

4500
PATENTE DE INVENCION

Ref: Case No. 25022

INVENTOR	GOIN

Memoria Descriptiva

sobre:

PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE TARJETAS
DE ENSAYO PARA DIAGNOSTICO MEDICO.

Solicitante: AMERICAN CYANAMID COMPANY, entidad norteamericana,
residente en, Berdan Avenue, Township of Wayne,
Estado de New Jersey, EE. UU. de A.

Son conocidos los materiales secos
absorbentes impregnados con reactivos tal como ban-
das de papel que contienen reactivos que cambian el
color usados para ensayar fluidos del cuerpo para
detectar componentes bioquimicos o quimicos tal como

5

5 cetona, contenido de urea, contenido de calcio o magnesio, actividad de colinesterasa, fosfatasa alcalina u otros componentes. También son conocidas las bandas de papel seco impregnado con reactivo para urinálisis que contienen una pluralidad de ensayos de color diferente en la misma banda para ser usados en conjunto con una tarjeta de control de comparación de color por separado.

10 La presente invención contempla las tarjetas de ensayo de función de los órganos individuales, conteniendo cada tarjeta una combinación específica, o batería, de ensayos bioquímicos o químicos, enzimáticos y/o enzimáticos, la combinación de los cuales se usa para evaluar y determinar la función de un órgano específico, tal como hígado, riñón, corazón, páncreas, próstata, pulmones, glándulas
15 suprarrenal, timo y pituitaria, con referencia a parámetros bioquímicos y químicos indicativos de varias condiciones patológicas. La invención encuentra una aplicación en particular en el consultorio de un doctor en un pequeño laboratorio. Tomando una muestra de suero de un paciente y efectuando una
20 combinación específica de ensayo de manchas sobre la misma, el médico es capaz de determinar en pocos minutos la disfunción de un órgano. Si es indicado, el médico puede ordenar mas ensayos cuantitativos o adicionales que pueden llevarse a cabo en un laboratorio clínico regular para confirmar y
25 continuar los ensayos de mancha. La naturaleza de las tarjetas de ensayo de función del órgano de esta invención se prestan para mantener y seguir historias clínicas. Por ejemplo, con una serie de tarjetas de ensayo de función de un órgano mantenidas por un período de tiempo, la función o
30 cambios en la función de un órgano particular para un pacien-

te en particular pueden seguirse rápida y convenientemente de un año a otro. De esta manera, es posible efectuar un temprano diagnóstico de la disfunción de un órgano.

Esta invención se halla dentro del área de los diagnósticos. Se refiere a una tarjeta de ensayo de la función de un órgano para la determinación de la función de un órgano y del estado del órgano a partir de una simple muestra de sangre, o similar, es decir suero o plasma, que comprende una combinación de indicadores de ensayo de diagnóstico secos y sólidos montados en una tarjeta de ensayos, cada uno de dichos indicadores de ensayo está hecho de un material portador absorbente que contiene sobre el mismo el residuo seco resultante de la impregnación del mismo con un sistema reactivo cromogénico capaz de detectar por el cambio de color las concentraciones de varios constituyentes bioquímicos y químicos de la sangre, suero o plasma cuando son expuestos a la misma, siendo cada indicador de ensayo determinativo de la función del mismo órgano, y un control de comparación de control montado sobre dicha tarjeta específica para cada indicador de ensayo de diagnóstico del mismo. Los resultados de la combinación de ensayo sobre una única tarjeta de ensayo pueden dar una indicación en dicha tarjeta de como cualquier mal función del órgano ha dado como resultado niveles anormales de constituyentes de la sangre y que efecto ha producido la terapia en volver los niveles de dichos constituyentes a la normalidad. Esta invención se refiere también a un método para determinar la función de un órgano usando la tarjeta de ensayo de función del órgano aquí descripta.

Un aspecto de esta invención contempla la

tarjeta de ensayo de diagnóstico para la determinación de la función de un órgano o el estado a partir de la concentración de varios constituyentes bioquímicos y químicos de la sangre, suero o plasma que comprende una pluralidad de, por lo menos dos, indicadores de ensayo de diagnóstico secos y sólidos colocados sobre dicha tarjeta, comprendiendo cada uno de dichos indicadores de ensayo un material portador absorbente impregnado con el residuo seco de una composición de reactivo líquido cromogénico que cambia el color en respuesta a la concentración de dichos constituyentes de la sangre, suero o plasma cuando está en contacto con los mismos, y cada uno de dichos indicadores de ensayo, en combinación, es indicativo de la función o estado del mismo órgano, y por lo menos un control de comparación de color colocado sobre dicha tarjeta específico para cada indicador de ensayo de diagnóstico de la misma.

La invención provee en una sola tarjeta de ensayo todos los reactivos necesarios para llevar a cabo los diagnósticos de los tipos descritos aquí para la función del órgano en la forma de depósitos en manchas secas y sólidos, conteniendo cada uno una cantidad predeterminada de reactivos de ensayo para proporcionar resultados óptimos, y colocado en proximidad cercana a uno de otro, los cuales después de haber sido humedecidos con sangre, suero o plasma forman una mancha de color de mezcla de reacción. La invención puede usarse para perfilar o controlar un órgano específico y proveer una indicación de su estado presente. Por ejemplo, la invención concierne a una tarjeta de ensayo de la función del corazón que contiene sobre la misma una batería de ensayos de mancha la cual, en combinación, puede usarse

para determinar la función del corazón y su estado. Es conocido como por ejemplo, que los cambios en el nivel de lactato de deshidrogenasa, creatina fosfoquinasa y α -hidroxi-butirato deshidrogenasa en la sangre pueden ser indicativos de la función del corazón y por lo tanto del estado del corazón. Los resultados de la combinación de estos ensayos en una única tarjeta de ensayo puede dar una indicación sobre dicha tarjeta de como está funcionando el corazón y su estado presente, con relación a los parámetros bioquímicos y químicos indicativos de varias condiciones patológicas.

La tarjeta de ensayo de la función del órgano de la presente invención puede ser de cualquier dimensión deseada y configuración tal como rectangular, triangular, cuadrada, circular o similar, y puede estar hecha de cualquier material que tenga suficiente rigidez para soportar el manejo con la capacidad de no afectar adversamente los sistemas reactivos de la misma. La tarjeta de ensayo puede estar hecha de plástico transparente, película transparente, fibra, celulosa, o similar, o cualquier combinación de los mismos tal como una tarjeta de celulosa recubierta con plástico, o una tarjeta de fibra con una capa plástica transparente separable. La tarjeta de ensayo de función del órgano puede estar encerrada en un paquete exterior protector tal como hoja de aluminio o un material plástico transparente y, el paquete cerrado por un sello por calor o unido con un adhesivo alrededor del margen periférico.

Los indicadores de ensayo de diagnósticos secos y sólidos o ensayos de manchas colocados sobre la tarjeta de ensayo de la función del órgano comprenden un material portador sorbente que puede ser cualquier material ab-

sorbente que pueda impregnarse el sistema reactivo deseado y que no afecte adversamente el sistema reactivo impregnado en el mismo. El material absorbente puede estar colocado en la tarjeta de ensayo de función del órgano de cualquier manera mientras no afecte adversamente el sistema reactivo del mismo. La colocación debe hacerse simplemente con un ligante adhesivo entre la tarjeta de ensayo y el material portador absorbente o puede emplearse montajes más elaborados tal como el uso de un conjunto de montaje que emplea un soporte plástico transparente, un anillo de papel libre reactivo, un disco de papel impregnado con el sistema reactivo seco y un conjunto de base. Asimismo, con el material apropiado, puede hacerse el montaje por presión sin ayuda de adhesivos. Por ejemplo, el material absorbente en forma de discos pueden colocarse entre papeles liberables y comprimido o encajado en la tarjeta hecha de película plástica. Entre los adhesivos adecuados se incluye el acetato de celulosa, la mezcla de ftalato de celulosa acetato, cloruro de polivinilo, mezclas de alcohol polivinílico-acetato, y similares. El material portador absorbente puede tener cualquier configuración tal como circular, cuadrada, rectangular, triangular o similar, y puede ser de cualquier tamaño deseado. Entre los materiales portadores absorbentes adecuados incluyen el papel celulósico común o materiales celulósicos más elaborados tal como papel celulósico que tiene diaforasa unida covalentemente a un polímero de cetona o aldehído sulfitado hidrofílico de ligaduras cruzadas dispersado a través de los intersticios del mismo. El material portador absorbente puede comprender una hoja o capa que contiene el sistema reactivo total o dos o más hojas o capas manteniendo cada uno una parte del sistema reactivo

5

10

15

20

25

30

total que se necesita para cada ensayo en particular.

Los sistemas reactivos a ser impregnados en el material portador absorbente incluyen tanto los sistemas reactivos bioquímicos y químicos, enzimáticos y/o no enzimáticos, hasta ahora conocidos o desconocidos, que utilizan reactivos que cambian el color y que contienen todos los reactivos necesarios para cada ensayo en particular. Cualquier sistema reactivo capaz de ser impregnado satisfactoriamente sobre o en el material portador absorbente puede utilizarse. Ensayos representativos enzimáticos y no enzimáticos que pueden ser impregnados en un material portador absorbente y usados para ensayos de mancha para inclusión en tarjetas de ensayo para la función de un órgano específico incluyen: para el riñón, la combinación de ensayo para, transaminasa, oxaloacético glutámica, deshidrogenasa láctica, colinesterasa, nitrógeno de la urea de la sangre, y creatina; para el hígado, la combinación de ensayo para, nitrógeno de la urea de la sangre, transaminasa oxaloacético glutámico, bilirubina, proteína total, albúmina, fosfatasa alcalina y transpeptidada glutámicica; para el corazón, la combinación de ensayo para, deshidrogenasa láctica, transaminasa glutámica, creatina fosfoquinasa e hidroxibutirato de deshidrogenasa; para el páncreas, la combinación de ensayo para, aldolasa, transaminasa oxaloacético glutámica, amilasa y lipasa.

Se notará que algunos ensayos pueden utilizarse en una combinación diferente para ensayar la función de más de un órgano. Sin embargo, debe recalarse que es la particular y conocida combinación de ensayos sobre una única tarjeta para un órgano en particular lo que forma la esencia

de esta invención, y no importa que cualquier ensayo o ensayos en particular aparezcan sobre diferentes tarjetas de ensayo de función de un órgano. Por ejemplo, la actividad de la fosfoquinasa creatina del suero (CPK) es de valor para el diagnóstico de enfermedades del esqueleto de los músculos cardiacos. Se hallan valores elevados en el infarto de miocardio y en la enfermedad muscular progresiva en chicos en la distrofia muscular del tipo Duchenne. Los aumentos de CPK se han reportado también en hipotiroidismo, en algunos pacientes con enfermedades cerebrovasculares, en ciertos desordenes pulmonares, y en otras enfermedades. La actividad de transaminasa oxaloacética glutámica del suero (SGOT) es clínicamente útil para reconocer una variedad de condiciones. Valores elevados de SGOT ocurren como continuación de un daño en el hígado o en las células del músculo del corazón. El infarto de miocardio, hepatitis, mononucleosis infecciosa, y cirrosis son algunas de las condiciones que causan elevados valores de SGPT. La transaminasa glutámico pirúvica (SGPT) es clínicamente significativa para el diagnóstico de la enfermedad hepática aguda más específicamente que los niveles de transaminasa oxaloacético glutámica. Se producen elevados valores de SGPT en hepatitis infecciosas o tóxicas, mononucleosis infecciosa, y cirrosis. La concentración de SGPT es moderadamente elevada en la ictericia obstructiva, carcinoma metastática y congestión hepática. La actividad de la α -hidroxibutirato deshidrogenasa del suero (HBD) es de valor para el diagnóstico del infarto de miocardio. Los valores elevados de HBD son más específicos que ya sea los de LDH o SGOT para el infarto de miocardio, y la actividad HBD permanece elevada para períodos más largos después del infarto. El lactato de

deshidrogenasa del suero (LDH) es elevada en muchas condiciones clínicas, por ejemplo infarto de miocardio. La actividad en el suero de LDH se ve también aumentada en la cirrosis, hepatitis, y complicación metastática del hígado. Es también elevada en los casos de embolismo pulmonar, anemia megaloblástica, distrofia muscular progresiva, y enfermedades renales destructivas.

Otros ensayos bioquímicos, apropiadamente agrupados para determinar la función de un órgano específico, pueden ser también utilizados como ensayos de mancha para - inclusión en tarjetas de ensayo para la función específica de un órgano, ya que la presente invención no consiste en un - ensayo de mancha en particular si no en la agrupación de ensayos de mancha sobre una tarjeta de ensayo individual que es indicativa, en combinación, de la función de un órgano de modo que el órgano en particular puede ser controlado y la anotación de su función se puede mantener en la misma tarjeta. Los fluidos del cuerpo contemplados incluyen sangre, - suero y plasma. Sin embargo, el fluido del cuerpo en particular usado para activar un sistema reactivo seco en particular puede depender, por supuesto, del órgano en particular a ser ensayado y del sistema reactivo en particular o del ensayo de mancha involucrado. Los órganos contemplados incluyen el hígado, corazón, riñón, páncreas, próstata, pulmón, glándulas suprarrenales, timo, pituitaria, y cualquier otro órgano cuya disfunción pueda detectarse mediante medios químicos y bioquímicos indicadores de las condiciones patológicas.

El control de comparación de color sobre la tarjeta de ensayo de función del órgano puede representar el color que se consigue para un resultado de ensayo bajo,

normal o elevado, puede contener una gama graduada de comparaciones de color, o puede calibrarse en términos de concentración o escalas de concentración. Los controles de comparación de color están hechos de papel, o similares, apropiadamente coloreados para representar el color que se consigue en cada ensayo, ya sea normal, elevado o bajo o como sea.

5

Otro aspecto de esta invención contempla un método para la determinación de la función de un órgano o el estado a partir de la concentración de varios constituyentes bioquímicos y químicos de la sangre, o similares, usando la tarjeta de ensayo de función del órgano antes mencionada que comprende poner en contacto cada indicador de ensayo de diagnóstico sobre dicha tarjeta con sangre como similar, y comparar el color de cada indicador con el correspondiente control comparador de color en dicha tarjeta para cada indicador.

10

15

Son realizaciones ilustrativas de la presente invención las que se explican con referencia a los dibujos que se acompañan en los cuales;

20

La figura 1 es una realización de la presente invención que representa una tarjeta de ensayo de la función del hígado;

25

La figura 2 es una ampliación del comparador de color gradual 18 para el ensayo de mancha 11 mostrado en la figura 1;

La figura 3 es una realización de la presente invención que representa una tarjeta de ensayo de la función del corazón;

30

La figura 4 es otra realización de la presente invención que representa una tarjeta de ensayo de la

función del hígado.

Una tarjeta de ensayo de la función de un órgano que incluye la invención, es decir, la tarjeta de ensayo de la función del hígado, se ilustra en la figura 1, y comprende una tarjeta de ensayo del hígado 10 de material apropiado tal como una tarjeta de fibra revestida con plástico. La tarjeta de ensayo del hígado 10 contiene siete ensayos de mancha sobre la misma, es decir ensayos de manchas 11, 12, 13, 14, 15, 16 y 17, siendo cada ensayo de mancha indicativo de la función del hígado. Cada ensayo de mancha 11 a 17 está elaborado con un material portador absorbente tal como papel celulósico apropiadamente colocado sobre una tarjeta de ensayo del hígado 10, y estando cada portador absorbente sobre el mismo impregnado con el residuo seco de un material reactivo de cambio de color diferente, conteniendo cada uno todos los reactivos necesarios para un ensayo del hígado en particular. Los ensayos de mancha del hígado 11 a 17 contienen cada uno sistemas reactivos que cambian el color capaces de detectar por el cambio de color las concentraciones de varios constituyentes de suero indicativos de la función del hígado y, en combinación, proveer un medio para determinar, perfilar y controlar la función del hígado, y por consiguiente el estado del hígado mismo, con relación a los parámetros bioquímicos y químicos indicadores de varias condiciones patológicas. Los controles comparadores de color 18, 19, 20, 21, 22, 23 y 24 están cada uno montados gradualmente en una tarjeta de ensayo del hígado 10 entre los vestigios 25, 26, 27, 28, 29, 30 y 31, cada uno se mueve libremente hacia y desde al ser tirado o empujado y se aplica a los apéndices 32, 33, 34, 35, 36, 37 y 38. En la figura 1, hay un control comparador

de color correspondiente 18 a 24 para cada ensayo de mancha
11 a 17. Los controles comparadores de color 18 a 24 no son
standards, pero están elaborados para representar una gama
de sombras de color representativas del color que se obtiene
para los resultados de ensayo dentro de las gamas especifica-
das. Cada ensayo de mancha 11 a 17 tiene su propio control
comparador de color característico para cada ensayo en par-
ticular. Los ensayos de manchas en particular 11 a 17 mostra-
dos en la figura 1 son: 11, transaminasa oxaloacético glutá-
mico del suero (SGOT); 12, nitrógeno de la urea de la sangre
(BUN); 13, bilirubina (BIL); 14, proteína total (TP); 15,
albúmina (ALB); 16, fosfatasa alcalina (AP); y 17, trans-
peptidasa gamma glutamílica (GGT). Todos estos ensayos son
indicadores de la función del hígado, y en combinación, pro-
veen asesoramiento sobre la función del hígado y el estado.
La figura 1, se ha señalado solamente el control comparador
de color 18 para representar una gama de las sombras de co-
lor y con una escala de concentración 39. Sin embargo debe
entenderse que cada control comparador de color 19 a 24 tie-
ne su propia gama de sombras de color 40-45 y escala de con-
centración de manera similar a la del control comparador de
color 18.

La figura 2 es una versión ampliada del
control comparador 18 para el ensayo de mancha 11, que mues-
tra más claramente las comparaciones de color y concentra-
ciones conectadas con el mismo.

Con referencia a la figura 1, en uso, una
gota del suero del paciente es aplicado a cada ensayo de -
mancha 11-17. Después de unos pocos minutos, el cambio y/o
intensidad del color en los ensayos de mancha 11-17 es empa-

rejado con su correspondiente control comparador de color 18-24 para una lectura visual directa por alineación del control comparador de color 18-24 junto a los correspondientes ensayos de mancha 11-17 con apéndices 32-38. Basado en la respuesta del color, puede determinarse fácilmente la cantidad de nitrógeno en la írea de la sangre u otro constituyente (de los otros ensayos de manchas). La intensidad del color es proporcionada a la cantidad de constituyente en la muestra de suero. El resultado de la combinación de los ensayos del hígado de una indicación de la función del hígado y el estado, con relación a los parámetros bioquímicos indicadores de varias condiciones patológicas del hígado.

La figura 3 representa otra realización de la presente invención, una tarjeta de ensayo de la función del corazón 46. En la realización de la figura 3, los controles comparadores de color 18-24 de las figuras 1 y 2 están reemplazados por las manchas de control de comparación de control 47-50; estando cada mancha de color coloreada para acercarse al color normal, es decir el color que se obtiene cuando una gota de suero normal es colocada en el correspondiente ensayo de mancha 51-54. En uso, una gota del suero del paciente es colocado sobre cada ensayo de mancha 51-54. Después de unos pocos minutos el color del ensayo de mancha 51-54 es comparado con el correspondiente control comparador de color normal y adyacente 47-50. Si los colores combinan, el sanyo es negativo. Si el color no combina puede hallarse frente a una disfunción del corazón y debe llevarse a cabo ensayos adicionales.

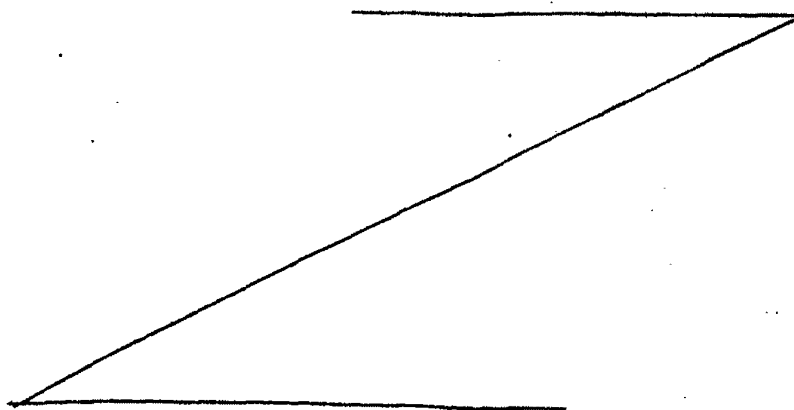
La figura 4 representa otra realización de la presente invención, una tarjeta de ensayo de la función

del hígado 55. En la realización mostrada en la figura 4, la tarjeta de ensayo de la función del hígado 55 está doblada hacia abajo de la misma de modo que contiene dos capas, la capa superior 56 y la capa inferior 57. La capa superior 56 tiene cinco orificios elaborados en la misma, siendo los límites externos de cada orificio 58, 59, 60, 61 y 62. Sobre la capa superior 56, alrededor del límite externo 58, 59, 60, 61 y 62 de cada orificio, hay un área de una gama de concentración 63, 64, 65, 66 y 67, con números en las unidades para cada ensayo de mancha en particular sobre la misma, a las cuales se describirán. La capa inferior 57 tiene fijada sobre la misma los ensayos de mancha 68, 69, 70, 71 y 72 los cuales están alineados en el centro de cada orificio limitado por los límites externos 58, 59, 60, 61 y 62, y accesibles a través del mismo. Los ensayos de manchas 68-72 son también accesibles desde abajo de la capa inferior 57, ya que tal como se señalará, el suero se aplica a los ensayos de mancha 68-72 desde abajo de la tarjeta, tal como se señala en la figura 4. En la capa inferior 57, alrededor de la periferia de los ensayos de mancha 68-72 y extendiéndose hacia fuera de las mismas hasta el límite externo 58-62, están los controles de comparación de color 73, 74, 75, 76 y 77 de graduación de colores o intensidades correspondientes a las unidades halladas en gamas de concentraciones del área 63-67 de la capa superior 56. Con referencia a la figura 4, en uso, la tarjeta de ensayo 55 se da vuelta y se coloca en la parte de abajo una gota de suero en cada mancha del ensayo 68-72. Se obtiene una mejor lectura del color, debido a la migración y otros factores, y el suero se aplica de esta manera. La tarjeta de ensayo 55 se da vuelta nuevamente, tal como en

la figura 4, y una vez desarrollado el color en los ensayos de mancha 68-72, la intensidad del color del control comparador de color correspondiente 73-77 que rodea los ensayos de mancha 68-72, y una concentración de lectura tomada de las unidades en el área de la gama de concentración correspondiente 63-67 en la capa superior 56. La concentración puede anotarse en el espacio provisto en la capa superior 56 debajo de cada punto de ensayo.

La Tabla I provee información adicional para los cinco ensayos mostrados en la figura 4, e indica el color para cada ensayo del mismo. La Tabla I indica también tres ensayos adicionales, información sobre los mismos, que puede agregarse a la tarjeta de ensayo mostrada en la figura 4 para llegar a los ocho ensayos de la tarjeta de ensayo de función del hígado.

Los siguientes ejemplos ilustran adicionalmente sobre las tarjetas de ensayo de la función específica de un órgano con los puntos de ensayo involucrados y la química que se incluye en los mismos.

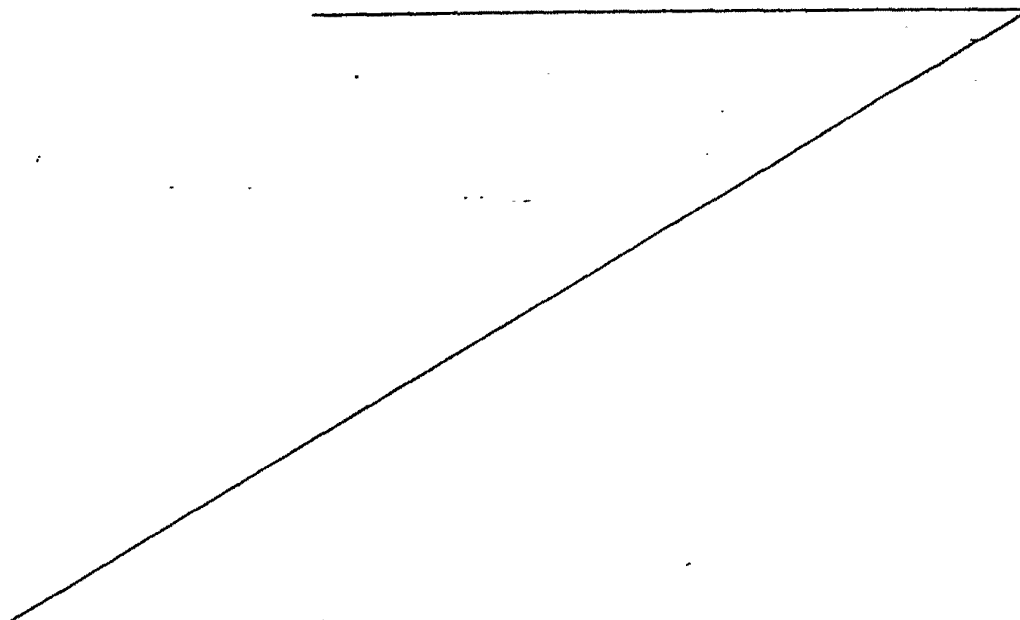


T A B L A I

Tarjeta de Ensayo de la Función del Hígado de Cinco y
Ocho Ensayos

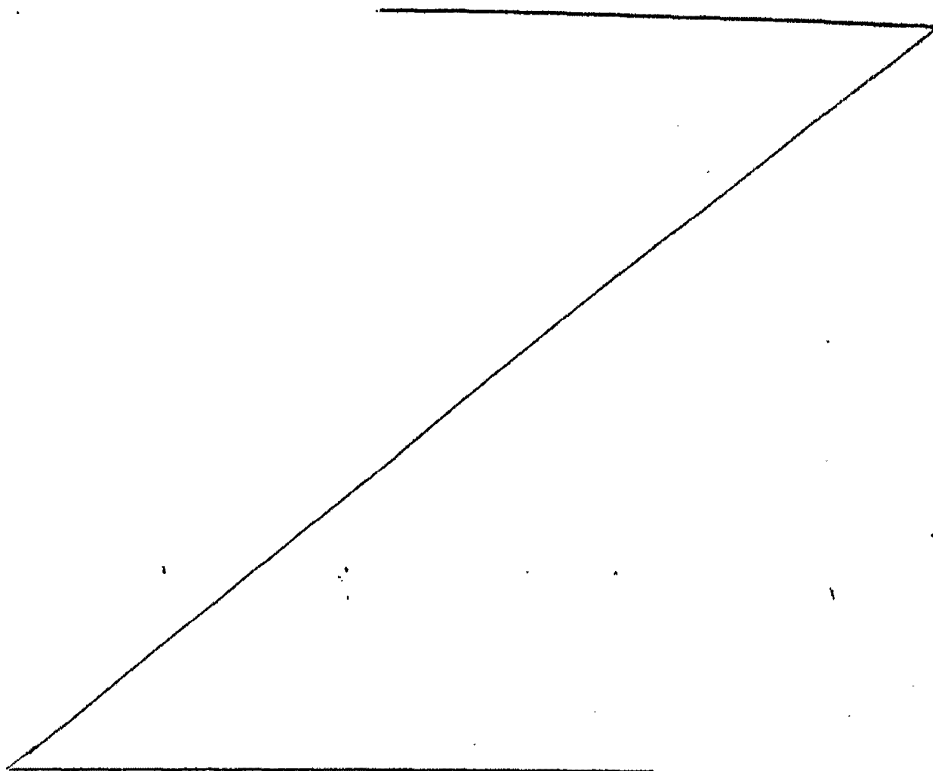
Tarjeta de cinco Ensayos:

Ensayo	Grado Numérico			Unidades	Gama de Color
	Rojo	Normal	Elevado		
Bilirubina	0-0,5	0,4-0,7	2-8	mg/100 ml	Rosado-Rojo oscuro
Fosfatasa alcalina	0-40	30-70	140-250	mU/ml	Lavanda-púrpura
Deshidrogenasa láctica	10-50	60-120	250-450	mU/ml	Rosado-Rojo oscuro
Transaminasa glutámica oxalo-acética del suero	0-15	10-40	120-200	mU/ml	Amarillo pálido Amarillo oscuro
Transaminasa glutámica pirúvica del suero	0-15	15-30	40-90	U/ml	Rosado-Rojo oscuro



T A B L A I (Continuación)

Ensayo	<u>Grado Numérico</u>			Unidades	Gama de Color
	Bajo	Normal	Alto		
<hr/>					
Tarjeta de ocho ensayos:					
<hr/>					
Glucosa	40-80	85-110	200-400	mg/100 ml	Verde pálido Verde oscuro
Proteína total	3-5	5-7	6-8	G/100 ml	Celeste Azul oscuro
Albúmina	2-4	3-5	4-6	G/100 ml	Verde pálido Verde oscuro
<hr/>					



EJEMPLO I

Tarjeta de Ensayo de Función
del Corazón

Este ejemplo ilustra una tarjeta de ensayo de la función del corazón que contiene cuatro puntos de ensayo separados sobre la misma los cuales en combinación, son indicativos de la función del corazón y el estado. Los puntos de ensayo incluyen en esta tarjeta de la función del corazón dos ensayos para deshidrogenasa del lactato (LDH), un ensayo para fosfoquinasa creatina (CPK) y otro ensayo para transaminasa oxaloacética glutámica del suero (SGOT).

(1) Ensayo de deshidrogenasa de Lactato y Portador Absorbente para el mismo.

Los detalles para este ensayo de deshidrogenasa de lactato, materiales portadores absorbentes que pueden ser impregnados con todos los reactivos de ensayo necesarios involucrados y el método para la preparación de los materiales absorbentes impregnados están todos indicados en la solicitud de patente norteamericana Acta N° 414.035, presentada el 8 de noviembre de 1973, que se incorpora aquí como referencia.

Brevemente, este ensayo de deshidrogenasa de lactato comprende un material portador absorbente (papel celulósico) que contiene sobre el mismo el residuo seco resultante de su impregnación con una sal de trazolio, un preventor de efecto cromatográfico, un antioxidante, diaforasa y una mezcla de sal de lactato nicotinamida-adeninadnuclotida-álcali. Lo siguiente sirve para ilustrar una realización específica del mismo.

Papel celulósico comercialmente acequible

de 200 mm cuadrados, 0,04826-0,0,052070 cm de espesor, de
grosor, 245-255 g/m² de peso, que tiene una absorción de 9-
20 sec usando 0,1 ml de agua de acuerdo con TAPPI ensayo
T432 y que se expande menos de 2,5% en dirección entrecruza-
da al ser humedecido con agua se satura con una solución que
contiene 0,19 partes de cloruro de 2-(p-iodofenil)-3-(p-ni-
trofenil)-5-fenil-2H-tetrazolio (INT), 0,063 partes de polio-
xietileno (20) éter cetílico como agente humectante, y 0,50
partes de ácido polimetacrílico disuelto en 100 partes de
agua, pH 7,5. El papel tratado así se seca en vacío a tempe-
ratura ambiente (26°C) en la oscuridad y se sumerge en una
segunda solución que contiene 1,0 partes de dilauriltiodi-
propionato anti-oxidante y 100 partes de hexano. Este papel
es nuevamente secado y sumergido en una tercera solución que
contiene 0,09 partes de diaforasa, 20,0 partes de maltosa y
0,54 partes del mismo agente humectante disuelto en 100 par-
tes de regulador de pH 0,05M tris, es decir, 2-amino-2-(hi-
droximetil)-1,3-propano, diol pH 7,2. El papel multitratado
se seca y se le agrega un cuarto recubrimiento, compuesto de
0,08 partes de nicotinamida-adenina dinucleótido (NAD), 0,025
partes de agente humectante adicional y 0,84 partes de lac-
tato de litio en 100 partes de agua, pH 8,8. El papel se se-
ca nuevamente.

(2) Ensayo de Deshidrogenasa de Lactato y Portador Absor-
bente para el mismo.

Los detalles para este ensayo de deshidro-
genasa de lactato los materiales portadores absorbentes que
pueden ser impregnados con todos los reactivos de ensayo ne-
cesarios involucrados y el método para la preparación de los
materiales absorbentes impregnados están descritos en la

patente norteamericana Acta N° 414,034, presentada el 8 de noviembre de 1973, que se incorpora aquí como referencia.

Brevemente, este ensayo de lactato de deshidrogenasa comprende un material portador absorbente (papel celalósico) que tiene diaforasa unida covalentemente a un adherido sulfitado de ligaduras cruzadas hidrofílico, o polímero de cetona dispersado a través de los intersticios del mismo que contiene el residuo seco resultante de la impregnación del mismo con una sal de lactato alcalino, nicotinamida-adenina-dinucleótido y una sal de tetrazolio. Lo siguiente sirve para ilustrar una realización específica del mismo.

A. Solubilización de Poliacroleína

A un recipiente de reacción adecuado provisto de agitador, condensador, termómetro, entrada de gas de nitrógeno y un baño de temperatura constante se agregan 344 partes de metabisulfito de sodio en 2400 ml de agua destilada. Se ajusta el pH de esta solución a 5,6 con 10M de solución de hidróxido de sodio y 300 partes de poliacroleína finamente dividida son agregados al mismo. Se deja proseguir la reacción bajo un manto de nitrógeno a 65°C, hasta que se forma un aducto claro, viscoso de poliacroleína soluble en agua. La reacción se enfría y se almacena.

B. Estrecruzamiento de una Poliacroleína

Soluble.

A un recipiente de reacción de vidrio adecuado equipado con agitador y entrada de gas de nitrógeno se agregan 2500 ml de un aducto de bisulfito de poliacroleína producido antes en 4000 ml de agua destilada. La solución se agita suavemente y se agrega gota a gota en un periodo de 4 hr 300 partes de 1,6-hexametilendiamina en 400 ml de

5 agua destilada. Un polímero de ligaduras cruzadas amarillo se forma en suspensión y se calienta a 60°C bajo manto de nitrógeno pesado durante 10 min y luego se enfría hasta temperatura ambiente. El polímero se filtra a través de estope-
10 lla, se coloca en un embudo Buchner y se lava concienzuda-
mente con agua. El polímero de ligaduras cruzadas es luego suavemente mezclado con diez veces su volumen de agua duran-
te 15-20 min. y se deja permanecer 20 min, y se filtra. El procedimiento de lavado se repite hasta que el pH de los la-
vados está entre 6,5 y 7,0. El aducto sólido es luego suave-
mente mezclado durante 20 min con fosfato disódico 1,0M ajustado a pH 6,5 y se lava con agua destilada.

C. Preparación de Papel que contiene Diaforasa Ligada

15 A un recipiente de reacción adecuado se agrega 0,1 parte de diaforasa y 80 ml de regulador de fosfa-
to (0,1M; pH 7,2). Se deja reposar la solución en el refri-
gerador sin agitación durante 30 min. La enzima es luego
completamente disuelta por agitación. En un recipiente sepa-
20 rado se mezclan 2,0 partes de la poliacroleína modificada preparada antes con 50 ml del mismo regulador fosfato. Des-
pués de agitación durante 10 min, se reajusta el pH a 7,2 con hidróxido de sodio 0,1N. Los contenidos de ambos reci-
pientes se mezclan luego y se dejan con agitación suave du-
rante una noche a 40°C. El aducto enzimático se filtra luego
25 y se lava con copiosas cantidades de agua desionizada. Se logran rendimientos ligantes de 75-97% usando este método.

30 Pulpa de 50/50 Albacel/Astracel (concentra-
ción 2,6 g/100 cc.) se lava con agua y subsiguientemente con metanol para eliminar cualquier sulfito residual y luego se

seca. A 10,0 partes de la pulpa resultante se agregan 2,0 partes del aducto de enzima húmedo en un recipiente de mezclado adecuado. Se mezclan los ingredientes durante 5 min. se agrega hielo a la mezcla para evitar la formación de calor. La mezcla se procesa luego en una esterilla de papel de aproximadamente un espesor del papel del filtro común y de un diámetro de 15,24 cm en un molde británico manual de lámina British Hand Sheet Mold. El papel se seca en vacío sobre un secante durante 16 hr. La hoja resultante es luego recuperada.

El papel para ensayo preparado antes, se satura con 100 partes de una solución acuosa que contiene 0,7 partes de ácido polimetacrílico, 1,0 partes de regulador tris, es decir, 2-amino-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol, 20,0 partes de d(+) maltosa, 0,025 partes de polioxietileno (20) éter cetílico, 0,08 partes de nicotinamida-adenina dinucleótido (NAD), 0,16 partes de [cloruro de 2-(p-iodofenil)-3-(p-nitrofenil)-5-fenil-2H-tetrazolio] (INT), 0,5 partes de p-dimetilaminonitrosobenceno y 1,5 partes de una solución al 60% de lactato de litio, todo a un pH de 8,6. El papel húmedo es luego secado en vacío a temperatura ambiente en la oscuridad.

(3) Ensayos de Fosfoquinasa de creatina y Portador Absorbente para el mismo

Un portador absorbente compuesto de tres capas es necesario para este ensayo.

Capa Uno: Esta capa superior se prepara sumergiendo un filtro de membrana Metrical GA-3 en una solución que contiene 120 mg de fosfato de creatinina (CP) y 18,5 mg de difosfato de adenina (ADP) todo en 2 ml de 0,1M tris regulador de pH

7,5, seguido por secado en vacío en la oscuridad a temperatura ambiente.

5 Capa Dos: Esa capa intermedia se prepara sumergiendo papel de filtro Whatman N° 42 en una solución que contiene 54 mg de glucosa, 45 mg de trifosfopiridina nucleótida (TPN), 2 g de d-maltosa, 1,5 ml de suspensión de hexoquinasa (HK), y 1,5 ml de deshidrogenasa de glucosa-6-fosfato, todo disuelto en 7 ml de un regulador de 0,1M tris de pH 7,5, que contiene cloruro de magnesio 10^{-2} M. Se separa por secado el exceso de líquido y se seca el papel tal como se indica para la capa uno bajo vacío.

10 Capa tres: Se preparó esta capa inferior formando una película de 0,0762 cm de espesor con una solución que contiene 5,0% p/v de metilcelulosa, 0,2% p/v de cloruro de 2-(p-iodofenil)-3-(p-nitrofenil)-5-fenil-2H-tetrazolio (INT) y 0,005% p/v de metosulfato de fenacina (PMS), acidificada a un pH de 4,0. Esta película soluble en agua se moldeó sobre una superficie de vidrio y en oscuridad total.

20 El papel de CPK compuesto se fabricó poniendo tres cuadrados o círculos iguales de las tres capas descritas antes una directamente sobre la otra, con la capa tres en la parte inferior, la capa dos en el medio y la capa uno encima.

25 (4) Ensayo de Transaminasa Glutámico Oxaloacética y Portador Absorbente para el mismo.

30 Los detalles para el ensayo con transaminasa glutámico oxaloacético de este ejemplo, los materiales portadores absorbentes que pueden impregnarse con todos los reactivos de ensayo necesarios involucrados y el método para la preparación de los materiales absorbentes impregnados se

indican en la patente norteamericana N° 424.971, presentada el 14 de Diciembre de 1973, que se incorpora aquí como referencia.

Resumiendo, el ensayo de transaminasa glutámico oxaloacética de este ejemplo comprende un par de materiales portadores absorbentes tales como papeles celulósicos que contienen en el mismo el residuo seco resultante de la impregnación del mismo con varios materiales reactivos.

Uno de los papeles ha contenido en el mismo el residuo seco que resulta de la impregnación del mismo con ácido L-aspartico y ha sido α -acetoglutámico y el otro papel ha contenido en el mismo el residuo seco resultante de la impregnación con sal de diazonio. Lo siguiente sirve para ilustrar una realización específica del mismo.

A. Preparación de una Capa Absorbente de Acido

Una banda de papel N° 3 Whatman se prelava con una solución de ácido clorhídrico 0,01N, seguido por enjuague con agua destilada y secado en aire. El papel resultante se sumerge en regulador de pH acuoso de fosfato 0,15M (K_2HPO_4), pH 9,0, que contiene 0,05 molar de ácido L-aspartico, 0,01 molar de ácido α -cetoglutámico y 0,1% de un agente humectante de éster polioxi-etilén laurílico comercialmente asequible. Después de reposar en esta solución durante 5 min. se seca el papel. Se escurre el exceso de líquido y el papel se seca en una corriente de aire frío.

B. Preparación de la Capa Absorbente de Diazonio

Una banda de papel Whatman N° 3 prelavada tal como se ha indicado arriba se sumerge en una solución acuosa que contiene 0,3% de una sal de diazonio, clorhidrato

de 2-metoxi-4-benzamido-5-metil-diazonio, 0,1% del agente humectante antes mencionado y 3,0% de almidón soluble. El almidón se agregó al agua y la suspensión resultante hirvió y luego se enfrió antes de agregar al mismo el componente de diazonio. El pH final de la solución se ajustó luego a 4-4,5 con ácido clorhídrico diluido. Después de reposar varios minutos en esta solución, se sacó la banda tratada. Se escurrió el exceso de solución y se secó la banda en vacío en la oscuridad.

5

C.

Unión de las Bandas Componentes

La banda con ácido antes preparada (A) es preresucubierta con una película de 5 mm de espesor de solución de acetato de celulosa que comprende 10% de acetato de celulosa disuelto en acetato etílico y que contiene 0,1% del mismo agente humectante descripto antes. La banda se seca al aire y se agrega un segundo recubrimiento de la misma solución adhesiva a la banda y, mientras está todavía húmeda, es apretada sobre la banda con diazonio (B.). Preparada antes. Las bandas se colocan entre dos placas de metal planas y se aplica a las mismas una leve presión (~ 15 lbs) a las mismas durante aproximadamente 15 min. Las bandas ligadas resultantes se separan de las placas y se colocan en una corriente de aire (en la oscuridad) para eliminar los últimos vestigios de solvente adhesivo.

15

20

25

Preparación y Uso de la Tarjeta de Ensayo
para Determinar la Función del Corazón.

Una porción de cada uno de los papeles impregnados con reactivo preparados tal como en (1), (2), (3) y (4), es cortada o perforada en discos de aproximadamente 1,27 cm de diámetro, siendo cada uno de los discos para cada

30

punto de ensayo, para un total de cuatro discos, es decir, cada uno de los discos contiene todos los reactivos necesarios para los ensayos (1), (2), (3) y (4) anteriores, está apropiadamente montado mediante un material adhesivo sobre una tarjeta de ensayo compuesta por un material celulósico y a la que se ha designado una tarjeta de ensayo de la función del corazón, teniendo un cuidado de dejar espacio suficiente entre cada uno de los cuatro discos de ensayo para su disco de control de color correspondiente. En la misma tarjeta de ensayo en relación próxima entre cada uno de los cuatro discos de ensayo, se hallan colocados mediante un adhesivo, tres discos de control comparador de color para cada uno de los cuatro discos de ensayo siendo cada uno de dos discos de control de aproximadamente one-fourth inch de diámetro y de apropiadamente coloreado para representar los resultados del ensayo de color ya sean elevados o bajos específicos para su correspondiente disco de ensayo. Cada uno de los cuatro discos de ensayo impregnados secos son en su mayor parte incoloros, sin embargo, puede hallarse presente algo de color en cada uno.

En uso, se coloca una gota del suero a ser ensayado sobre cada uno de los cuatro discos de ensayo impregnados con reactivo y ocurre en cada uno de ellos una reacción de color o cambio. Una gota de suero agregada al disco de ensayo (1) da un color rojo, el disco de ensayo (2) un color violeta-rojizo, el disco de ensayo (3) un color rojo y el disco de ensayo (4) un color rojo pardo. La intensidad del color desarrollado en cada disco de ensayo es proporcional a la cantidad de LDH, los ensayos (1) y (2), CPK, el ensayo (3) y SGOT, ensayo (4), presente en la muestra de

5 suero. El clínico o técnico luego compara simplemente la intensidad de color para cada disco de ensayo que resulta, con los correspondientes discos de control comparador de color adyacentes al mismo para verificar si la actividad del LDH, CPK y SGOT del suero que se está ensayando es normal, elevada o baja. De esta manera, puede obtenerse una indicación de la función del corazón y su estado presente. Si el resultado del ensayo es demasiado elevado o demasiado bajo, pueden ser indicados ensayos adicionales.

10 En los ensayos (1) y (2), una vez que se ha agregado el suero al indicador de ensayo, la deshidrogenasa de lactato del mismo produce una reacción que da como resultado la reducción de la sal de terrazolio y la formación de un indicador de color rojo. En el ensayo (3), la fosfoquinasa de creatina en el suero reacciona con el indicador de ensayo para formar una mancha de color rojo. En el ensayo (4), una vez que la transaminasa glutámico oxaloacético del suero ha sido agregada al indicador de ensayo, la transaminasa glutámico oxaloacético del mismo produce una reacción que eventual-
15 mente da como resultado la unión de la sal de diazonio, es decir la formación de un indicador coloreado. En el ensayo (4), el color del indicador varía generalmente entre marrón rojizo lo cual indica un alto contenido de transaminasa glutámico oxaloacético en el suero de ensayo a marrón-amarillo
20 lo cual determina un contenido de transaminasa glutámico oxaloacético normal.

25 EJEMPLO 2

Tarjeta de ensayo de la función del Hígado

30 Este ejemplo ilustra una tarjeta de ensayo de la función del hígado que contiene tres ensayos de manchas

diferentes sobre la misma la cual, en combinación, indica la función del hígado, es decir los ensayos para transaminasa glutámico oxaloacético, bilirubina y fosfatasa alcalina.

(1) .. Ensayo de Transaminasa Glutámico Oxaloacética del Suero y Portador Absorbente Para el mismo

Los detalles de este ensayo, los portadores absorbentes que pueden impregnarse con todos los reactivos de ensayo necesarios, el sistema reactivo involucrado y un método para la preparación de los materiales portadores absorbentes impregnados se describen en la patente norteamericana Acta N° 424.971, presentada el 14 de Diciembre de 1973, la cual se incorpora aquí como referencia, y el Ejemplo 1 de la misma.

(2) Ensayo con Fosfatasa Alcalina y Portador Absorbente para el mismo.

Los detalles para el ensayo con fosfatasa alcalina de este ejemplo, los materiales portadores absorbentes que pueden impregnarse con todos los reactivos de ensayo necesarios involucrados y el método para la preparación de los materiales absorbentes impregnados se describen en la solicitud de patente norteamericana Acta N° 424,970 presentada el 14 de Diciembre de 1973 la cual se incorpora aquí como referencia.

En resumen, el ensayo de fosfatasa alcalina de este ejemplo comprende un par de materiales absorbentes, uno de los cuales contiene en el mismo el residuo seco que resulta de la impregnación del mismo con un fosfato de naf-tilo o un fosfato de monofenilo y el otro contiene en el mismo el residuo seco resultante de la impregnación del mismo

con una sal de diazonio. Lo siguiente sirve para ilustrar una realización específica del mismo.

A. Preparación de la capa absorbente de fosfato

5 Una banda de papel N° 3 Whatman se pretrata con ácido clorhídrico 0,01N durante varios minutos, se lava con agua destilada y se seca. La banda de papel resultante se satura luego con una solución 1,0 molar de regulador de pH de carbonato de sodio que contiene 1,0% de fosfato de ácido α -naftilo, 0,1% de un agente humectante comercialmente acequible (sterpolioxietilenlaurílico) y un activador de cloruro de magnesio 0,3 micromolar, El pH final de la solución se ajusta a 12,0 por adición de hidróxido de sodio 10 5,0N. Los papeles se dejan reposar en esta solución durante 5 min y luego se sacan. Se escurre el exceso de líquido de la banda resultante y se seca en una corriente de aire caliente (30°C).

B. Preparación de la Capa Absorbente de Diazonio

20 Una banda de papel Whatman N° 3 prelavada tal como antes, se satura con una solución que contiene 1,0% de una sal de diazonio, 3-metoxi-4-benzamido-6-metiloxidiazonio trifluoroborato, 0,1% del mismo agente humectante usado antes, 3,0% de urea y 3% de almidón soluble. El pH final de esta solución se ajusta a 4,5 con ácido clorhídrico. Para 25 solubilizar el almidón, se sometió a ebullición una suspensión del mismo y se enfrió antes de agregarle los otros componentes. La banda resultante se dejó reposar en esta solución durante aproximadamente 5 min y se sacó. La banda fue luego liberada del exceso de líquido y se secó en vacío en 30

la oscuridad.

C.

Unión de las bandas componentes

5. La banda de forfato así preparada se pre-
recubre primero con una capa de 5 mm de espesor de acetato
de celulosa (agregada en forma de solución que contiene 10%
de polímero disuelto en acetato de etilo que contiene 0,1%
del agente humectante antes especificado). La banda resultan-
te se deja y se le aplica un segundo recubrimiento de la mis-
ma solución adhesiva. Mientras está todavía pegajosa, se -
10 aprieta la banda sobre la banda de diazonio preparada antes
y se colocan las dos bandas entre dos placas de metal planas.
Se le aplica una leve presión (~ 15 lbs) durante aproxi-
madamente 15 min. Se sacan las bandas ligadas resultantes
de las placas y se colocan en una corriente de aire (en la
15 oscuridad) para eliminar los últimos vestigios de solvente.

(3)

Ensayo de Bilirubina y Portador Absorbente
para el mismo

20 Se preparó una solución de almidón al 3%
agregando lentamente con agitación 3 g de almidón soluble a
100 ml de agua hirviendo. Esta solución se enfrió a tempera-
tura ambiente y se le agregaron los siguientes componentes
en el orden dado: 11,0 g de ácido maleico, 0,2 ml de una so-
lución al 10% de polioxi-etileno (23) éter laurílico y 0,5 g
de fluoborato de p-nitrobencen diazonio (NBF). Se prepararon
25 los papeles de ensayo sumergiendo ya sea papeles Whatman N°
42 en esta solución seguido por secado en vacío en la oscuri-
dad.

Preparación y Uso de la Tarjeta de Ensayo
para la función del Hígado

30 Los portadores absorbentes impregnados con

el reactivo final seco preparados en (1), (2) y (3) anteriores se cortan o perforan en discos (por ejemplo de 1,27 cm) y se fijan sobre una tarjeta de ensayo de la función del hígado. Cada disco de ensayo está colocado sobre una tarjeta de ensayo de la función del hígado compuesto de material celulósico, Adyacente a cada uno de los discos de ensayo antes mencionados está colocado sus discos de control comparador de color correspondientes (tres por cada disco de ensayo) específicos para cada disco de ensayo, que representan los resultados del ensayo de color normal, elevado y bajo.

Se agrega una gota de suero a cada disco de ensayo (1), (2) y (3) lo que produce una reacción que da como resultado un cambio de color, la intensidad del cual es directamente proporcionada a la concentración del constituyente particular de suero que se está ensayando. El clínico o técnico compara luego simplemente el color en cada disco de ensayo con el color en cada disco de control comparador de color correspondiente para verificar la actividad del constituyente del suero que se está ensayando. Los resultados de la combinación de los ensayos anteriores pueden usarse para determinar la función del hígado y el estado. En el ensayo de (1), el color del indicador después de la adición de suero generalmente varía entre rojizo-marrón a marrón-amarillo, en el ensayo de (2) del rojo profundo lo cual indica un alto contenido del nivel de fosfatasa alcalina en el suero de ensayo a rosado lo cual indica un nivel de fosfatasa alcalina normal en el ensayo de (3) varias intensidades de rojo.

N O T A .-

Descrita suficientemente la naturaleza del

invento, así como la manera de realizarlo en la práctica, debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas, son susceptibles de modificaciones de detalle en cuanto no alteren su principio fundamental; también se hace constar, que el invento corresponde a una solicitud de patente, presentada en Norteamérica, bajo el número 414,749, de fecha de 30 de mayo de 1,974, acogiéndose por lo tanto a los beneficios que conceden los Convenios Internacionales en vigor, - siendo lo que constituye la esencia del referido invento y por lo que se solicita Patente de Invención por 20 años en España, sobre: PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE TARJETAS DE ENSAYO PARA DIAGNOSTICO MEDICO; caracterizándose por lo siguiente;

1.- Procedimiento para la obtención de tarjetas de ensayo para diagnóstico médico, para determinar la función o estado de órganos a partir de la concentración de varios constituyentes bioquímicos y químicos de la sangre, suero o plasma, caracterizada porque comprende las etapas de: preparar indicadores de ensayo impregnando un material portador absorbente con el residuo seco de un sistema reactivo líquido cromogénico capaz de cambiar el color en respuesta a la concentración de dichos constituyentes en dicha sangre, o similar, cuando está en contacto con la misma, - siendo cada uno de dichos indicadores de ensayo, en combinación, indicadores de la función o estado del mismo órgano; dotar una tarjeta de ensayo de una pluralidad de indicadores de ensayo de diagnósticos secos y sólidos obteniéndose según la etapa anterior t por lo menos de un control de comparación de color correspondiente montado sobre dicha tarjeta específico para cada indicador de ensayo para diagnóstico en la misma.

2°.- Procedimiento según la reivindicación 1ª, caracterizado porque se aplica sobre dicha tarjeta por lo menos un control de comparación correspondiente específico para cada indicador y en contacto cada indicador de ensayo de diagnóstico en dicha tarjeta con sangre, suero o plasma, y comparar el color de cada indicador.

3°.- Procedimiento según la reivindicación 1ª, caracterizado porque el diagnóstico de la función o estado del corazón a partir de la concentración de deshidrogenasa de lactato, transaminasa glutámico oxaloacética, y fosfoquinasa creatina del suero, la tarjeta de ensayo se dota de cuatro indicadores de ensayo de diagnóstico sólidos y secos montados comprendiendo uno de dichos indicadores un material portador sorbente que contiene el residuo seco resultante de la impregnación del mismo con una sal de tretrasodio, un proventor de efecto cromatográfico, un antioxidante, disforasa y una mezcla de sal de lactato de nicotinamida-adenina-dicluoéttida-alcálica; comprendiendo uno de dichos indicadores un material portador absorbente que tiene diaforasa covalentemente unida a un aldehído sulfitado entrecruzado hidrofílico o polímero de cetona dispersado a través de los intersticios del mismo, que contiene el residuo seco resultante de la impregnación del mismo con una sal de lactato alcalino, nicotinamida-adenina-dinucleótida y una sal de tetrazolio; comprendiendo uno de dichos indicadores un par de materiales portadores absorbentes, conteniendo uno de dichos materiales portadores el residuo seco resultante de la impregnación del mismo con ácido L-aspartico y ácido α -cetoglutarico, y el otro de dichos materiales portadores contiene el residuo seco resultante de la impregnación del mismo con una

sal de diazonio; y uno de dichos indicadores comprende un par de materiales absorbentes que tienen una capa inferior, conteniendo uno de dichos materiales portadores el residuo seco resultante de la impregnación del mismo con fosfato de creatina y difosfato de adenina, y el otro de dichos materiales portadores contiene el residuo seco resultante de la impregnación del mismo con glucosa, trifosfopiridina nucleótida, d-maltosa, hexoquinasa y deshidrogenasa de glucosa-6-fosfato y una capa inferior que comprende la película seca elaborada con metilcelulosa, cloruro de 2-(p-iodofenil)-3-(p-nitrofenil)-5-fenil-2H-tetrasolio, y metosulfato de fenacina, acidificado a pH 4,0; y por lo menos un control comparador del color correspondiente montado sobre dicha tarjeta específico para cada indicador de ensayo para diagnóstico en la misma.

4*.- Procedimiento según la reivindicación 3*, caracterizado porque comprende poner en contacto cada indicador de ensayo para diagnóstico en dicha tarjeta con suero y comparar el color de cada indicador con por lo menos un control comparador del color correspondiente en dicha tarjeta específico para cada indicador.

5*.- Procedimiento según la reivindicación 1*, caracterizado porque para el de la función o estado del hígado a partir de la concentración de transaminasa glutámico oxaloacética, fosfatasa alcalina y bilirubina en el suero, la tarjeta de ensayo se dota de tres indicadores de ensayo para diagnóstico sólidos y secos montados en dicha tarjeta, comprendiendo uno de dichos indicadores un par de materiales portadores absorbentes, conteniendo uno de dichos materiales portadores el residuo seco resultante de la im-

pregnación del mismo con ácido L-aspártico y ácido α -ceto-glutámico, y el otro de dichos materiales portadores contiene el residuo seco resultante de la impregnación del mismo con una sal de diazonio; uno de dichos indicadores comprende un par de materiales portadores absorbentes, uno de dichos materiales contiene el residuo seco resultante de la impregnación del mismo con fosfato de naftilo o fosfato de monofenilo, y el otro de dichos materiales portadores contiene el residuo seco resultante de la impregnación del mismo con la sal de diazonio; y uno de dichos indicadores comprende un material portador absorbente que contiene el residuo seco resultante de la impregnación del mismo con solución de almidón acuoso, ácido maleico, éster laurílico de polioxietileno, y fluorato de p-nitrobenzeno diazonio; y por lo menos un control comparador de calor correspondiente montado en dicha tarjeta específico para cada indicador de ensayo para diagnóstico en el mismo.

6º.- Procedimiento según la reivindicación 5ª, caracterizado porque comprende poner en contacto cada indicador de ensayo para diagnóstico en dicha tarjeta con suero y comparar el color de cada indicador con por lo menos un control comparador de color correspondiente en dicha tarjeta específico para cada indicador.

7º.- Procedimiento para la obtención de tarjetas de ensayo para diagnóstico médico; tal y como queda sustancialmente descrito en la presente Memoria e ilustrado en los dibujos adjuntos.

Esta Memoria consta de 35 hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, 29 DIC. 1976
AMERICAN CYANAMID COMPANY
GONZALEZ ACEBS Y MULET
a. p. Firmador L. García Fernández

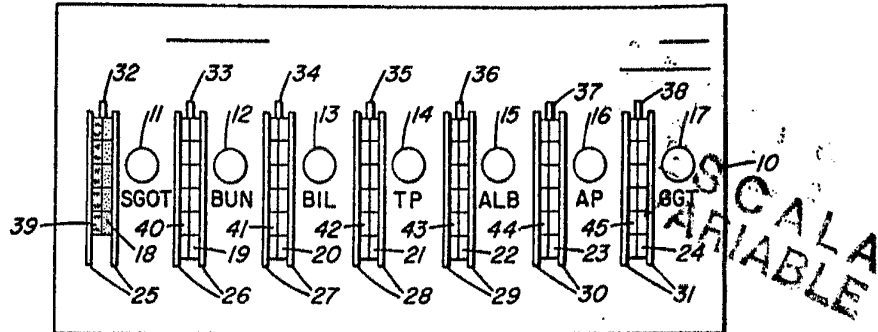


FIG. 1

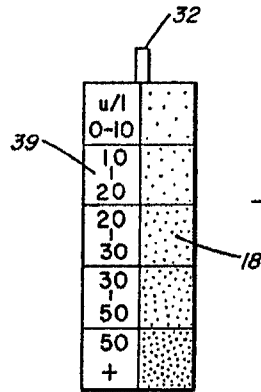


FIG. 2

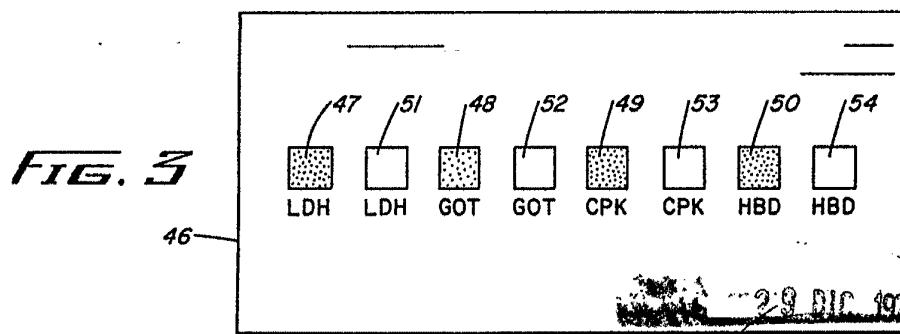


FIG. 3

29 DIC 1975

BONNEZ AGESSE Y BODET
S. L. Fernandez L. Costa Ferrández

[Handwritten signature]

ESCALA
VARIABLE

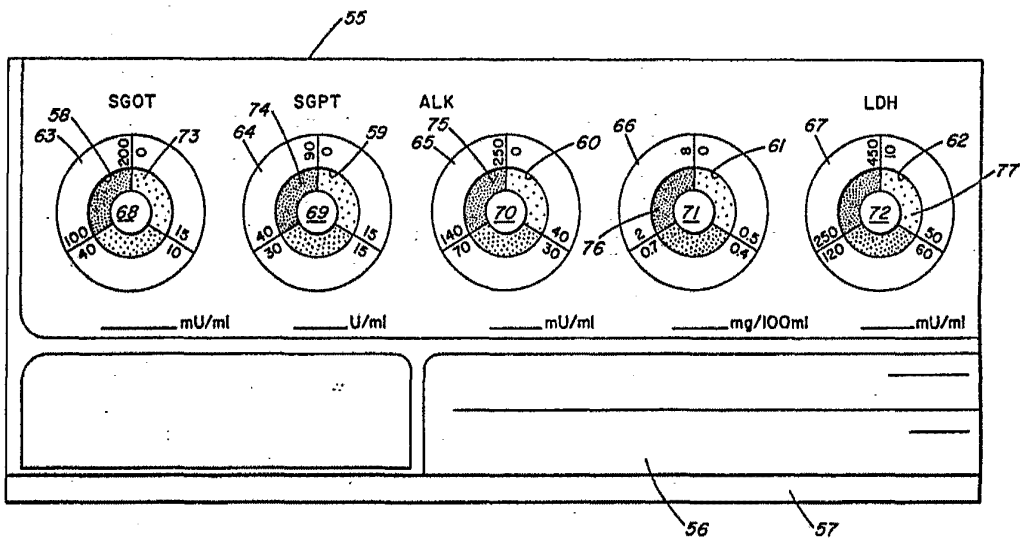


FIG. 4

29 DIC. 1976

UNIVERSAL ACCES Y MEDIC

Dpto. Química L. Gracia Ferrández