



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104704363 A

(43) 申请公布日 2015. 06. 10

(21) 申请号 201380037548. 7

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2013. 07. 19

G01N 33/52(2006. 01)

(30) 优先权数据

G01N 33/543(2006. 01)

12177348. 5 2012. 07. 20 EP

G01N 33/53(2006. 01)

A01J 5/007(2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2015. 01. 14

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/DK2013/050245 2013. 07. 19

(87) PCT国际申请的公布数据

W02014/012558 EN 2014. 01. 23

(71) 申请人 拉泰克公司

地址 丹麦希勒勒

(72) 发明人 吉米·克劳森

(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理

有限公司 11262

代理人 高瑜 郑霞

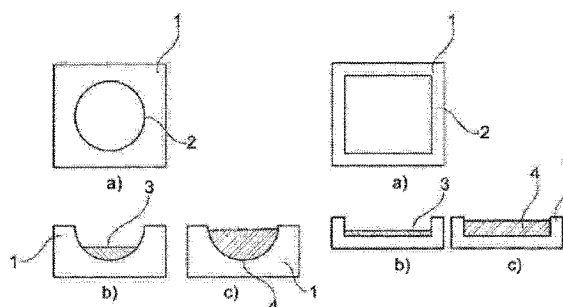
权利要求书2页 说明书25页 附图7页

(54) 发明名称

用于确定样品中的分析物的干棒设备和方法

(57) 摘要

在此提供一种用于确定样品中的分析物的新颖且改进的干棒结构。该干棒设备包括：(i) 包含一个空腔的一个固体载体，以及 (ii) 能够在一种被润湿的状态下与该分析物、所述分析物的一种衍生物或所述分析物的一种指示化合物反应以提供一个可检测的信号的至少一种干试剂，其中该空腔包含该至少一种干试剂。本发明还提供一种自动或半自动系统。另外，本发明提供一种用于优化产乳动物畜群的生产性能的自动或半自动系统。



1. 一种用于确定含水样品中的分析物的干棒设备,所述设备包括:
 - (i) 包含一个空腔的一个固体载体,以及
 - (ii) 至少一种干试剂,该干试剂能够在一种被润湿的状态下与该分析物、所述分析物的一种衍生物或所述分析物的一种指示化合物反应以提供一个可检测的信号,其中该空腔包含该至少一种干试剂,并且其中所生成的该可检测的信号是从该样品获得。
2. 根据权利要求1所述的干棒设备,其中该干棒不包含多孔材料。
3. 根据权利要求1或2所述的干棒设备,其中该至少一种干试剂未被固定。
4. 根据以上权利要求中任一项所述的干棒设备,其中该干棒不包含抗体和/或免疫球蛋白。
5. 根据以上权利要求中任一项所述的干棒设备,其中该干棒不是免疫测定。
6. 根据以上权利要求中任一项所述的干棒设备,其中该至少一种干试剂通过干燥、涂覆或粘附被固定于该空腔的至少一部分上。
7. 根据以上权利要求中任一项所述的干棒设备,其中该样品是选自下组,该组由以下各项组成:乳、血液、血清、血浆、唾液、尿液、汗液、眼晶状体液、脑脊髓液、腹水、粘膜液、滑液、腹膜液、羊水、毛发等。
8. 根据以上权利要求中任一项所述的干棒设备,其中该一种或多种干试剂被固定于该空腔的分离的部分上。
9. 根据以上权利要求中任一项所述的干棒设备,其中该空腔是带隔间的。
10. 根据以上权利要求中任一项所述的干棒设备,其中该至少一种干试剂存在于被固定至该空腔的至少一部分上的至少2个分离的层中,如至少3个层,例如至少4个层,如至少5个层,例如至少6个层中。
11. 一种用于确定含水样品中的分析物的方法,所述方法包括以下步骤:
 - (a) 将该样品施加至根据权利要求1至10中任一项所述的干棒设备的一个空腔中,
 - (b) 允许该至少一种试剂与该分析物、所述分析物的该衍生物或所述分析物的该指示化合物反应并生成一个可检测的信号,并且
 - (c) 从该样品获得该可检测的信号。
12. 根据权利要求11所述的方法,其中该方法不包括洗涤步骤。
13. 一种用于制备根据权利要求1至10中任一项所述的干棒设备的方法,所述方法包括以下步骤:
 - (i) 提供包含一个空腔的一个载体;
 - (ii) 提供至少一种干试剂,
 - (ii) 将该至少一种干试剂施加至该空腔,并且获得该干棒设备。
14. 一种自动或半自动系统,包括:
 - (a) 根据权利要求1至10中任一项所述的用于确定样品中的分析物的干棒设备以及
 - (b) 用于获得有待分析的样品的取样装置,所述取样装置是由用于存储数据的装置来控制,所述取样装置只在多个预先选择的时间点或多个预先选择的时间间隔下启动。
15. 一种用于优化包括多个独立畜群成员的产乳动物畜群的生产性能的自动或半自动系统,每个畜群成员被指派一个由该系统可辨认的唯一识别码,该系统包括用于分析这种

产乳动物的一个独立成员的一个乳样品中的至少一种分析物的分析装置,所述分析装置包括:

- (a) 根据权利要求 1 至 10 中任一项所述的用于确定样品中的分析物的干棒设备,以及
- (b) 用于将该乳样品的一部分引导至每个分离的分析装置的装置,所述引导装置是由用于存储每个独立畜群成员的生理和营养状态的数据的装置来控制,该数据包括指示所述畜群成员的繁殖和泌乳周期的时间点的数据,这样使得该引导装置只在该独立畜群成员的生产或泌乳周期的多个预先选择的时间点或多个预先选择的时间间隔下启动。

用于确定样品中的分析物的干棒设备和方法

发明领域

[0001] 本发明涉及改进的干棒 (dry stick) 结构、产生这类干棒的方法以及其在分析样品中的分析物方面的用途。本发明还涉及包括该改进的干棒结构的一种自动或半自动系统。另外,本发明涉及用于优化产乳动物畜群的生产性能的一种自动或半自动系统,该系统包括该改进的干棒结构。

[0002] 发明背景

[0003] 对快速且可靠的诊断测试的需求正在增加。现在大多数所使用的诊断测试包括多孔材料的单个层 (诸如过滤垫),该层浸渍有能够产生一个可检测信号的一种或多种试剂。这类诊断测试是非分区的 (non-partitioned),因为该一种或多种试剂存在于多孔材料的单个层中。

[0004] 当使用这类非分区干棒时,使多孔材料与一种流体样品接触,从而产生颜色变化或颜色强度的变化,这用来验证是否实现一种特定作用,或定量地确定存在于该样品中的一种分析物的量。

[0005] 包含非分区环境的干棒设备可能损害储存稳定性以及所浸渍的一种或多种试剂的性能,因为最佳储存稳定性和最佳性能几乎从不在相同的环境条件 (例如 pH 和 / 或盐含量) 下实现。

[0006] 因此,通过使用非分区干棒设备,以干棒设备显示可接受的 (但不是最佳的) 储存稳定性以及可接受的 (但不是最佳的) 性能的方式来产生试纸环境。

[0007] 为了克服这些问题,已经开发出分区干棒。现有技术的分区干棒已经是以有利于 (i) 该一种或多种试剂的储存稳定性、(ii) 该一种或多种试剂的性能以及 (iii) 该分析物与该一种或多种试剂之间的反应速率的方式产生。现有技术的分区干棒包括不同衬垫层,这些层由浸渍有不同试剂的多孔材料制成。

[0008] 然而,使用衬垫使得这类分区干棒的制造过程是耗费时间的并且是昂贵的。

[0009] 当制备分区干棒时,将构成这些衬垫的多孔材料用对应试剂浸渍。随后,将这些多孔材料层叠,然后切片并切割成多个衬垫,然后安装于一个固体载体上。或者,使多孔材料在切片时安装于一个固体载体上,然后切割成多个棒。所有这些方法步骤是耗费时间的、昂贵的并且增加了制造失败的风险。另外在切分和切割步骤期间产生的粉尘可能有害地影响工作环境。可能遭遇产量损失,因为多孔材料必须修整以便避免使用材料边缘,在这些材料边缘中经常发生浸渍不均匀。

[0010] 除了层叠步骤以外,必须使用在制造包括多孔材料的单一衬垫的非分区干棒的过程中的相同方法步骤。

[0011] 显然在本领域中对改进的非分区以及分区干棒存在需要,这些干棒是可重现的、成本低廉的并且产生容易且快速的。此外,对不会有害地影响工作环境的生产方法存在需要。

[0012] 发明概述

[0013] 本发明的一个目标涉及用于确定样品中的分析物的改进的干棒结构。这些改进的

干棒结构可以是非分区或分区干棒结构。

[0014] 具体地说,提供通过避免使用多孔材料来解决现有技术的上述问题的改进干棒结构可被视为本发明的一个目标。

[0015] 因此,本发明在一方面涉及一种用于确定样品中的分析物的干棒,所述设备包括包含一个空腔的一个固体载体、以及能够在一种被润湿的状态下与该分析物、所述分析物的一种衍生物或所述分析物的一种指示化合物反应以提供一个可检测信号的至少一种干试剂,其中该空腔包含该至少一种干试剂。

[0016] 本发明的另一个方面涉及一种用于确定样品中的分析物的干棒,所述设备包括包含一个空腔的一个固体载体、以及能够在一种被润湿的状态下与该分析物、所述分析物的一种衍生物或所述分析物的一种指示化合物反应以提供一个可检测信号的至少一种干试剂,其中该至少一种干试剂被固定于该空腔的至少一部分上。

[0017] 本发明的一个方面涉及一种用于确定样品中的分析物的干棒,所述设备包括包含一个空腔的一个固体载体、以及能够在一种被润湿的状态下与该分析物、所述分析物的一种衍生物或所述分析物的一种指示化合物反应以提供一个可检测信号的至少一种干试剂,其中该至少一种干试剂通过干燥被固定于该空腔的至少一部分上。

[0018] 本发明的另一个方面涉及一种用于确定样品中的分析物的方法,所述方法包括以下步骤:(a) 将该样品施加至一个干棒设备的一个空腔中,该干棒设备包括包含该空腔的一个固体载体、能够在一种被润湿的状态下与该分析物、所述分析物的一种衍生物或所述分析物的一种指示化合物反应以提供一个可检测信号的至少一种干试剂,其中该空腔包含该至少一种干试剂,并且 (b) 允许该至少一种干试剂与该分析物、所述分析物的该衍生物或所述分析物的该指示化合物反应并提供一个可检测信号。

[0019] 本发明的又一个方面涉及一种用于确定样品中的分析物的方法,所述方法包括以下步骤:(a) 将该样品施加至一个干棒设备的一个空腔中,该干棒设备包括包含该空腔的一个固体载体、能够在一种被润湿的状态下与该分析物、所述分析物的一种衍生物或所述分析物的一种指示化合物反应以提供一个可检测信号的至少一种干试剂,其中该至少一种干试剂被固定于该空腔的至少一部分上,并且 (b) 允许该至少一种干试剂与该分析物、所述分析物的该衍生物或所述分析物的该指示化合物反应并提供一个可检测信号。

[0020] 本发明的再一个方面涉及一种用于制备干棒设备的方法,所述方法包括以下步骤:提供包含一个空腔的一个载体、提供至少一种干试剂或至少一种试剂、将该至少一种干试剂或该至少一种试剂施加至该空腔中并且获得该干棒设备。

[0021] 本发明的另一个方面涉及一种自动或半自动系统,该系统包括 (a) 用于确定样品中的分析物的一个干棒设备,所述设备包括包含一个空腔的一个固体载体、能够在一种被润湿的状态下与该分析物、所述分析物的一种衍生物或所述分析物的一种指示化合物反应以提供一个可检测信号的至少一种干试剂,其中该空腔包含该至少一种干试剂,以及 (b) 用于获得有待分析的一个样品的取样装置,所述取样装置是由用于存储数据的装置来控制,所述取样装置只在多个预先选择的时间点或多个预先选择的时间间隔下启动。

[0022] 本发明的一个方面涉及一种自动或半自动系统,该系统包括 (a) 用于确定样品中的分析物的一个干棒设备,所述设备包括包含一个空腔的一个固体载体、能够在一种被润湿的状态下与该分析物、所述分析物的一种衍生物或所述分析物的一种指示化合物反应以

提供一个可检测信号的至少一种干试剂,其中该至少一种干试剂被固定于该空腔的至少一部分上,以及 (b) 用于获得有待分析的一个样品的取样装置,所述取样装置是由用于存储数据的装置来控制,所述取样装置只在多个预先选择的时间点或多个预先选择的时间间隔下启动。

[0023] 本发明的又一个方面涉及一种用于优化包括多个独立畜群成员的产乳动物畜群的生产性能的自动或半自动系统,每个畜群成员被指派一个可由该系统辨认的唯一识别码,该系统包括用于分析这种产乳动物的一个独立成员的一个乳样品中的至少一种分析物的分析装置,所述分析装置包括 (a) 用于确定一个样品中的一种分析物的一个干棒设备,所述设备包括包含一个空腔的一个固体载体、能够在一种被润湿的状态下与该分析物、所述分析物的一种衍生物或所述分析物的一种指示化合物反应以提供一个可检测信号的至少一种干试剂,其中该空腔包含该至少一种干试剂;以及 (b) 用于将该乳样品的一部分引导至每个分离的分析装置的装置,所述引导装置是由用于存储每个独立畜群成员的生理和营养状态的数据的装置来控制,该数据包括指示所述畜群成员的繁殖和泌乳周期的时间点的数据,这样使得该引导装置只在该独立畜群成员的生产或泌乳周期中的多个预先选择的时间点或多个预先选择的时间间隔下启动。

[0024] 本发明的再一个方面涉及一种用于优化包括多个独立畜群成员的产乳动物畜群的生产性能的自动或半自动系统,每个畜群成员被指派一个可由该系统辨认的唯一识别码,该系统包括用于分析这种产乳动物的一个独立成员的一个乳样品中的至少一种分析物的分析装置,所述分析装置包括 (a) 用于确定一个样品中的一种分析物的一个干棒设备,所述设备包括包含一个空腔的一个固体载体、能够在一种被润湿的状态下与该分析物、所述分析物的一种衍生物或所述分析物的一种指示化合物反应以提供一个可检测信号的至少一种干试剂,其中该至少一种干试剂被固定于该空腔的至少一部分上,以及 (b) 用于将该乳样品的一部分引导至每个分离的分析装置的装置,所述引导装置是由用于存储每个独立畜群成员的生理和营养状态的数据的装置来控制,该数据包括指示所述畜群成员的繁殖和泌乳周期的时间点的数据,这样使得该引导装置只在该独立畜群成员的生产或泌乳周期的多个预先选择的时间点或多个预先选择的时间间隔下启动。

[0025] 附图简要说明

[0026] 图 1A-1B 示出用于确定样品中的分析物的干棒设备的实例。

[0027] 图 2A-2C 示出用于确定样品中的分析物的隔间干棒设备的实例。

[0028] 图 3 示出用于确定样品中的分析物的分层干棒设备的实例。

[0029] 图 4 示出用于确定样品中的分析物的干棒的实例,该干棒包括一种或多种干试剂的线条。

[0030] 图 5 示出用于确定样品中的分析物的干棒的实例,该干棒包括一种或多种干试剂的圆点。

[0031] 图 6 示出用于确定样品中的分析物的干棒设备的实例,该干棒设备包括不同干试剂的分离的层。

[0032] 图 7 示出 (i) 用于生产其中试剂存在于同一衬垫中的传统非分区干棒的方法与 (ii) 本发明的方法之间的比较。作为这类传统非分区干棒的实例,使用 BHB 干棒。

[0033] 图 8 示出 (i) 用于生产其中试剂分离到不同衬垫中的传统分区干棒的方法与 (ii)

本发明的方法之间的比较。作为这类传统分区干棒的实例,使用 LDH 干棒。

[0034] 图 9 示出 (i) 传统 LDH 棒相比于 (ii) 新 LDH 干棒的性能曲线。

[0035] 本发明现在以下更详细地描述。

[0036] 发明详述

[0037] 本发明的发明人开发出不包含多孔材料的新的且改进的干棒结构。本发明的干棒结构关于所涉及的试剂而言可以是非分区的或分区的。在本发明上下文中,术语“分区”是指在同一干棒中具有不同环境(如不同试剂、pH 值和 / 或盐浓度)的干棒设备。在另一方面,术语“非分区”是指只包含一种或多种试剂存在于其中的一种环境的干棒设备。

[0038] 在一个实施例中,本发明的干棒结构同时符合根据行业和 / 或最终用户需要,在储存期间的良好稳定性以及在测试或测定期间的良好性能的要求。

[0039] 用于确定样品中的分析物的干棒结构和方法

[0040] 本发明的改进干棒结构包括 (i) 包含一个空腔的一个固体载体以及 (ii) 能够在一种被润湿的状态下与该分析物、所述分析物的一种衍生物或所述分析物的一种指示化合物反应以提供一个可检测信号的至少一种干试剂,其中该空腔包含该至少一种干试剂。

[0041] 在本发明上下文中,术语“空腔”理解为固体载体中的中空空间诸如孔或任何类似凹口。在本发明的一个实施例中,空腔的容积是在从 0.1-1000 μ L 范围内,如在从 1-100 μ L 范围内,例如在从 25-750 μ L 范围内,如在从 100-500 μ L 范围内,优选地在从 2-50 μ L 范围内。

[0042] 因为使用本发明的干棒生成的可检测信号在被检测之前不需要穿过一种多孔材料,所以所生成的可检测信号不会因该多孔材料的存在而受到稀释并且不太容易变化。在传统干棒中,可能由该多孔材料引起这类变化。这类变化难以避免,因为众所周知多种多孔材料在质量和颜色方面有所变化。使用具有降低的质量或具有不同或不均匀的颜色的一种多孔材料可能导致另外生成的可检测信号的分异,由此损害干棒的性能。另外,分析物与一种或多种干试剂的混合在多孔材料中可能很难。因此,在本发明的干棒中,可以一种一步程序从样品直接获得可检测信号是一个巨大的优势。

[0043] 因而,在本发明的一个实施例中,从样品获得所生成的可检测信号。在本发明的另一个实施例中,直接从样品获得所生成的可检测信号。

[0044] 因此,在一个实施例中,本发明涉及一种用于确定含水样品中的分析物的干棒设备,所述设备包括包含一个空腔的一个固体载体、以及能够在一种被润湿的状态下与该分析物、所述分析物的一种衍生物或所述分析物的一种指示化合物反应以提供一个可检测信号的至少一种干试剂,其中该空腔包含该至少一种干试剂并且其中所生成的该可检测信号是从该样品获得。

[0045] 在本发明上下文中,术语“传统干棒”应理解为包含多孔材料的干棒。传统干棒可以是非分区或分区干棒。在本发明上下文中,术语“多孔材料”是指吸附样品并且由此允许它在整个多孔材料中或多或少均匀地分散开的材料。

[0046] 另外,与在传统干棒中使用的试剂和 / 或干试剂的量相比,在本发明的干棒结构中使用的量可以减少。原因是在检测之前不经过多孔材料时,生成一个强得多的信号。同样地,使用本发明的干棒,生成一个可检测信号所需要的样品的量减少(与传统干棒相比),因为避免了吸附于多孔材料中。

[0047] 因此,在本发明的一个实施例中,干棒不包含多孔材料。

[0048] 该至少一种干试剂可以固体(例如粉末或压缩粉末)形式存在于干棒中。如果两种或更多种干试剂存在于干棒中,这类干试剂可以分离粉末或分离压缩粉末形式存在于干棒的空腔中。

[0049] 为了在处理干棒过程中将固体保持于空腔中,可以用一个膜密封空腔。在一个实施例中,通过该膜穿孔来将样品施加至空腔中,由此使该至少一种试剂与所施加的样品接触。在一个优选实施例中,膜可以选自下组,该组由以下各项组成:聚乙烯、聚丙烯、聚苯乙烯、聚氯乙烯、聚四氟乙烯、生物塑料及其组合。

[0050] 可以预期使用一种透明膜。

[0051] 可替代地,膜可由一种材料制成,该材料可通过所施加的样品溶解,由此使该至少一种干试剂与样品接触。

[0052] 可替代地,并且为了避免使用膜,可以将该至少一种干试剂固定于空腔的至少一部分上。因此,“被固定于空腔的至少一部分上的干试剂”应理解为基本上被阻碍移动直到与样品接触为止的干试剂。

[0053] 因此,在一个实施例中,本发明涉及一种用于确定样品中的分析物的干棒,所述设备包括:(i) 包含一个空腔的一个固体载体、以及(ii) 能够在一种被润湿的状态下与该分析物、所述分析物的一种衍生物或所述分析物的一种指示化合物反应以提供一个可检测信号的至少一种干试剂,其中该至少一种干试剂被固定于该空腔的至少一部分上。

[0054] 在本发明的一个实施例中,这类固定包括涂覆、粘附以及干燥。

[0055] 固定该至少一种干试剂将在施加样品时阻止该至少一种干试剂的分子的移动性。因此,这类固定可以在测试或测定过程中消极地影响性能。为了弥补在测试过程中的这种性能缺乏,用以获得最佳性能所需要的被固定干试剂的量可能需要增加,由此导致所产生的每个干棒的成本增加。

[0056] 因此,在本发明的一个实施例中,该至少一种干试剂未被固定于干棒的空腔上。

[0057] 固定尤其是从免疫测定(如ELISA)已知,在免疫测定中通过使用一种固定的抗体和/或固定的免疫球蛋白来测量一种溶液中的一种大分子的存在或浓度。免疫测定的操作模式不同于本发明的干棒的操作模式。在本发明的干棒中,施加样品并且直接从所施加的样品获得可检测信号。在免疫测定中,在可以获得一个可检测信号之前需要多个洗涤步骤,使得与本发明的干棒相比,这类测定是更昂贵并且耗费时间的。此外,在施加样品之后,为了获得一个可检测信号,可能需要向该免疫测定添加一种液体反应混合物。

[0058] 在本发明的另一个实施例中,干棒不包含抗体和/或免疫球蛋白。在本发明的又一个实施例中,干棒不是免疫测定。

[0059] 取决于该至少一种试剂和/或至少一种干试剂的形式,该至少一种试剂和/或至少一种干试剂一旦被施加便可以自动粘附至空腔的至少一部分上—当该至少一种干试剂和/或至少一种干试剂呈“粘性”物质(基本上不包含水)形式时,可以是此情况。

[0060] 在一个具体的优选实施例中,该至少一种试剂被干燥于空腔的至少一部分上。因此,这种干棒设备可以包括:(i) 包含一个空腔的一个固体载体、以及(ii) 能够在一种被润湿的状态下与该分析物、所述分析物的一种衍生物或所述分析物的一种指示化合物反应以提供一个可检测信号的至少一种干试剂,其中该至少一种干试剂通过干燥被固定于该空腔

的至少一部分上。

[0061] 在本发明上下文中,术语“被干燥”应理解为其中将水和 / 或一种或多种有机溶剂从一种试剂中移除 (例如通过蒸发),因而获得一种干试剂的过程。

[0062] 本发明的发明人还提供一种用于确定样品中的分析物的新的且改进的方法。该方法包括以下步骤:

[0063] (a) 将样品施加至一个干棒设备的一个空腔中,该干棒设备包括:

[0064] (i) 包含该空腔的一个固体载体,

[0065] (ii) 能够在一种被润湿的状态下与该分析物、所述分析物的一种衍生物或所述分析物的一种指示化合物反应以提供一个可检测信号的至少一种干试剂,其中该空腔包含该至少一种干试剂,并且

[0066] (b) 允许该至少一种干试剂与该分析物、所述分析物的该衍生物或所述分析物的该指示化合物反应并提供一个可检测信号。

[0067] 该可检测信号可以由能够通过任何种类的视觉或仪器手段直接或间接地观察到的任何物质来生成。仪器手段可以是例如磁强计、分光计、ELISA 读取器和 / 或 CCD 摄像机。不同的适合化合物可适用于作为信号产生化合物。在本发明中,该信号产生化合物可以选自下组,该组由以下各项组成:色原体、催化剂、荧光化合物、化学发光化合物、放射性标记、金属、磁性颗粒、染料颗粒、有机聚合物胶乳颗粒、脂质体、或含有信号产生物质的其他囊泡等。

[0068] 因此,在本发明的一个实施例中,该方法包括以下步骤:

[0069] (a) 将样品施加至一个干棒设备的一个空腔中,该干棒设备包括:

[0070] (i) 包含该空腔的一个固体载体,

[0071] (ii) 能够在一种被润湿的状态下与该分析物、所述分析物的一种衍生物或所述分析物的一种指示化合物反应以提供一个可检测信号的至少一种干试剂,其中该空腔包含该至少一种干试剂,

[0072] (b) 允许该至少一种干试剂与该分析物、所述分析物的该衍生物或所述分析物的该指示化合物反应并生成一个可检测信号,并且

[0073] (c) 从该样品获得该可检测信号。

[0074] 如上所述,使用本发明的干棒,不需要洗涤步骤来获得可检测信号。因此,在本发明的一个实施例中,该方法不包括洗涤步骤。

[0075] 在可以获得该可检测信号之前,可能需要进行短的孵育。因此,在本发明的一个实施例中,允许该至少一种干试剂与分析物、所述分析物的衍生物或所述分析物的指示化合物反应至少 1 分钟,如至少 2 分钟,例如至少 3 分钟,如至少 4 分钟,例如至少 5 分钟,如至少 6 分钟,例如至少 7 分钟,如至少 8 分钟,例如至少 9 分钟,如至少 10 分钟,例如从 1-10 分钟,如从 2-9 分钟,例如从 3-8 分钟,如从 4-7 分钟,例如从 5-6 分钟,优选地从 1-5 分钟。

[0076] 在本发明上下文中,术语“在一种被润湿的状态下”是指该至少一种干试剂与该样品之间的接触,由此该至少一种干试剂变得湿润或稍微湿润。被润湿的状态的作用是至少一种干试剂被释放并溶解 (动员) 并且干棒设备中的反应开始并且产生一个可检测信号,这取决于存在于样品中的分析物的量。

[0077] 在一个实施例中,在施加样品之后,直接从空腔的顶部、底部或侧面获得可检测信

号。这意味着不需要洗涤步骤来获得可检测信号 – 因而,可以在一种一步程序中从空腔获得可检测信号。因此,为了获得可检测信号,除添加样品之外,也不需要依序将多种液体添加至空腔中。因此,本发明的干棒结构不是 ELISA。

[0078] 在另一个实施例中,本发明涉及一种用于确定样品中的分析物的方法,所述方法包括以下步骤:

[0079] (a) 将样品施加至一个干棒设备的一个空腔中,该干棒设备包括:

[0080] (i) 包含该空腔的一个固体载体,

[0081] (ii) 能够在一种被润湿的状态下与该分析物、所述分析物的一种衍生物或所述分析物的一种指示化合物反应以提供一个可检测信号的至少一种干试剂,其中该至少一种干试剂被固定于该空腔的至少一部分上,并且

[0082] (b) 允许该至少一种干试剂与该分析物、所述分析物的该衍生物或所述分析物的该指示化合物反应并提供一个可检测信号。

[0083] 可以优选的是,这种固定是干燥。

[0084] 固体载体

[0085] 本发明的干棒包括一个固体载体。在本发明上下文中,术语“固体载体”是指对于样品或一种或多种试剂的迁移或反应没有影响的材料。换言之,固体载体是将这些试剂保持于适当位置的固定物。

[0086] 固体载体为干棒提供稳定基础并且提供用以保持所需物理形状的足够强度并且基本上不干扰可检测信号的产生。

[0087] 在本发明的一个实施例中,固体载体的材料可以选自下组,该组由以下各项组成:膜、塑料、玻璃、金属、瓷器及其组合。如果可检测信号从空腔的侧面和 / 或底部获得,可以优选的是固体载体 (或至少空腔) 是由一种透明材料制成。

[0088] 塑料可以是合成有机固体、半合成有机固体及其组合。同样地,塑料可以是热塑性聚合物、热固性聚合物及其组合。在一个实施例中,塑料可以选自下组,该组由以下各项组成:聚乙烯、聚丙烯、聚苯乙烯、聚氯乙烯、聚四氟乙烯、生物塑料及其组合。

[0089] 该一种或多种试剂和 / 或一种或多种干试剂

[0090] “试剂”和 / 或“多种试剂”可以呈固体、半固体或液体形式。在被施加至固体载体之前,可以将“试剂”和 / 或“多种试剂”溶解于水和 / 或一种或多种有机溶剂中 – 可替代地,它们可以其原始形式 (即固体、半固体或液体形式) 施加至固体载体上。

[0091] 因此,在本发明上下文中,术语“试剂”、“多种试剂”、“干试剂”和 / 或“多种干试剂”是指与存在于样品中的分析物、所述分析物的衍生物或所述分析物的指示化合物反应以提供可检测信号、参与这些物质的确定或为这些物质的确定所需要的化学和 / 或酶物质。可以提供试剂的组合的类似定义,该定义更具体地涉及 2 种或更多种试剂,如 3 种或更多种试剂,例如 4 种或更多种试剂,如 5 种或更多种试剂,例如 6 种或更多种试剂。

[0092] 在本发明上下文中,术语“干试剂”应理解为基本上不包含水的试剂。因此,在本发明的一个实施例中,干试剂包含少于 5% w/w 水,如少于 4% w/w 水,例如少于 3% w/w 水,如少于 2% w/w 水,例如少于 1% w/w 水,如少于 0.5% w/w 水,例如少于 0.01% w/w 水,如在从 0.01% w/w–5% w/w 范围内的水,如在从 1% w/w–4% w/w 范围内的水,例如在从 2% w/w–3% w/w 范围内的水,如在从 0.5% w/w–1% w/w 范围内的水,例如在从 0.01% w/w–0.5%

w/w 范围内的水。在一个优选实施例中,干试剂不包含水。在本发明的一个实施例中,干试剂可以在所获得的干棒中呈固体(例如粉末)、半固体或液体形式。

[0093] 分析物

[0094] 基于上述原则的干棒或方法可以通过选择本领域技术人员已知的适当的信号产生化合物来用于确定广泛范围的分析物。因此,本发明不需要局限于在此提到的实例。

[0095] 在本发明的一个实施例中,有待测定的分析物可以选自下组,该组由以下各项组成:蛋白质、酶、脂质、碳水化合物、抗生素、激素、维生素以及化学化合物。

[0096] 在本发明的一个实施例中,激素是类固醇。该类固醇可以选自下组:孕烯醇酮、孕酮、睾酮、二氢睾酮、雌酮、雌二醇、皮质醇、皮质酮、醛固酮、皮质甾酮、雄烯二酮、17 α -OH-孕烯醇酮、17 α -OH-孕酮、11-脱氧-皮质甾酮、11-脱氧皮质醇、脱氢表雄甾酮、以及黄体化激素。

[0097] 酶可以选自下组,该组由以下各项组成:过氧化氢酶、乳酸脱氢酶(LDH)、碱性磷酸酶、酸性磷酸酶、羧酸酯酶、芳酯酶、 β -葡萄糖醛酸酶、乳过氧化物酶、脂肪酶、溶菌酶、黄嘌呤氧化酶、纤溶酶、以及 β -N-乙酰基氨基己糖苷酶(NAG酶)、以及前列腺素D合成酶(PGDS)。

[0098] 在一个优选实施例中,酶是选自下组,该组由以下各项组成:LDH和NAG酶。

[0099] 化学化合物可以选自下组,该组由以下各项组成:尿素、甘油三酯以及酮体。酮体可以选自下组,该组由以下各项组成:乙酰乙酸酯、 β -羟基丁酸酯(BHB)、柠檬酸、乳酸、丙酮、抗坏血酸、硝酸盐、尿胆素原、以及胆固醇。

[0100] 在一个优选实施例中,化合物是选自下组,该组由以下各项组成:尿素和BHB。

[0101] 碳水化合物可以是单糖和/或双糖。单糖可以是葡萄糖或半乳糖。双糖可以是乳糖。

[0102] 在一个甚至更优选实施例中,分析物是选自下组,该组由以下各项组成:LDH、尿素以及BHB。

[0103] 在另一个实施例中,分析物可以是一种酶,不论是否该酶存在于干棒中以及参与确定分析物与否。

[0104] 样品

[0105] 在本发明上下文中,术语“样品”是指以液体或溶液形式存在的任何样品。此术语也是指在测定时可液化、溶解和/或悬浮于液体中的气体。此术语也是指一旦改变便可形成液体样品(例如呈溶液、混悬液或乳液形式)的固体样品。

[0106] 优选地,在将液体样品应用于干棒测试之前需要对液体样品的最小数量的处理步骤。在本发明上下文中,术语“处理步骤”是指在施加于测定设备之前对液体样品的任何种类的预处理。此预处理包括分离、过滤、稀释、蒸馏、浓缩、钝化干扰化合物、离心、加热、固定、添加试剂、或化学处理。

[0107] 在本发明的一个实施例中,样品可以收集自哺乳动物,优选地哺乳动物是选自下组,该组由以下各项组成:畜群动物、奶牛、骆驼、水牛、猪、马、鹿、绵羊、山羊、宠物以及人。样品还可以从其他类型动物如蛇、鱼以及鸟类收集。

[0108] 在本发明的一个优选实施例中,样品可以来自任何希望的来源,然而,优选地样品是选自下组,该组由以下各项组成:乳、血液、血清、血浆、唾液、尿液、汗液、眼晶状体液、脑

脊髓液、腹水、粘膜液、滑液、腹膜液、羊水、毛发等。

[0109] 样品还可以从细菌或细菌衍生来源、植物或植物衍生来源、真菌或真菌衍生来源、生产过程、水性来源、食物来源、饲料来源、油来源和 / 或矿物来源获得。

[0110] 生产过程可以是任何种类的生产过程,诸如但不限于发酵过程、生物化学过程以及化学合成过程。

[0111] 同样地,水性来源可以是任何种类的水性来源,诸如但不限于湖泊、溪流、河流、开阔水域以及净化厂。

[0112] 矿物来源可以是采矿液流。

[0113] 干棒结构的另外实施例

[0114] 在本发明的一个实施例中,能够与分析物、所述分析物的衍生物或所述分析物的指示化合物反应的该至少一种干试剂可以存在于空腔的分离部分中。

[0115] 一种多种干试剂的这种分离在测定过程中提供一个更快且更均匀的可检测信号。如果两种或更多种干试剂存在于干棒中,干试剂的这种分离可以改进干棒的储存稳定性,因为这些干试剂之间的任何种类的反应得以避免。当在一种被润湿的状态下时,该一种或多种干试剂与分析物反应以提供一个可检测信号。

[0116] 因此,不包括干试剂的分离的干棒可以被视为非分区干棒,而包括两种或更多种分离干试剂的干棒可以被视为分区干棒 - 因为空腔的每个部分原则上是不同环境。当在一种被润湿的状态下时,产生新的环境。

[0117] 在一个实施例中,该一种或多种干试剂可以存在于空腔表面上的干燥线条或干燥圆点形式分离(请参见图 4 和 5 作为实例)。

[0118] 为了提供这些干试剂的容易的分离并且改进干棒的储存稳定性,空腔可以进行隔间(请参见图 2A-2C 作为实例)。

[0119] 因此,在本发明的一个实施例中,空腔包括至少 2 个隔间,如至少 3 个隔间,例如至少 4 个隔间,如至少 5 个隔间,例如至少 10 个隔间,诸如至少 20 个隔间,例如至少 30 个隔间。

[0120] 由此可以得出,2 种或更多种干试剂可以被固定于分离的隔间中,如 3 种或更多种干试剂,例如 4 种或更多种干试剂,如 5 种或更多种干试剂,例如 10 种或更多种干试剂,如 20 种或更多种干试剂,例如 30 种或更多种干试剂,如 40 种或更多种干试剂,例如 50 种或更多种干试剂。这些干试剂可以相同或不同。

[0121] 在一个优选实施例中,使 2 种或更多种干试剂干燥于分离的隔间上,如 3 种或更多种干试剂,例如 4 种或更多种干试剂,如 5 种或更多种干试剂,例如 10 种或更多种干试剂,如 20 种或更多种干试剂,例如 30 种或更多种干试剂,如 40 种或更多种干试剂,例如 50 种或更多种干试剂。同样,这些干试剂可以相同或不同。

[0122] 隔间的空腔可以看作是其中一种或多种干试剂存在于空腔的不同部分中的实施例的替代方案。结果被认为是相同的 - 提供一个更快且更均匀的信号和 / 或一种改进的干棒储存稳定性。

[0123] 在另一个实施例中,空腔是分层的(请参见图 3 作为实例)。因此,如果需要某种反应链,可以将干棒设计成在分层的空腔上具有一系列特定的干试剂。与传统干棒相比,包括干试剂的分离的这类干棒可以展示改进的储存稳定性,因为在样品施加之前避免了一种

或多种干试剂之间的任何反应。此外,该一系列干试剂可以被布置成限制和 / 或避免样品组分的沉淀,由此改进所获得的可检测信号。在这方面,请参见以下关于包括分离的层的干棒的部分,因为关于沉淀的相同考虑因素可适用于包括一个分层的空腔的干棒。

[0124] 在本发明的又一个实施例中,这些干试剂可以存在于空腔的至少一部分上的至少 2 个分离的层中,如空腔的至少一部分上的至少 3 层,例如至少 4 层,如至少 5 层,例如至少 6 层(请参见图 6 作为实例)。

[0125] 在一个实施例中,这些干试剂之一可以是能够提供该干试剂或多种干试剂的组合与分析物反应以提供一个可检测信号所需要的条件的一种控制化合物。另外,该控制化合物可以能够增加存在于样品中的分析物、所述分析物的衍生物或所述分析物的指示化合物与一种或多种干试剂之间的反应速率。在本发明的一个实施例中,控制化合物可以是酸、碱或盐。

[0126] 优选地,控制化合物是一种酸性化合物,该酸性化合物能够提供处于一种被润湿的状态下时的干棒测试设备中的样品的一个 pH 值,该 pH 值为低于 pH 6,如低于 pH 5,例如低于 pH 4,如低于 pH 3,例如低于 pH 2,如低于 pH 1,例如低于 pH 0,如在 pH 0-6 范围内,例如在 pH 0-5 范围内,如在 pH 0-4 范围内,例如在 pH 0-3 范围内,如在 pH 0-2 范围内,例如在 pH 0-1 范围内,如在 pH 1-6 范围内,例如在 pH 2-6 范围内,如在 pH 3-6 范围内,例如在 pH 4-6 范围内,如在 pH 5-6 范围内。

[0127] 在本发明的另一个实施例中,控制化合物可以是一种碱性化合物,该碱性化合物能够提供处于一种被润湿的状态下时的干棒测试设备中的样品的一个 pH 值,该 pH 值为 pH 8 或以上,如在 pH 8-14 范围内,例如在 pH 8-13 范围内,如在 pH 8-12 范围内,例如在 pH 8-11 范围内,如在 pH 8-10 范围内,例如在 pH 8-9 范围内,如在 pH 9-12 范围内,例如在 pH 10-13 范围内,如在 pH 10-11 范围内。

[0128] 在本发明的一个实施例中,控制化合物可以与至少一种干试剂分离。这种分离可以是例如在空腔的不同部分中或在空腔的至少一部分上的分离的层中。

[0129] 干试剂(包括任何一种或多种控制化合物)的这种分离可以改进干棒的稳定性、储存特性以及适用性,因为不相容试剂可以被包含于不同层中。因此,在样品施加之前避免了这些试剂之间的任何反应。

[0130] 此外,这一系列层可以被布置成限制和 / 或避免沉淀。样品组分的沉淀是指流体样品或流体样品的一部分的样品组分改变成固体或半固体块,这种改变经常是由例如热量或化学物质如强酸、强碱或高盐浓度(这类化学物质可以是控制化合物)的作用所导致。

[0131] 凝固的样品组分可能干扰并且减少可检测信号。因此,如果在一种特定分析物的确定中需要强酸、强碱或高盐浓度,可以优选的是将这类化合物安置于固体载体附近的层中以便防止样品组分的沉淀。

[0132] 这种样品组分可以选自下组,该组由以下各项组成:蛋白质、碳水化合物、脂肪、细胞或存在于样品中的其他组分。

[0133] 在一个优选实施例中,样品是乳。

[0134] 在一个优选实施例中,至少两种试剂存在于被干燥于空腔的至少一部分上的至少 2 个分离的层中,如至少 3 层,例如至少 4 层,如至少 5 层,例如至少 6 层。

[0135] 明显地,以上概述的不同干棒结构均可用于测定样品中的分析物。

[0136] 干棒的制备

[0137] 用于制备传统干棒的方法与用于制备本发明的干棒结构的方法之间的比较可以在图 7 和 8 中看出。

[0138] 根据本发明的干棒设备可以通过被提供用于制备干棒设备的任何常规方法来制备。在一个优选实施例中,用于提供根据本发明的干棒设备的方法包括以下步骤:

[0139] (i) 提供包含一个空腔的一个载体;

[0140] (ii) 提供至少一种干试剂,

[0141] (iii) 将该至少一种干试剂施加至该空腔中

[0142] 并且获得该干棒设备。

[0143] 将用于制备其中一种或多种试剂存在于同一衬垫(即同一多孔材料)中的非分区干棒的传统方法与本发明的上述方法比较,以下方法步骤变得多余:

[0144] I. 采购多孔材料

[0145] II. 将一种或多种试剂浸渍于多孔材料中

[0146] III. 将多孔材料切割成多个条带,

[0147] IV. 将这些条带切割成多个衬垫,

[0148] V. 将该衬垫安装于一个芯筒中。

[0149] 关于用于制备免疫测定的方法,这类生产需要多个孵育以及洗涤步骤以便固定抗体和/或免疫球蛋白-通过使用本发明的方法,这类步骤变得多余。

[0150] 在另一个实施例中,本发明的干棒可以通过包括以下步骤的方法来制备:

[0151] (i) 提供包含一个空腔的一个载体;

[0152] (ii) 提供包含至少一种试剂的至少一种溶液,

[0153] (iii) 将该至少一种溶液施加至该空腔的至少一部分中,

[0154] (iv) 将该溶液固定,并且

[0155] 获得该干棒设备。

[0156] 在一个实施例中,所述固定可以是干燥。

[0157] 将用于制备其中多种试剂存在于分离衬垫(即分离多孔材料)中的分区干棒的传统方法与本发明的上述方法比较,以下方法步骤变得多余:

[0158] I. 采购多孔材料

[0159] II. 将多种试剂浸渍于至少两种分离多孔材料上,

[0160] III. 层叠,

[0161] IV. 将这些经浸渍的多孔材料切割成多个条带,

[0162] V. 将这些条带切割成多个衬垫,

[0163] VI. 将这些衬垫安装于一个芯筒中。

[0164] 明显地,使用本发明的方法,方法步骤的数目被显著减少,因而改进过程经济性。另外,方法步骤的数目减少可以减少过程失败的风险,因而限制被丢弃的棒的数量。

[0165] 在传统方法中,产生若干中间产物(如一种或多种经浸渍的多孔材料)。因为使用本发明的方法避免了此类中间产物,所以对于冷储存的需求得以减少。

[0166] 本发明的方法不包括切割和/或切分衬垫的步骤。因此,在本发明的方法中不需要用于衬垫的切割和/或切分设备,因而提供改进的制造经济性。

[0167] 因此,避免了在这类过程步骤期间产生的粉尘量。在用于制备干棒的传统方法中产生的粉尘可能影响后续过程步骤并且可能有害地影响工作环境。因此,通常将这类粉尘主动地移除,从而增加了制造过程的进一步成本。

[0168] 因为在本发明的干棒结构中不需要衬垫,所以用于制备这些棒的方法可以针对干棒的尺寸来容易地调节。如果干棒的尺寸改变,用于制备传统干棒的方法需要新的切割和/或切分设备或至少需要对切割和/或切分设备进行调整,因而增加制造过程的时间和成本。

[0169] 另外,用于传统干棒中的这些衬垫是使用胶水、胶带或类似粘着剂来安装的。剩余的胶水可能影响干棒的性能。尤其在衬垫侧面上的剩余胶水可能导致所施加的样品朝向这类侧面移动,引起一个偏斜信号。这种偏斜信号影响读出,因而增加假性结果的风险(假阴性和假阳性)。

[0170] 在一个实施例中,该至少一种溶液包含至少一种试剂。

[0171] 这种包含至少一种试剂的溶液可以选自下组,该组由以下各项组成:水溶液和/或有机溶剂。

[0172] 如果溶液包含水,优选的是在制造过程结束时将所述水移除(例如通过蒸发)。

[0173] 通过使用本发明的方法,可以获得包含分离的干试剂的一种分区干棒。因此,如果需要这类干棒,该方法包括施加包含不同试剂的至少2种不同溶液,如3种或更多种不同溶液,例如4种或更多种不同溶液,如5种或更多种不同溶液,例如6种或更多种不同溶液,如7种或更多种不同溶液,例如8种或更多种不同溶液,如9种或更多种不同溶液,例如10种或更多种不同溶液。

[0174] 如上所述,试剂和/或干试剂的这种分离可以通过将这些试剂和/或干试剂在(i)空腔的分离的部分、(ii)空腔的不同隔间、(iii)分层空腔的不同部分和/或(iv)空腔上的不同层中分离来获得。

[0175] 干试剂(包括任何一种或多种控制化合物)在空腔的分离的部分中的分离可以通过非接触分配或接触分配来获得,其中将包含至少一种试剂的溶液的多个线条和/或多个圆点分配于空腔的分离的部分上。这些试剂可以通过以前提到的任何一种方法来进行固定。在一个优选实施例中,可以在施加包含至少一种试剂的至少一种溶液之后干燥这些线条和/或圆点。

[0176] 包含分离的干试剂(包括任何一种或多种控制化合物)的不同层的提供可以通过连续地重复提供包含至少一种试剂的至少一种溶液并且将这类溶液施加至空腔的至少一部分中的步骤来获得。可以进行这类重复以便获得2个或更多个分离的层,如3个或更多个分离的层,例如4个或更多个分离的层,如5个或更多个分离的层,例如6个或更多个分离的层。每个层包含一种干试剂或彼此不同的多种干试剂的组合。

[0177] 取决于所使用的溶液,可以有利地用防止以前施加的层溶解的一个层来涂覆每个层。这类涂层可以包括蜡。预期可以使用可由所施加的样品溶解的涂层,以便一旦施加该样品,该至少一种干试剂便能够与分析物反应。

[0178] 上述方法可以用于提供以上披露的这些不同干棒结构。因此,本发明涉及可通过上述方法获得的干棒设备。

[0179] 额外实施例

[0180] 在一个实施例中,根据本发明的干棒测试设备被用于确定样品中的分析物。优选地,分析物是选自下组,该组由以下各项组成:蛋白质、脂肪、碳水化合物、抗生素、类固醇、维生素以及化学化合物。优选地,化学化合物是选自下组,该组由以下各项组成:尿素、甘油三酯以及酮体如乙酰乙酸酯、 β -羟基丁酸酯(BHB)、抗坏血酸(柠檬酸)以及丙酮。如果分析物是一种碳水化合物,该碳水化合物可以选自下组,该组由以下各项组成:葡萄糖和乳糖。

[0181] LDH 的确定

[0182] 如上所述,本发明的发明人开发出用于确定样品中的分析物的新干棒结构,这类分析物可以是体液中的乳酸脱氢酶(LDH)。根据本发明的干棒设备可以有用于定性检测以及定量测定样品中的LDH,其中测试装置包括至少一种干试剂组合物。

[0183] LDH的定量测定对于确定乳腺炎症可以是至关重要的,该乳腺炎症影响乳腺结构的完整性并且同时破坏分泌型上皮细胞以及血-乳屏障。因此,许多乳组分受乳腺炎影响。主要组分如脂肪、蛋白质以及乳糖减少并且酶数目改变。LDH和/或N-乙酰基氨基葡萄糖苷酶可以用作由乳腺炎导致的炎症的适合的指标。N-乙酰基- β -D-氨基葡萄糖苷酶,也称为N-乙酰基氨基葡萄糖苷酶(NAG酶)已经被断言是乳腺炎症的较佳标志物之一。此外,已经证明乳中的其他酶如LDH可以具有类似价值并且与NAG酶一样充当乳腺炎的一个适合的指标。

[0184] 可替代地,LDH的定量测定在检测心脏疾病,尤其心脏病发作中可以是极端重要的,因为在心脏病发作之后,例如血液中的LDH的浓度显著地上升超过它的正常浓度。因此,早期检测LDH浓度的这种异常升高可以明显地导致心脏疾病的一种更准确且快速的诊断。

[0185] 因为异常心脏病状的早期诊断是如此重要,所以用于检测血液中的LDH浓度变化的测试必须足够快速并且临床医师执行起来要足够简单,但是必须足够准确以便实现诊断而没有误差或假性读数的极端变化。这种机制由本发明的新颖干棒设备所代表。使用此新颖干棒设备,不需要仪表设备并且不需要混合或重构试剂。因此,可以在患者家中或在医务室在没有任何特殊设备的情况下进行测试。

[0186] 在本发明的一个实施例中,一种用于测定样品中的LDH的方法可以包括以下步骤:

[0187] (i) 将怀疑含有LDH的样品施加至本发明的干棒设备中,

[0188] (ii) 允许样品溶解能够在一种被润湿的状态下与LDH、LDH的一种衍生物或LDH的一种指示化合物反应以提供一个可检测信号的第一干试剂或多种干试剂的组合,该第一干试剂或多种干试剂的组合提供了所述一种或多种试剂的第一环境,第一环境允许当处于一种非被润湿的状态下时的该一种或多种试剂以及干棒设备的改进的储存稳定性,

[0189] (iii) 允许样品进一步与第二干试剂组合物或多种干试剂的组合、调控试剂组合物反应,所述调控试剂组合物产生了所述一种或多种试剂的第二环境,当处于一种被润湿的状态下时,所述第二环境允许LDH与该一种或多种试剂之间的增加的反应速率,并且

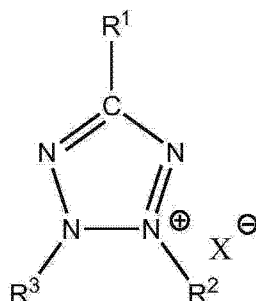
[0190] (iv) 允许试剂与LDH、LDH的该衍生物或LDH的该指示化合物提供一个可检测信号。

[0191] 在本发明的再一个实施例中,LDH的确定是基于酶基确定。

[0192] 用于确定样品中的 LDH 的浓度的新颖干棒设备可以包括至少一种干试剂组合物。该干试剂组合物可以包含一种干试剂、多种干试剂的组合、或一系列干试剂。

[0193] 这种干试剂的一个实例可以是四唑盐。此试剂能够对与样品接触的干棒设备赋予具有变化强度的颜色,以便代表所添加至指示剂中的样品中的 LDH 的浓度。这些染料在本领域中是熟知的并且总体上具有以下化学式:

[0194]



[0195] 其中 R¹、R²以及 R³独立地为相同或不同的芳基或取代芳基基团并且 X 是阴离子如卤化物等。

[0196] 此配置的有用盐的实例包括 2,3,5- 三苯基 -2H- 四唑氯化物;2-(对 - 碘苯基)-3-(对 - 硝基苯基)-5- 苯基 -2H- 四唑氯化物 (INT);氮蓝四唑;四唑蓝;等。这些盐可以下文阐明的方式、基于 100 份所使用溶液为从约 0.05 份至约 0.35 份,优选地从约 0.1 份至约 0.2 份范围内的浓度被结合到新颖干棒设备中。

[0197] 干棒可以进一步包括一种抗氧化剂,该抗氧化剂是用于防止四唑盐的过早染色。适合的抗氧化剂的实例包括烷基化酚类,如 2,6- 二叔丁基 - 对 - 甲酚;丁羟甲苯,4- 叔丁基儿茶酚,十八基 -3,5- 二 - 叔丁基 -4- 羟基氢化肉桂酸酯;次烷基双酚类,如 2,2' - 亚甲基双 (6- 叔丁基 -4- 甲基苯酚),4,4' - 亚丁基双 (6- 叔丁基 -3- 甲基苯酚);硫代双酚类,如 4,4' - 硫代双 (6- 叔丁基 -3- 甲基苯酚),2,2' - 硫代双 (6- 叔丁基 -4- 甲基苯酚);多酚类,如四 [亚甲基 (3,5- 二 - 叔丁基 -4- 羟基氢化肉桂酸酯)] 甲烷,1,3,5- 三甲基 -2,4,6- 三 (3,5- 二 - 叔丁基 -4- 羟基苯基) 苯;酯类,如硫代二丙酸二 (十三酯),硫代二丙酸二硬脂酰酯,硫代二丙酸二月桂酯;胺类,如二芳基或二烷基取代的对 - 亚苯基二胺,二苯胺,N- 苯基 - α - 萘胺;有机亚磷酸酯类,如亚磷酸二丁酯,亚磷酸二癸酯,亚磷酸二辛酯,亚磷酸二苯基癸酯,亚磷酸二 (十四) 酯,亚磷酸苯基二癸酯,亚磷酸苯基新戊酯,亚磷酸十三酯,三硫代亚磷酸三月桂酯,亚磷酸三苯酯,亚磷酸三壬酯、以及其他不同的熟知抗氧化剂如醌类,包括氢醌,氢醌单甲醚,单 - 叔丁基氢醌,2,5- 二 - 叔丁基氢醌,甲基氢醌,2,5- 二 - 叔戊基氢醌等。还可以使用吩噻嗪、羟基二苯甲酮、对 - 二甲氨基硝基苯、硫代二丙酸等。

[0198] 这些抗氧化剂材料可以基于 100 份溶液为从约 0.01 份至 2.0 份,优选地从约 0.02 份至 1.0 份范围内的量使用,并且可以联合四唑盐或在其沉积之前或之后使用。

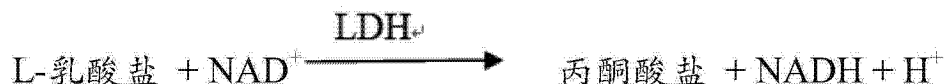
[0199] 干试剂的另一个实例可以是心肌黄酶,该心肌黄酶是用于催化 NADH 对四唑盐的还原。此酶在本领域中是熟知的并且应基于 100 份所使用溶液以从约 0.02 份至 0.2 重量份范围内的浓度使用并且优选地从 0.03 份至 0.10 份使用。

[0200] 与碱金属乳酸盐如乳酸锂、乳酸钠、乳酸钾等掺合的烟酰胺 - 腺嘌呤 - 二核苷酸,

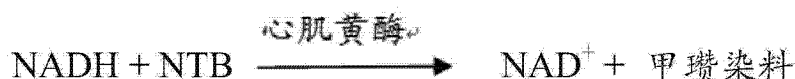
以下有时被称为 NAD, 构成另一组分。NAD 的使用在本领域中是熟知的并且应以基于 100 份溶液为从约 0.01 份至约 0.20 份范围内的浓度使用并且优选地以从 0.015 份至 0.08 份重量使用。乳酸盐是以基于 100 份所使用溶液为从 0.03 份至约 1.5 份范围内的量使用并且优选地以从 0.02 份至 0.09 份使用。

[0201] 据认为在使用上述机制的对存在于样品中的 LDH 的确定中, 可以使用以下试剂的反应:

[0202]



[0203]



[0204] 上述反应方案例示一旦将样品添加至干棒设备, 其中的 LDH 便可以引起反应, 这使得四唑盐被还原并且形成一种显色指示剂, 其强度与 LDH 的浓度成正比例。然后, 临床医师仅仅将所得到的颜色与标准色卡进行比较来确定所测试的样品的 LDH 浓度。

[0205] 为了利用本发明的新颖干棒设备获得最佳结果, 结合本领域技术人员熟知可适用的任何适合的非离子润湿剂作为另一组分也是有利的, 但是并非必需的。例如, 可以使用脂肪醇酰胺, 即烷醇胺与脂肪酸如月桂酸或剥离的椰子脂肪酸的反应产物, 适合的烷醇胺为二乙醇胺、单乙醇胺、单异丙醇胺等; 环氧乙烷衍生材料, 即从环氧乙烷与以下物质的反应衍生的那些材料: 烷基酚, 其中烷基是辛基、壬基或更高级基团, 长链脂肪醇如十三烷醇、羊毛脂、卵磷脂醇等, 长链脂肪酸如妥尔油、油酸、松香酸等, 长链脂肪硫醇, 长链脂肪胺, 聚氧丙烯二醇, 脱水山梨醇脂肪酸酯; 糖酯类, 即脂肪酸甲酯与蔗糖或棉子糖的醇解反应产物; 聚山梨醇; 聚乙烯醇; 甲基纤维素; 乙氧基化苯酚/ 甲醛树脂等。使用每 100 份溶液为从约 0.01 份至约 1.0 份润湿剂的浓度, 如果组分单独添加, 润湿剂优选地与每种组分一起添加, 或如果它们作为一个完整掺合系统添加, 则与这些组分进行掺合。

[0206] 在本发明的一个实施例中, 可以制备四唑盐的水溶液并且添加至干棒设备的一个分离部分、一个分离隔间、作为多个分离条带、或作为多个分离圆点。然后, 可以制备心肌黄酶以及任选地碳水化合物稳定剂的一种缓冲溶液并且添加至干棒设备的一个分离部分、一个分离隔间、作为多个分离条带或作为多个分离圆点。可以制备 NAD 和碱金属乳酸盐的一种缓冲溶液并且添加至干棒设备的一个分离部分、一个分离隔间、作为多个分离条带或作为多个分离圆点。一个干燥步骤完成测试指示剂的制备。

[0207] 在本发明的一个实施例中, 用于确定样品中的 LDH 的方法可以使用具有至少一种干试剂组合物的一个干棒设备来执行, 该干试剂组合物包含:

[0208] (a) 一种着色化合物,

[0209] (b) 心肌黄酶, 以及

[0210] (c) 一种烟酰胺 - 二核苷酸, 以及

[0211] (d) 一种乳酸盐。

[0212] 试剂 (a)、(b)、(c) 以及 (d) 可以处于一种单一干试剂组合物中或处于独立干试剂组合物中, 如 2 种不同的干试剂组合物, 例如 3 种不同的干试剂组合物, 或如 4 种不同的干

试剂组合物。

[0213] 在本发明的另一个实施例中,干棒设备可以进一步包括至少一种干试剂组合物,该干试剂组合物包含:

[0214] (e) 抗氧化剂。

[0215] 试剂 (e) 可以与试剂 (a)、(b)、(c) 以及 (d) 一起处于一种单一干试剂组合物中或处于独立干试剂组合物中。

[0216] 这些试剂可以被分离成至少 2 种干试剂组合物,如至少 3 种干试剂组合物,例如至少 4 种干试剂组合物,如至少 5 种干试剂组合物,例如至少 6 种干试剂组合物。

[0217] 在本发明的一个实施例中,着色化合物是选自下组,该组由以下各项组成:四唑盐或其任何衍生物。

[0218] 如果有待结合多种润湿剂等,将它们添加至任何或所有干试剂组合物中以便获得均匀的干试剂沉积物。适合作为碳水化合物稳定剂的材料包括麦芽糖和山梨糖醇以及具有高和 low 分子量的水溶性聚合物乙烯氧化物、二乙二醇等,其浓度基于 100 份所使用溶液在从约 10.0 份至约 25.0 份,优选地从约 15.0 份至约 20.0 份的范围内。

[0219] 在本发明的一个实施例中,可以使用一种水溶性抗氧化剂,并接着可以将所有试剂在缓冲溶液中掺合在一起,每种成分的浓度是如以上阐明,除了每种成分是基于相同 100 份的水,并且可以使用一次溶解-一次干燥的循环来产生所需的测试指示剂。

[0220] 在任一程序中有用的缓冲剂的实例包括磷酸盐缓冲液、邻苯二甲酸盐缓冲液、tris 缓冲液、柠檬酸盐-磷酸盐缓冲液、硼酸盐-琥珀酸盐缓冲液等。优选缓冲液是 tris 缓冲液,即处于 0.05 至 0.2M 浓度的 2-氨基-2-(羟甲基)-1,3-丙二醇。

[0221] 本领域技术人员显而易见如果提供用于确定 LDH 的一种不同测定,可以改变第一环境和第二环境。此外,本领域技术人员也显而易见如何基于本发明的概念所提供的知识来优化第一环境和第二环境,即,具有可以有利于储存能够与分析物反应并提供可检测信号的一种或多种试剂的方式来选择的第一环境,并且具有可以有利于能够与分析物反应并提供可检测信号的一种或多种试剂的性能或有利于分析物与能够与分析物反应以提供可检测信号的一种或多种试剂之间的反应速率的方式来建立的第二环境。

[0222] 在本发明的一个优选实施例中,开发出该干棒设备以便根据用于检测 LDH 的上述反应方案来测量 LDH。在此结构中,可以优选的是该至少一种干试剂组合物具有大约 pH 6.8 的 pH 值并且该调控干试剂组合物具有能够提供大约 pH 8.3 的用于该试剂或多种试剂的组分的第二环境的一种 pH 调控剂。

[0223] β -羟基丁酸酯 (BHB) 的确定

[0224] 当动员脂肪以提供能量时,形成 BHB。BHB 与其他酮体的水平在饥饿期间或随着例如动物的饲养不良而增加。当存在葡萄糖的高需求时,即在畜群动物如奶牛的晚期妊娠和泌乳期间,该水平与能量状况紧密相关。

[0225] 在本发明的一个实施例中,可以使用如以上提供的确定 LDH 的相同反应方案来执行 BHB 的确定。

[0226] 在本发明的一个优选实施例中,开发出该干棒设备以便根据用于检测 BHB 的上述反应方案来测量 BHB。在此结构中,可以优选的是该至少一种干试剂组合物具有大约 pH 6.8 的 pH 值并且该调控干试剂组合物具有能够提供大约 pH 8.3 的用于该试剂或多种试剂

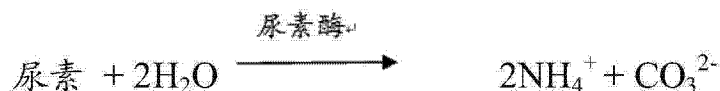
的组合的第二环境的一种 pH 调控剂。

[0227] 尿素的确定

[0228] 蛋白质利用的确定可以是一个重要参数。在养牛业中,动物(例如奶牛)最佳地利用饲料中包含的蛋白质是非常重要的,因为蛋白质是最昂贵的饲料组分之一。该利用尤其取决于同时存在于动物中的能量和蛋白质的量。

[0229] 在本发明的一个实施例中,可以使用以下反应方案来执行尿素的确定:

[0230]



[0231] $\text{NH}_4^+ + \text{碱} \rightarrow \text{NH}_3$

[0232] $\text{NH}_3 + \text{指示剂} \rightarrow \text{染料}$

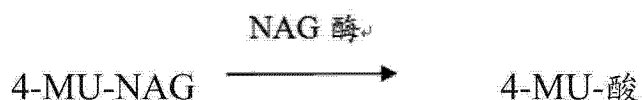
[0233] 在本发明的一个优选实施例中,开发出该干棒设备以便根据用于检测尿素的上述反应方案来测量尿素。在此结构中,并且在使用从 Jack Beans 获得的尿素酶时,可以优选的是该至少一种干试剂组合物具有大约 pH 8.0 的 pH 值并且该调控试剂组合物具有能够提供大约 pH 6.0 的用于该试剂或多种试剂的組合的第二环境的一种 pH 调控剂。

[0234] N-乙酰基氨基葡萄糖苷酶(NAG 酶)的确定

[0235] NAG 酶的定量测定可以与 LDH 相同的方式进行,该 LDH 对于确定乳腺炎症可以是至关重要的,该乳腺炎症影响乳腺结构的完整性并且同时破坏分泌型上皮细胞以及血-乳屏障。

[0236] 在本发明的一个实施例中,可以使用以下反应方案来执行 NAG 酶的确定:

[0237]



[0238] $4\text{-MU-酸} + \text{碱} \rightarrow 4\text{-MU-苯酚盐染料}$

[0239] 在此,4-MU-NAG 是指 4-甲基伞形基 N-乙酰基-β-D-氨基葡萄糖苷,4-MU-酸是指 4-甲基伞形酮,并且 4-MU-苯酚盐染料是指 4-甲基伞形酮盐。

[0240] 在本发明的一个优选实施例中,开发出该干棒设备以便根据用于检测 NAG 酶的上述反应方案来测量 NAG 酶。在此结构中,可以优选的是该至少一种干试剂组合物具有大约 pH 7.0 的 pH 值并且该调控试剂组合物具有能够提供大约 pH 4.6 的用于该试剂或多种试剂的組合的第二环境的一种 pH 调控剂。

[0241] 本领域技术人员显而易见如果提供用于确定 LDH、BHB、尿素、NAG 酶或任何其他分析物的一种不同测定,可以改变第一环境和第二环境。此外,本领域技术人员也显而易见如何基于本发明的概念所提供的知识来优化第一环境和第二环境,即,具有可以有利于储存能够与分析物反应并提供可检测信号的一种或多种试剂的方式来建立的第一环境,并且具有可以有利于能够与分析物反应并提供可检测信号的一种或多种试剂的性能或有利于分析物与能够与分析物反应以提供可检测信号的一种或多种试剂之间的反应速率的方式来建立的第二环境。

[0242] 自动或半自动系统

[0243] 在本发明的一个实施例中,可为一个显著特征的是提供一种系统,该系统能够例如同时处理并分析从哺乳动物如畜群成员获得的样品中的许多分析物,这些分析物来自在任何给定时间点可能存在的那些分析物之中。优选地,此时间点是取决于例如独立动物的繁殖或泌乳周期状态。

[0244] 样品中的许多分析物的这种分析是通过将分析装置与一个数据库操作性地连接而成为可能,该数据库含有关于每个畜群成员的繁殖和泌乳状态的信息和/或可以用于确定是否特定分析物应在特定时间点分析的任何其他信息。以此方式,该系统以“动态”模式来操作。

[0245] 因此,本发明涉及一种自动或半自动系统,该系统包括:

[0246] (a) 用于确定样品中的分析物的一个干棒设备,所述设备包括:

[0247] (i) 包含一个空腔的一个固体载体,

[0248] (ii) 能够在一种被润湿的状态下与该分析物、所述分析物的一种衍生物或所述分析物的一种指示化合物反应以提供一个可检测信号的至少一种干试剂,并且

[0249] 其中该空腔包含该至少一种干试剂,

[0250] (b) 用于获得有待分析的样品的取样装置,所述取样装置是由用于存储数据的装置来控制,所述取样装置只在多个预先选择的时间点或多个预先选择的时间间隔下启动。

[0251] 因此,在另一个实施例中,本发明涉及一种自动或半自动系统,该系统包括:

[0252] (a) 用于确定样品中的分析物的一个干棒设备,所述设备包括:

[0253] (i) 包含一个空腔的一个固体载体,

[0254] (ii) 能够在一种被润湿的状态下与该分析物、所述分析物的一种衍生物或所述分析物的一种指示化合物反应以提供一个可检测信号的至少一种干试剂,

[0255] 其中该空腔包含该至少一种干试剂,并且其中所生成的可检测信号是从样品获得。

[0256] (b) 用于获得有待分析的样品的取样装置,所述取样装置是由用于存储数据的装置来控制,所述取样装置只在多个预先选择的时间点或多个预先选择的时间间隔下启动。

[0257] 该至少一种干试剂可以被固定至该空腔的至少一部分上 - 例如通过干燥、涂覆或粘附。

[0258] 此外,在一个实施例中,本发明涉及一种用于优化包括多个独立畜群成员的产乳动物畜群的生产性能的自动或半自动系统,每个畜群成员被指派一个可由该系统辨认的唯一识别码,该系统包括用于分析这种产乳动物的一个独立成员的一个乳样品中的至少一种分析物的分析装置,所述分析装置包括:

[0259] (a) 用于确定样品中的分析物的一个干棒设备,所述设备包括:

[0260] (i) 包含一个空腔的一个固体载体,

[0261] (ii) 能够在一种被润湿的状态下与该分析物、所述分析物的一种衍生物或所述分析物的一种指示化合物反应以提供一个可检测信号的至少一种干试剂,并且

[0262] 其中该空腔包含该至少一种干试剂,

[0263] (b) 用于将该乳样品的一部分引导至每个分离的分析装置的装置,所述引导装置是由用于存储每个独立畜群成员的生理和营养状态的数据的装置来控制,该数据包括指示所述畜群成员的繁殖和泌乳周期的时间点的数据,这样使得该引导装置只在该独立畜群成

员的生产或泌乳周期的多个预先选择的时间点或多个预先选择的时间间隔下启动。

[0264] 在另一个实施例中,本发明涉及一种用于优化包括多个独立畜群成员的产乳动物畜群的生产性能的自动或半自动系统,每个畜群成员被指派一个可由该系统辨认的唯一识别码,该系统包括用于分析这种产乳动物的一个独立成员的一个乳样品中的至少一种分析物的分析装置,所述分析装置包括:

[0265] (a) 用于确定样品中的分析物的一个干棒设备,所述设备包括:

[0266] (i) 包含一个空腔的一个固体载体,

[0267] (ii) 能够在一种被润湿的状态下与该分析物、所述分析物的一种衍生物或所述分析物的一种指示化合物反应以提供一个可检测信号的至少一种干试剂,并且

[0268] 其中该空腔包含该至少一种干试剂,并且其中所生成的可检测信号是从样品获得。

[0269] (b) 用于将该乳样品的一部分引导至每个分离的分析装置的装置,所述引导装置是由用于存储每个独立畜群成员的生理和营养状态的数据的装置来控制,该数据包括指示所述畜群成员的繁殖和泌乳周期的时间点的数据,这样使得该引导装置只在该独立畜群成员的生产或泌乳周期的多个预先选择的时间点或多个预先选择的时间间隔下启动。

[0270] 同样,该至少一种干试剂可以被固定至该空腔的至少一部分上—例如通过干燥、涂覆或粘附。

[0271] 明显地,干棒设备可以包括在第 3-35 页明确说明的特征。

[0272] 如本文使用,术语“自动”意味着该系统可以在基本上没有手动操作的情况下操作。因此,此术语指示乳样品在挤乳位点通过挤乳系统自动管线内收集并且自动运输至分析装置,进而自动生成分析数据,所述分析数据经过自动处理以更新该系统并且将指令提供至农场管理以采取纠正措施。挤乳位点可以是用于自由地移动挤乳动物的一种自动挤乳系统的一个挤乳位点或在常规挤乳系统如人字形挤乳系统中的多个挤乳位点之一。挤乳位点还可以是在多个旋转或平行挤乳厅。

[0273] 如本文使用的术语“半自动”是指其中系统的至少一部分操作涉及一些手动操作,例如将样品手动运输至分析装置的一种系统。

[0274] 如本文使用,术语“生产性能”用来意指它的最广泛方面的生产性能。因此,包括在此术语中的是乳生产,包括乳数量和质量,畜群成员的繁殖性能,例如每个挤乳动物的后代数目、以及饲料配给量的最佳利用。

[0275] 用于获得样品,优选地获得后续样品的这些预先选择的时间点或预先选择的时间间隔可以以一种动态模式或根据用于获得样品的一个预先确定的进度表来确定。

[0276] 本发明的一个令人关注的特征可以是用于存储每个独立畜群成员的生理和营养状态的数据的装置被用新数据连续地更新,这样使得在给定时间点给定样品中受分析的化合物/参数的范围的选择是基于特定畜群成员或特定畜群组的一组不断更新的数据。

[0277] 因此,用于获得样品,优选地获得后续样品的这些预先选择的时间点或预先选择的时间间隔可以优选地以一种动态模式来确定。术语“动态模式”是指用于提供后续样品并执行所述后续样品的后续分析的时间点的确定是基于从一个以前分析的样品获得的结果。

[0278] 关于如上所述的自动或半自动系统的特征以及互相联系的进一步细节可以见于 WO 02/069697 或 WO 2004/017066,其通过引用结合在此。

[0279] 应当指出的是在本发明的一个方面的上下文中所描述的实施例和特征也适用于本发明的其他方面。

[0280] 本申请中叙述的所有专利和非专利引用均以其整个内容通过引用结合在此。

[0281] 本发明现在以下非限制实例以及附图中进一步详细描述。

[0282] 附图详细说明

[0283] 图 1A 示出用于确定样品中的分析物的一个干棒设备。如图 1A a) 中示出的干棒包括一个固体载体 (1) 和一个空腔 (2)。如图 1A b) 中示出的干棒包括一个固体载体 (1) 和一种干试剂 (3)。如图 1A c) 中示出的干棒包括一个固体载体 (1) 和样品 (4), 其中干试剂 (3) 被溶解。

[0284] 图 1B 示出用于确定样品中的分析物的一个干棒设备。如图 1B a) 中示出的干棒包括一个固体载体 (1) 和一个空腔 (2)。如图 1B b) 中示出的干棒包括一个固体载体 (1) 和一种干试剂 (3)。如图 1B c) 中示出的干棒包括一个固体载体 (1) 和样品 (4), 其中干试剂 (3) 被溶解。

[0285] 图 2A 示出用于确定样品中的分析物的一个隔间干棒设备。如图 2A a) 中示出的干棒的横截面包括一个固体载体 (1)、一个空腔 (2) 以及 2 个分离隔间 (3)。如图 2A b) 中示出的干棒的横截面包括 2 个分离隔间 (3), 它们包含 2 种不同干试剂 (4) 和 (5)。如图 2A c) 中示出的干棒包括一个固体载体 (1) 和样品 (6), 其中干试剂 (4) 和 (5) 被溶解。

[0286] 图 2B 示出用于确定样品中的分析物的一个隔间干棒设备。图 2B a) 中展示的干棒包括一个固体载体 (1)、一个空腔 (2) 以及 4 个分离隔间 (3)。因此, 干棒可以包括 4 种不同干试剂。如图 2B b) 中示出的干棒的横截面包括 2 个分离隔间 (3), 它们包含 2 种不同干试剂 (4) 和 (5)。如图 2B c) 中示出的干棒包括一个固体载体 (1) 和样品 (6), 其中干试剂 (4)-(7) 被溶解。

[0287] 图 2C 示出用于确定样品中的分析物的一个隔间干棒设备。图 2B a) 中示出的干棒包括一个固体载体 (1) 和 2 个分离隔间 (5)。如图 2B b) 中示出的干棒的横截面包括一个固体载体 (1) 和 2 个不同隔间, 它们包含 2 种不同干试剂 (2) 和 (3)。如图 2B c) 中示出的干棒的横截面包括一个固体载体 (1) 和样品 (4), 其中干试剂 (2) 和 (3) 被溶解。

[0288] 图 3 示出用于确定样品中的分析物的一个分层干棒设备。如图 3a) 中示出的分层干棒包括一个固体载体 (1) 以及 2 种不同干试剂 (2) 和 (3)。如图 3b) 中示出的分层干棒包括一个固体载体 (1) 和样品 (4), 其中干试剂 (2) 和 (3) 被溶解。

[0289] 图 4 示出用于确定样品中的分析物的一个干棒,

[0290] 该干棒包括一种或多种干试剂的线条。如图 4a) 中示出的干棒包括一个固体载体 (1)、一个空腔 (2)、以及不同干试剂 (3)、(4) 和 (5) 的线条。如图 4b) 中示出的干棒包括一个固体载体 (1) 以及不同干试剂 (3)、(4) 和 (5) 的线条。如图 4c) 中示出的干棒包括一个固体载体 (1) 和样品 (6), 其中这些干试剂被溶解。如图 4d) 中示出的干棒包括一个固体载体 (1)、一个空腔 (2) 以及一种干试剂 (3) 的较细线条。

[0291] 图 5 示出用于确定样品中的分析物的一个干棒, 该干棒包括一种或多种干试剂的圆点。如图 5a) 中示出的干棒包括一个固体载体 (1)、一个空腔 (2)、以及不同干试剂 (3)、(4)、(5) 和 (6) 的圆点。如图 5b) 中示出的干棒包括不同干试剂 (3) 和 (4) 的圆点。如图 5c) 中示出的干棒包括一个固体载体 (1)、一个空腔 (2)、以及相同干试剂 (3) 的较小圆点。

如图 5d) 中示出的干棒包括一个固体载体 (1) 和样品 (7), 其中这些干试剂被溶解。

[0292] 图 6 示出用于确定样品中的分析物的一个干棒设备, 该设备包括一个固体载体 (1) 以及不同干试剂 (2) 和 (3) 的层。

[0293] 图 7 示出 (i) 用于生产其中试剂存在于同一衬垫中的传统非分区干棒的方法与 (ii) 本发明的方法之间的比较。作为这类传统非分区干棒的实例, 使用 BHB 干棒。

[0294] 图 8 示出 (i) 用于生产其中试剂分离到不同衬垫中的传统分区干棒的方法与 (ii) 本发明的方法之间的比较。作为这类传统分区干棒的实例, 使用 LDH 干棒。

[0295] 图 9 示出 (i) 传统 LDH 干棒与 (ii) 本发明的新 LDH 干棒的性能曲线。

[0296] 实例

[0297] 实例 1 :BHB 干棒的制备和测试

[0298] 制备浸渍溶液 :

[0299] 使以下试剂一次一种溶解于 3400mL 0.1M 磷酸盐缓冲液 pH 8.0 中 :

[0300] • 20.0g β -烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (β -NAD⁺)

[0301] • 9.0g 硝基蓝四唑 (NTB)

[0302] • 32mL 的 5% Triton X-100 溶液

[0303] • 20.0g 牛血清白蛋白 (BSA)

[0304] • 400KU 抗坏血酸氧化酶 (来自 Amano 的 ASO-3)

[0305] • 100KU 心肌黄酶 (Unitika)

[0306] • 50KU 羟基丁酸脱氢酶 (来自 Amano 的 HBDH)

[0307] 以便产生一种浅黄色透明溶液。

[0308] 制备干棒 :

[0309] 在多个分离棒的空腔中填充 10 μ L 以上新鲜制备的溶液于每个空腔中。然后, 使这些棒在 40°C 的通风烘箱中干燥 1 小时以便在每个空腔中产生干残渣 (约 250 μ g), 该残渣粘在空腔的底部。然后, 将所获得的每个分离干棒安置于具有干燥剂的一个箔袋中, 并且将箔袋密封。然后, 使具有干棒的密封袋在 4°C 的冰箱中储存直至使用。

[0310] 制备标准系列 UHT 乳中的 BHB :

[0311] 通过将 34.7mg BHB-Na 盐溶解于 275mL UHT 乳中来制备 UHT 乳中的 1.05mM BHB 的一种储备溶液。在此所使用的 UHT 乳的质量包含约 0.05mM BHB。

[0312] 标准系列 UHT 乳中的 BHB 制备如下 :

[0313]

标准物编号	BHB konc (mM)	BHB 储备溶液	UHT 乳
1	0.05	0mL	10mL
2	0.1	0.5mL	9.5mL
3	0.2	1.5mL	8.5mL
4	0.3	2.5mL	7.5mL

5	0.4	3.5mL	6.5mL
6	0.5	4.5mL	5.5mL
7	0.6	5.5mL	4.5mL
8	0.7	6.5mL	3.5mL

[0314]

[0315] 通过标准系列测试 BHB 干棒：

[0316] 在约 25℃ 下，向 8 个分离干棒（如上所述）的八个空腔添加各自 10 μ L 的 UHT 乳中的 BHB 标准物。每个孔中的干燥材料良好溶解并且在短时间之后，8 个分离空腔中的液体开始变成淡蓝色。5 分钟孵育时间之后，将蓝色强度在视觉上比较，并且注意到颜色强度与 BHB 浓度成比例。

[0317] 实例 2：LDH 干棒的制备和测试

[0318] 制备浸渍溶液 A：

[0319] 使以下试剂一次一种溶解于 2600mL 0.1M 磷酸盐缓冲液 pH 8.0 中：

[0320] • 60.0g β -烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (β -NAD⁺)

[0321] • 30.0g 乙酸锂

[0322] • 3.0g PEG 20.000

[0323] • 30.0g 蔗糖

[0324] • 30mL 的 5% Triton X-100 溶液

[0325] • 30.0g 牛血清白蛋白 (BSA)

[0326] • 300KU 抗坏血酸氧化酶（来自 Amano 的 ASO-3）

[0327] • 600KU 心肌黄酶 (Unitika)

[0328] • 3.0g 硝基蓝四唑 (NTB)

[0329] 以便产生一种浅黄色透明溶液。

[0330] 制备浸渍溶液 B：

[0331] 使 450g TRIS 溶解于 1080mL DI 水中以产生 pH 为约 12 的一种透明无色溶液。

[0332] 制备干棒：

[0333] 在第一个棒的空腔中填充 8.4 μ L 以上新鲜制备的溶液 A。然后，在 40℃ 的通风烘箱中将棒干燥 1 小时以便在孔中产生干残渣（约 770 μ g），该残渣粘在空腔的底部。然后，将所获得的干棒安置于具有干燥剂的一个箔袋中，并且将箔袋密封。然后，使具有干棒的密封袋在 4℃ 的冰箱中储存直至使用。

[0334] 在第二个棒的空腔中填充 3.4 μ L 以上新鲜制备的溶液 B。然后，在 40℃ 的通风烘箱中将棒干燥 1 小时以便在每个孔中产生干残渣（约 1mg），该残渣以小团粒形式粘在空腔的底部。然后，将干棒安置于具有干燥剂的一个箔袋中，并且将箔袋密封。然后，使具有干棒的密封袋在 4℃ 的冰箱中储存直至使用。

[0335] 通过向第一个棒的空腔添加来自第二干棒空腔的团粒来制备分区类型的 LDH 干棒。

[0336] 制备标准系列 UHT 乳中的 LDH：

[0337] 制备 1000U/L 的 UHT 乳中的 LDH(sigma L1378) 的一种储备溶液。标准系列 UHT 乳中的 LDH 制备如下：

[0338]

标准物编号	LDH(U/L)	LDH 储备溶液	UHT 乳
1	0	0mL	10mL
2	50	0.5mL	9.5mL
3	100	1.0mL	9.0mL
4	150	1.5mL	8.5mL
5	200	2.0mL	8.0mL
6	250	2.5mL	7.5mL
7	300	3.0mL	7.0mL
8	350	3.5mL	6.5mL
9	400	4.0mL	6.0mL
10	500	5.0mL	5.0mL

[0339] 通过标准系列测试 LDH 干棒：

[0340] 在约 25℃下，向八个如上所述分离 LDH 干棒的空腔添加各自 10 μ L 的 UHT 乳中的 LDH 标准物。每个孔中的干燥材料良好溶解并且在短时间之后，8 个空腔中的液体开始变成淡蓝色。5 分钟孵育时间之后，将蓝色强度在视觉上比较，并且注意到颜色强度与 LDH 浓度成比例。

[0341] 实例 3：新的 LDH 干棒相比于传统 LDH 干棒

[0342] 磷酸盐缓冲溶液：2520mL DI 水中的 85.9g Na₂HPO₄·12H₂O 和 2.1gNaH₂PO₄，pH 8.0。

[0343] 溶液 A：2.6mL 磷酸盐缓冲溶液，60.0mg β-NAD⁺，30.0mg 乳酸锂，3.0mg PEG 20.000，30.0mg 蔗糖，30.0mg BSA，300U ASO-3，600U 心肌黄酶，3.0mg NTB。

[0344] 溶液 B：具有 1.08mL DI 水的 450mg TRIS(完全 1.45mL 溶液)。

[0345] 溶液 C：300 μ L DI 水中的 1.5mg Triton X-100。

[0346] 标准系列乳中的 LDH：UHT 乳。添加 LDH Sigma L1378 以给出标准系列 0、50、100、200、300、400U/L。

[0347] 棒框架：具有 19 μ L 盒形成孔的白色聚苯乙烯框架 (5.2mm×5.2mm×0.7mm 高度)。

[0348] (i) 传统的 LDH 干棒制备：

[0349] 层 1 :使一个 8.5×10cm Whatman 3MMChr 滤纸片用 2.8mL 溶液 A 浸渍,并且在 40℃ 的干空气通风烘箱中干燥 20 分钟。

[0350] 层 2 :使一片 8.5×10cm Asahi PS-2 刮子用 1.36mL 溶液 B 浸渍,并且在 40℃ 的干空气通风烘箱中干燥 10 分钟。

[0351] 层叠 :使用具有开放结构的热熔胶转移胶带并且穿过一组滚筒来将干燥层 1 和 2 层叠在一起。

[0352] 切割和安装 :将层叠的材料切割成 5×5mm 的方形并且安装至棒框架中。

[0353] 储存 :使这些 LDH 干棒在 4℃ 下储存于具有干燥剂的箔袋中。

[0354] (ii) 新的 LDH 干棒制备 :在干棒的孔的底部分离地安置两滴 2.0 μL 溶液 A 加上一滴 2.0 μL 溶液 B。将干棒安置于在 40℃ 的干空气通风烘箱中 10 分钟,使得一个干棒具有三个干燥斑点。同时制备总计 25 个棒。使干棒在 4℃ 下储存于具有干燥剂的箔袋中。

[0355] 表 10. 新 LDH 干棒与传统干棒之间的组成比较 :

[0356]

	传统的 LDH 干棒	新的 LDH 干棒
溶液 A	8.1 μL	4.0 μL
溶液 B	4.0 μL	2.0 μL
Triton X-100	4.5 μg	4.5 μg*

[0357] * 经由 LDH 标准物来添加 (向乳中的 10 份 LDH 标准物添加 1 份溶液 C)。

[0358] 因此,与标准干棒相比,新干棒只含有约 1/2 化学物质。

[0359] 表 11. 干棒测试 :10 μL 的乳中的 LDH 标准物,25℃,5 分钟孵育,在 525nm 下读取

[0360]

	传统的 LDH 干棒, 10 μL	新的 LDH 干棒, 10 μL	新的 LDH 干棒, 15 μL
0 U/L	651	703	746
50	568	635	608
100	507	520	493
200	427	467	395
300	375	395	384
400	333	380	359

[0361] 表 11 和图 9 中的结果展示新 LDH 干棒结构给出与传统 LDH 干棒大约相同形状的性能曲线,这是令人惊讶的,因为在新干棒结构中只使用约 1/2 化学物质。

[0362] 添加 15 μL 样品的结果展示可以通过将样品体积例如从 10 μL 改变为 15 μL 来以所需方向影响性能曲线的形状。

[0363] 参考案

[0364] WO 02/069697

[0365] WO 2004/017066

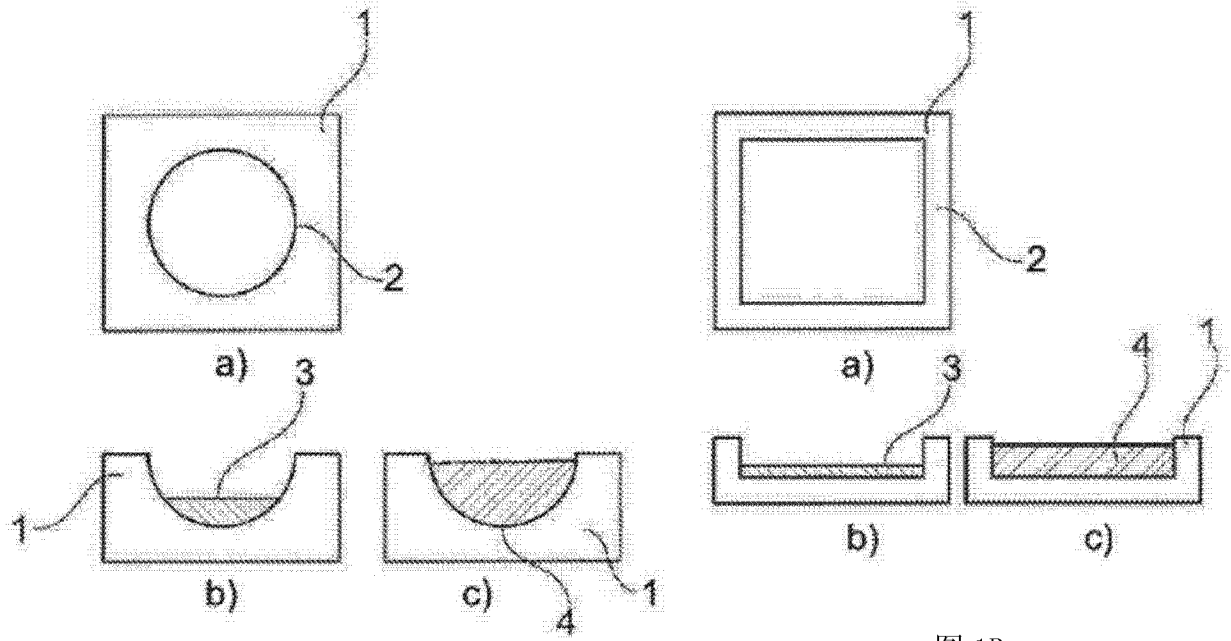


图 1B

图 1A

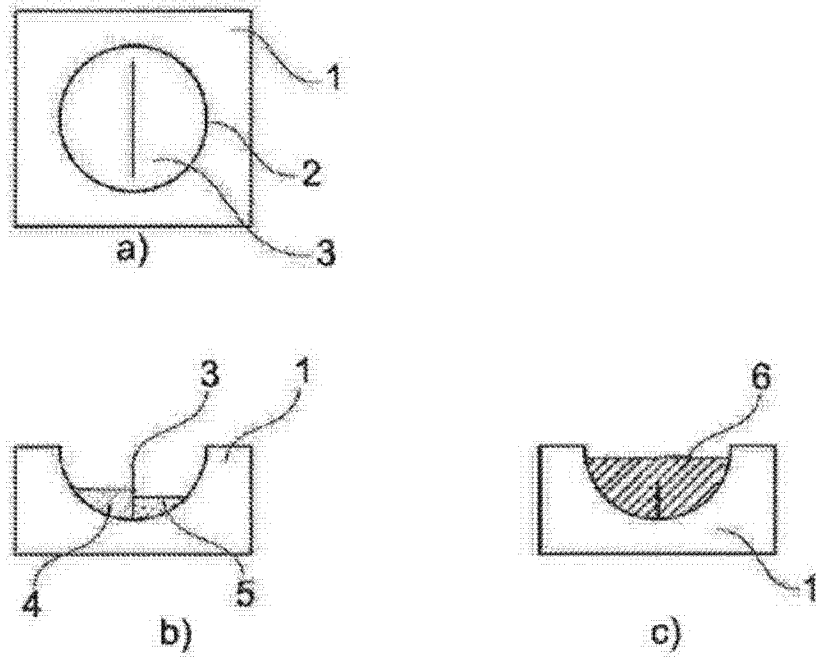


图 2A

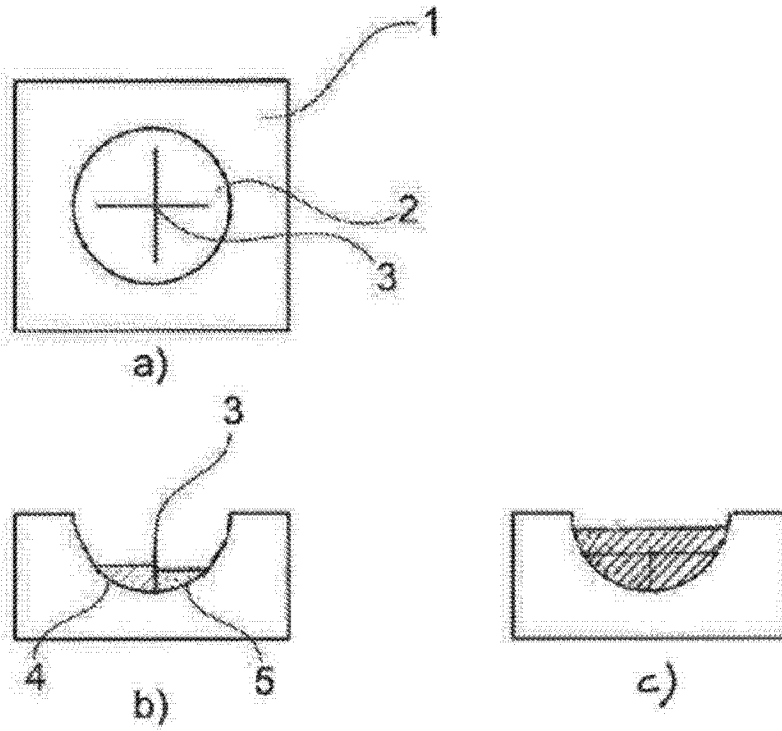


图 2B

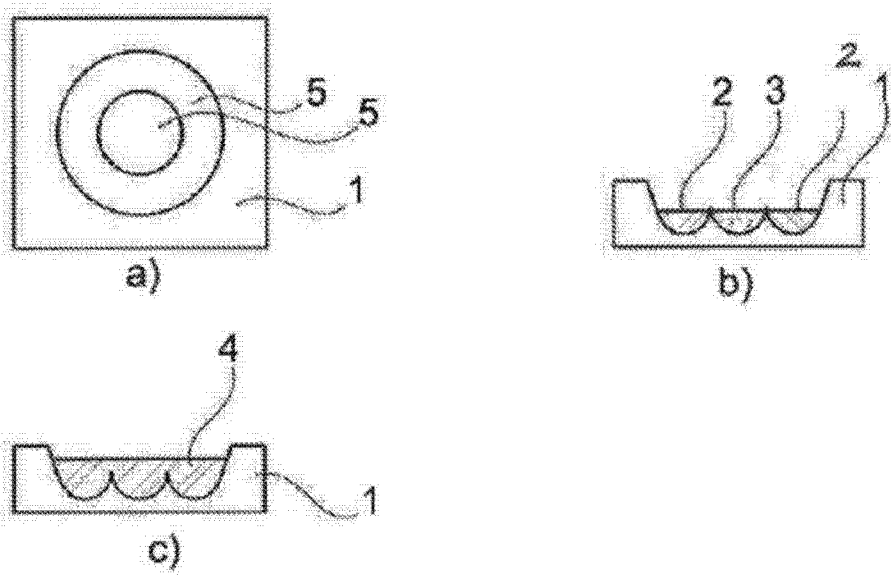


图 2C

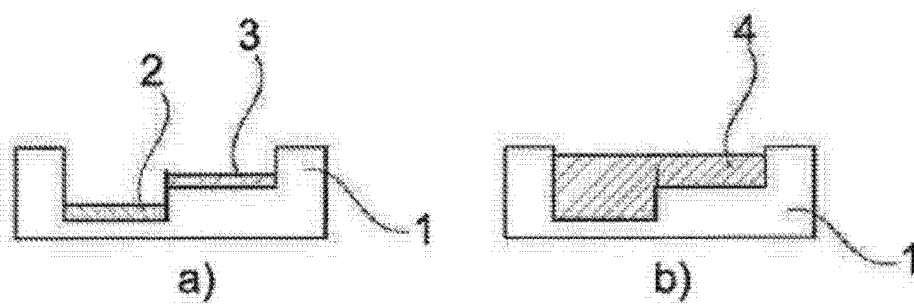


图 3

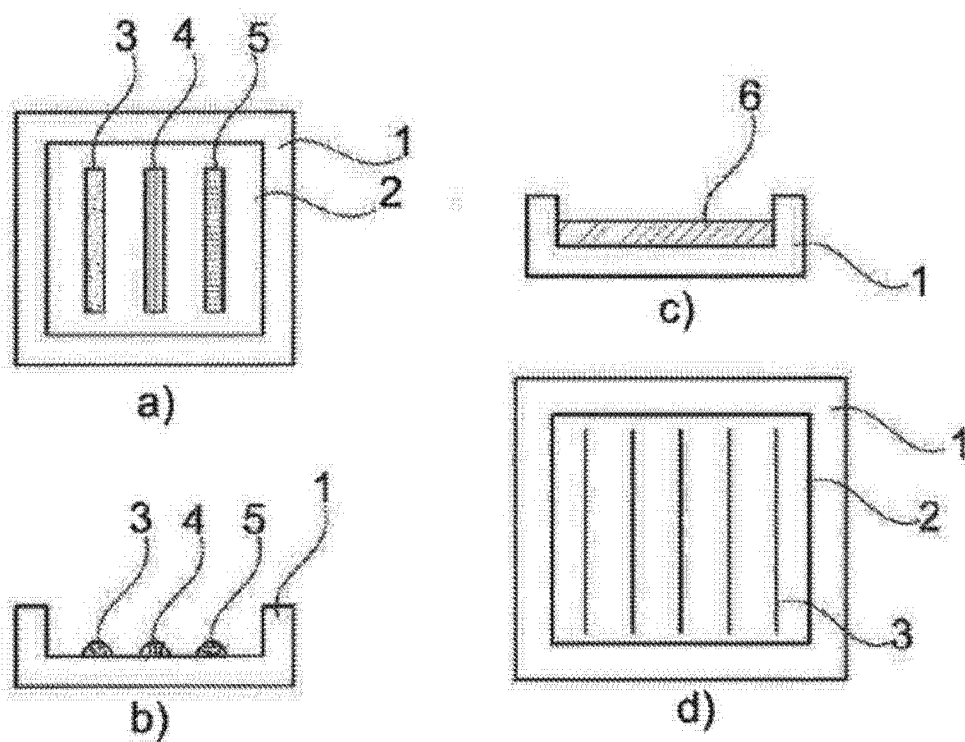


图 4

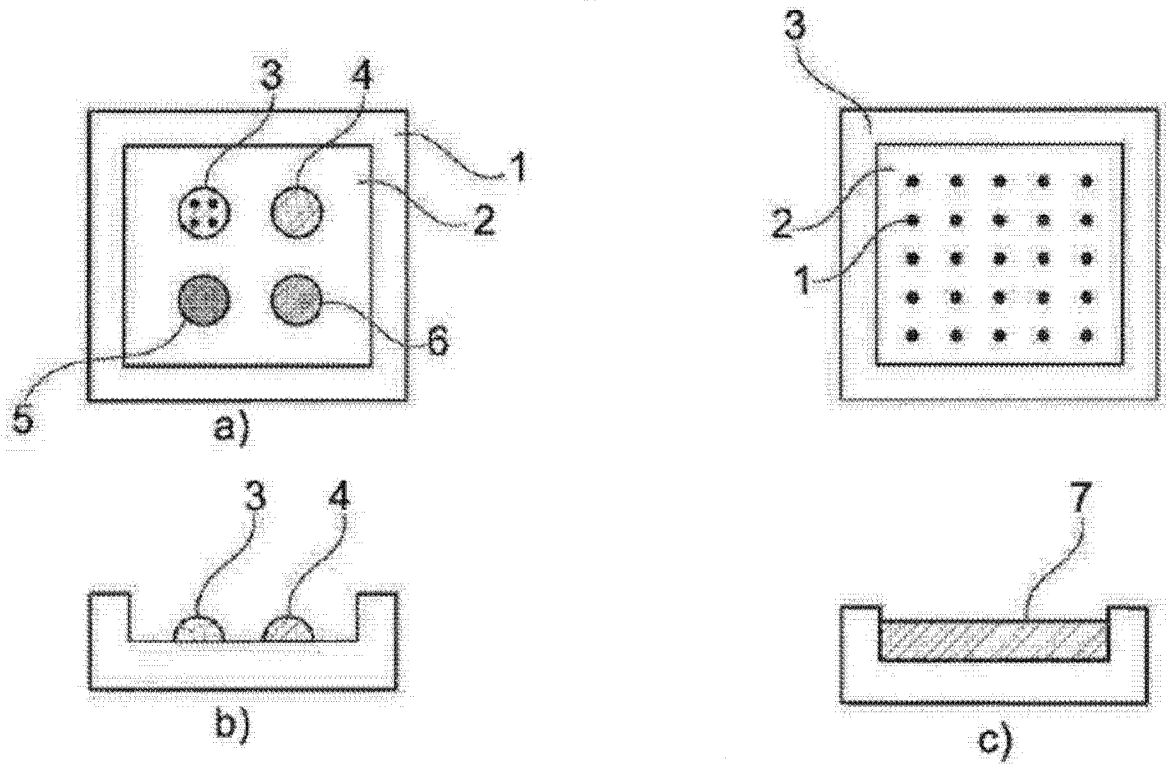


图 5

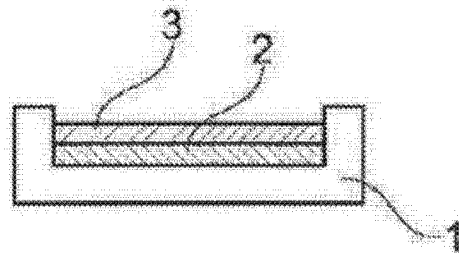


图 6

传统干棒对新型干棒				
BHB纸张				
步骤	传统干棒		新型干棒	
1	纸张采购 3MMChr			
2	储备纸张			
3	溶液制备		溶液制备	
4	R2R浸渍3MMChr并干燥	RR4500	自动溶液分配并干燥并且堆叠50个棒	分配器、干燥器以及堆叠器
5	储备浸渍的3MMChr, 4°C			
6	将BHB纸张R2R切开成5 mm切片并且卷紧于18个卷筒上	切条机		
7	储备具有切片的18个卷筒			
8	切割并安装到外壳中并且堆叠50个棒	COSMA		
9	安装芯筒		安装芯筒	
10	将芯筒密封于箔袋中		将芯筒密封于箔袋中	

图 7

传统干棒对新型干棒

LDH层叠物

	传统干棒		新型干棒	
1	纸张采购 3MMChr			
2	储备纸张			
3	溶液1制备		溶液1制备	
4	R2R浸渍3MMChr 并干燥	RR4500	自动溶液1分配 并干燥	分配器和干燥器
5	储备浸渍的 3MMChr, 4°C			
6	刮子采购 PS-2			
7	储备刮子			
8	溶液2制备			
9	R2R浸渍并干燥	RR4500	自动粉末2分 配	粉末分配 器
10	储备浸渍的 PS-2, 4°C			
11	从Lina Coating采购 热熔转移胶带			
12	储备热熔胶带			
13	将浸渍的刮子PS-2 与热熔转移胶带 R2R层叠以产生 LDH 1/2-层叠物	层叠机		
14	储备LDH 1/2-层叠 物, 4°C			

续

图 8

15	浸渍的纸张3MMChr 与LDH 1/2-层叠物 R2R层叠以产生 LDH层叠物卷筒	层叠机		
16	储备LDH层叠 物, 4°C			
17	将LDH层叠物R2R 切开成5 mm切片并 且卷紧于18个卷筒 上	切条机		

图 8

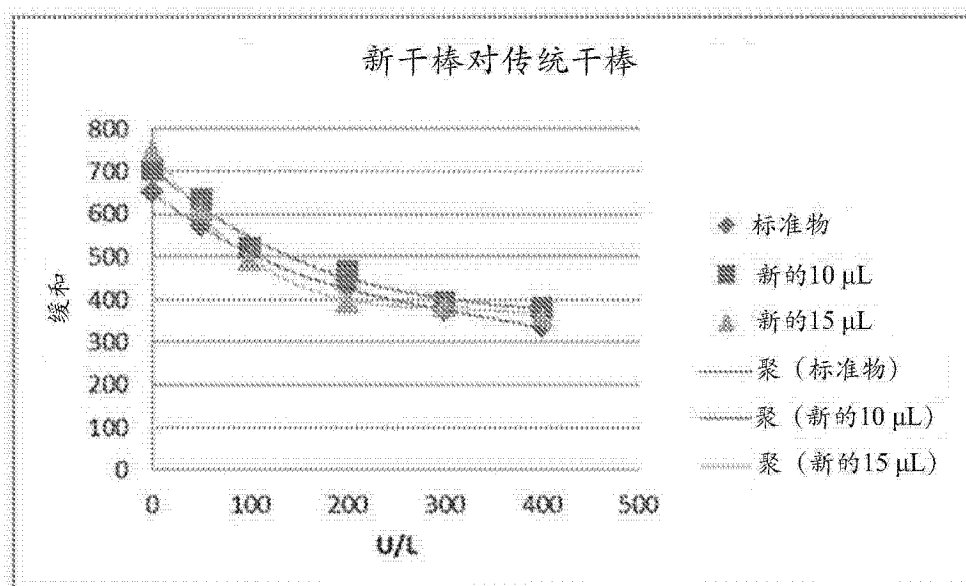


图 9

专利名称(译)	用于确定样品中的分析物的干棒设备和方法		
公开(公告)号	CN104704363A	公开(公告)日	2015-06-10
申请号	CN201380037548.7	申请日	2013-07-19
[标]发明人	吉米克劳森		
发明人	吉米·克劳森		
IPC分类号	G01N33/52 G01N33/543 G01N33/53 A01J5/007		
CPC分类号	A01J5/0131 A01K1/12 A01K11/006 G01N33/521 G01N33/525		
代理人(译)	高瑜 郑霞		
优先权	2012177348 2012-07-20 EP		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

在此提供一种用于确定样品中的分析物的新颖且改进的干棒结构。该干棒设备包括：(i)包含一个空腔的一个固体载体，以及(ii)能够在一种被润湿的状态下与该分析物、所述分析物的一种衍生物或所述分析物的一种指示化合物反应以提供一个可检测的信号的至少一种干试剂，其中该空腔包含该至少一种干试剂。本发明还提供一种自动或半自动系统。另外，本发明提供一种用于优化产乳动物畜群的生产性能的自动或半自动系统。

