

**POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA**



**URZĄD
PATENTOWY
PRL**

O P I S P A T E N T O W Y 101392

**Patent dodatkowy
do patentu _____**

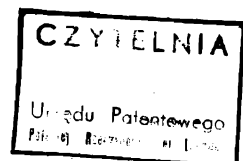
Zgłoszono: 11.11.75 (P. 184651)

Pierwszeństwo: 11.11.74 Wielka Brytania

Zgłoszenie ogłoszono: 11.09.76

Opis patentowy opublikowano: 31.03.1979

Int. Cl². G01N 33/16



Twórca wynalazku: _____

**Uprawniony z patentu: The Wellcome Foundation Limited,
Londyn (Wielka Brytania)**

Środek do wykrywania kwasu moczowego w płynach

Przedmiotem wynalazku jest środek do wykrywania kwasu moczowego w płynach, zwłaszcza do analiz za pomocą pasków wskaźników, który daje widoczną reakcję barwną, odwrotnie proporcjonalną do ilości wzajemnie oddziaływujących substancji.

Paski wskaźnikowe stosuje się obecnie powszechnie w bezpośrednich metodach kolorymetrycznych, w których intensywność zabarwienia jest proporcjonalna do stężenia oznaczonej substancji. Jednym z przykładów zastosowania paska wskaźnikowego jest ilościowe oznaczanie glikozy w cieczach, w których stosuje się pasek sporządzony z materiału chłonnego, impregnowanego mieszaniną analityczną, zawierającą jako wskaźnik o-toluidynę.

Jeśli badana próbka zawiera glikozę, to powstaje zabarwienie niebieskie, a jego intensywność jest proporcjonalna do ilości glikozy. W celu ilościowego, wizualnego określenia stężenia glikozy, intensywność uzyskanej barwy należy porównać z wzorcowym zestawem barw.

Stosowane obecnie sposoby oznaczania stężenia kwasu moczowego w płynach ustrojowych takich jak surowica i mocz, nie obejmują metod typu paska wskaźnikowego lecz opierają się na reakcji kwasu moczowego z kwasem fosforowolframowym w roztworze alkalicznym, dającej niebieskie zabarwienie lub chromofor. Natężenie uzyskanej barwy niebieskiej jest proporcjonalne do stężenia kwasu moczowego w cieczy. Poważną wadą tej metody stanowi konieczność wytrącania wszystkich białek obecnych w surowicy i usuwania ich za pomocą długotrwałego sączenia lub wirowania, przed dodaniem reagentów, aby zapobiec tworzeniu chromoforów z białkami, oraz zmętnieniu w wyniku oddziaływania białek z użytymi reagentami. Takie wstępne operacje pochłaniają wiele czasu, a ponadto metoda ta nie wykazuje specyficzności, ponieważ inne substancje redukujące zakłócają analizę, wchodząc w reakcję z niektórymi reagentami.

Inne metody opierają się na użyciu enzymu urikazy, który przekształca kwas moczowy w alantoinę i nadtlenek wodoru. Na przykład, w jednej z tych metod, próbkę płynu zawierającego kwas moczowy, poddaje się działaniu enzymu przy wartości pH w zakresie 8,5–9. Następnie nadtlenek wodoru poddaje się reakcji ze

związkiem chromogennym w obecności enzymu peroksydazy, przy pH o wartości 5, uzyskując utleniony związek chromogeny o innym zabarwieniu. Intensywność uzyskanego zabarwienia zmienia się proporcjonalnie do stężenia kwasu moczowego i zwykle porównuje się ją z wzorcowym zestawem barw. Wadą tej ostatniej metody jest to, że stosuje się ona do ogólnych zasad kolorymetrii, w których zmiany barwy przy wysokich wartościach stężenia kwasu moczowego zmniejszają się i w związku z tym porównanie barw ludzkim okiem i dokładne oznaczenie ilości kwasu moczowego napotyka na wielkie trudności. Niedokładności w rozróżnianiu barw przez oko ludzkie powoduje niedokładność półilościowego oznaczania, przy czym błąd zwykle waha się w granicach 66–200%. Jakkolwiek przy niskich stężeniach ocena wzrokowa może być w miarę dokładna, przy stężeniach wyższych, występujących na przykład przy nieprawidłowościach zdarzających się często w układach biologicznych, rozpoznanie staje się coraz trudniejsze i praktycznie jest ono niemożliwe.

Obecnie stwierdzono, że bardziej dokładny środek do przeprowadzania oznaczeń otrzymuje się przez naniesienie na stały, obojętny nośnik ustalonej wstępnie ilości barwnego wskaźnika, który reaguje z badaną substancją w taki sposób, że traci barwę wprost proporcjonalnie do ilości badanej substancji. Ponieważ punkтови końcowemu odpowiada brak zabarwienia, można bardzo dokładnie określić, czy ilość badanej substancji jest wyższa czy też niższa od ważnej lub oznaczanej wartości granicznej. Oznaczanie ciągłe można zastąpić dokładnym pomiarem „krytycznego” punktu końcowego, przy czym można stosować środek w postaci szeregu pasków wskaźnikowych umożliwiających przeprowadzenie oznaczeń w zbliżonych zakresach.

Przedmiotem wynalazku jest środek do wykrywania kwasu moczowego w płynach, znajdującego się w ilości wyższej lub niższej od określonej wartości, w środowisku alkalicznym, który zawiera mieszaninę ustalonej wstępnie ilości substancji stanowiącej źródło jodu, wskaźnika jodu oraz rozpuszczalnika jodu osadzoną na stałym, obojętnym nośniku. Ilość substancji będącej źródłem jodu oraz wskaźnika jodu jest tak dobrana, że po reakcji z badanym płynem o objętości wystarczającej do nasycenia nośnika, następuje całkowite odbarwienie wskaźnika, przy stężeniu kwasu moczowego równym lub wyższym od określanej wartości. Przy stężeniu kwasu moczowego niższym od określonej wartości obserwuje się zabarwienie szczątkowe.

W kolorymetrii jako wskaźniki stosuje się zwykle związki chemiczne, zdolne do absorpcji światła, korzystnie przy określonej długości fali, to znaczy w zakresie światła widzialnego, w wyniku czego charakteryzują się one barwą. Zdolność ta wynika z budowy związku. Barwne mogą być na przykład związki organiczne posiadające grupy chromoforowe, to znaczy grupy nienasycone, takie jak grupa o wzorze $-N=N-$, $=C=S$, $-N=O$, $-N=(N-O)$, $-N(O)=O$, $-CH=N-$, $=C=O$, $>C=C<$ i $-N=N-NH-$. Chromoforem jest także aromatyczny pierścień układu chinoidowego. Obecność którejkolwiek z czterech pierwszych grup lub pierścienia chinoidowego warunkuje barwę substancji, nadając jej zwykle barwę żółtą. Substancje posiadające w cząsteczce grupę ketonową wymagają jednak dwóch takich grup znajdujących się blisko siebie, zaś podwójne wiązanie $C=C$ musi być przynajmniej sześciokrotnie sprzężone, aby zapewnić absorpcję w zakresie światła widzialnego.

Właściwości barwnego związku można wzmacniać lub zmieniać przez wprowadzenie innych grup nie będących chromoforami, takich jak grupy o wzorach OH , NH_2 , NHR lub NR_2 , w których R oznacza grupę alkielową. Oddziaływania barwnego związku z jego otoczeniem, na przykład agregacja cząstek, adsorpcja na ciele stałym i rozpuszczanie w różnych rozpuszczalnikach może znacznie zmieniać barwę związku. Na barwę związku mają także wpływ zależności przestrzenne, powodujące, że jedna postać związku jest barwna, zaś inna bezbarwna.

Poza związkami organicznymi, barwnymi są także związki nieorganiczne, na przykład związki metali, zwłaszcza metali przejściowych i pewnych niemetałów takich jak chlorowce. Metale posiadające niezapełnioną powłokę elektronową 3d dają w roztworach barwne jony.

Pewne cząsteczki nieorganiczne, na przykład jodu, charakteryzują się nieznacznym zabarwieniem, ale po skompleksowaniu z innymi barwnymi związkami, ich barwa zmienia się lub pogłębia. Jod w postaci złożonego jonu trójjodkowego można adsorbować na koloidalnych makrocząsteczkach skrobi uzyskując dobrze znane, ciemnoniebieskie zabarwienie. Dodanie jonu metalu do pewnych bezbarwnych związków może także wywołać zabarwienie.

Środek według wynalazku jako barwny wskaźnik zawiera substancję stanowiącą źródło jodu oraz wskaźnik jodu. Jako źródło jodu, środek może zawierać roztwór samego jodu lub jego kompleks trwały w czasie przechowywania, lecz uwalniający jod w warunkach przeprowadzania oznaczenia. Jeśli jednakże, stosuje się sam jod, to jego roztwór należy przygotować bezpośrednio przed przeprowadzeniem oznaczenia, ponieważ jod jest lotny i jego roztwory nie są trwałe. Korzystnie, środek zawiera kompleksowy preparat jodu, taki jak jodofor, w którym jod jest połączony, na przykład, z substancją powierzchniowo czynną. Ilość źródła jodu na nośniku zależy od oznaczanego punktu końcowego, to znaczy od poziomu kwasu moczowego przy którym znika zabarwienie.

Na przykład, jeśli środek stosuje się do oznaczania poziomu kwasu moczowego wyższego niż u zdrowych, dorosłych mężczyzn, to znaczy wyższego niż 7 mg/100 ml surowicy krwi, to roztwór substancji będącej źródłem jodu można korzystnie nanieść w takiej ilości, aby dawał 20,49 μg jodu/cm² nośnika, co odpowiada $8,066 \cdot 10^{-6}$ n (równoważnika) jodu na cm² nośnika, przy czym objętość mieszaniny diagnostycznej nasycającej nośnik wynosi $2,46 \cdot 10^{-2}$ ml/cm² nośnika. Do oznaczenia punktu końcowego dla stężenia 6 mg/100 ml wymaganego u zdrowych kobiet, stosuje się oczywiście inną ilość składników środka. W razie potrzeby, można również oznaczać wyższe stężenie, charakterystyczne dla ciężkich stanów chorobowych wywołanych wyższym poziomem kwasu moczowego. Stężenie substancji stanowiącej źródło jodu w środku wynosi $2,0 \cdot 10^{-3}$ n – $2,7 \cdot 10^{-3}$ n.

Łatwo dostępnym wskaźnikiem jodu jest rozpuszczalna skrobia, która tworzy kompleks z wolnym jodem, wydzielanym w warunkach oznaczania, dając niebieskie zabarwienie. Intensywność tej barwy zmniejsza się w środowisku alkalicznym po dodaniu kwasu moczowego. Jako wskaźnik jodu środek może zawierać składniki skrobi takie jak amyloza lub amylopektyna, a także deksytrynę, α -naftoflawon, poliwinylpirolidon, alkohol poliwinylowy, glikogen, sól sodową glikolanu skrobi lub inne wielocukry, które dają zadawalającą reakcję barwną z jodem. Ilość skrobi zwykle wynosi 0,5–2,5%, korzystnie 1% w stosunku wagowym co stanowi nadmiar w odniesieniu do całkowitej ilości jodu, wchodzącego w skład środka.

Środek według wynalazku powinien również zawierać rozpuszczalnik jodu, np. jodek potasu, który zwiększa rozpuszczalność substancji stanowiącej źródło jodu przez utworzenie jonów trójjodkowych, lepiej rozpuszczalnych niż jod cząsteczkowy. Ilością wystarczającą do tego celu jest około 9% wagowych jodku potasowego, obliczonego w stosunku do całkowitej ilości jodu. Odpowiednimi rozpuszczalnikami są także inne jodki lub substancje powierzchniowo czynne.

Środek zawiera zwykle 6–12% wagowych rozpuszczalnika jodu.

Stały nośnik, na którym osadza się mieszaninę diagnostyczną powinien być obojętny i nie powinien reagować w jakikolwiek sposób ze składnikami środka. Korzystnie, mieszanina przylega tylko do powierzchni nośnika bez penetracji lub jedynie z niewielkim przenikaniem w jego głąb. Korzystnym nośnikiem jest niskoporowaty sączek z włókna szklanego, taki jak typu CF/C (Whatman) o podstawowej wadze 55 g/m² i szybkości dyfuzji wody wynoszącej 3 cm pionowego przekroju sączka/minutę albo tkanina filtracyjna z włókien szklanych. Środek może zawierać inne obojętne nośniki, takie jak otrzymane z obojętnych włókien plastycznych lub im podobnych albo obojętną bibułę filtracyjną. Nośnik powinien być zdolny do adsorbowania w sieci włókien pewnej stałej objętości mieszaniny diagnostycznej.

Jako nośnik środek może ewentualnie zawierać gładką, nieadsorbującą błonę, jednakże zastosowanie tego typu nośnika posiada tę wadę, że trzeba mierzyć obojętność mieszaniny, aby była jednakowa i jednolita.

Nośnik może być osadzony na nieprzepuszczalnej warstwie podkładowej, na przykład z polichlorku winylu, w celu ochrony i zabezpieczenia przed zanieczyszczeniami odkładającymi się na nim lub przenikającymi do jego głębi.

Korzystnie stały, obojętny nośnik połączony z warstwą podkładową ma postać paska wskaźnikowego. Ilość mieszaniny diagnostycznej na jednostkę powierzchni nośnika zależy od określanego punktu końcowego, rodzaju badanego płynu i stałej objętości badanego płynu, który nasycza lub przylega do powierzchni paska.

W przypadku, gdy oznaczeniu poddaje się płyny zawierające zawiesinę cząsteczek na przykład krew, nośnik z naniesioną mieszaniną analityczną lub diagnostyczną można ochraniać i uzupełniać, na przykład co najmniej jedną półprzepuszczalną błoną składającą się z nitrocelulozy lub podobnych substancji. Taka błona przepuszcza klarowny roztwór lecz nie przepuszcza zawieszonych ciał stałych, takich jak komórki krwi, które bardzo utrudniają odczytanie wyniku. Taką filtrującą błonę można nakładać na przykład przez zanurzenie nośnika z naniesioną już mieszaniną diagnostyczną, korzystnie połączonego z warstwą podkładową w roztworze substancji tworzącej błonę w lotnym rozpuszczalniku organicznym i następnie suszyć.

Odpowiedni środek w postaci paska można stosować w celu ustalenia diagnozy skazy moczowej, której towarzyszy stężenie kwasu moczowego we krwi, wyższe niż 6 mg/100 ml dla kobiet lub 7 mg/100 ml dla mężczyzn. W środowisku alkalicznym, na przykład w obecności boraksu lub zasady kwas moczowy utlenia się do alantoiny. Proces utleniania można zaobserwować za pomocą trójjodku i wskaźnika skrobiowego. Utleniając kwas moczowy, jony trójjodkowe redukują się do jodku, czemu towarzyszy utrata barwy. Do diagnozowania skazy moczowej przygotowuje się środek w postaci pasków wskaźnikowych z naniesionym wskaźnikiem równoważnym stężeniu kwasu moczowego 6,5 mg/100 ml dla kobiet lub 7,5 mg/100 ml dla mężczyzn. Stwierdza się więc od razu czy poziom kwasu moczowego we krwi jest równy lub wyższy od określanych wartości, przy czym w celu dokładniejszego oznaczenia poziomu kwasu moczowego stosuje się serię pasków o stopniowo zmniejszającym się punkcie końcowym, odpowiednio powyżej 6,5 mg/100 ml lub 7,5 mg/100 ml.

Próbkę moczu lub krwi można przed przeprowadzeniem oznaczenia doprowadzić do wartości pH wyższej niż 9,0 korzystnie do 9,5. Poza tym, że można usunąć komórki, na przykład z krwi, jeśli zachodzi taka konieczność.

Środek można ewentualnie ulepszyć i uzupełnić przez wprowadzenie warstwy półprzepuszczalnej, zawierającej określoną ilość rozpuszczalnej substancji alkalicznej. Dzięki temu, kiedy badany płyn nanosi się na środek, jego pH jest doprowadzane do wartości alkalicznej podczas przepływu przez taką warstwę, przed zetknięciem z mieszaniną diagnostyczną. Odpowiednie do tego celu są węglany metali alkalicznych, takie jak węgiel sodowy, zwłaszcza w postaci rozdrobnionej. Zawiesina takiego związku w mieszaninie tworzącej błonę, daje preparat o stężeniu $1,88 \cdot 10^{-2}$ – $4,5 \cdot 10^{-2}$ mola, korzystnie o stężeniu $3,77 \cdot 10^{-2}$ mola węglanu metalu alkalicznego, co w stężeniu równoważnikowym równe jest odpowiednio wartościom $0,94 \cdot 10^{-2}$ – $2,25 \cdot 10^{-2}$ n, korzystnie $1,88 \cdot 10^{-2}$ n. Zawiesina ta jest korzystną drugą warstwą półprzepuszczalną, znajdującą się na wierzchu obojętnej, półprzepuszczalnej błony ochronnej.

Dla ułatwienia odczytywania określonego punktu końcowego, w którym wskaźnik staje się bezbarwny, można stosować wzorzec. Wzorzec ma skład podobny do środka, z tym, że nie zawiera wcale lub niewielką tylko ilość substancji będącej źródłem jodu i tym samym może wyraźnie pokazywać stopień bezbarwności nośnika i obecność oznaczanej substancji w określonym zakresie stężeń. Jeżeli intensywność barwy jest maskowana przez nadaną ciecz, użycie wzorca znosi ten efekt i można odczytać punkt końcowy. Wzorzec umieszcza się zwykle obok nośnika z mieszaniną diagnostyczną na warstwie podkładowej.

Jeżeli oznaczaną ciecz stanowi krew, odczytanie punktu końcowego może zakłócać obecność czerwonych krwinek. Można je usunąć i w to miejsce stosować osocze lub surowicę.

Ewentualnie czerwonych krwinek można skutecznie nie dopuszczać do powierzchni paska i usunąć je przez wprowadzenie błony półprzepuszczalnej, która nie tylko chroni środek, lecz działa również jako filtr. Oprócz tego, do krwi można przed użyciem dodawać środek zapobiegający krzepliwości, taki jak heparyna, która zabezpiecza czerwone krwinki przed wysychaniem i przylepianiem się do paska. Ewentualnie zewnętrzną warstwę półprzepuszczalną impregnuje się lub powleka środkiem przeciw krzepliwości.

Oznaczany płyn, na przykład krew nanosi się na każde pasmo środka i pozostawia w ciągu krótkiego okresu czasu, na przykład w ciągu 5 minut, następnie przemywa się bieżącą wodą i bada. Pasma porównawcze do określania punktu końcowego nie powinno posiadać żadnego zabarwienia, natomiast pasek służący do oznaczania może zachować określone zabarwienia wskazujące, że stężenie kwasu moczowego jest mniejsze niż odpowiednia dla punktu końcowego wartość.

Jeżeli barwa znika, oznacza to, że zawartość kwasu moczowego jest równa lub wyższa od wartości w punkcie końcowym, co może wskazywać, że pacjent jest chory i wymaga dalszego badania.

Sposób oznaczania najmniejszego lub największego poziomu kwasu moczowego w płynach polega na tym, że próbkę badanego płynu nanosi się na środek i obserwuje wystąpienie lub brak reakcji barwnej. Za pomocą środka można oznaczyć poziom kwasu moczowego przypadający pomiędzy dwoma wartościami.

W tym celu sporządza się zestaw testowy, składający się z szeregu pasków stanowiących środek według wynalazku, z których każdy zawiera różną ustaloną ilość wskaźnika. W wyniku uzyskuje się serię pasków, określających różne punkty końcowe przy których wskaźnik staje się bezbarwny. Zaletą środka według wynalazku jest to, że jest on prosty, tani i łatwy do wytwarzania. Ponadto jego stosowanie nie wymaga kosztownego oprzyrządowania i dlatego może być ogólnie dostępny. Wyniki odczytuje się łatwo wykorzystując zasadę odwrotnej kolorymetrii. Dzięki temu nie ma potrzeby porównywania barw z krzywą wzorcową i unika się niedokładności wizualnej oceny uzyskanej barwy. Wynik uzyskuje się bardzo szybko, co stanowi dodatkową korzyść w porównaniu ze znanymi sposobami, w których czas wykonania próby wynosi ponad godzinę.

Następujące przykłady ilustrują wynalazek nie ograniczając jego zakresu.

P r z y k ł a d I. Środek w postaci paska wskaźnikowego do wykrywania kwasu moczowego.

A. Przygotowanie odczynników analitycznych.

1. źródło jodu

Zawartość jodu w jodoforze Wescodyne (Registered Trade Mark) otrzymanym z Ciba Agrochemical, oznacza się na drodze miareczkowania za pomocą 1×10^{-2} normalnego roztworu tiosiarczanu sodowego. Jodofor rozcieńcza się wodą w celu uzyskania $2,5 \times 10^{-3}$ normalnego roztworu jodu. Po wytworzeniu związku kompleksowego ze skrobią i jodkiem potasowym takie stężenie jodu w równoważnej objętości odpowiada 7 mg kwasu moczowego/100 ml.

2. rozpuszczalnik jodu

Sporządza się 9% w stosunku wagowym roztwór jodku potasu w wodzie destylowanej.

3. wskaźnik jodu

1 g rozpuszczalnej skrobi zawieszają się w 90 ml destylowanej wody i gotuje w ciągu trzech minut, a następnie rozcieńcza z 10 ml destylowanej wody, uzyskując 1% w stosunku wagowym odczynnik skrobiowy.

4. mieszanina diagnostyczna

100 ml rozcieńzonego jodoformu Wescodyna (Registered Trade Mark) dodaje się do 100 ml 9% roztworu jodku potasu i ostrożnie miesza, aby nie dopuścić do tworzenia piany. Następnie dodaje się 100 ml 1% roztworu rozpuszczalnej skrobi i miesza się delikatnie unikając pienienia.

5. mieszanina do sporządzania pierwszej błony

25 ml kolodium (roztwór 301–261 necol collodian produkowany przez British Drug Houses) rozcieńcza się 75 ml eteru dwuetylowego (jakość anestezjologiczna według farmakopei brytyjskiej) i miesza. Kolodium rozcieńcza się następnie do 667 ml mieszaniną eteru dwuetylowego i alkoholu etylowego w stosunku objętościowym, odpowiednio 9 : 1.

6. mieszanina do sporządzania drugiej błony zawierająca substancję regulującą pH

Mieszaninę 5–10 ml eteru dwuetylowego i alkoholu etylowego w stosunku objętościowym, odpowiednio 9 : 1, dodaje się do 800 mg rozdrobnionego węglanu sodowego (bezwodnego, o jakości analitycznej) i uzyskaną zawiesinę poddaje się obróbce w celu rozdrobnienia wszystkich dużych agregatów, a następnie przenosi do zamkniętej kolby, stosując 200 ml rozcieńzonego kolodium, otrzymanego sposobem opisanym powyżej w pkt.5. Kolbę umieszcza się na dezintegratorze w ciągu czasu potrzebnego do rozdrobnienia wszystkich agregatów.

B. Przygotowanie pasków wskaźnikowych.

Z płytki nieplastyfikowanego polichlorku winylu (PCW) symbol 128/5065, produkowanego przez Bakelite Xylonite Ltd. wycina się prostokąt o wymiarach 100X54 mm i za pomocą gruboziarnistego papieru ściernego nadaje się szorstkość powierzchni o szerokości 10 mm, wzdłuż dłuższego brzegu.

Z tkaniny filtracyjnej z włókna szklanego (GFC/C Whatman produkowanej przez Scientific Supplies Co. Ltd), wycina się pasek o długości 140–150 mm i szerokości 5 mm. Pasek ze szklanego włókna smaruje się klejem (azotan celulozy Britifix, produkowany przez Humbrol Ltd) po stronie przeciwnej do powierzchni ziarnistej. Klejem smaruje się również szorstką powierzchnię prostokąta z PCW o szerokości 5 mm. Pasek z włókna szklanego umieszcza się na pokrytej klejem powierzchni płytki podkładowej.

Do płytkowego naczynia wprowadza się wystarczającą ilość mieszaniny diagnostycznej, otrzymanej według punktów A (1/-/4) aby uzyskać warstwę o głębokości około 6 mm. W odczynniku tym zanurza się na 5 sekund pasek z włókna szklanego umieszczony na prostokacie PCW, po czym wyjmuje się i brzeg paska styka się z kawałkiem bibuły filtracyjnej, aby usunąć resztę płynu. Pasek zawiesza się na okres 2 minut w powietrzu i usuwa pozostały płyn za pomocą bibuły filtracyjnej.

P r z y k ł a d II. Sposobem opisanym w przykładzie I otrzymuje się środek w postaci paska wskaźnikowego. Do płytkowego naczynia wprowadza się mieszaninę do sporządzenia pierwszej błony, otrzymaną według punktu A(5) w takiej ilości aby wysokość warstwy wynosiła 6 mm. W naczyniu zanurza się pasek z naniesioną mieszaniną diagnostyczną. Pasek suszy się na powietrzu w zabezpieczonym od dostępu światła pudełku lub pojemniku z leżącą płasko płytką podkładową z PCW.

P r z y k ł a d III. Wytwarzanie wzorca.

Ucina się pasek ze szklanej tkaniny filtracyjnej o szerokości 5 mm i długości 140–150 mm. Otrzymuje się mieszaninę diagnostyczną według przykładu I punktu A/1/-/4/ z tym, że stężenie jodoformu zmniejsza się tak, aby stężenie jodu wynosiło $7,1 \times 10^{-4}$ n (co odpowiada 2 mg kwasu moczowego na 100 ml), po czym umieszcza się ją w płytkim naczyniu.

Pasek wzorcowy zanurza się w odczynniku, wyjmuje, suszy i za pomocą kleju przyczepia na płytkę podkładową z PCW obok pierwszego paska otrzymanego według przykładu I.

P r z y k ł a d IV. Pasek wzorcowy wytwarza się według przykładu III z tym, że przed naklejeniem na płytkę podkładową zanurza się go w mieszaninie do sporządzenia pierwszej błony otrzymanej według punktu A(5) przykładu I.

P r z y k ł a d V. Płytkę testową ze szklanej tkaniny filtracyjnej sporządza się według przykładu III lub IV, a następnie tnie na paski wskaźnikowe o szerokości 5 mm i długości 50 mm, równoległe do krótszego boku płytki.

P r z y k ł a d VI. Środek w postaci pasków wskaźnikowych wytwarza się według przykładów II, IV i V. Do płytkowego naczynia wprowadza się mieszaninę do sporządzania drugiej błony, otrzymaną według przykładu I A(6) i zanurza w niej paski wskaźnikowe. Następnie paski suszy się bez dostępu światła.

P r z y k ł a d VII. W ciągu 24 godzin od pacjenta chorego na skazę moczową zbiera się mocz i po zmieszaniu, próbkę moczu doprowadza się wartości pH = 9,0, za pomocą stałego węglanu sodowego. Alkaliczną próbkę rozcieńcza się wodą destylowaną w stosunku 1 : 7 i wprowadza się ją po kropli na pasek wzorcowy i pasek diagnostyczny otrzymane sposobem opisanym w przykładach I, III i V. Po 5 minutach sprawdza paski na niebieskie zabarwienie i stwierdza, że zarówno pasek wzorcowy jak i pasek diagnostyczny są niezabarwione, co wskazuje na to, że poziom kwasu moczowego jest równy lub wyższy od wartości równoważnej dla substancji stanowią-

cej źródło jodu. Oznacza to, że pacjent ma nienormalnie wysoki poziom kwasu moczowego w moczu i konieczne są dalsze badania diagnostyczne.

P r z y k ł a d VIII. Powtarza się sposób postępowania z przykładu VII z tym, że jako badany płyn stosuje się krew. Krwi nie rozcieńcza się, ale przed oznaczeniem poddaje działaniu stałej heparyny w ilości 50 jednostek na ml krwi. Środek w postaci paska wskaźnikowego otrzymuje się sposobem z przykładów II, IV i V. Przed sprawdzeniem zabarwienia paski przemywa się bieżącą wodą w celu usunięcia czerwonych krwinek.

Uzyskuje się wyniki podobne do otrzymanych w przykładzie VII.

P r z y k ł a d IX. Powtarza się sposób postępowania opisany w przykładzie VIII z tym, że przed wykonaniem oznaczenia nie reguluje się wartości pH krwi i stosuje środek otrzymany sposobem opisanym w przykładzie VI. Uzyskuje się wyniki podobne do otrzymanych w przykładzie VII.

Zastrzeżenia patentowe

1. Środek do wykrywania kwasu moczowego w płynach, znajdującego się w ilości niższej lub wyższej od określonej wartości, w środowisku alkalicznym, z n a m i e n n y t y m, że zawiera mieszaninę ustalonej wstępnie ilości substancji stanowiącej źródło jodu, wskaźnika jodu oraz rozpuszczalnika jodu osadzoną na stałym, obojętnym nośniku, przy czym ilość substancji będącej źródłem jodu i wskaźnika jodu jest tak dobrana, że po reakcji z badanym płynem o obojętoci wystarczającej do nasycenia nośnika, następuje całkowite odbarwienie wskaźnika, przy stężeniu kwasu moczowego równym lub wyższym od określonej wartości.

2. Środek według zastrz. 1, z n a m i e n n y t y m, że jako substancję stanowiącą źródło jodu zawiera roztwór jodu.

3. Środek według zastrz. 1, z n a m i e n n y t y m, że jako substancję stanowiącą źródło jodu zawiera jego kompleks.

4. Środek według zastrz. 3, z n a m i e n n y t y m, że jako kompleks jodu zawiera jodofor.

5. Środek według zastrz. 1, z n a m i e n n y t y m, że zawiera substancję stanowiącą źródło jodu o stężeniu $2,0 \cdot 10^{-3} - 2,7 \cdot 10^{-3}$ n.

6. Środek według zastrz. 1, z n a m i e n n y t y m, że jako wskaźnik jodu zawiera rozpuszczalną skrobię, amylozę, amylopektynę, dekstrynę, α -naftoflawon, poliwinylpirolidon, alkohol poliwinylowy, glikogen, sól sodową glikolanu skrobi lub inne wielocukry, dające zadowalającą reakcję barwną z jodem.

7. Środek według zastrz. 1, z n a m i e n n y t y m, że jako rozpuszczalnik jodu zawiera jodek.

8. Środek według zastrz. 7, z n a m i e n n y t y m, że jako jodek zawiera jodek potasu.

9. Środek według zastrz. 1, albo 7, z n a m i e n n y t y m, że zawiera rozpuszczalnik jodu w stężeniu 6–12% wagowych.

10. Środek według zastrz. 1, z n a m i e n n y t y m, że jako nośnik zawiera tkaninę filtracyjną z włókien szklanych.

11. Środek według zastrz. 1, z n a m i e n n y t y m, że jako nośnik zawiera obojętną bibułę filtracyjną.

12. Środek według zastrz. 1, albo 10, albo 11, z n a m i e n n y t y m, że zawiera nośnik osadzony na nieprzepuszczalnej warstwie podkładowej.

13. Środek według zastrz. 12, z n a m i e n n y t y m, że zawiera warstwę podkładową z polichlorku winylu.

14. Środek według zastrz. 1, z n a m i e n n y t y m, że zawiera nośnik z osadzoną mieszaniną, chroniony co najmniej jedną błoną półprzepuszczalną.

15. Środek według zastrz. 14, z n a m i e n n y t y m, że jako półprzepuszczalną błonę zawiera nitrocelulozę.

16. Środek według zastrz. 14, albo 15, z n a m i e n n y t y m, że zawiera półprzepuszczalną błonę z wprowadzonym do niej czynnikiem alkalicznym.

17. Środek według zastrz. 16, z n a m i e n n y t y m, że jako czynnik alkaliczny zawiera węglan metalu alkalicznego.

18. Środek według zastrz. 17, z n a m i e n n y t y m, że zawiera węglan metalu alkalicznego w stężeniu $1,88 \cdot 10^{-2} - 4,5 \cdot 10^{-2}$ mola, co w stężeniu równoważnikowym równe jest odpowiednio wartościom $0,94 \cdot 10^{-2} - 2,25 \cdot 10^{-2}$ n, korzystnie $1,88 \cdot 10^{-2}$ n.