CH 623 137 A5

(19) SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

(51) Int. Cl.³: G 01 N 33/72

ETH-BIBLIOTHEK ZÜRICH

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein
Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

(12) **PATENTSCHRIFT** A5

(11) **623 137**

(21) Gesuchsnummer: 14659/76

(22) Anmeldungsdatum: 22.11.1976

(30) Priorität(en): 21.11.1975 JP 50-140428

(24) Patent erteilt: 15.05.1981

(45) Patentschrift veröffentlicht: 15.05.1981

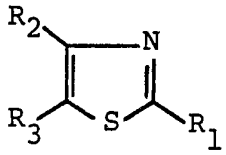
(73) Inhaber:
Shionogi & Co., Ltd., Osaka (JP)

(72) Erfinder:
Yasunao Ogawa, Ikeda-shi/Osaka Pref. (JP)
Yukio Yonetani, Nara-shi/Nara Pref. (JP)

(74) Vertreter:
Bovard & Cie., Bern

(54) Teststreifen zum Nachweis von okkultem Blut in Exkreten und Körperflüssigkeiten.

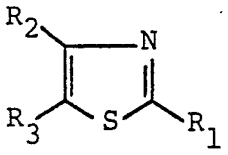
(57) Der Teststreifen enthält als Träger ein poröses oder saugfähiges, absorbierendes Material. Der Träger ist mit einer chromogenen Substanz, einem Hydroperoxid und als Sensibilisator mit einem Thiazol der Formel I, worin R_1 Niederalkyl, gegebenenfalls substituiertes Aralkenyl oder Aralkyl, R_2 und R_3 je Wasserstoff oder Niederalkyl bedeuten oder R_2 und R_3 zusammen mit den benachbarten C-Atomen einen Benzolring bilden, imprägniert. Die Herstellung des Teststreifens erfolgt zweckmässig durch Imprägnierung des Trägers mit einer das Hydroperoxid enthaltenden Emulsion, Trocknung, anschliessende Imprägnierung mit einer die chromogene Substanz und das Thiazol enthaltenden Lösung und Trocknung. Der Teststreifen ermöglicht Nachweis von okkultem Blut, insbesondere in Urin, in einer Verdünnung von 1 : 500'000 bis 1 : 1'000'000 durch deutlichen Farbumschlag. Diese hohe Empfindlichkeit ist für klinische Untersuchungen unerlässlich.



(I)

PATENTANSPRÜCHE

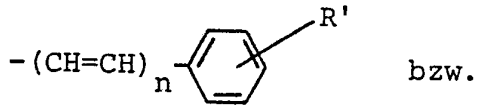
1. Teststreifen zum Nachweis von okkultem Blut in Exkreten oder Körperflüssigkeiten, gekennzeichnet durch ein poröses oder saugfähiges, absorbierendes Material, das mit einer chromogenen Substanz, einem Hydroperoxid und als Sensibilisator mit einem Thiazol der Formel



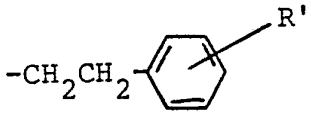
(I)

worin R_1 Niederalkyl, gegebenenfalls substituiertes Aralkenyl oder Aralkyl, R_2 und R_3 je Wasserstoff oder Niederalkyl bedeuten oder R_2 und R_3 zusammen mit den benachbarten C-Atomen einen Benzolring bilden, imprägniert ist.

2. Teststreifen nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass in der Formel I R_1 Alkyl mit 1-3 C-Atomen, gegebenenfalls substituiertes Aralkenyl oder Aralkyl der Formeln



bzw.



bedeutet, wobei n 1 oder 2 ist und R' für Wasserstoff, Halogen, Alkyl oder Alkoxy mit 1-3 C-Atomen steht, und R_2 und R_3 je Wasserstoff oder Alkyl mit 1-3 C-Atomen bedeuten oder R_2 und R_3 zusammen mit den benachbarten C-Atomen einen Benzolring bilden.

3. Teststreifen nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass er als Thiazol der Formel I 2-Styryl-4-methylthiazol, 2-(p-Methoxystyryl)-thiazol, 2-(p-Äthoxystyryl)-thiazol, 2-(p-Methoxystyryl)-4-methylthiazol, 2-Styrylthiazol, 1-Phenyl-4-thiazolyl-(2)-butadien, 2-(p-Methylstyryl)-thiazol, 2-(p-Methoxystyryl)-benzothiazol, 2-(Styryl)-benzothiazol, 2-(p-Chlorstyryl)-thiazol, 2-(p-Bromstyryl)-thiazol, 2-(p-Fluorstyryl)-thiazol, 2,4-Dimethylthiazol oder 1-Phenyl-2-(2-thiazol)-äthan enthält.

4. Teststreifen nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass er als chromogene Substanz ein Diaminodiphenylderivat, wie Benzidin, o-Tolidin, m-Tolidin und 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin, deren Salze, Guajak oder dessen Extrakte enthält.

5. Teststreifen nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass er als Hydroperoxid Cumolhydroperoxid, p-Methanhydroperoxid, Tetralinhydroperoxid, tert.-Butylhydroperoxid, 2,5-Dimethylhexan-2,5-dihydroperoxid oder Diisopropylbenzolhydroperoxid enthält.

6. Teststreifen nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das poröse oder saugfähige, absorbierende Material mit Gummi arabicum, Natriumlaurylsulfat, Cumolhydroperoxid, Gelatine, Citratpuffer, Tartrazin, Äthanol, Citronensäure, N-Äthylmorpholin, o-Tolidin und 2-Styryl-4-methylthiazol imprägniert ist.

7. Verfahren zur Herstellung eines Teststreifens nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man ein poröses oder saugfähiges, absorbierendes Material mit einer Flüssigkeit imprägniert, die als wesentliche Bestandteile ein chromogenes Material, ein Hydroperoxid und als Sensibilisator ein Thiazol der Formel I nach Anspruch 1 enthält.

8. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass man ein Thiazol nach Anspruch 2 verwendet.

9. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass man ein Thiazol nach Anspruch 3 verwendet.

10. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass man eine chromogene Substanz nach Anspruch 4 verwendet.

11. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass man ein Hydroperoxid nach Anspruch 5 verwendet.

12. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass man ein poröses oder saugfähiges, absorbierendes Material zunächst mit einer Emulsion imprägniert, die Gummi arabicum, Natriumlaurylsulfat, Cumolhydroperoxid, Gelatine, Tartrazin und Äthanol und zur Einstellung eines pH-Wertes von 5-7 Citratpuffer, Citronensäure und N-Äthylmorpholin enthält, das imprägnierte Material dann trocknet, anschliessend mit einer Lösung von o-Tolidin und 2-Styryl-4-methylthiazol in Chloroform imprägniert und schliesslich trocknet.

13. Stoffzusammensetzung zur Ausführung des Verfahrens nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass sie ein Chromogen, ein Hydroperoxid und als Sensibilisator ein Thiazol der Formel I nach Anspruch 1 enthält.

14. Stoffzusammensetzung nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass sie ein Thiazol nach Anspruch 2 enthält.

15. Stoffzusammensetzung nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass sie ein Thiazol nach Anspruch 3 enthält.

16. Stoffzusammensetzung nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass sie ein Hydroperoxid nach Anspruch 5 enthält.

17. Verwendung von Teststreifen nach Anspruch 1 zum Nachweis von okkultem Blut in Exkreten oder Körperflüssigkeiten, dadurch gekennzeichnet, dass man die Exkrete oder Körperflüssigkeiten mit dem Teststreifen in Kontakt bringt.

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf einen Teststreifen zum Nachweis von okkultem Blut in Exkreten, wie Urin oder Faeces, oder in Körperflüssigkeiten, auf ein Verfahren zur Herstellung des Teststreifens und auf eine Stoffzusammensetzung zur Ausführung des Verfahrens.

Das allgemeine Prinzip zum Nachweis von okkultem Blut ist bekannt. Im Blut enthaltenes Hämoglobin katalysiert die Zersetzung von Hydroperoxiden. Der dabei freigesetzte Sauerstoff wird auf eine chromogene Substanz übertragen, die zu einem Farbstoff oxidiert wird, was auf die Anwesenheit von okkultem Blut hindeutet. Teststreifen, die unter direkter Anwendung dieses Prinzips hergestellt werden, ergeben aber zum Nachweis von sehr geringen Blutmengen keine zufriedenstellenden Ergebnisse. Ferner haben derartige Teststreifen den Nachteil, dass ihre Lagerstabilität nicht ausreichend ist.

Teststreifen, die neben einer chromogenen Substanz zum Nachweis von okkultem Blut einen Sensibilisator enthalten, sind bekannt. Beispielsweise ist in der JP-PS 478 815 ein Teststreifen beschrieben, der Chinin enthält, während in der US-PS 3 853 472 ein Teststreifen mit einem Gehalt an Phenanthridin erläutert ist. Die Empfindlichkeit des erstgenannten Teststreifens ist nicht ausreichend, während der letztgenannte den Nachteil aufweist, dass er eine karzinogene Substanz als Sensibilisator enthält. Eine ausreichende Empfindlichkeit zum raschen Nachweis von okkultem Blut ist für derartige Teststreifen von entscheidender Bedeutung. Ausserdem müssen sie sicher handhabbar sein. Für eine praktische klinische Anwendung ist eine Empfindlichkeit des Blutnachweises bei einer Verdünnung von mehr als 1 : 200 000 erforderlich. Andererseits wird aber in der Fachwelt darauf hingewiesen, dass auch eine übermässige Empfindlichkeit dieser Teststreifen nicht erwünscht ist, da sie Anlass zur Bildung einer falschen positiven Farbreaktion sein kann.

In letzter Zeit wurde die Verwendung von Pyridinderivaten vorgeschlagen; vgl. US-PS 3 917 452. In dieser Druckschrift wird behauptet, dass es möglich ist, Blut in einer Verdünnung von 1 : 1 000 000 nachzuweisen. Dieses Nachweisverfahren hat sich jedoch in der Praxis nicht durchgesetzt. Eine genaue Ermittlung der Vorteile, die eine derartige Steigerung der Empfindlichkeit bietet, wurde bisher noch nicht durchgeführt.

Aufgabe der Erfindung ist es, einen Teststreifen zur Verfügung zu stellen, der einen raschen und zuverlässigen Nachweis von okkultem Blut gestattet. Ferner soll ein einfaches, rasches und zweckmässiges Verfahren zum Nachweis von okkultem Blut in Exkreten oder Körperflüssigkeiten, insbesondere in Urin, zur Verfügung gestellt werden.

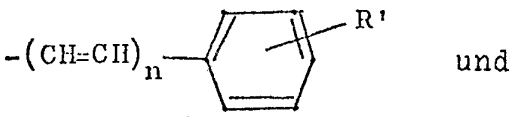
Bei Untersuchungen über Möglichkeiten zur Steigerung der Empfindlichkeit von Teststreifen zum Nachweis von okkultem Blut wurde erfindungsgemäss festgestellt, dass bestimmte Thiazolverbindungen eine aktivierende Wirkung beim Nachweis von okkultem Blut entfalten.

Gegenstand der Erfindung ist ein Teststreifen, der im Patentanspruch 1 definiert ist.

Der Teststreifen der Erfindung eignet sich zum Nachweis von okkultem Blut in Exkreten, wie Urin oder Faeces, Erbrochenem, Mageninhalt oder Rückenmarkflüssigkeit.

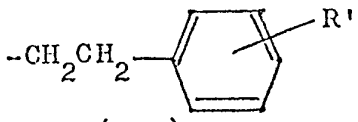
Es ist bekannt, dass Hämorrhagien durch Krebs, Geschwüre, Hämorrhoiden, Typhus, Skorbut, Purpura, Nieren-insuffizienz, Blasensteine, Nierensteine und dergleichen hervorgerufen werden können. Die bei derartigen Erkrankungen freigesetzte Blutmenge ist im allgemeinen sehr gering, so dass sie mit dem unbewaffneten Auge oder durch ein Mikroskop nicht festgestellt werden kann. Mit dem erfindungsgemässen Teststreifen läst sich derartiges okkultes Blut leicht und zuverlässig mit hoher Empfindlichkeit nachweisen. Somit eignet sich der erfindungsgemässe Teststreifen besonders zur frühen Diagnose der vorstehend erwähnten Erkrankungen.

In den Thiazolen der Formel I weisen die für die Reste R_1, R_2 und R_3 stehenden Alkylreste vorzugsweise 1 bis 3 Kohlenstoffatome auf. Spezielle Beispiele sind die Methyl-, Äthyl- oder Propylgruppe. Weitere bevorzugte, für den Rest R_1 stehende Substituenten sind gegebenenfalls substituierte Aralkylreste der Formel II und gegebenenfalls substituierte Aralkylreste der Formel III



(II)

und



(III)

wobei n eine ganze Zahl mit einem Wert von 1 oder 2 ist, R' ein Wasserstoff- oder Halogenatom, wie Jod, Chlor, Brom oder Fluor, einen Alkylrest mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen, wie die Methyl-, Äthyl- oder Propylgruppe oder einen Alkoxyrest mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen, wie die Methoxy-, Äthoxy- oder Propoxygruppe, bedeutet.

Spezielle Beispiele für Thiazole der Formel I sind 2-Styryl-4-methylthiazol, 2-(p-Methoxystyryl)-thiazol, 2-(p-Äthoxystyryl)-thiazol, 2-(p-Methoxystyryl)-4-methylthiazol, 2-Styrylthiazol, 1-Phenyl-4-thiazolyl-(2)-butadien, 2-(p-Methylstyryl)-thiazol, 2-(p-Methoxystyryl)-benzothiazol, 2-(Styryl)-benzothiazol, 2-(p-Chlorstyryl)-thiazol, 2-(p-Bromstyryl)-thiazol, 2-(p-Fluorstyryl)-thiazol, 2,4-Dimethylthiazol und 1-Phenyl-2-(2-thiazol)-äthan.

Selbstverständlich besitzen nicht sämtliche Verbindungen der Formel I gleich starke sensibilisierende Eigenschaften. Somit ist es möglich, die Empfindlichkeit bei einem Blutnachweis je nach den praktischen Erfordernissen einzustellen. Beispielsweise nimmt die Empfindlichkeit von Teststreifen bei Verwendung der folgenden Sensibilisatoren in der angegebenen Reihenfolge zu: 2-Styryl-4-methylthiazol, 2-(p-Methoxystyryl)-thiazol, 2-(p-Methoxystyryl)-4-methylthiazol >2-Styrylthiazol, 2-(p-Methoxystyryl)-thiazol, 1-Phenyl-4-thiazolyl-(2)-butadien, 2-(p-Methoxystyryl)-benzothiazol >2,4-Dimethylthiazol, 1-Phenyl-2-(2-thiazol)-äthan, 2-(p-Chlorstyryl)-thiazol, (2-Styryl)-benzothiazol.

Die Teststreifen der Erfindung können hergestellt werden, indem man beispielsweise absorbierendes Material mit sämtlichen, zur Farbreaktion erforderlichen Reagenzien vermischt. Dieses Imprägnierungsverfahren wird vorzugsweise in zwei Stufen durchgeführt. Zunächst wird ein absorbierendes Material mit einer Emulsion, die ein Hydroperoxid, einen Emulgator, ein Haftmittel, einen Puffer, ein Pigment und einen Stabilisator für das Hydroperoxid enthält, imprägniert. Anschliessend wird das imprägnierte Material getrocknet und sodann mit einer Lösung eines Sensibilisators der Formel I und einer chromogenen Substanz imprägniert. Das auf diese Weise erhaltene absorbierende Material wird zum gewünschten Teststreifen getrocknet. Das vorstehend erläuterte Verfahren wird zwar vorzugsweise angewendet, jedoch ist die Einhaltung dieser Verfahrensmassnahmen nicht unbedingt erforderlich und für zahlreiche Abänderungen zugänglich.

Die Sensibilisatoren der Formel I werden vorzugsweise in Mengen verwendet, die das 0,5- bis 10fache der Gewichtsmenge der verwendeten chromogenen Substanz ausmachen. Beispiele für entsprechende absorbierende Materialien sind Filterpapier, Ionenaustauschcellulosepapier, Fasern und Materialien mit entsprechenden Absorptionseigenschaften.

Beispiele für entsprechende Hydroperoxide sind Cumolhydroperoxid, p-Methanhydroperoxid, Tetralinhydroperoxid, tert.-Butylhydroperoxid, 2,5-Dimethylhexan-2,5-dihydroperoxid und Diisopropylbenzolhydroperoxid. In ähnlicher Weise können andere Hydroperoxide verwendet werden, die in Anwesenheit von Blut Sauerstoff freisetzen und die katalytische Oxidation einer chromogenen Substanz ermöglichen, wobei eine nachweisbare Farbveränderung eintritt. Diese Hydroperoxide werden zweckmässig in solchen Mengen verwendet, die ausreichen, um eine chromogene Substanz in Anwesenheit von Blut unter Bildung eines gefärbten Materials zu oxidieren. Im allgemeinen werden die Hydroperoxide im Überschuss eingesetzt.

Als Emulgatoren können beispielsweise Gummi arabicum oder Polyvinylalkohol verwendet werden. Die Emulgatoren werden im allgemeinen in einer Konzentration von 12,5 bis 25% (Gewicht/Volumen) eingesetzt. Als Stabilisator für die Hydroperoxide wird vorzugsweise Natriumlaurylsulfat in einer Konzentration von etwa 5% (Gewicht/Volumen) verwendet.

Gelatine bewirkt eine Mikroverkapselung der verwendeten Hydroperoxide. Vorzugsweise wird Gelatine in einer Konzentration von etwa 10% (Gewicht/Volumen) verwendet.

Beispiele für Puffer sind Citrat-, Phosphat-, Phthalat-, Oxalat- und Carbonatpuffer sowie Puffer aus organischen oder anorganischen Säuren mit Morpholin oder dessen Derivaten, wie N-Äthylmorpholin. Diese Puffer werden verwendet, um die Imprägnierlösung auf einem pH-Wert von beispielsweise 5 bis 7, vorzugsweise 5 bis 6, zu halten.

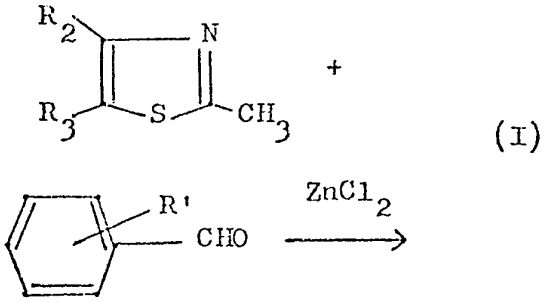
Beispiele für chromogene Substanzen sind Diaminodiphenylderivate, wie Benzidin, o-Tolidin, m-Tolidin, Dianisidin, 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin und Salze dieser Verbindungen mit einer Mineralsäure, wie Chlorwasserstoffsäure, Bromwasserstoffsäure, Salpetersäure oder Schwefelsäure. Ferner kann Guajak in Form von Chloroformextrakten verwendet werden. Aus praktischen Gründen sind o-Tolidin oder dessen N-Alkylderivate bevorzugt.

Ein Pigment, wie Tartrazin, kann zur Einstellung des Hintergrunds zugesetzt werden. Dadurch wird die Bestimmung der Farbentwicklung erleichtert. Zur Herstellung der Imprägnierlösung können als Lösungsmittel beispielsweise Wasser, Äthanol, Chloroform oder Toluol verwendet werden.

Mit dem Teststreifen der Erfindung gelingt ein Nachweis von Blut in einer Verdünnung von 1:500 000 bis 1:1 000 000. Die Empfindlichkeit des entsprechenden Teststreifens ohne Sensibilisator reicht nur für Verdünnungen von 1:10 000 bis 1 : 30 000 aus. Teststreifen mit einer derart geringen Empfindlichkeit eignen sich für klinische Untersuchungen nicht. Demgegenüber gelingt mit dem Teststreifen der Erfindung der Nachweis von okkultem Blut in Exkreten oder Körperflüssigkeiten, insbesondere in Urin.

Das der Erfindung zugrundeliegende Prinzip kann, abgesehen von Teststreifen, auch auf Massen angewendet werden. Derartige Massen können nach üblichen pharmakologischen Verfahren hergestellt werden. Teststreifen sind allerdings im Hinblick auf ihre Stabilität und leichte Handhabbarkeit bevorzugt.

Die Thiazolverbindungen der Formel I lassen sich z. B. nach folgender Reaktionsgleichung herstellen:



Somit lassen sich die Verbindungen der Formel I durch Umsetzung eines entsprechenden 2-Methylthiazols mit einem entsprechenden Aldehyd unter Erhitzen in Gegenwart einer Lewis-Säure, wie Zinkchlorid, herstellen.

Die Beispiele erläutern die Erfindung.

Beispiel 1

Filterpapier (Toyo-Filterpapier Nr.131) wird mit einer Emulsion der folgenden Zusammensetzung imprägniert:

Erste Lösung	
25% (Gewicht/Volumen) Gummi arabicum	10 ml
5% (Gewicht/Volumen) Natriumlaurylsulfat	2 ml
Cumolhydroperoxid	1 ml
10% (Gewicht/Volumen) Gelatine-0,2m Citratpuffer (pH-Wert 5,0)	5 ml
1% (Gewicht/Volumen) Tartrazin/wässriges Äthanol	0,5 ml
2m Citronensäure/N-Äthylmorpholin (pH-Wert 5,5)	20 ml

Das Papier wird aus der Lösung entfernt und 5 bis 10 Stunden lang bei 60 bis 80 °C getrocknet. Anschliessend wird das Papier mit einer zweiten Lösung der folgenden Zusammensetzung imprägniert:

Zweite Lösung	
o-Tolidin	50 mg
2-Styryl-4-methylthiazol	50 mg
Chloroform	10 ml

Das Papier wird aus der Lösung entfernt und 30 Minuten lang im Dunkeln unter vermindertem Druck getrocknet. Anschliessend wird das Papier in Stücke geeigneter Grösse geschnitten und aus Zweckmässigkeitsgründen auf eine Polyvinylchlorid-Folie aufgeklebt. Durch Voruntersuchungen wurde festgestellt, dass zwischen den Farbreaktionen bei Verwendung von menschlichem Blut und von Rattenblut keine Unterschiede auftreten. Aus diesem Grund wurden die weiteren Untersuchungen an Rattenblut durchgeführt. Das Blut wurde mit Wasser auf das 100fache verdünnt und anschliesend mit Urin von normalen erwachsenen Personen versetzt. Beim Eintauchen des Teststreifens der Erfindung in Proben mit unterschiedlichen Blutkonzentrationen lässt sich das Blut bei einer Verdünnung von 1 : 1 000 000 noch nachweisen, wobei die Farbreaktion aber etwas schwach ist. Die Bestimmung wird dabei 30 Sekunden nach der Imprägnierung durchgeführt. Der anfänglich gelbgefärbte Teststreifen der Erfindung verfärbt sich nach grünlich gelb bis grün und dunkelblau, je nach der Blutkonzentration.

Der vorstehend erhaltene Teststreifen zeigt eine hohe Empfindlichkeit gegenüber okkultem Blut. Die Untersuchungsergebnisse sind in nachstehender Tabelle I zusammengestellt. Handelsübliche Labstix-Teststäbchen zum Nachweis von okkultem Blut, die Cumolhydroperoxid, o-Tolidin und Citratpuffer enthalten, werden zu Vergleichszwecken verwendet.

Tabelle I

Empfindlichkeit des Teststreifens auf okkultes Blut im Urin

Blutkonzentration im Urin	Labstix-Teststäbchen	Teststreifen der Erfindung
		H-L/S*
0	–	10Y-9/6
1/400 000	±	7,5GY-8/6
1/200 000	±	10GY-8/6
1/100 000	+	5G-6/6
1/50 000	++	5BG-5/6
1/10 000	++~+++	2,5B-4/6

Anmerkung: H-L/S* bedeutet Farbton-Helligkeit/Sättigung. Die Farbreaktion wird gemäss «Standard Color Chip» (Japanische Industrienorm Z 8721-1964) ausgedrückt. Die Farbreaktion mit den Labstix-Teststäbchen wird anhand der beigefügten Standardfärbungen ausgedrückt. –: negative Reaktion, ±: sehr schwache Reaktion, +, ++, +++: positive Reaktion. Die Farbreaktion wird 30 Sekunden nach der Imprägnierung des Teststreifens mit der zu untersuchenden Probe bestimmt. Y = gelb, GY = grünlich gelb, G = grün, BG = blau-grün, B = blau.

Aus der vorstehenden Tabelle ergibt sich, dass der Teststreifen der Erfindung zu einem zuverlässigen Nachweis von okkultem Blut im Urin in einer Konzentration von 1 : 400 000 geeignet ist. Mit diesen Teststreifen lässt sich auch noch Blut in einer Konzentration von 1 : 1 000 000 nachweisen, jedoch ist die Farbintensität dabei etwas schwach. Für klinische Zwecke ist jedoch ein Nachweis von Blut in Verdünnungen von 1 : 400 000 ausreichend.

Die Empfindlichkeit und Stabilität von Teststreifen mit einem Gehalt an verschiedenen Sensibilisatoren bei verschiedenen Lagerungsbedingungen wird untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle II zusammengestellt.

Tabelle II
Empfindlichkeit und Stabilität von Teststreifen mit einem Gehalt an verschiedenen Sensibilisatoren

Sensibilisator	Gehalt an okkultem Blut (Nachweis mit Labstix-Teststäbchen)	frisch hergestellt	einmonatige Lagerung bei 4 °C	Raumtemperatur
		H-L/S (JIS Z 8721-1964)		
	–	10Y-9/6	5Y-9/6	5Y-8/5
2-(Styryl)-4-methylthiazol	+	10GY-7/6	5GY-8/6	5Y-7/7
	++	5G-7/4	2,5G-7/6	10Y-8/4
	–	7,5Y-9/4	5Y-9/6	5Y-8/5
2-(p-Methoxy-styryl)-thiazol*	+	5GY-9/6	10Y-9/6	5Y-8/6
	++	2,5G-7/6	7,5GY-8/6	2,5GY-8/6
2-(p-Methoxy-styryl)-4-methylthiazol**	–	10Y-9/6	5Y-9/6	5Y-8/5
	+	2,5GY-9/8	10Y-9/6	5Y-8/6
	++	5GY-8/8	7,5GY-8/6	2,5GY-8/6

Anmerkung: Die einzelnen Symbole haben die gleiche Bedeutung wie in Tabelle I. *, **: Teststreifen mit einem Gehalt an diesen Sensibilisatoren werden gemäss dem Verfahren von Beispiel 2 hergestellt.

Aus der vorstehenden Tabelle ergibt sich, dass die erfindungsgemässen Teststreifen mit einem Gehalt an Thiazolen bei einer einmonatigen Lagerung bei 4 °C eine gute Stabilität aufweisen. Insbesondere weist der Teststreifen mit einem Gehalt an 2-(Styryl)-4-methylthiazol eine gute Stabilität auf. Die Stabilität der Teststreifen der Erfindung nimmt bei einer Lagerung bei Zimmertemperatur etwas ab.

Ferner wird die Stabilität der Teststreifen mit einem Gehalt an verschiedenen chromogenen Substanzen untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle III zusammengestellt.

Tabelle III
Wirkung von verschiedenen chromogenen Substanzen auf die Farbreaktion der Teststreifen nach Lagerung

Präparat	Lagerungsbedingungen	Blutkonzentration im Urin –	+	++	+++
		(H-L/S) (JIS Z 8721-1964)			
I*	frisch hergestellt	10Y-9/6	10GY-8/5	7,5G-6/5	2,5B-4/8
	13 Tage, 4 °C	7,5Y-9/8	2,5G-6/6	5BG-5/6	5B-3/4
	13 Tage, 20 °C	5Y-9/6	10GY-7/6	10G-5/6	5B-3/4
	23 Tage, 4 °C	10Y-9/6	7,5G-6/6	7,5BG-5/7	5B-5/7
	23 Tage, 20 °C	7,5Y-9/6	10GY-8/5	10G-5/6	2,5B-4/8
	34 Tage, 4 °C	10Y-9/6	2,5G-7/6	2,5BG-5/6	5B-4/6
	34 Tage, 20 °C	5Y-8/6	10Y-8/6	10G-6/6	7,5BG-4/6
II**	frisch hergestellt	10Y-9/6	7,5GY-8/6	2,5G-7/8	2,5B-4/6
	13 Tage, 4 °C	10Y-9/6	7,5GY-8/6	7,5G-6/6	10BG-4/8
	13 Tage, 20 °C	10Y-9/6	5GY-8/6	2,5G-7/6	7,5BG-4/6
	23 Tage, 4 °C	10Y-9/6	7,5GY-8/6	2,5BG-5/7	7,5BG-5/6
	23 Tage, 20 °C	10Y-9/6	10Y-9/6	2,5GY-9/6	7,5GY-8/5
	34 Tage, 4 °C	10Y-9/6	5GY-8/6	5G-6/6	5BG-5/6
	34 Tage, 20 °C	10Y-9/6	10Y-9/6	10Y-9/6	2,5GY-9/6

Anmerkung: *, **: Präparat I enthält o-Tolidin als chromogene Substanz und Präparat II enthält 3,5,3′5′-Tetramethylbenzidin. Präparat II wird auf die vorstehend beschriebene Weise erhalten.

Okkultes Blut von Patienten liegt als hämolytisches oder intaktes nicht-hämolytisches Blut vor. Das Verhältnis beider Arten im Urin ist nicht bestimmt. Im allgemeinen nimmt der Anteil von hämolytischem Blut im Urin im Verlauf der Zeit zu. Deshalb ist es wichtig, die Farbreaktion mit Urinproben, die Blut beider Art enthalten, zu untersuchen. Die Ergebnisse sind in Tabelle IV zusammengestellt.

Tabelle IV
Farbreaktion von Teststreifen auf hämolytisches und intaktes Blut im Urin

Probe	Zeit (Sek.)	Anzahl der Erythrozyten in der Urinprobe (Anzahl/µl) 0	5	10	50	100
I	30	7,5Y-9/8	10Y-8/7	2,5GY-8/5	5GY-8/6	2,5G-6/6
	60	7,5Y-9/8	10Y-8/6	5GY-8/5	7,5GY-8/5	7,5G-5/6
II	30	7,5Y-9/8	7,5Y-9/8	10Y-9/6	7,5GY-8/6	5G-6/7
	60	7,5Y-9/8	10Y-9/6	2,5GY-8/6	10GY-7/6	7,5G-5/7
III	30	5Y-9/6	5Y-9/6	7,5Y-8/6	10Y-8/6	2,5G-7/6
	60	5Y-9/6	5Y-9/6	10Y-8/6	2,5GY-8/6	7,5G-6/6
IV	30	5Y-9/6	5Y-9/6	5Y-9/6	7,5Y-8/6	10Y-8/6
	60	5Y-9/6	5Y-9/6	5Y-9/6	10Y-8/4	2,5GY-8/6

Anmerkung:
I: mit destilliertem Wasser verdünntes hämolytisches Blut
II: mit isotoner Lösung verdünntes intaktes Blut
III: hämolytisches Blut mit Wasser auf 1 : 100 und anschliessend weiter mit Urin verdünnt
IV: intaktes Blut mit Urin verdünnt
Die Erythrozytensuspension wird aus Rattenblut durch Waschen mit einer isotonen Lösung hergestellt. Die Farbreaktion wird 30 bzw. 60 Sekunden nach der Imprägnierung des Teststreifens gemäss Beispiel 1 mit der Probe festgestellt.

Aus der vorstehenden Tabelle ergibt sich, dass der erfindungsgemässe Teststreifen auf hömolytisches Blut im Urin empfindlicher ist als auf nicht-hämolytisches Blut.

Beispiel 2

Man verfährt wie in Beispiel 1, mit der Abänderung, dass man anstelle von 2-Styryl-4-methylthiazol folgende Thiazole verwendet: 2-(p-Methoxystyryl)-thiazol, 2-(p-Methoxystyryl)-4-methylthiazol, 2-Styrylthiazol, 1-Phenyl-4-thiazolyl-(2)-butadien, 2-(p-Methylstyryl)-thiazol, 2-(p-Methoxystyryl)-benzothiazol, 2-(Styryl)-benzothiazol, 2-(p-Chlorstyryl)-thiazol, 2,4-Dimethylthiazol und 1-Phenyl-2-(2-thiazol)-äthan. Die erhaltenen Teststreifen zeigen die gleiche Farbreaktion wie der Teststreifen von Beispiel 1.

Beispiel 3

Diäthylaminoäthylcellulose-Papier (DE-81, Produkt der Firma Whatman Co.) wird in eine Lösung der folgenden Zusammensetzung getaucht:

Erste Lösung

10% (Gewicht/Volumen) Polyvinylalkohol 500	10 ml
5% (Gewicht/Volumen) Natriumlaurylsulfat	4 ml
Cumolhydroperoxid	3 ml
10% Albumin/0,2m Citratpuffer (pH-Wert 5,0)	10 ml
1% (Gewicht/Volumen) Tartrazin/wässriges Äthanol	0,5 ml
2m Citronensäure/Morpholin (pH-Wert 5,5)	20 ml

Das imprägnierte Papier wird entfernt, 5 bis 10 Stunden lang bei 60 bis 80 °C getrocknet und mit einer zweiten Lösung der nachstehenden Zusammensetzung imprägniert:

Zweite Lösung

o-Tolidin	100 mg
2-(p-Methoxystyryl)-thiazol	50 mg
Toluol	10 ml

Das imprägnierte Papier wird entfernt und 30 Minuten lang unter vermindertem Druck im Dunkeln getrocknet. Der erhaltene Teststreifen zeigt beim Nachweis von Blut im Urin die gleiche Empfindlichkeit wie der Teststreifen von Beispiel 1.

Verwendet man anstelle eines Gemisches aus Citronensäure und Morpholin ein Gemisch aus Citronensäure und N-Äthylmorpholin und erhöht man die o-Tolidinmenge auf 100 mg, erhält man einen Teststreifen von hoher Empfindlichkeit.