



(12) Ausschließungspatent

(11) DD 292 600 A7

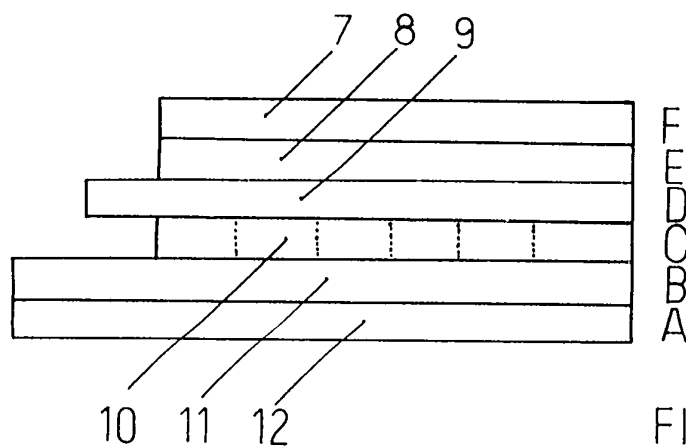
Erteilt gemäß § 18 Absatz 2
Patentgesetz der DDR
vom 27.10.1983
in Übereinstimmung mit den entsprechenden
Festlegungen im Einigungsvertrag

5(51) G 01 N 31/22
G 01 N 33/52

DEUTSCHES PATENTAMT

(21)	DD G 01 N / 240 191 8	(22)	26.05.82	(45)	08.08.91
(71)	Arzneimittelwerk Dresden GmbH, Wilhelm-Pieck-Straße 35, O - 8122 Radebeul, DE				
(72)	Kallies, Karl-Heinz, DE				
(73)	Kallies Import-Export Vertrieb GmbH, Götzinger Straße 17, O - 8360 Sebnitz; Laborchemie Apolda, Feinchemie Sebnitz, Höhenweg 9, O - 8360 Sebnitz, DE				
(74)	siehe (71)				
(54)	Verfahren zur Herstellung eines Testmittels zur quantitativen Bestimmung von Stoffwechselprodukten				

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines Testmittels zur quantitativen Bestimmung von Stoffwechselprodukten. Dieses Testmittel ist anwendbar in der klinischen Diagnostik. Die Aufgabe besteht darin, einen Test in Verbindung mit einer einfach beschichteten Filmfolie zu entwickeln, der einen Vergleich zwischen Probe und Standard ermöglicht und für alle Körperflüssigkeiten anwendbar ist. Die Erfindung ist gekennzeichnet durch ein Hilfsmittel mit präparierten Zonen für die Probenaufnahme und für Standardvergleiche in voneinander getrennter Anordnung, das mit einer einfach beschichteten Filmfolie sowie weiteren Folienschichten als Testpaket verbunden ist. Fig. 1



Patentansprüche:

1. Verfahren zur Herstellung eines Testmittels zur quantitativen Bestimmung von Stoffwechselprodukten, bestehend aus einem zum Testpaket verbundenen flächenförmigen, saugfähigen Hilfsmittel mit Filmfolie und Schutzfolie dazwischen, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Hilfsmittel (10) mit nicht flüchtigen, mit Wasser leicht mischbaren Lösungsmitteln sowie mit Salzen imprägniert wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß ein Lösungsmittel zwei- oder dreiwertige Alkohole und Alkylamine, insbesondere Ethylenglykol, Glycerin und Triethanolamin eingesetzt werden.
3. Verfahren nach den Ansprüchen 1 und 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß auf dem Hilfsmittel (10) eine Lösungsmittelkonzentration von 5 bis 60%, bevorzugt 10 bis 25%, eingestellt wird.
4. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß hygroskopische Salze oder solche mit hohem Kristallwassergehalt eingesetzt werden.
5. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Hilfsmittel (10) auf einen pH-Wert eingestellt wird, der um 1 bis 6 pH-Einheiten von dem der Filmfolie (12) abweicht.

Hierzu 2 Seiten Zeichnungen

Verfahren zur Herstellung eines Testmittels zur quantitativen Bestimmung von Stoffwechselprodukten.

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines Testmittels zur quantitativen Bestimmung von Stoffwechselprodukten oder von pathologischen Bestandteilen in Körperflüssigkeiten oder von pathologischen Ausscheidungen. Das Testmittel soll vorwiegend in der klinischen Diagnostik angewandt werden.

Quantitative analytische Methoden mit fotometrischer Auswertung verwenden Standardlösungen als Bezugsgröße. Da diese Standardlösungen der Untersuchungsflüssigkeit des Probanden, wie Harn, Serum, Blut o. ä. nicht entsprechen, wird die Probe in entsprechender Weise vorbereitet, d. h. beispielsweise verdünnt, enteiweißt oder der Blutfarbstoff entfernt. Die gleiche Substratbestimmung erfordert daher bei ihrer Anwendung für verschiedene Körperflüssigkeiten eine entsprechende andere Arbeitsweise. Diese vorbereitenden Bearbeitungen der Proben beseitigen damit auch einen Teil der individuellen Schwankungen wie pH-Unterschiede, farbliche Abweichungen, Unterschiede im Eiweiß- oder Hämatokritgehalt, die sich sonst auf das Ergebnis hinsichtlich der Richtigkeit auswirken.

Störungen durch therapeutisch bedingte Inhaltsstoffe in den Körperflüssigkeiten werden dagegen meist nicht beseitigt und können das Ergebnis verfälschen.

Die notwendigen Vorbereitungen für die Analyse der Untersuchungsproben sind zeit- und geräteaufwendig, da sie der Prüfmethode und dem Standard anzupassen sind. Die Bestimmungen selbst verlangen darüber hinaus eine präzise Einhaltung der Reaktionszeit und Temperatur sowie der Meßbedingungen. Unter diesen Umständen sind sie am Krankenbett, in der Ambulanz oder von den Patienten selbst nicht oder nur begrenzt anwendbar.

Die von der Praxis geforderte Entwicklung einfacher Bestimmungsmethoden mit gleichwertiger Präzision und Richtigkeit, die selbst von Laien anwendbar sind, wird daher intensiv betrieben.

Dazu gehören die von D. Kutter in „Schnelltests in der klinischen Diagnostik“, Verlag Urban & Schwarzenberg München-Berlin-Wien, 1976, Seiten 40 bis 46 beschriebenen Teststreifenmethoden, die durch 2-Punktjustierung, Kontrollösungen und die Verwendung spezieller Meßgeräte mit oder ohne spezieller Wechselskala für Blut oder Serum angenähert quantitative Ergebnisse erreichen, ohne den störenden Einfluß des Hämatokrit (ebenda Seiten 42 und 46) und den Einfluß von Therapeutika erfassen zu können. Die Probleme der Qualitätskontrolle dieser Schnellteste erfordern die Kontrolle mit Vollblut, das mit einer Referenzmethode bestimmt wurde (ebenda Seiten 234 bis 235). Eine universelle Anwendung dieser Teststreifen an so verschiedenen Körperflüssigkeiten wie Harn und Blut ist nicht möglich, da Harn mit seiner stark wechselnden chemischen Zusammensetzung, dem wechselnden Gehalt an Inhibitoren, Aktivatoren, pH-Schwankungen von Probe zu Probe (ebenda Seiten 3 bis 5) eine exakte Bewertung nicht zuläßt.

Die Präzision und Richtigkeit dieser Tests wird zusätzlich durch die begrenzte Haltbarkeit der Reagenzien, durch Lager- und Transporteinflüsse beeinträchtigt, was sich ebenfalls auf die Präzision und Richtigkeit auswirkt (ebenda Seite 6). Mit der Entwicklung von integralen, mehrschichtigen analytischen Elementen, wie sie in der DE-AS 2332 760 und den DE-OS 25 12 586, 25 32 918, 27 17 817 beschrieben sind, werden quantitative Ergebnisse durch einen komplizierten Diffusionsverlauf innerhalb der verschiedenen Schichten dieser Elemente erhalten und die Vorbereitungsarbeiten an der Probe vermindert. Die Präzision der Ergebnisse hängt aber auch hier ab von einer genauen Probendosierung, wie sie in der DE-AS 26 38 743 beschrieben ist, und natürlich von der genauen Einhaltung der vorgeschriebenen Reaktionszeiten und Temperaturen sowie der Benutzung spezieller und nur für diese Testsysteme anwendbarer Meßtechnik. Diese verhältnismäßig aufwendige Meßtechnik, Meßtemperaturen von 37°C und Reaktionszeiten von bis zu 10 Minuten lassen den Einsatz dieses Systems durch den Patienten selbst, durch den Arzt am Krankenbett oder Fachpersonal in der Ambulanz nicht zu. Das gilt auch für die mehrschichtigen analytischen Elemente entsprechend DE-OS 29 32 973, deren Universalität durch die Anwendungsmöglichkeiten für Serum und Blut verbessert wurde unter Erhöhung des komplizierten Aufbaus. Diese mehrschichtigen Elemente verwenden Filmfolien als Trägermaterial, die mit verschiedenen Medien mehrfach beschichtet sind, um die bekannten nachteiligen Eigenschaften natürlicher und synthetischer Fasern, den sogenannten „Bandingeffekt“, die ihre Verwendung für quantitative Bestimmungen entsprechend den Ausführungen in den DE-OS 25 32 918 einschränken, zu umgehen.

Es ist die Aufgabe der Erfindung, ein Testmittel zu entwickeln, mit dessen Hilfe auch einfach beschichtete Folien, die alle Reagentien in einer Schicht enthalten, quantitativ auswertbar und eichbar werden, um so Probandenunterschiede, Temperatur- und Lagereinflüsse, Unterschiede des Untersuchungsmaterials zu erfassen und eine hohe Präzision und Richtigkeit zu erreichen.

Es ist weiterhin die Aufgabe der Erfindung, ein Testmittel zu entwickeln, das eine sofortige oder zeitverschobene Reaktionsdurchführung gestattet, gleichzeitig die Funktion einer Auftragsschablone erfüllt, sowohl von Laien wie von Fachpersonal am Krankenbett, in der Ambulanz oder im Labor genutzt werden kann und sich automatisieren läßt. Es ist weiter die Aufgabe der Erfindung, Verfahren zur Herstellung und Imprägnierung eines geeigneten Testmittels zu finden, das eine gleichmäßige Substratverteilung auf dem Träger, eine sofortige Verfügbarkeit des Substrats auf dem Träger bzw. dem Testmittel nach der Probenaufgabe, eine ausreichende Haltbarkeit und eine gute Mischbarkeit der Probe und des Standards garantiert. Das im Testmittel als Trägermaterial aus natürlichen oder synthetischen Fasern angeordnete Hilfsmittel ist so angeordnet, daß es von der gleichen Probe ein, zwei oder mehr Prüfungen gleichzeitig, sofort oder zeitverschoben zuläßt und so ausgebildet ist, daß es gleichzeitig als Auftragsschablone für die Anwendung von Einschichtfilmfolien dient. Da diese Trägermaterialien mit Substraten den sogenannten „Bandingeffekt“ zeigen und mit Einschichtfilmfolien keine einheitliche Färbung, sondern durch Diffusions- und Bindungseffekte wolkige uneinheitliche Farbreaktionen ergeben, wird das Trägermaterial des Hilfsmittels lösungsmittelfeucht so präpariert, daß in dem Träger eine gleichmäßige Substratverteilung erreicht wird, eine genaue Einstellung der Substratkonzentration gelingt, diese nicht oder nur teilweise vom Trägermaterial gebunden sind und nach Zugabe der Probe eine sofortige Verfügbarkeit in gleichmäßiger Verteilung eintritt, auch wenn die Probe an einem Punkt aufgegeben wird.

Die Trägermaterialien werden durch weitere Zusätze stabilisiert und optimiert, so daß der Reaktionsablauf in der Einschichtfilmfolie verbessert wird.

Das Hilfsmittel ist so gestaltet, daß es bei der Anwendung einen Leerwert der Einschichtfilmfolie neben der Probe liefert und zusätzlich einen oder mehrere Standardwerte mit der Probe geben kann und diese bei der Anwendung durch ihre Gleichartigkeit und Gleichzeitigkeit sowohl Temperatur- wie Zeiteinflüsse, Lager- und Alterungseinflüsse wie auch Probandenunterschiede eliminiert.

Das Hilfsmittel erhält die Form eines Streifens oder Bandes, auf dem eine Probe und/oder eine oder mehrere Standardzonen angeordnet sind. Das Hilfsmittel kann unterschiedlich breit von 4 bis 20 mm, vorzugsweise 5 bis 10 mm gefertigt sein. Die Zoneneinteilung läßt sich in weiten Grenzen variieren, so können die verschiedenen Reaktionszonen, 5 bis 20 mm, vorzugsweise 7 bis 12 mm lang sein, die Sperrzonen dazwischen 5 bis 30 mm, vorzugsweise 10 bis 20 mm. In der weiteren Ausgestaltung wird das Hilfsmittel mit einer Schutzfolie versehen, die das Hilfsmittel von einem Einschichtfilm trennt und die Probenaufgabe von der Reaktion trennt, aber die Gleichzeitigkeit der Reaktion nach Abtrennung der Schutzfolie gewährleistet. Sie kann durch eine weitere Schutzfolie zum Schutz vor Infektionen, ein Saugdeckblatt und/oder eine Reflexionsfolie erweitert werden. Das ganze System dient gleichzeitig als Auftragschablone. Anstelle der Ausführung in Streifenform kann auch eine laufende Bandform verwendet werden, die zur Bestimmung in Automaten einsetzbar ist.

Die Ausführung ist beliebig variabel. Wird ein Verband aus 6 Schichten gewählt, bestehend aus Einschichtfilmfolie A, unterer Schutzfolie B, Hilfsmittel C, oberer Schutzfolie D, Saugdeckblatt E und Reflexionsfolie F, so ergibt sich folgender Arbeitsablauf: Die Schichten D, E und F werden gemeinsam aufgeklappt und auf die offen liegenden ein, zwei oder mehr Reaktionszonen des Hilfsmittels C je 50 µl der zu untersuchenden Probe aufpipettiert. Die aufgeklappten Schichten D, E und F werden wieder auf die Schicht C gelegt.

Solange die untere Schutzfolie B nicht durch Abreißen entfernt wird, kommt es zu keiner Reaktion. Die Proben liegen geschützt im Verband vor und sind beliebig prüfbar. Zur Prüfung wird die untere Schutzfolie B herausgerissen und die probenhaltige Schicht C zusammen mit den Schichten D, E und F mit der Einschichtfilmfolie in Verbindung gebracht.

Die damit beginnende Reaktion kann beliebig beendet werden, indem man die obere Schutzfolie D entfernt und das Saugdeckblatt E auf die Schichten A und C drückt. Damit wird die Reaktion zwischen der Schicht A und C beendet, die Schicht A wird abgelöst und die Reaktion im Durchlicht vergleichsweise gemessen oder die Schichten C und E werden entfernt und die Reaktion auf der Schicht A vor der Schicht F durch Reflexion gemessen.

Die Schutzfolien werden in sinnvoller Weise aus dünnen Alufolien gebildet, ebenso sind Kunststoffolien oder andere undurchlässige, leicht abreißbare Schichten einsetzbar. Als Saugdeckblatt kommen Filterpapiere o. ä. zur Verwendung. Die Reflexionsschicht wird aus einer geeigneten weißen Folie oder einem entsprechend beschichteten Material gewählt. Die Zahl der Zonen auf dem Hilfsmittel richtet sich nach dem Reaktionsverlauf. Ist dieser linear, so genügt eine Probe und eventuell eine Standardzone. Ist der Verlauf exponentiell, so können zwei oder mehr Standardzonen erforderlich sein.

Wie bereits ausgeführt, ist das Hilfsmittel so gestaltet, daß sowohl die Probe wie auch die Standards durch die Anbringung der Schutzfolie unter genau gleichen Bedingungen ablaufen, wodurch Zeit- und Temperatureinflüsse automatisch aus der Berechnung herausfallen und eine davon unabhängige Messung erreicht wird.

Das Hilfsmittel, für das Papier oder Gewebe aus natürlichen oder synthetischen Fasern verwendet werden kann, wird erfindungsgemäß mit Lösungsmitteln präpariert, die nicht flüchtig sind, sehr leicht mit Wasser mischbar sind und so einen beständigen Lösungsmittelgehalt von 5 bis 60%, vorzugsweise 10 bis 25% gewährleisten. Diese bleibende Lösungsmittelpräparation führt bei der verfahrensgemäßen Anwendung des Hilfsmittels in Verbindung mit einfach beschichteten Filmfolien überraschend zu einer gleichmäßigen Farbreaktion ohne Wolkenbildung bei gleichzeitiger Verminderung des „Bandingeffektes“. Die erfindungsgemäße Lösungsmittelpräparation führt dazu, daß Substratzusätze im Hilfsmittel ebenso wie die originären Substratmengen in einer sofort verfügbaren miteinander mischbaren Form vorliegen und zur Reaktion kommen. Als Mittel einer verfahrensgemäßen Präparation haben sich zwei- und dreiwertige Alkohole und Alkylamine als geeignet erwiesen. Bevorzugt werden beispielsweise Ethylenglykol, Glycerin oder Triethanolamin. Eine vorteilhafte Form der erfindungsgemäßen Präparation ist ihre Ergänzung mit Salzen, die einen hohen Kristallwassergehalt aufweisen und dadurch die schnelle und gleichmäßige Verteilung der Flüssigkeitsprobe mit und ohne Standardsubstrat verbessern und den Reaktionsablauf begünstigen. Mit ihrer Hilfe wird die Diffusion gleichmäßiger und eine zusätzliche Verbesserung der Präzision und Richtigkeit dadurch erreicht, daß je nach Präparation eine differenzierbare Reaktion eintritt. So läßt sich ein Hilfsmittel zur Glucosebestimmung mit einem Extinktionszuwachs von 0,05 bis 0,1 für 100 mg Glucose in 100 ml durch die Präparation mit Alkylaminen oder in einer Lösung mit einem 3wertigen Alkohol unter Zusatz von beispielsweise Kaliumkarbonat einstellen und es wird so ein Meßbereich ohne Verdünnung der Probe von 0 bis 4000 mg/100 ml erreicht. Wird dagegen das Hilfsmittel in Verbindung mit den genannten Lösungsmitteln unter Zusatz von beispielsweise Magnesiumchlorid verwendet, so erhält man ein Hilfsmittel, das einen Extinktionszuwachs von 0,3 bis 0,6 für 100 mg Glukose in 100 ml aufweist und damit einen Meßbereich bis zu 300 mg Glukose in 100 ml besitzt. Das bedeutet, daß das Hilfsmittel den Erfordernissen

entsprechend in Verbindung mit dem gleichen Einschichtfilm speziell für die hypo- und normo-glykämische Bestimmung oder die normo- bis hyperglykämische Bestimmung eingestellt sein kann bzw. in universeller Ausführung entsprechend präparierte Zonen auf dem gleichen Hilfsmittel vorhanden sind. Das führt bei der erfindungsgemäßen Ausführung und Anwendung zu einer differenzierbaren Meßmethode, was besonders hinsichtlich der visuellen Bewertung durch Laien einen großen Fortschritt darstellt.

Daß eine in bekannter Weise einfach beschichtete Filmfolie, die nur ein Chromogen für die Farbreaktion enthält, bereits in dieser Weise die Bestimmung eines Substrates so differenzierbar macht, war nicht zu erwarten, wie auch nicht voraussehbar war, daß in beiden Fällen der an sich exponentielle Verlauf der Farbreaktion auf dem einfach beschichteten Film durch ein derart pH-differenziert präpariertes Hilfsmittel linearisiert wird. Erfindungsgemäß werden die einfach beschichteten Filmfolien und das Hilfsmittel um 1 bis 6 pH-Einheiten unterschiedlich eingestellt. Die Quellung und der Reaktionsverlauf kann außerdem durch den Zusatz von Netzmitteln noch weiter verbessert werden, ebenso kann der Zusatz von blutstabilisierenden oder eiweißfällenden Mitteln erfolgen. Es ist zweckmäßig, dem Hilfsmittel, d. h. der Imprägnierungslösung ein Konservierungsmittel zuzusetzen. Das erfindungsgemäße Hilfsmittel kann außerdem das Chromogen selbst enthalten, so daß dieses mit der Probe in die Einschicht-Filmfolie diffundiert, wie es auch möglich ist, das Hilfsmittel mit geeigneten Farbstoffkupplern zu versehen, um den sich bildenden Farbstoff zu stabilisieren.

Durch die erfindungsgemäßen Lösungen ist es möglich, die komplizierte Technologie der mehrfachen Beschichtung und ihre Aufsplitterung der Reaktionsschritte ohne Einschränkung der Präzision und bei gleichzeitiger Verbesserung der Richtigkeit zu vereinfachen, und die Meßmethode und die Universalität zu verbessern.

Die erfindungsgemäße Lösung stellt deshalb sowohl ein ökonomisch günstiges Herstellungsverfahren wie auch Anwendungsverfahren dar, weil bereits vorhandene einfache Herstellungstechnologien ebenso wie die in den Laboratorien vorhandenen Meßeinrichtungen genutzt werden können. Ebenso ist eine Adaption an vorhandene Streifengeräte möglich und die Verwendung an Automaten.

Die Erfindung soll in mehreren Ausführungsbeispielen näher erläutert werden.
In der dazugehörigen Zeichnung zeigen

- Fig. 1: Anordnung eines Hilfsmittels in einem Testpaket, im Querschnitt gesehen,
Fig. 2: ein Hilfsmittel mit Probe- und Standardzone,
Fig. 3: ein Hilfsmittel mit jeweils zwei Probe- und Standardzonen,
Fig. 4: ein Hilfsmittel mit einer Probe- und zwei Standardzonen,
Fig. 5: ein Hilfsmittel mit einer Probezone.

Die Figuren 2 bis 5 zeigen das Hilfsmittel in Draufsicht ohne Zusatzabdeckungen.

Figur 1 zeigt ein erfindungsgemäßes Hilfsmittel zur Bestimmung von Stoffwechselprodukten in einer vorteilhaften Ausgestaltung als Testpaket.

Figur 1 zeigt eine Einschichtfilmfolie (A) 12, auf der eine untere Schutzfolie (B) 11 liegt, gefolgt von dem Hilfsmittel (C) 10 und der oberen Schutzfolie (D) 9. Daran schließen sich ein Saugdeckblatt (E) 8 sowie eine Reflexionsfolie (F) 7. Die einzelnen Schichten sind an der rechten Schmalseite miteinander in geeigneter Weise verbunden.

Um eine gute Handhabbarkeit und auch einen sicheren Nachweis zu gewährleisten, sind auf der linken Schmalseite die einzelnen Schichten verschieden lang gehalten.

Die nachfolgenden Beispiele 1 bis 4, dargestellt in der Figur 2, sowie Beispiel 5, dargestellt in der Figur 3, erläutern die Zusammensetzung von verfahrensgemäß geeigneten Imprägnierungslösungen zur Herstellung von Hilfsmitteln zur Glukosebestimmung. Für die Hilfsmittel wird beispielsweise ein Filterpapier mit einem Gewicht von 140 g/m² benutzt, das auf 70 mm² 40 µl der Probe aufnehmen kann. In gleicher Weise lassen sich Filterpapiere mit niedrigerem oder höherem Flächengewicht verwenden und, wie oben bereits ausgeführt, anders dimensionieren. Das gilt in gleicher Weise auch für den Einsatz anderer Trägermaterialien, beispielsweise aus Glasfaser oder Kunstfasergewebe oder Vlies. Das Hilfsmittel wird zuerst mit an sich bekannten Hydrophobierungsmitteln so präpariert, daß die vorgesehene Anzahl von Flächen durch Sperrzonen 5 abgegrenzt wird und danach mit den Imprägnierungslösungen gleichzeitig oder nacheinander die Zwischenräume in Form der Probezonen 1 bzw. 2 und der Standardzonen 3 bzw. 4 präpariert werden.

Eine unbehandelte Zone 6 am Rand schließt sich an.

Beispiel 1

	Probezone I	Standardzone I
Glycerin	20 ml Glycerin	20 ml
Pufferlösung pH 5,00,2 molar	Pufferlösung pH 5,00,2 molar	
Glukose	80 ml 5,00,2 molar	80 ml
	50 mg Glukose	100 mg

Beispiel 2

Propylenglykol	10 ml Propylenglykol	10 ml
Triethanolamin	3 ml Triethanolamin	3 ml
Glukose	- Glukose	100 mg
Aq. dest.	87 ml Aq. dest.	87 ml

Beispiel 3

Ethylenglykol	10 ml Ethylenglykol	10 ml
Magnesiumchlorid	10 g Magnesiumchlorid	10 g
Aq. dest.	90 ml Aq. dest.	90 ml
Glukose	- Glukose	50 mg

Beispiel 4 (in Verbindung mit einer Farbvergleichstafel)

Glycerin	10 ml Glycerin	10 ml
Kaliumkarbonat	0,01 Mol Magnesiumchlorid	0,1 Mol
Aq. dest.	90 ml Aq. dest.	90 ml

Beispiel 5

Wie Beispiel 4, aber zusätzlich mit zwei weiteren Zonen, Probezone II wie Probezone I, aber mit 50 mg Glukose Standardzone II wie Standardzone I, aber mit 100 mg Glukose.

Die nach diesen Beispielen verfahrensgemäß präparierten Hilfsmittel dienen in Verbindung mit einer Einschlitt-Filmfolie, bei der als Träger bekannte durchsichtige oder auch weiße Filmträgerfolie mit einer 5 bis 15%igen Gelatinelösung, die 50 000 bis 250 000 E GOD, 20 000 bis 100 000 E POD im Liter enthält und in der 1 bis 10% eines geeigneten Chromogens gelöst ist, zur Glukosebestimmung in allen Körperflüssigkeiten. Diese Beschichtungsflüssigkeit, die zusätzlich in bekannter Menge Weichmacher, Netzmittel, Farbstoffkupppler und Härtemittel für die Gelatine enthalten kann, wird mit einer Schichtdicke von 8 bis 30 μ auf den Filmträger aufgetragen und getrocknet. Die Beschichtungslösung wird auf den für diese Enzymreaktion üblichen und optimalen pH-Bereich von pH 5 bis 6 eingestellt, so daß zum Hilfsmittel eine pH-Differenz von mindestens 1 bis maximal 6 vorliegt. Das verfahrensgemäße Hilfsmittel führt außerdem zu farbbeständigen Färbungen, die als Belegmaterial dienen können und auch eine spätere Bewertung z. B. nach Übersendung an eine Prüfeinrichtung ermöglichen. Das Hilfsmittel kann in vorteilhafter Weise auch nur der Probeaufnahme dienen, die nach dem Eintrocknen durch die Aufgabe von destilliertem Wasser oder physiologischer NaCl-Lösung reaktiviert und dann zur Reaktion gebracht wird.

Entsprechend dem Beispiel 1 kann es vorteilhaft sein, sowohl die Probe- wie auch die Standardzone mit unterschiedlichen Glukosemengen zu präparieren, um Abhängigkeiten der Reaktionsgeschwindigkeiten der Enzymreaktion von der Substratkonzentration auszugleichen.

Ein Hilfsmittel zur Bestimmung von Harnsäure gemäß Figur 4 wird durch folgende Präparierung erhalten, ohne daß alle Variationen, wie oben am Beispiel des Hilfsmittels zur Glukosebestimmung, aufgeführt sind, da sie sich für einen Fachmann sinngemäß ergeben.

Beispiel 6

	Probezone	Standardzone 1	Standardzone 2
Glycerin	10 ml	10 ml	10 ml
Borat Puffer pH 10			
0,5 mol	90 ml	90 ml	90 ml
Netzmittel	0,5 g	0,5 g	0,5 g
Harnsäure	-	2 mg	4 mg

Das so präparierte Hilfsmittel wird in Verbindung mit einem Filmträger aus durchsichtiger oder weißer Folie verwendet, die mit einer 8 bis 15%igen Gelatinelösung mit 5000 bis 10000 Einheiten POD, 200 bis 1000 Einheiten Uricase im Liter beschichtet ist sowie einem Gehalt von 1 bis 5% Chromogen und eventuell weiteren Zusätzen, wie sie oben bereits genannt sind, aufweisen. Die Gelatinelösung wird mit 0,1 mol Na_2CO_3 -Lösung auf pH 8,0 eingestellt.

so wie in diesen Beispielen beschrieben, ist im Prinzip erfindungsgemäß auch die Präparation geeigneter Hilfsmittel für die Harnstoffbestimmung, die Cholesterinbestimmung und die Triglyceridbestimmung möglich.

Weitere vorteilhafte Anwendungen des erfindungsgemäßen Hilfsmittels ergeben sich beispielsweise durch folgende Präparation gemäß Figur 5, um Hämoglobin bzw. Leukozyten in Körperflüssigkeiten oder Ausscheidungen zu bestimmen:

Beispiel 7

Ethylenglykol	30 ml
Natriumzitat	0,1 Mol
Glukose	10 g
Netzmittel	1 g
dest. Wasser	70 ml

Das Hilfsmittel wird mit dieser Lösung so präpariert und verarbeitet, daß es bei der Anwendung 0,1 ml Flüssigkeit aufnimmt und auf einer Fläche von 250 mm² gleichmäßig verteilt auf eine Filmfolie überträgt, die in entsprechender Weise mit einer Gelatine beschichtet ist, die 100 000 bis 500 000 Einheiten GOD, ein geeignetes Chromogen und weitere Zusätze wie oben ausgeführt, enthält und mit Salzsäure auf pH 5,0 eingestellt ist. Die Glukose dient hier nach ihrer Umsetzung mit der GOD, die sofort mit der Diffusion beginnt, als Lieferant des für den Nachweis von Hämoglobin bzw. der Leukozyten erforderlichen Wasserstoffperoxids.

Für die Anwendung des erfindungsgemäßen Hilfsmittels ist noch von Bedeutung, daß die Präzision der Ergebnisse nicht von einer ganz genauen Dosierung der Probe, wie sie sonst für quantitative Bestimmungen und die Anwendung von Standards erforderlich ist, abhängt. Es wurde festgestellt, daß Dosierungsunterschiede bis zu 10% ohne Einfluß sind, was für die Anwendung am Krankenbett oder für die Selbstkontrolle eine Verbesserung bedeutet.

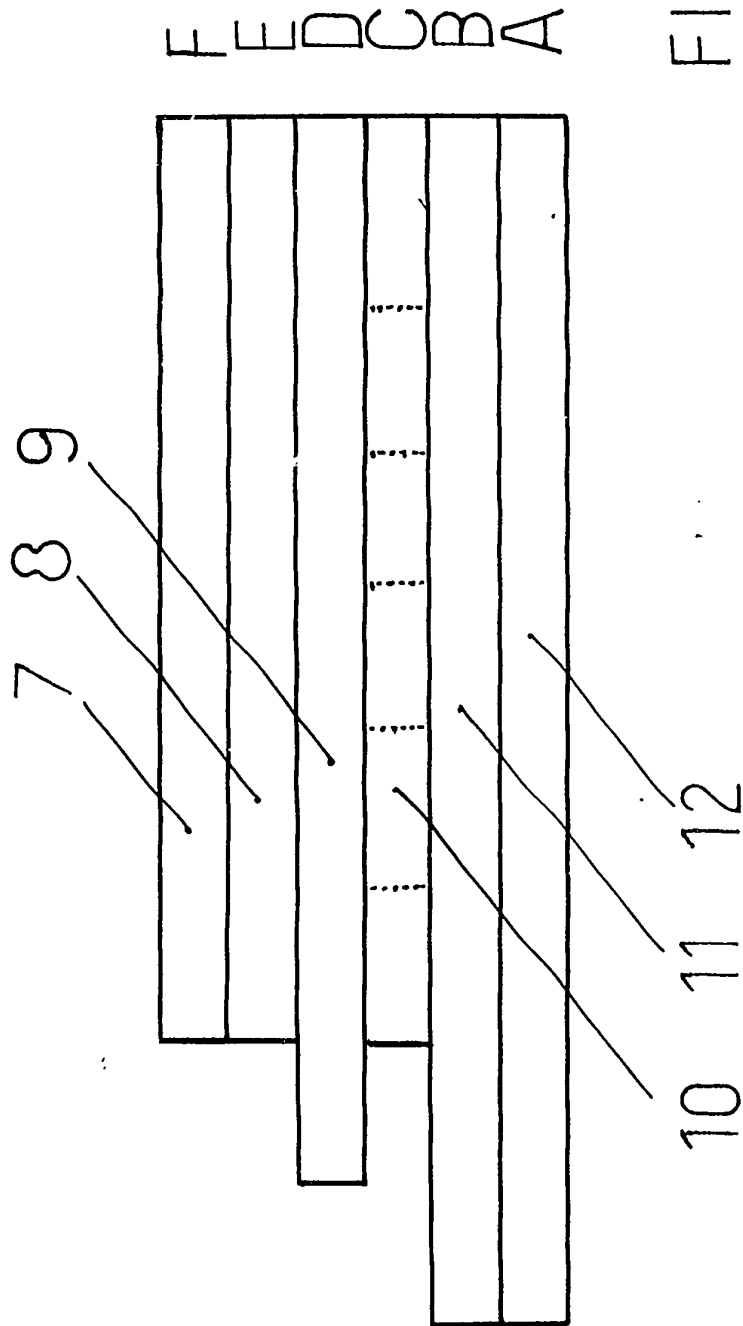


FIG. 1

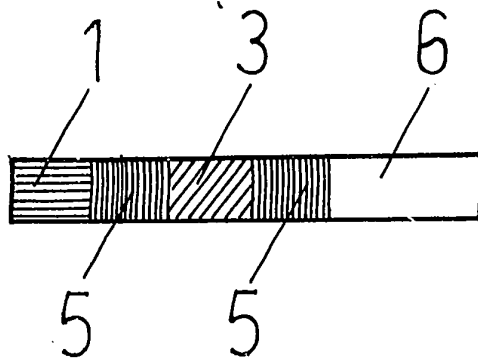


FIG. 2

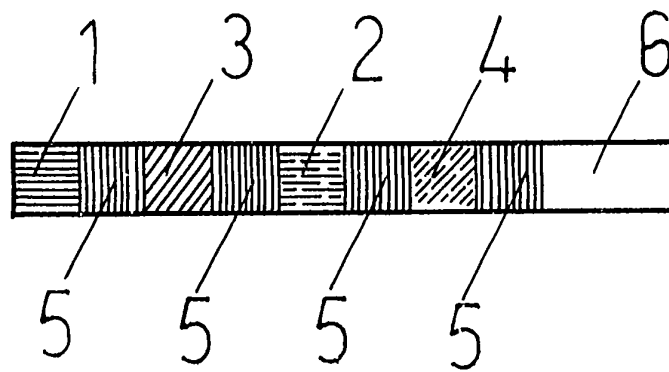


FIG. 3

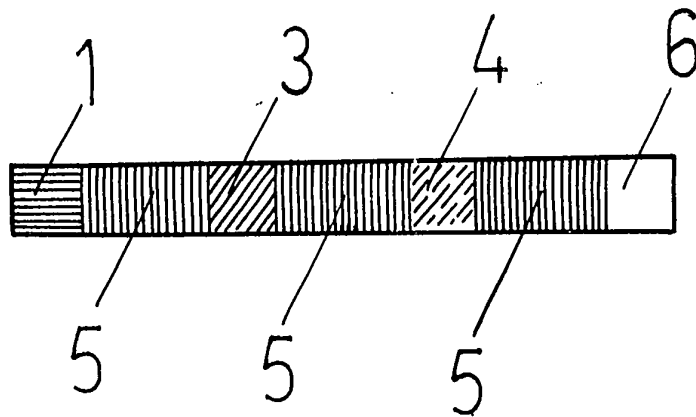


FIG. 4

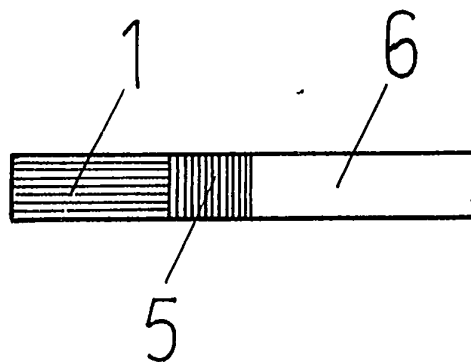


FIG. 5