



Patentdirektoratet  
TAASTRUP

(21) Patentansøgning nr.: 5320/85

(51) Int.Cl.5

G 01 N 33/66

(22) Indleveringsdag: 18 nov 1985

(41) Alm. tilgængelig: 20 maj 1986

(44) Fremlagt: 04 jan 1993

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 19 nov 1984 US 673184 20 maj 1985 US 736300

(71) Ansøger: \*MILES INC.; 1127 Myrtle Street; Elkhart; IN 46514, US

(72) Opfinder: Carmine M. \*Greene; US, Ibrahim A. \*Ismail; US, Wen H. \*Wu; US

(74) Fuldmægtig: Budde, Schou & Co. A/S

**(64) Fremgangsmåde til semikvantitativ bestemmelse af glucose i en vandig testprøve, testmiddel og testmateriale til anvendelse ved bestemmelsen samt materialets anvendelse**

(56) Fremdragne publikationer

(57) Sammendrag:

5320-85

Ved en ikke-enzymatisk fremgangsmåde til semikvantitativ bestemmelse af glucose i en vandig testprøve gås der frem på den måde, at man fremstiller en testopløsning ved kontakt mellem den vandige prøve og en dihydroxid-komponent, ved en indledende pH-værdi på over 6,5, idet dihydroxid-komponenten er i stand til at danne et kompleks med glucosen, hvorhos der ved kompleksdannelsen frigøres en proton, samt eventuelt en puffer, der er i stand til at moderere pH-ændringer i et område fra ca. 6,5 til ca. 12, og bestemmer den endelige pH-værdi i testopløsningen.

LN 103/10 B

fortsættes

## 5320-85

Et testmiddel til den ovennævnte bestemmelse omfatter en dihydroxid-komponent, ved en indledende pH-værdi på over 6,5, der kan danne et kompleks med glucose, idet der ved kompleksdannelsen frigøres en proton, samt eventuelt en puffer, der kan moderere pH-ændringer i et område fra ca. 6,5 til ca. 12, samt en pH-indikator, der kan tilvejebringe et detekterbart kolorimetrisk respons i et pH-område fra ca. 6,5 til ca. 12.

Et testmateriale til den nævnte bestemmelse omfatter en bærematriks og et testmiddel inkorporeret deri, idet testmidlet har den oven for angivne sammensætning.

Et selvindikerende testmateriale, der kan anvendes til visuel bestemmelse af den nævnte art uden anvendelse af et farvekort, omfatter et antal testmatrikser fastgjort til en bærer, idet hver matriks indeholder en bærematriks og et testmiddel inkorporeret deri, hvorhos hvert testmiddel har den ovenfor angivne sammensætning, idet hver testmatriks er inkorporeret med et testmiddel, der afviger fra det andet inkorporerede testmiddel ved den indledende pH-værdi, der anvendes, og ved koncentrationen af inkorporeret dihydroxid-komponent, således at hver testmatriks kan give respons på en forskellig koncentration af glucose til tilvejebringelse af omtrentlig det samme visuelle kolorimetriske respons.

Opfindelsen angår ikke-enzymatiske fremgangsmåder til semikvantitativ bestemmelse af glucose i almindelighed og ikke-enzymatiske, diagnostiske midler til kolorimetrisk bestemmelse af glucose i vandige testprøver i særdeleshed.

- 5 Opfindelsen angår således en fremgangsmåde til semikvantitativ bestemmelse af glucose i en vandig testprøve, hvilken fremgangsmåde er ejendommelig ved det i krav 1's kendetegnende del angivne, og opfindelsen angår tillige et testmiddel til semikvantitativ bestemmelse af glucose i en vandig test-
- 10 prøve, hvilket middel er ejendommeligt ved det i krav 3's kendetegnende del angivne. Endvidere angår opfindelsen et testmateriale til semikvantitativ bestemmelse af glucose i en vandig testprøve, hvilket materiale er ejendommeligt ved det i krav 5's kendetegnende del angivne, og opfindelsen
- 15 angår også en fremgangsmåde til anvendelse af et selvindikerende testmateriale som angivet i krav 8 til semikvantitativ bestemmelse af i det mindste 1.000 mg glucose pr. dl i en vandig testprøve uden sammenligning med et farvekort, og denne fremgangsmåde er ejendommelig ved det i krav 10's
- 20 kendetegnende del angivne.

Bestemmelsen af glucosekoncentrationen i vandige opløsninger er industrielt af betydning i sukkerindustrien og inden for medicinen. I medicinen er den semikvantitative bestemmelse af glucose i legemsvæsker, f.eks. urin

25 eller blod, af betydning som en offentlig sikkerhedsforanstaltning til undersøgelse af et stort antal personer for diabetes og er af særlig betydning for diabetikere, der skal kontrollere deres sukkerindtagelse. Af hensyn til tidlig diagnose og fortsat kontrol, der har så stor betyd-

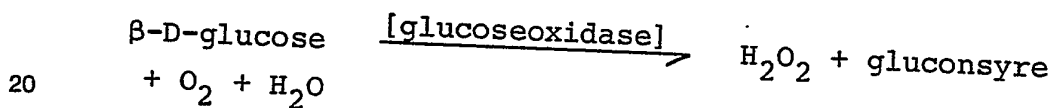
30 ning ved diabetes, skal en glucosetest, for at have størst værdi for lægen, klinikerne eller diabetikeren, der anvender testen hjemme hos sig selv, være hurtig og enkel nok til at kunne udføres bekvemt og alligevel følsom nok til at afspejle betydningsfulde variationer i glucoseindholdet i urin eller blod.

35

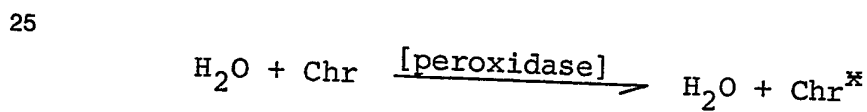
Semikvantitativ bestemmelse af høje glucosekoncen-

0 trationer, der her defineres som glucosekoncentrationer på  
 1.000 mg pr. dl og højere, er af betydning, fordi glucose-  
 koncentrationen i urin hos diabetikere kan gå op til  
 5.000 mg pr. dl eller mere. Den kvantitative bestemmelse  
 5 af høje glucosekoncentrationer i urin er af betydning af  
 i det mindste to årsager. For det første er det i nødssi-  
 tuationer af betydning at kunne bestemme, hvorvidt en be-  
 vistløshedstilstand kan tilskrives diabetisk coma, der vil  
 indikeres af en høj glucosekoncentration i urinen. For det  
 10 andet bliver glucoseniveauer i urin forøgede, såfremt der  
 er blevet indgivet en utilstrækkelig mængde insulin. En  
 test, ved hjælp af hvilken man kan bestemme høje glucose-  
 koncentrationer i urin, kan derfor udnyttes ved den tera-  
 peutiske styring af insulinbehovet.

15 De fleste af de diagnostiske tests for glucose,  
 der i øjeblikket udføres klinisk, er baseret på den en-  
 zymatiske indvirkning af glucoseoxidase på  $\beta$ -D-glucose:



og den resulterende oxidation af et chromogen (Chr) til  
 dets oxiderede tilstand ( $\text{Chr}^{\times}$ ), der er visuelt detekter-  
 bar ved en farveændring:



Der opnås en i høj grad bekvem test, når testma-  
 terialet kan anvendes semikvantitativt til bestemmelse  
 30 af glucoseniveauer ved visuel sammenligning af den far-  
 ve, der udvikles efter kontakt med en testprøve, med et  
 passende farvekort. Sådanne semikvantitative bestemmel-  
 ser kan også udføres instrumentelt ved måling af reflek-  
 tansen af et materiale, der har reageret. Når imidlertid  
 35 koncentrationen af glucose forøges til over 1.000 mg pr.  
 dl, er farven af de fleste chromogener, der anvendes i

0 enzymatiske systemer, så mørk, at det ikke længere bli-  
ver muligt at skelne mellem høje koncentrationsniveauer.  
I US patentskrift nr. 4.340.669 beskrives de iagttagne  
5 resultater med o-tolidin, tetramethylbenzidin og tetra-  
ethylbenzidin som chromogen ved koncentrationer på 0,  
50, 100, 250, 500 og 1.000 mg glucose pr. dl i den væ-  
ske, der afprøves. Hvert af disse chromogener skifter  
10 farve fra gul til lysegrøn, når koncentrationen af glu-  
cose forøges fra 0 til 50 mg pr. dl. Når koncentratio-  
nen af glucose forøges til over 500 mg pr. dl, bliver  
farven af det oxiderede chromogen mørkere, således at  
de iagttagne farver af de respektive chromogener er oli-  
ven-sort, sort og dybtgrøn. Denne iagttagelse belyser i  
15 høj grad et problem i forbindelse med den semikvantitati-  
ve enzymatiske bestemmelse af glucose i vandige væsker,  
idet kendte chromogener ved høje koncentrationer viser sig  
sorte eller meget mørkegrønne, hvorved anvendeligheden af  
testmaterialerne til bestemmelse af glucose i koncentration-  
20 ner på over 500 mg pr. dl begrænses. Omend problemet ikke  
er så akut, såfremt farveændringen bestemmes instrumen-  
telt, er det ikke desto mindre stadig til stede. Nogen  
succes ved forøgelse af det visuelt aflæselige område for  
glucose med enzymatiske kompositioner er blevet opnået ved  
25 tilsætning af sekundære chromogener, f.eks. m-anisidin, jfr.  
US patentskrift nr. 4.340.669.

Ud over dårlig farvedifferentiering ved høje gluco-  
sekoncentrationer forekommer der interferens mellem glu-  
cose tests på basis af enzymer og ascorbinsyre (vitamin C),  
der er til stede i legemsvæsker, og disse tests er des-  
30 uden forbundet med høje omkostninger og med stabilitetspro-  
blemer.

Ikke-enzymatiske metoder til måling af glucose er  
også blevet anvendt. Disse metoder omfatter instrumentel-  
le metoder, der er baseret på en måleelektrode, jfr. f.eks.  
35 US patentskrift nr. 4.127.448, samt endog et ikke-inva-  
sivt, automatisk glucose-sensorsystem, der scanner pati-  
entens øje for udstråling transmitteret gennem cornea,

jfr. US patentskrift nr. 3.958.560. I US patentskrift nr. 4.278.438 er der beskrevet en fremgangsmåde og et apparat til analyse af saccharider. Der anvendes en alkylen-polyamin, der er fremstillet i en boratpuffer, til eluering af saccharider fra en chromatografisk kolonne.

I US patentskrift nr. 4.371.374 er der beskrevet en fremgangsmåde til styring af glucose i blod ved adskillelse og kvantificering af ikke-enzymatiske glycosylerede aminosyrer, peptider eller blandinger deraf ved behandling af en urinprøve med en egnet boronsyre til kompleksbinding af de glycosylerede forbindelser, fraskillelse deraf og analyse af det fraskilte, kompleksbundne materiale.

Ved udøvelsen af den foreliggende opfindelse kræves der ikke kompliceret udstyr, men opfindelsen tillader ikke desto mindre bestemmelse af glucose op til ethvert ønsket koncentrationsniveau ved anvendelse af kompleksbinding af glucosen med bordihydroxid eller et dihydroxid af et jordalkalimetal. Kompleksbinding af sukkerarter med bor- og jordalkalimetal-dihydroxider er blevet beskrevet, jfr. S.A. Barker et al., Carbohydrate Research 26 (1973), 33-40 og N. Roy et al., Carbohydrate Research 24 (1972), 180-183, men dette fænomen er ikke blevet anvendt til løsning af problemet med semikvantitativ bestemmelse af glucosekoncentrationer i vandige testprøver.

I en foretrukken udførelsesform for den foreliggende opfindelse tilvejebringes der et selvindikerende materiale til bestemmelse af glucose, baseret på anvendelsen af kompleksdannelse af glucosen med et bordihydroxid eller et dihydroxid af et jordalkalimetal. Det her omhandlede selvindikerende materiale tillader en visuel bestemmelse af koncentrationen af glucose uden sammenligning med et farveindikator kort, og materialet er ejendommenligt ved det i krav 8's kendetegnende del angivne.

Et indikatormateriale, der kan bortkastes efter brugen, til bestemmelse af kolesterol, er beskrevet i US pa-

tentskrift nr. 4.042.329. Det beskrevne materiale tilvejebringer en indikation af koncentrationen af kolesterol i en given biologisk væske, og denne koncentration er direkte aflæselig i et tegnsystem.

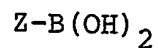
5 Tegningen illustrerer reproducerbarheden af visuelle bestemmelser af glucosekoncentrationer under anvendelse af et ikke-enzymatisk testmateriale ifølge opfindelsen. Testmaterialer, der er sammensat til semikvantitativ bestemmelse af høje koncentrationer af glucose,  
10 bringes i kontakt med tilvejebragte urin-testprøver indeholdende fra 1 g glucose pr. dl til 8 g glucose pr. dl. Kurven verificerer den lineære relation mellem glucosekoncentrationen  $G$  i g pr. dl med aflæsningen på instrumentet,  $R$ , i g pr. dl. Testmaterialerne fremstilles ved for-  
15 behandling af en bærematriks af papir med en boratpuffer fremstillet ud fra phenylboronsyre forud for inkorporering af et testmiddel omfattende en boratpuffer fremstillet ud fra borsyre og en pH-indikator.

Med den foreliggende opfindelse tilvejebringes der  
20 som nævnt en fremgangsmåde til semikvantitativ bestemmelse af glucose i en vandig testprøve, et testmiddel, der kan anvendes til en sådan bestemmelse, et testmateriale samt en fremgangsmåde til dets fremstilling og anvendelse. Fremgangsmåden til bestemmelse af glucose i en vandig testprøve  
25 omfatter følgende trin: a) fremstilling af en testopløsning ved tilvejebringelse af kontakt mellem den vandige testprøve og bordihydroxid eller et dihydroxid af et jordalkalimetal, som ved en indledende pH-værdi på over 6,5 er i stand til at danne et kompleks med glucose, idet det dannede kompleks  
30 frigører en proton, samt b) bestemmelse af den endelige pH-værdi i testopløsningen. Testmaterialet omfatter a) bordihydroxid eller et dihydroxid af et jordalkalimetal, som ved en indledende pH-værdi på over 6,5 er i stand til at danne et kompleks af glucose, hvilket kompleks frigører en  
35 proton, og b) en pH-indikator, der er i stand til at tilvejebringe et detekterbart kolorimetrisk respons i et pH-

-område fra en pH-værdi på ca. 6,5 til en pH-værdi på ca. 12. En bærematriks kan inkorporeres sammen med testmidlet til tilvejebringelse af et særlig hensigtsmæssigt testmateriale. En foretrukken udførelsesform består i et selvindikerende testmateriale.

Et antal carbonhydrater, der indeholder en cis-diol-gruppe, danner en lang række komplekser med forbindelser, der indeholder en dihydroxidgruppe, jfr. f.eks. N. Roy et al., Carbohydrate Research 24 (1972), 180-183, og S.A. Barker et al., Carbohydrate Research, 26 (1973), 33-40. Det har vist sig, at denne kompleksdannelse kan udnyttes til opnåelse af en semikvantitativ bestemmelse af koncentrationen af glucose i en vandig testprøve ved fremstilling af en testopløsning ved tilvejebringelse af kontakt mellem prøven og bordihydroxid eller et dihydroxid af et jordalkalimetall ved en indledende pH-værdi på over 6,5, hvilket dihydroxid er i stand til at danne et kompleks med glucose, idet der ved kompleksdannelsen frigøres en proton i opløsningen, hvorpå testopløsningens endelige pH-værdi bestemmes.

Egnede dihydroxider omfatter dihydroxiderne af barium, bor, calcium, magnesium og strontium ( $Ba(OH)_2$ ,  $Z-B(OH)_2$ ,  $Ca(OH)_2$ ,  $Mg(OH)_2$  og  $Sr(OH)_2$ ). Dihydroxider af bor og strontium foretrakkes. Særligt foretrukne er bor-dihydroxider med den almene formel



i hvilken Z betegner en elektrontiltrækkende gruppe, f.eks. en nitrogruppe, eller en elektronstabiliserende gruppe, f.eks. en hydroxy- eller aren-gruppe. Når Z er en hydroxy-gruppe, er bor-dihydroxidet borsyre. Egnede bor-dihydroxider omfatter borsyre, phenylboronsyre, p-nitrophenylboronsyre, 4-methoxyphenylboronsyre og  $\alpha$ -naphthylboronsyre, naphthylboronsyre samt andre aren-boronsyrer og deres deriva-

0 ter. En aren-gruppe er defineret som enhver carbonhydrid-  
gruppe, der indeholder i det mindste én aromatisk ring.  
Disse grupper kan anvendes i forbindelse med den forelig-  
gende opfindelse, forudsat at den anioniske, negative form  
5 af dihydroxidet kan stabiliseres ved elektronresonans over  
den aromatiske ring. Eksempelvis er forbindelsen phenyl-  
boronsyre, hvor Z betegner en phenylgruppe, særlig anven-  
delig i forbindelse med den foreliggende opfindelse. Des-  
uden er aren-derivater, f.eks. p-nitrophenylboronsyre, der  
10 indeholder elektrontiltrækkende grupper som substituenten  
på den aromatiske ring, også anvendelige.

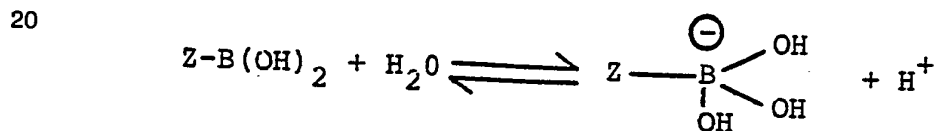
Glucose kan bestemmes ved fremstilling af en testop-  
løsning under anvendelse af en vandig testprøve og den nævnte  
dihydroxid-komponent, som ved en indledende pH-værdi på  
over 6,5 er i stand til at danne et kompleks med glu-  
15 cose, idet det dannede kompleks frigør en proton, hvor-  
efter den endelige pH-værdi i testopløsningen måles.  
Testopløsningen kan almindeligvis fremstilles ved sim-  
pelthen at bringe dihydroxidet i kontakt med den vandige  
testprøve.

20 Barium-, bor-, calcium-, magnesium- og strontium-  
-dihydroxiderne danner i almindelighed komplekser med  
glucose i forholdet 1:1. Forholdet mellem dihydroxid og  
glucose i testprøven skal derfor omtrentligt være 1:1.  
Til dannelse af en testopløsning af et bor-dihydroxid,  
25 f.eks. borsyre, i en tilstrækkelig koncentration til be-  
stemmelse af glucosekoncentrationer på ca. 500 mg pr. dl  
eller højere, kan det være nødvendigt at anvende en base,  
f.eks. kaliumhydroxid eller natriumhydroxid, til opløs-  
ning af bor-dihydroxidet. En ækvivalent fremgangsmåde  
30 vil være anvendelsen af saltformen af borsyre som en  
del af dihydroxid-komponenten. Det er åbenbart, at andre  
baser også kan anvendes, forudsat at de ikke interfare-  
rer med kompleksdannelsen mellem dihydroxidet og gluco-  
se.

35 Den endelige pH-værdi i testopløsningen kan måles  
konventionelt med et pH-meter eller visuelt eller instru-  
mentelt efter tilsætning af en pH-indikator.

0 Den pH-ændring, der forekommer ved kompleksdan-  
 nelsen mellem den nævnte dihydroxid-komponent og glucose, kan  
 modvirkes ved tilsætning af en puffer. Et testmateriale,  
 der omfatter en puffer, der er i stand til at modvirke  
 5 en pH-ændring over pH-området fra ca. 6,5 til ca. 12,  
 kan anvendes til bestemmelse af glucose over et bredere  
 koncentrationsområde end et testmateriale uden en sådan  
 puffer. Egnede puffere omfatter tris-(hydroxymethyl)-  
 -aminomethan, der almindeligvis betegnes TRIS, N,N-bis-  
 10 -(2-hydroxyethyl)-glycin, der er almindelig kendt som  
 BICIN, samt N-2-hydroxyethylpiperazin-N'-2-ethansulfonsy-  
 re, der er almindelig kendt under betegnelsen HEPES. Det  
 er særlig bekvemt, når der anvendes et bordihydroxid,  
 såsom borsyre eller phenylboronsyre, at anvende puffer-  
 15 formen som dihydroxid-bestanddelen.

En borat-puffer er defineret som blandingen af sy-  
 re- og baseformen af en Z-B(OH)<sub>2</sub>-forbindelse. Ligevægten  
 mellem de to former kan illustreres skematisk på følgende  
 måde:



hvor Z kan være enhver af de tidligere omtalte grupper.

25 Borat-pufferen kan fremstilles ud fra borsyre  
 (Z = OH) eller ud fra aren-boronsyre-derivater, f.eks.  
 phenylboronsyre eller blandinger af Z-B(OH)<sub>2</sub>-forbindelser  
 under anvendelse af almindeligt benyttede laboratoriemeto-  
 der, der er velkendte for fagmanden. Eksempelvis kan en  
 30 opløsning af borsyre-puffer fremstilles ved titrering af  
 borsyre med en base, f.eks. natrium- eller kaliumhydroxid,  
 til en indledende pH-værdi inden for pufferområdet for den  
 anvendte Z-B(OH)<sub>2</sub>-forbindelse. Dette puffer-område antages  
 at falde mellem en pH-værdi på 6,5 og en pH-værdi på 12  
 35 for de fleste Z-B(OH)<sub>2</sub>-forbindelser. Pufferen kan også  
 fremstilles ved tilsætning af ækvimolære dele af syre-

0 og baseformerne af dihydroxid og opløsning i vand.

Valget af den indledende puffer-pH-værdi kan påvirke det koncentrationsområde for glucose, der kan bestemmes med et bestemt testmateriale. Eksempelvis vil effektiviteten af kompleksdannelsen mellem bordihydroxid og glucose formindskes, når pH-værdien for opløsningen falder under pKa-værdien for borat-pufferen. Tilsætningen af elektrontiltrækkende substituentter på en puffer fremstillet ud fra et aren-boronsyre-derivat ændrer pKa-værdien for pufferen og derfor dens effektive pH- og kompleksdannelses-område. Eksempelvis har borsyre, der har en pKa-værdi på 9,2, en lavere kompleksdannelseskapa-  
5 citet under ca. pH = 7,0, medens phenylboronsyre, der har en pKa-værdi på 8,8, vil danne kompleks med glucose ved en pH-værdi så lav som 6,5. p-Nitrophenylboronsyre, der har en pKa-værdi på 7,4, har en endnu lavere, effektiv pH-værdi. En blanding af borat-puffere, f.eks. borsyre-puffer og phenylboronsyre-puffer, kan udvide det effektive pH-område for borat-glucose-kompleksdannelsen og dermed det glucosekoncentrationsområde, der kan bestemmes. Når der anvendes en borsyre-puffer, foretrækkes der en indledende pH-værdi på over 8,0. Til bestemmelse af høje glucosekoncentrationer med en borsyre-puffer foretrækkes der især en indledende pH-værdi på over 9,0.

25 Pufferen er mest anvendelig ved en glucosebestemmelse, når den indledende pH-værdi ligger en lille smule over pKa-værdien. Pufferen kan naturligvis tilføres i tør tilstand ved fjernelse af vand, efter at den indledende pH-værdi er opnået. Pufferen er i stand til at tilvejebringe denne pH-værdi, når den rekonstitueres.

30 Det er særlig bekvemt at tilvejebringe et testmiddel til bestemmelse af glucose indeholdende et dihydroxid som her defineret og en pH-indikator, der er i stand til at tilvejebringe et detekterbart kolorimetrisk respons i pH-området fra en pH-værdi på ca. 6,5 til en pH-værdi på ca. 12. Enhver pH-indikator, som ændrer farve inden for dette pH-område, eller enhver kombination af sådanne in-

0 dikatorer, kan anvendes. Anvendelige indikatorer omfat-  
ter m-cresol-purpur, cresolrødt, neutralrødt, thymolblåt,  
phenolphthalein, o-cresol-phthalen, phenolrødt, bromthy-  
5 molblåt eller universelindikator, en blanding af indika-  
torer, der kan fås fra Kodak. Testmidlet kan anvendes til  
bestemmelse af glucosekoncentration ved simpelthen at  
tilvejebringe kontakt mellem midlet og den vandige test-  
prøve, hvorefter man iagttager det frembragte detekterba-  
re kolorimetrisk respons.

10 En pH-indikator ændrer farve over et område af pH-  
værdier. pKa-værdien for en indikator repræsenterer om-  
trentlig midtpunktet for dens farveændringer. Den indle-  
dende pH-værdi af den valgte borat-puffer er relateret  
til den indikator, der anvendes. Eksempelvis ændrer m-cresol-  
15 solpurpur farve fra purpur ved pH = 9,0 til gul ved pH =  
7,4. Ved pH-værdier over 9,0 forbliver indikatoren purpur-  
farvet eller ændrer kun i meget ringe omfang farve ved en  
ændring af pH-værdien. Såfremt der anvendes en indleden-  
de pH-værdi på 9,0, vil et detekterbart respons være åben-  
20 bart ved enhver pH-ændring. Såfremt der anvendes en ind-  
ledende pH-værdi på 9,2 eller højere, vil midlet ikke æn-  
dre farve, dvs. at det ikke vil udvise et detekterbart  
respons på glucosekoncentrationen, indtil pH-værdien fal-  
der til under pH = 9,0. Midler indeholdende m-cresolpur-  
25 pur, der indeholder en puffer, som er i stand til at give  
en indledende pH-værdi på 9,0, vil derfor være mere føl-  
somme over for en lavere glucosekoncentration end sådanne  
midler indeholdende en puffer, der er i stand til at til-  
vejebringe en indledende pH-værdi på 9,2. Såfremt der an-  
30 vendes en anden pH-indikator, kan en anden indledende pH-  
værdi foretrækkes. Eksempelvis har cresolrødt et pH-om-  
råde mellem ca. 8,8 (rød farve) og ca. 7,2 (gul farve).  
En lavere indledende pH-værdi, f.eks. pH = 9,0, foretrak-  
kes i så fald til optimal ydeevne ved dette testmiddel.  
35 Anvendelsen af mere end én indikator kan tilvejebringe en  
farveændring over et bredere pH-område og dermed over et  
bredere område for glucosekoncentrationen.

0

Et testmiddel, der er særlig velegnet til bestemmelse af høje koncentrationer af glucose, der her er defineret som mindst 1.000 mg glucose pr. dl, er en borat-puffer, der er i stand til at modvirke pH-ændringer i et pH-område på fra ca. pH = 6,5 til ca. pH = 12, og en pH-indikator, der er i stand til at tilvejebringe et detekterbart kolorimetrisk respons i et pH-område fra en pH-værdi på ca. 6,5 til en pH-værdi på ca. 12.

10

I et foretrukket middel, der fremstilles til bestemmelse af høje glucosekoncentrationer i urin, er boratpufferen en borsyre-puffer, der er fremstillet således, at den er i stand til at tilvejebringe en indledende pH-værdi på ca. 9,2. Ved denne høje indledende pH-værdi undgås uspecifikke pH-ændringer og interferens gennem pH-værdien i urin og pufferkapacitet. Den således fremstillede puffer kan tilvejebringes i en tør tilstand ved frysetørring, eller den kan simpelthen tørres til fjernelse af det vand, der anvendes til fremstilling af pufferen.

15

Yderligere bestanddele, f.eks. fugtemidler, stabilisatorer eller fortykkelsesmidler, kan sættes til testmidlet, forudsat at de ikke interfererer med kompleksdannelsen mellem dihydroxid og glucosen.

20

Ethvert af disse midler kan tilvejebringes i form af et reagens på flaske, en itubrydelig kapsel indeholdende testmidlet på reagensform, en pille eller tablet.

25

Testmaterialet, der er en foretrukken udførelsesform for opfindelsen, fremstilles ved behandling af en egnet bærematrix med testmidlet i form af et flydende reagens, hvorefter der tørres.

30

Bærematrixen kan være ethvert materiale, der kan inkorporeres med bestanddelene af testmidlet, blot det er i det væsentlige indifferent med hensyn til testmidlet, porøst og/eller absorberende i forhold til den vanlige prøve, der skal undersøges. Udtrykket "bærematrix" referer til enten sugende eller ikke-sugende materialer, der er uopløselige og bibeholder deres strukturelle in-

35

0 tegritet, når de udsættes for vand eller andre fysiolo-  
giske væsker. Egnede sugende materialer, der kan anven-  
des, omfatter papir, cellulose, træ, flør af syntetisk  
harpiks, vævede og ikke-vævede materialer. Ikke-sugende  
5 materialer eller matrixer omfatter glasfibre, polymer-  
film og mikroporøse membraner.

Det vil således forstås, at man ved fremstillin-  
gen af et testmateriale ifølge opfindelsen kan anvende  
alle sådanne bærematrixer såvel som en række andre. Ma-  
trixen kan også omfatte et system, i hvilket bestandde-  
10 lene af midlet er homogent kombineret i en flydende eller  
halvflydende tilstand, der senere hærder eller stivner,  
hvorved bestanddelene inkorporeres. Andre matrixtyper  
kan også anvendes, herunder mikroporøse membraner eller  
matrixer af polymerfilm. Mikroporøse membraner er til-  
15 gængelige som forud tildannede membraner eller kan frem-  
stilles ved sådanne metoder som faseinversion. Egnede po-  
lymerfilm kan fremstilles under anvendelse af kommerci-  
elt tilgængelige latexpræparater baseret på latexpolymersus-  
pensioner, f.eks. en sådan, som tildannes ud fra en copo-  
20 lymer af styren og butadien i forholdet 60:40. Andre na-  
turlige eller syntetiske polymere eller blandinger deraf  
kan også anvendes. Eksempler på sådanne filmpræparater  
kan findes beskrevet i US patentskrifterne nr. 3.630.957  
og nr. 4.312.834.

25 Den i øjeblikket foretrukne metode til fremstillin-  
gen består i imprægnering af en sugende bærematrix,  
f.eks. filtrérpapir, med en vandig opløsning af midlet,  
hvorefter der tørres, hvorpå den tørrede, imprægnerede  
matrix anbringes på en understøtning. Den imprægnerende  
30 opløsning fremstilles således, at den udviser den ønske-  
de indledende pH-værdi. Når der skal undersøges en prøve  
af helblod, kan den tørrede, imprægnerede bærematrix  
overtrækkes således, at man kan afvaske eller aftørre  
overskud af prøven. Tørringen kan udføres ved hjælp af  
35 enhver metode, der ikke på ødelæggende måde vil påvirke  
det inkorporerede middel, sædvanligvis ved hjælp af en

0 luftovn. Inkorporeringen kan udføres ved hjælp af enhver  
egnet metode, f.eks. overtrækning, neddykning, udspre-  
ning, spraybehandling eller trykning, der tillader, at bæ-  
rematrixen inkorporeres med bestemmelsesmidlet. Den tør-  
5 rede bærematrix kan derefter skæres i stykker og anbrin-  
ges på den ene ende af den understøtning, f.eks. en stiv  
eller halvstiv polystyrenfilmstrimmel. Dihydroxid-bestand-  
delen og/eller pufferen befinder sig på en sådan form, at  
10 de kan tilvejebringe en indledende pH-værdi på over 6,5  
ved overfladen af den inkorporerede bærer, når bæreren fug-  
tes. pH-værdien af den fugtede, inkorporerede bærer kan må-  
les ved hjælp af overfladeelektroder. Udtrykket "inkorpo-  
reret bærer" refererer til en bærematrix, der er inkorpo-  
reret med testmidlet og tørret. Når der anvendes en trans-  
15 parent filmstrimmel, kan en instrumentaflæsning af et om-  
sat materiale udføres fra hver side af strimlen. Anbrin-  
gelsen af papiret på strimlen kan udføres ved anvendelse  
af et dobbeltsidet, adhæsivt stykke tape, f.eks. et sådant,  
der er kommercielt tilgængeligt fra 3M Co., St. Paul, MN.,  
20 under varemærket DOUBLE STICK<sup>®</sup>.

Når der anvendes en papirbærematrix sammen med en  
borsyre-puffer, kan det være fordelagtigt at behandle pa-  
piret med en vandig opløsning af en anden borat-puffer,  
f.eks. den, der fremstilles ud fra phenylboronsyre ved en  
25 indledende pH-værdi på over 6,5, forud for inkorporeringen  
af testmidlet indeholdende borat-pufferen. Det antages, at  
en sådan forbehandling hindrer en mulig interaktion mellem  
papiret og borat-pufferen i testmidlet.

30 Koncentrationsområderne for bestanddelene i den rea-  
gensopløsning, der anvendes til fremstilling af et testma-  
teriale i fast tilstand, er følgende:

	<u>Arbejdsområde</u>	<u>Foretrukket område</u>
Borat-puffer:	0,1-0,9 M	0,1-0,4 M
35 pH-indikator:	0,025-0,2%	0,04-0,15%

0

Disse koncentrationsområder og relative koncentrationer af bestanddelene kan anvendes, hvadenten opløsningen er en vandig imprægneringsopløsning eller en polymer-suspension. En foretrukken reagensopløsning indeholder fra 5 0,10 til 0,30 M borat-puffer, titreret til en indledende pH-værdi på fra ca. 8,5 til ca. 9,5 samt fra 0,05% til 0,10% af en indikator såsom m-cresolpurpur. I en foretrukken udførelsesform imprægneres en papirmatrix med en vandig opløsning indeholdende fra 0,1 til 0,3 M borat-puffer, 10 titreret til en indledende pH-værdi over 6,5, inden inkorporering sammen med testmidlet. En foretrukken borat-puffer til forbehandling fremstilles ud fra phenylboronsyre.

Testmaterialet anvendes med fordel ved momentan neddykning deraf i en testprøve eller ved på anden måde at 15 påføre testprøven på bærematrixen, hvorved der fremkommer en detekterbar kolorimetrisk ændring, når glucose er til stede. Kontakt med testprøven kan også udføres ved hjælp af en pipette, en tampon eller en spatel. Omend neddykning er en i høj grad tilfredsstillende kontaktmetode, 20 når der anvendes urin, vil en serumprøve normalt kræve pipettering.

Semikvantitative glucosekoncentrationer kan bestemmes visuelt ved sammenligning med et egnet farvekort, eller der kan udføres målinger ved hjælp af instrumenter 25 ved reflektans fra hver side af materialet, såfremt der anvendes en transparent understøtning.

En foretrukken udførelsesform for et glucosetestmateriale ifølge opfindelsen er et selvindikerende materiale, der tillader bestemmelse af koncentrationen af 30 glucose i en vandig testprøve, uden at der skal sammenlignes med et yderligere tilvejebragt farvekort. På grund af de grundlæggende kliniske forhold for de reagenser, der er involveret i forbindelse med den foreliggende opfindelse, kan der faktisk tilvejebringes et selvindikerende materiale, hvor den eneste bestemmelse, der kræves 35

0

af brugeren, er bestemmelsen af antallet af testmidler på et multipude-testmateriale, der har ændret farve. Et selvindikerende materiale kan konstrueres således, at hvert testmiddel, når det bringes i kontakt med en glucose-testprøve ved en koncentration, der er lig med eller større end den specificerede koncentration, for hvilken testmidlet er udformet til at reagere, vil ændre farve til omtrentlig den samme farve.

10 Det selvindikerende materiale fremstilles ved fastgørelse af et antal testmatrixer på en bærer. Hver testmatrix fremstilles ved inkorporering af et testmiddel, der er udformet til at reagere med en forskellig, men forud fastsat koncentration af glucose, med en bærer. Testmidlet kan sammensættes som tidligere beskrevet, men sædvanligvis vil imidlertid de samme kemiske bestanddele være 15 inkorporeret i hver matrix, og sammensætningen i hver testmatrix vil kun afvige med hensyn til koncentrationen af dihydroxid og den indledende pH-værdi. Ved en foretrukken sammensætning til høje glucosekoncentrationer fremstilles 20 det selvindikerende materiale ved inkorporering af et antal testmatrixer med en pH-indikator, der er i stand til at tilvejebringe et detekterbart kolorimetrisk respons, og en borat-puffer, hvor koncentrationen af borat-puffer og den indledende pH-værdi for borat-pufferen er 25 forskellig i hver testmatrix.

Den selvindikerende udførelsesform er særlig foretrukken til bestemmelse af glucose med en borat-puffer. Ved optælling af det antal puder, der ændrer farve, kan brugeren angive den tilstedeværende mængde glucose, uden 30 at det er nødvendigt at anvende sammenligning med et farvekort. Puderne kan anbringes særskilt på en bærer, f.eks. Trycite, eller forbindes med hverandre. For en glucosekoncentration i en prøve, der er mindre end den koncentration, med hvilken testmidlet er udformet til at reagere, vil der 35 ikke være nogen farveændring. Brugeren kan på baggrund af

0 den information, at en farveændring af 1-2 testmidler svarer til en normal aflæsning, medens en ændring af 3 eller flere testmidler indikerer en mulig patologisk tilstand, træffe passende foranstaltninger eller søge professionel  
5 assistance, uden at det er nødvendigt at sammenligne pudens farve med et farvekort. I betragtning af forskellene med hensyn til skelnen mellem farver for forskellige indid-  
vider og forskellene i skelnen mellem farver under forskellige belysningsbetingelser, er anvendelsen af den fo-  
10 religgende opfindelse i denne udførelsesform særlig fordelagtig.

I dihydroxid-kompleksdannelsessystemet vil kompleksdannelsen af glucose med dihydroxidet bevirke frigørelse af en proton, hvorfor systemets pH-værdi falder. Ved et enkelt pudesystem (testmiddel) ændrer indikatoren farve over  
15 et pH-område, der frembringes ved kompleksdannelse af glucose over det koncentrationsområde for glucose, som systemet er udformet til at bestemme. Sædvanligvis vælges der en indikator med en pKa-værdi, der ligger omtrentlig midt i det pH-område, der forventes ved prøven. Faldet i pH-  
20 -værdi med stigende glucosemængde kan modvirkes noget ved indstilling af den indledende pH-værdi af testmidlet til et punkt, der bedst modvirker den frembragte pH-ændring.

De fleste pH-indikatorer ændrer farve over et forholdsvist bredt pH-område, men over mindre pH-områder inden for dette område er den farve, der er synlig for øjet, tilsyneladende den samme. Koncentrationen af dihydroxid og den indledende pH-værdi kan vælges således for hver test-  
25 middel, at ved reaktion med enhver koncentration af glucose, der er lig med eller større end den, med hvilken testmidlet er udformet til at reagere, vil pH-ændringen, der er frembragt ved kompleksdannelsesreaktionen, bringe indikatoren til et punkt inden for det snævrere pH-område, hvor farven tilsyneladende er den samme for det ube-  
30 væbnede øje. I en foretrukken udførelsesform, hvor der an-

0 vendes borat-puffer og cresolrødt, har det vist sig, at medens nuancen af det omsatte testmateriale kan være for-  
skellig (dvs. ét omsat testmiddel kan tilvejebringe en  
lys gylden farve, medens et andet omsat testmateriale kan  
5 tilvejebringe en dyb gylden farve), er den endelige far-  
ve af testmidler, der er udformet til at reagere med en  
koncentration, der er lig med eller mindre end den gluco-  
sekoncentration, der findes i testprøven, den samme. På  
den anden side vil farven af testmidler, der er udformet  
10 til at reagere med glucosekoncentrationer, der er større  
end koncentrationen for testprøven, definitivt forblive  
den samme farve som et uomsat testmiddel (i tilfælde af  
cresolrødt er farven af det uomsatte testmiddel rød). In-  
dikatorer til anvendelse med et selvindikerende materiale  
15 med høj glucosekoncentration bør ændre farve inden for et  
pH-område fra ca. 6,5 til ca. 12. Til den selvindikerende  
udførelsesform foretrækkes det at anvende en indikator,  
f.eks. cresolrødt eller m-cresolpurpur, der har en defi-  
neret farve ved mere basiske pH-værdier (højere pH-værdier)  
20 og ændres forholdsvis brat til en veldefineret og dra-  
stisk forskellig farve ved lavere pH-værdier. En lignende  
farveændring over et passende pH-område kan opnås med  
blandede indikatorsystemer.

I de følgende udførelseseksempler beskrives der  
25 forsøg, der er blevet udført i forbindelse med udviklin-  
gen af opfindelsen. En foretrukken selvindikerende udførel-  
sesform er beskrevet i eksempel 4. Eksemplerne tjener til  
til illustration af opfindelsen, og en fagmand vil være i  
stand til at foretage sådanne variationer, substitutioner  
30 og ændringer i materialets bestanddele og i reaktionspa-  
rametrene, som vil være ønskelige.

0

## Forkortelser:

De følgende forkortelser anvendes i eksemplerne:

	mg	milligram
	ml	milliliter
5	dl	deciliter
	M	molær
	%	% i vægt-% pr. 100 ml opløsning
	PVP-K90	poly-(vinylpyrrolidon) med gennemsnitlig molekylvægt på 360.000
10		fra GAF Corp., New York, N.Y.
	m-cresol-purpur	meta-cresolsulfonaphthalein
	cresolrødt	o-cresolsulfonaphthalein
	neutralrødt	2-methyl-3-amino-6-dimethyl-aminophenazin
15	thymolblåt	thymolsulfonaphthalein
	phenylphthalein	3,3-bis-(p-hydroxyphenyl)-phthalid
	phenolrødt	phenolsulfonaphthalein
	bromthymolblåt	dibromthymolsulfonaphthalein
	Klucel LF	hydroxypropylcellulose
20	Polyethylen-glycol 4000	polyethylenglycol med molekylvægt 4000

Eksempler

- 25 1. Phenylboronsyre-puffer-forbehandling.
- Whatman 54-filtrérpapir neddyppes i en vandig opløsning indeholdende 0,2 M phenylboronsyre-puffer, der har en indledende pH-værdi på 9,05. Det imprægnerede papir tørres derpå i 15 minutter ved 60°C i en luftovn. Det tørrede papir
- 30 borat-puffer, indledende pH-værdi 9,05, og 0,08% m-cresolpurpur (natriumsalt). En forrådsopløsning af 1% m-cresolpurpur anvendes til fremstilling af imprægneringsopløsningen. Borat-pufferen fremstilles ved opløsning af borsyre i vand, indstilling af pH-værdien på 9,05 med kaliumhydroxid-
- 35 opløsning og fortynding til det ønskede rumfang. Det dobbelt-

0 imprægnerede papir tørres igen i 15 minutter ved 60°C i en luftovn.

Et stykke af det dobbelttørrede papir fastgøres til en polystyrenunderstøtning til bekvem håndtering.  
 5 Testmaterialerne afprøves ved neddykning i vandige testprøver indeholdende fra 1.000 mg glucose pr. dl til 8.000 mg glucose pr. dl, dvs. fra 1 g pr. dl til 8 g pr. dl. De data, der er vist på tegningen, viser en god lineær korrelation mellem glucosekoncentration i g pr. dl  
 10 og strimmelaflysningen.

## 2. Ingen forbehandling.

Whatmann 54-filtrérpapir neddyppes i en opløsning, der indeholder følgende bestanddele:

15	Borsyre-puffer	2,0 ml
	(1 M, indledende pH = 9,5)	
	PVP K90 (15%)	1,0 ml
	Phenolrødt (1M)	0,2 ml
20	Vand	10,0 ml

Det imprægnerede papir tørres i 15 minutter ved 60°C i en luftovn, og et stykke af det tørrede papir fastgøres til understøtninger, der er fremstillet af polystyren. Det færdige testmateriale giver god visuel opløsning  
 25 mellem 1.000, 2.000, 3.000 og 5.000 mg glucose pr. dl. Farven ændres fra rød for negativ (mindre end 1.000 mg glucose pr. dl) til gul (5.000 mg glucose pr. dl).

## 30 3. Dobbeltindikatorsystem.

Et særligt foretrukket testmateriale til bestemmelse af høje koncentrationer af glucose, dvs. koncentrationer på mindst 1.000 mg pr. dl, i en urin-testprøve fremstilles som følger:

35

0	Opløsning 1 (10% acetone i vand)	
	Phenylboronsyre	0,23 M
	Puffer	
	(indledende pH = 9,0)	
5	Dodecylbenzensulfonsyre	
	(natriumsalt)	0,04%
	Opløsning 2	
	Borsyre-puffer	0,30 M
	(indledende pH = 9,0)	
10	PVP-K 60	1,2%
	Polyethylenglucol 4000	0,8%
	Klucel LF	0,4%
	(i ethanol)	
	Tween 21	0,04%
15	Cresolrødt	0,03%
	Bromthymolblåt	0,003%
	(i ethanol)	

Opløsning 2 fremstilles i 10% acetone. Den endelige opløsning indeholder 10% acetone og 10% ethanol.

Filtrérpapir, f.eks. Whatman 54 eller E & D 204, forbehandles ved dypning i opløsning 1 og tørring. Det tørrede og forbehandlede papir neddyppes i opløsning 2 og tørres. Det dobbelte indikatorsystem letter den semikvantitative differentiering af glucosekoncentrationer mellem 1.000 mg pr. dl og 10.000 mg pr. dl, eftersom forskellen i kolorimetrisk respons mellem de forskellige koncentrationsniveauer er større. Dette er særlig ønskeligt for et testmateriale til visuel aflæsning.

4. Selvindikerende glucosmateriale.

A. Indikatoren m-cresolpurpur anvendes til fremstilling af et testmateriale til bestemmelse af 1, 2, 4 og 8 g glucose pr. dl i urin.

Fire stykker Whatman 54-papir (med dimensionerne 25,4 x 5,08 cm) imprægneres med 0,2 M phenylborat ved

0

en pH-værdi på 9,0 og tørres i 15 minutter ved 50°C.  
Hvert stykke behandles derpå med en af de følgende opløsninger:

5	Borat-koncentration (M) (10 ml)	0,2	0,4	0,6	0,8
	1% m-cresolpurpur (ml) (i ethanol)	0,8	0,8	0,8	0,8
	pH-værdi	9,0	9,2	9,4	9,6

10

Papirerne tørres igen (i 15 minutter ved 50°C), påføres dobbeltsidet adhæsiv og udkæres i bånd på 0,508 cm. Båndene påføres på Trycite til forøgelse af boratkoncentration og pH-værdi (i retning mod håndgrebet) og skæres i strimler på 0,508 cm.

15

Ved neddykning i en urinprøve indeholdende 6 g glucose pr. dl ændrer de tre testmaterialer farve fra purpur til gylden. Omend dybden af den endelige gyldne farve er forskellig, dvs. svagt lysgylden til dybgylden, for hvert omsat testmateriale, kan alle de omsatte puder, der er udformet til bestemmelse af 6 g glucose pr. dl eller mindre, let identificeres som havende gylden farve. Det fjerde testmateriale, der er udformet til at reagere med 8 g glucose pr. dl, forbliver med en purpurfarve.

20

25 B. Et lignende selvindikerende materiale fremstilles under anvendelse af cresolrødt som indikator.

Fire stykker Whatman 54-papir (med dimensionerne 25,4 x 5,08 cm) behandles med 0,1 M phenylboratopløsning ved en pH-værdi på 8,0 og tørres dernæst i 15 minutter ved 50°C. Hver prøve imprægneres derpå særskilt med en af de følgende fire forskellige opløsninger:

30

35

0	Boratkoncentration (M) (10 ml)	0,2	0,4	0,6	0,8
	0,5% cresolrødt i vand (ml)	0,8	0,8	0,8	0,8
5	pH-værdi	9,0	9,2	9,6	9,8

Testmaterialerne er beregnet til at reagere med henholdsvis 1, 2, 4 og 8 g glucose pr. dl i forbindelse med urin-testprøver. Testmaterialerne monteres som tidligere beskrevet. Det selvindikerende materiale udviser ingen farveændring (forbliver rødt), når det neddyppes i en urinprøve indeholdende 0,5 g glucose pr. dl. Ved neddykning i en urinprøve indeholdende 3 g glucose pr. dl skifter to puder imidlertid farve (til gul).

15

20

25

30

35

P A T E N T K R A V.

1. Fremgangsmåde til semikvantitativ bestemmelse af glucose i en vandig testprøve, k e n d e t e g n e t ved,  
5 at man
- a) fremstiller en testopløsning ved tilvejebringelse af kontakt mellem den vandige testprøve og bordihydroxid eller et dihydroxid af et jordalkalimetal, som ved en indledende pH-værdi på over 6,5 kan danne et kompleks med glucose under frigørelse af en proton, samt eventuelt en puffer,  
10 der kan modvirke pH-ændringer i et område fra en pH-værdi på ca. 6,5 til en pH-værdi på ca. 12, og
  - b) bestemmer den endelige pH-værdi i testopløsningen.
- 15 2. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at dihydroxidet er bor- eller strontiumdihydroxid.
3. Testmiddel til semikvantitativ bestemmelse af glucose i en vandig testprøve, k e n d e t e g n e t ved,  
20 at det omfatter
- a) bordihydroxid eller et dihydroxid af et jordalkalimetal, som ved en indledende pH-værdi på over 6,5 kan danne et kompleks med glucose under frigørelse af en proton,  
25 og eventuelt en puffer, der kan modvirke pH-ændringer i et område fra en pH-værdi på ca. 6,5 til en pH-værdi på ca. 12, og
  - b) en pH-indikator, der er i stand til at tilvejebringe et detekterbart kolorimetrisk respons i et pH-område  
30 på fra ca. 6,5 til ca. 12.
4. Testmiddel ifølge krav 3, k e n d e t e g n e t ved, at dihydroxidet er bor- eller strontiumdihydroxid.
- 35 5. Testmateriale til semikvantitativ bestemmelse af glucose i en vandig testprøve, k e n d e t e g n e t ved,

at det omfatter en bærematrix og et testmiddel inkorporeret  
deri, idet testmidlet omfatter (a) bordihydroxid eller et  
dihydroxid af et jordalkalimetal, som tilvejebringer en  
pH-værdi på over 6,5 på overfladen af bæreren, som indeholder  
5 testmidlet, når denne fugtes, og som også kan danne et kom-  
pleks med glucose under frigørelse af en proton, og (b) en  
pH-indikator, der er i stand til at tilvejebringe et detek-  
terbart kolorimetrisk respons i et pH-område fra ca. 6,5  
til ca. 12.

10

6. Testmiddel ifølge krav 3 til semikvantitativ be-  
stemmelse af mindst 1.000 mg glucose pr. dl i en vandig  
testprøve, k e n d e t e g n e t ved, at det indeholder  
(a) en boratpuffer, der kan modvirke pH-ændringer i et pH-  
15 område fra ca. 6,5 til ca. 12, og (b) en pH-indikator, der  
er i stand til at tilvejebringe et detekterbart kolometrisk  
respons i et pH-område fra ca. 6,5 til ca. 12.

7. Testmateriale ifølge krav 5 til semikvantitativ  
20 bestemmelse af mindst 1.000 mg glucose pr. dl i en vandig  
testprøve, k e n d e t e g n e t ved, at det omfatter en  
bærematrix og et testmiddel inkorporeret deri, idet testmid-  
let omfatter (a) en borat-puffer, der kan modvirke pH-ænd-  
ringer i et område fra ca. 6,5 til ca. 12, og (b) en pH-in-  
25 dikator, der er i stand til at tilvejebringe et detekterbart  
kolorimetrisk respons i et pH-område fra ca. 6,5 til ca. 12.

8. Selvindikerende testmateriale til visuel semikvan-  
titativ bestemmelse af glucosekoncentrationer i en vandig  
30 testprøve uden anvendelse af et farvekort, k e n d e t e g -  
n e t ved, at dette materiale omfatter

(a) et antal testmatrixer fastgjort til en understøt-  
ning,

(b) idet hver testmatrix omfatter en bærematrix og  
35 et testmiddel inkorporeret deri,

(c) hvor hvert testmiddel indeholder bordihydroxid

eller et dihydroxid af et jordalkalimetal, som ved en indledende pH-værdi på over 6,5 kan danne et kompleks med glucose under frigørelse af en proton, samt en pH-indikator, der er i stand til at tilvejebringe et detekterbart kolorimetrisk respons i et pH-område fra ca. 6,5 til ca. 12,

(d) hvorhos hver testmatrix er inkorporeret med testmiddel, der er forskelligt fra det andet inkorporerede testmiddel gennem den anvendte indledende pH-værdi og gennem koncentrationen af bordihydroxid eller dihydroxid af jordalkalimetal, der er inkorporeret, således at hver testmatrix er i stand til at give respons på en forskellig koncentration af glucose til tilvejebringelse af omtrentlig det samme visuelle kolorimetrisk respons.

9. Selvindikerende testmateriale ifølge krav 8, kendetegnet ved, at dihydroxidet er bor- eller strontiumdihydroxid.

10. Fremgangsmåde til anvendelse af et selvindikerende testmateriale ifølge krav 8 til semikvantitativ bestemmelse af i det mindste 1000 mg glucose pr. dl i en vandig testprøve uden sammenligning med et farvekort, kendetegnet ved, at man

- (a) bringer materialet i kontakt med en vandig testprøve, der mistænkes for at indeholde glucose, og
- (b) bestemmer det antal bærematrixer, der har ændret farve.

REPRODUCERBARHED: VISUELLE  
GLUCOSEBESTEMMELSER

