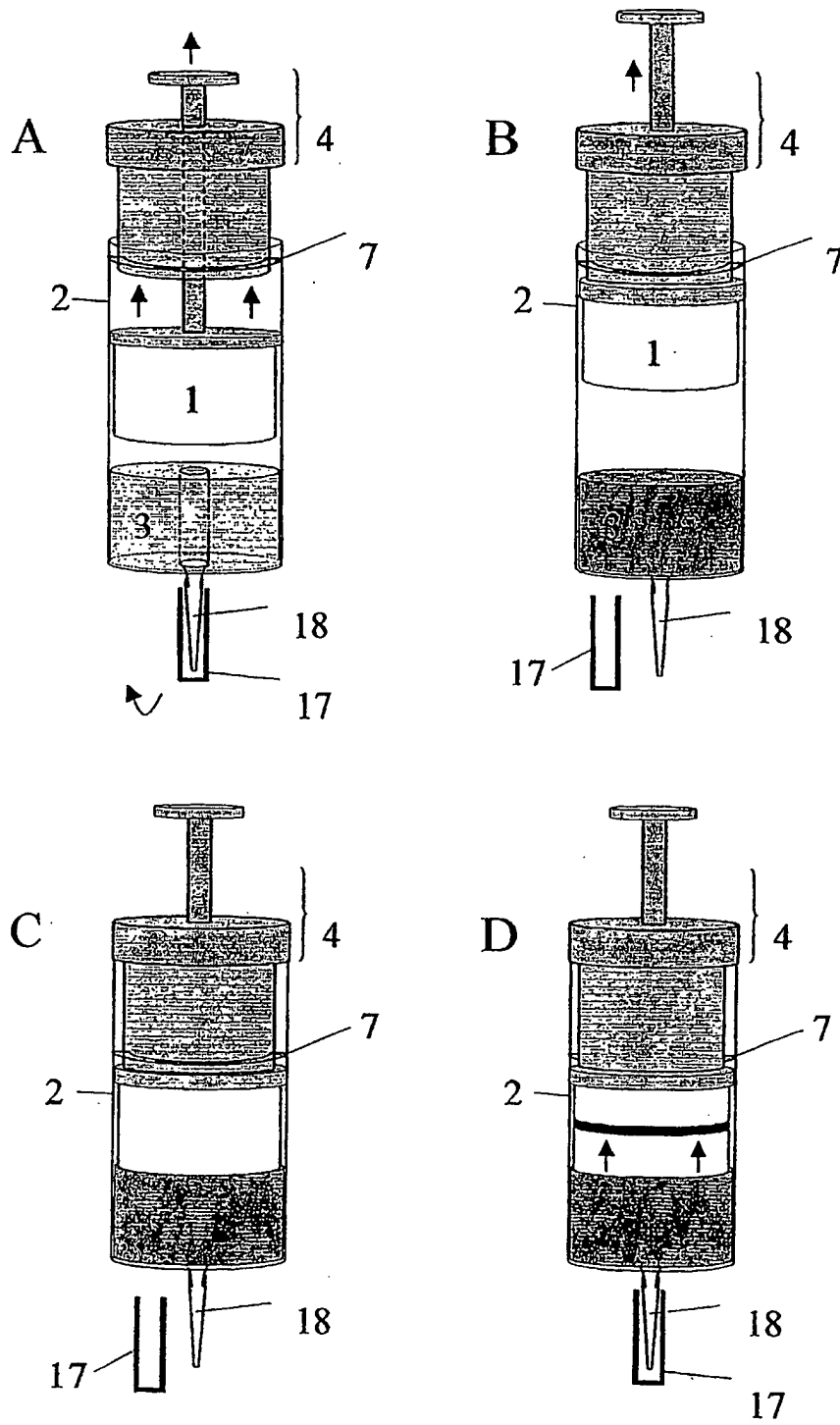




Figur 9



Figur 10



Figur 11