



ESPAÑA

Concedido el Registro de acuerdo con los datos que figuran en la presente descripción y según el contenido de la Memoria adjunta.

19 ES	11	NUMERO	480618	10 A1
	21	FECHA DE PRESENTACION		

PATENTE DE INVENCION

30 PRIORIDADES:		
31 NUMERO	32 FECHA	33 PAIS
P 28 21 469.9	17 Mayo 1978	Alemania
47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL	62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	G01N 33/46; G01N 31/14	
54 TITULO DE LA INVENCION		
"Procedimiento para la preparación de un medio de diagnostico para la determinación de amoníaco o de substratos que reaccionan con formación de amoníaco"		
71 SOLICITANTE (S)		
BOEHRINGER MANNHEIM GMBH		
DOMICILIO DEL SOLICITANTE		
Mannheim-Walhof (Alemania)		
72 INVENTOR (ES)		
Dr. rer. nat. Anselm Rothe, Adolf Karl Selle, Hans-Rudolf Lange, Dr. rer. nat. Walter Rittersdorf y Dr. rer. nat. Wolfgang Werner		
73 TITULAR (ES)		
74 REPRESENTANTE		
Carlos Fernández Candelas		

RECHAZADO

La determinación de la urea en líquidos corporales tiene gran importancia para diagnosticar y controlar el transcurso de enfermedades de los riñones. Ya desde hace mucho tiempo se dispone para ello de toda una serie de procedimientos de análisis químicos en húmedo, que se basan en los siguientes principios: en el caso de un método directo se hace reaccionar urea con diacetilmonoxima y se mide fotométricamente la absorción del compuesto que se acaba de formar.-

Otros métodos modernos disponen una etapa enzimática antes de la reacción colorimétrica y mediante la enzima ureasa descomponen la urea para formar carbonato de amonio. A continuación el amoníaco es hecho reaccionar por ejemplo según la conocida reacción colorimétrica de Nessler o es transformado, de acuerdo con Berthelot, con fenol/hipoclorito en un indofenol coloreado. La extinción de los productos de reacción coloreados, resultantes en cada caso es finalmente la medida de la cantidad de urea originalmente presente.

Estos procedimientos tienen en sí una exactitud suficiente, pero exigen caros fotómetros y personal adiestrado con suficiente experiencia para pipetear exactamente y manipular con reactivos en parte poco estables y corrosivos. Dado que estos procedimientos no pueden aplicarse para sangre completa, se necesitan disposiciones adicionales de laboratorio para la obtención de suero o plasma.

Especialmente en casos de emergencia, por ejemplo en el caso de un coma urémico, es indispensable, para las medidas terapéuticas a iniciar, obtener en tiempo brevísimo

un resultado del análisis lo más exacto que sea posible. Por lo tanto no faltaron extensos intentos de desarrollar, también para la determinación de urea en líquidos corporales, métodos que hicieran posible obtener dentro de un brevísimo tiempo un resultado del análisis bien utilizable como diagnóstico.

Debido a la sencillez de la manipulación, al tiempo de reacción en parte más corto y a la posibilidad de utilización junto al lecho del enfermo y en un caso de emergencia y de utilización por parte de personal no adiestrado o por parte del paciente propiamente dicho, en los últimos tiempos se han impuesto medios de ensayo rápido en forma de tiras de ensayo.

Un medio de ensayo rápido para la determinación de urea en líquidos corporales, tales como sangre, suero y plasma, se describe en la DE-AS 12 40 306. En este caso ureasa, un indicador de pH, un tampón y sustancias auxiliares son impregnados conjuntamente sobre un papel. Al aplicar por gotas un líquido corporal la urea con reacción neutra, allí contenida, es desdoblada para formar carbonato de amonio, que reacciona de modo alcalino. La modificación del pH es indicada mediante una modificación de color del indicador de pH, y el contenido de urea de la muestra puede ser estimado mediante comparación con colores comparativos. A pesar de algunas ventajas - tales como sencilla manipulación y corto tiempo de reacción - esta tira de ensayo, a causa de su color de reacción diferenciable sólo con dificultad y a causa de la

clara influencia del equilibrio de ácidos-bases del líquido corporal sobre el color de la reacción, sólo puede utilizarse para estimaciones orientativas.

El problema de la dependencia con respecto al equilibrio de ácidos-bases del líquido corporal fue resuelto con una tira de ensayo descrita en la DE-AS 12 45 619, en la cual una tira de papel absorbente es impregnada de forma yuxtapuesta una junto a otra con tres soluciones diferentes. En esta tira de ensayo la solución que contiene urea se absorbe primeramente en una zona de ensayo que contiene ureasa y la urea es hecha reaccionar allí para formar carbonato de amonio. Mediante fuerzas capilares la solución es transferida luego a una zona de ensayo alcalina, contigua, que pone en libertad amoníaco gaseoso a partir del carbonato de amonio, el cual amoníaco pasa a través del espacio de gas, que rodea a la tira de ensayo, a una tercera zona de ensayo y colorea al indicador de pH que se halla sobre ella de modo correspondiente a la concentración de la urea. Mediante una zona hidrófoba de aproximadamente 2 mm de anchura entre la segunda zona de ensayo y la tercera zona de ensayo se impide un traslado de la solución alcalina. Dado que de este modo sólo pasa al tercer campo de ensayo amoníaco gaseoso, no perturbaban otras bases o ácidos. Además, mediante tamponamiento se puede ajustar el primer campo de ensayo a un valor de pH óptimo para la ureasa, siempre que la alcalinización sobre la segunda zona de ensayo sea suficiente para poner en libertad cuantitativamente el amoníaco.

A pesar de los resultados bien aprovechables como diagnóstico, esta tira de ensayo posee una serie de desventajas. La determinación puede llevarse a cabo sólo con suero o plasma pero no con sangre, dado que los glóbulos sanguíneos perturban la cromatografía. Esto presupone una centrifugación de la sangre, es decir la cantidad necesaria de muestra es grande y sólo puede ser obtenida por el médico o por personal correspondientemente bien adiestrado. Con el fin de hacer reproducible la transferencia del amoníaco a través del espacio gaseoso, la tira de ensayo debe además de ello ser colgada dentro de una cámara de reacción especial y debe ser fijada con exactitud con relación a la muestra durante el período de reacción. Para la cromatografía en las zonas de ensayo 1 y 2, y especialmente para la difusión del amoníaco a través del espacio gaseoso se necesita un tiempo de reacción de 30 minutos, por lo cual estas tiras de ensayo apenas pueden ser designadas todavía como medio de ensayo rápido.

En la DE-AS 22 49 647 se describe una tira de ensayo constituida de modo similar, la cual tiene algunas mejoras constructivas. Con ella se pueden realizar también determinaciones en sangre completa. También esta tira de ensayo exige, sin embargo, en el caso normal un tiempo de reacción de 30 minutos y necesita de una cámara de reacción.

Otra desventaja de las dos tiras de ensayo antes mencionadas consiste en que la concentración de la urea se efectúa mediante una medición visual de longitudes de la zona extendida y desplegada de papel indicador con su zona lí

mite difuminada, que es difícil de evaluar, y no se puede llevar a cabo mediante la medición visual o precisa de la intensidad de color con un fotómetro de remisión.

En la DE-OS 26 26 367 se describe un dispositivo con varias capas situadas una sobre otra. Para la detección de urea éstas consisten en una capa que contiene ureasa y en una capa que contiene un tampón alcalino, y en una capa indicadora que detecta amoníaco gaseoso. Con el fin de impedir que desde la capa de ureasa, aparte del amoníaco gaseoso, se difunda hacia la zona indicadora de un modo indeseable también líquido de muestra, la capa de ureasa y la capa indicadora que se encuentra debajo deben ser separadas mediante una película hidrófoba, permeable a los gases, o la capa indicadora debe ser estructurada como película hidrófoba. La capa indicadora coloreada con intensidad diversa dependiendo del contenido de urea de la muestra, es medida mediante fotometría por remisión a través de la lámina de soporte, y de esta manera se determina la concentración de la urea.

Con el fin de llegar a tiempos de reacción de aproximadamente 10 minutos, este dispositivo de ensayo, a causa de la impermeabilidad relativamente elevada de la capa separadora, debe ser incubado a 40-50°C. Por causa del gasto en aparatos ligado con ello, no es posible emplear este dispositivo de ensayo como medio de ensayo rápido.

Todas las tiras de ensayo hasta ahora conocidas para la determinación de urea tienen por consiguiente todavía defectos esenciales. Estaba pendiente por lo tanto para el

presente invento la misión de desarrollar, para la detección de urea en líquidos corporales, una tira de ensayo, que:

- sea de manipulación sencilla y se contenga sin cámaras de reacción adicionales;
- 5 - permita una determinación de urea no sólo en suero o plasma, sino también en pequeñas cantidades de sangre completa;
- a la temperatura ambiente necesite un tiempo de reacción como máximo 10 minutos, y preferiblemente de alrededor de 5 minutos;
- 10 - proporcione resultados semicuantitativos en el caso de observación y evaluación visual;
- en el caso de evaluación mediante fotometría por remisión haga posible una determinación cuantitativa de la urea.

La misión planteada fue resuelta por un medio de un procedimiento para la preparación de un medio de diagnóstico descrito en las reivindicaciones de la presente patente. Además de ello, con tiras de ensayo obtenidas por el procedimiento reivindicado que trabajan según este principio pueden detectarse y determinarse de modo cuantitativo, sin embargo, también el amoníaco propiamente dicho así como sales de amoníaco y substratos que reaccionan con formación de amoníaco, empleando en lugar de la ureasa reactivos que reaccionen con el pertinente substrato con formación de amoníaco. A modo de ejemplo se mencionarán las siguientes combinaciones de sub-

- 25 - Urea/ureasa;
- creatinina/creatininodesiminasa;

- aminoácido/aminoácido-deshidrogenasa;
- aminoácido/aminoácido-oxidasa;
- aminoácido/aminoácido-deshidratasa;
- aminoácido/amonio-liasa;
- 5 amina/amino-oxidasa;
- diamina/amino-oxidasa;
- glucosa/fosforoamidatohexosofosforotransferasa y fosforamidato;
- ADP/carbamatoquinasa y carbamoilfosfato;
- amida de ácido/amidohidrolasa;
- 10 nucleobase/desaminasa;
- nucleósido/desaminasa; y
- nucleótido/desaminasa.

El invento está caracterizado por el hecho de que una capa de reacción que forma amoníaco y que al mismo tiempo desprende amoníaco es fijada a una distancia pequeña, pero reproducible con exactitud, sobre una capa indicadora, sin que se impida la libre difusión del amoníaco por medio de películas, capas, etc. Una libre difusión y una pequeña distancia son condiciones previas para obtener un corto tiempo de reacción. Sólo con una distancia de ambas capas, exactamente reproducible incluso en el caso de fabricación a escala técnica, una de estas tiras de ensayo puede satisfacer requisitos cuantitativos.

Tal como se muestra en la figura 1, la tira de ensayo contiene una capa indicadora 1, la cual consista preferiblemente en un soporte absorbente, por ejemplo papel, un material sintético poroso etc., y contiene una mezcla de reag

tivos, cuyas propiedades fotométricas de remisión se modifican escabnadamente en función de la cantidad de amoníaco, al actuar amoníaco gaseoso. Preferiblemente, la capa indicadora contiene un apropiado indicador de pH, preferiblemente de la serie de las tetranitrodifenilmetil-piridinas (según la solici-
5 tud de patente presentada al mismo tiempo P número interno 2209) y un tampón tal como por ejemplo tampón de citrato, tartato y malonato, pero también tampones poli-
meros tales como por ejemplo poliacrilatos o polimetacrilatos
10 o sus copolímeros u otros polímeros que contengan grupos carboxilo.

Sobre la capa indicadora 1 se coloca un distancia-
dor 2 el cual se caracteriza tanto por un espesor constante de aproximadamente 10-200 μ como también por una superficie
15 de agujeros abiertos constante, de por lo menos 25%. Este puede consistir por ejemplo en redes tejidas en telar o de punto o láminas agujereadas, hidrofobizadas, que cumplen los precedentes requisitos. De modo preferible se utiliza un tejido de telar hidrofobizado. Tales redes son conocidas, por
20 ejemplo, como tejidos de telar para serigrafía o gasa de Müller.

Como lámina agujereada se puede seleccionar una lámina con muchos agujeros relativamente pequeños, que entonces corresponde prácticamente a las redes tejidas en telar,
25 pero también se puede utilizar una lámina que tenga sólo un gran agujero exactamente sobre el centro de la zona de ensayo.

Sobre el distanciador 2 se encuentra la capa de reacción 3, que consiste preferiblemente en un soporte absorbente, por ejemplo papel. Este contiene los reactivos que forman amoníaco, un tampón alcalino, por ejemplo etilendiaminotetraacetato (EDTA), tris(hidroximetil)aminometano (TRIS) o fosfato, de pH 7-9,5, preferiblemente tampón TRIS de pH 8,5 y sustancias auxiliares, por ejemplo agentes humectantes y estabilizadores.

La capa de reacción es retenida fijamente de modo preferible con una red 4 (tejido de telar, tejido de punto, etc.) de acuerdo con la DE-AS 21 18 455, pero también puede estar fijamente pegada o adyacentemente sellada, de modo usual, sobre el distanciador.

Para la determinación de un sustrato, la capa de reacción es cargada con una gota de líquido de ensayo. Con el fin de impedir un desprendimiento del amoníaco hacia arriba, el lado superior de la capa de reacción puede ser cerrado convenientemente con una capa de cubierta, por ejemplo una etiqueta adhesiva, u otro elemento.

Después de un tiempo de reacción de 2-10 minutos, normalmente 5-7 minutos, se retiran la capa de reacción y el distanciador. La coloración de la capa indicadora liberada de este modo es medida cuantitativamente con un fotómetro de remisión, o semicuantitativamente mediante comparación visual con colores comparativos.

El presente invento es explicado seguidamente con mayor detalle en los siguientes ejemplos:

Ejemplo 1 - Detección cuantitativa de urea en sueroa) Papel con ureasa

Un papel de filtro es impregnado con una solución de la siguiente composición, es secado y luego cortado en forma de cintas de 6 mm de anchura.

Ureasa (5 U/mg)	6 g
Ditioeritrita	0,1 g
Tampón TRIS.HCl 0,3 m pH 8,5	100 ml

b) Papel indicador

Un papel de filtro es impregnado con una solución de la siguiente composición, es secado y también cortado en forma de tiras de 6 mm de anchura.

Cloruro de N-(bis-(2,4-dinitrofenil)-metil)-4-ter.butil-piridinio	0,39 g
Etilenglicolmonometiléter	42 ml
Tampón de malonato de sodio 0,25 m pH 2,8	48 ml

c) Distanciador

Un tejido de telar para serigrafía hidrofobizado con resina de silicona, con un espesor de hilos de aproximadamente 100 μ y con una superficie de agujeros abiertos de alrededor de 35%, es cortada en forma de cintas de 25 a 40 mm de anchura.

d) Red de cubierta

Una red de Nylon hidrófila con un espesor de aproximadamente 60 μ , un espesor de hilos de 40 μ , y una superficie de agujeros libres aproximadamente 65%, es cortada en forma de cintas de 15 mm de anchura.

e) Lámina

Como lámina de soporte y asidero se utiliza una -
cinta de 60 a 100 mm de anchura, con un espesor de aproxima-
damente 0,2 - 0,3 mm, a base de lámina de poliéster recubier-
ta con pegamento por fusión.

Preparación de la tira de ensayo

El papel con ureasa (3), el papel indicador (1) y
el distanciador (2) son sellados juntamente con una red (4)
que cubre al papel con ureasa, según se muestra en la figura
1, sobre el extremo de la lámina (5) de 6-10 cm de anchura,
que está cubierta con pegamento por fusión, y la cinta resul-
tante es cortada con tiras de 6 mm de anchura, de manera que
resultan zonas de ensayo de 6 x 6 mm junto a un asidero de 6
a 10 cm de longitud.

Sobre una de tales tiras se aplican por gotas sobre
la red de cubierta 10 μ l de suero, y se la cierra con una -
etiqueta adhesiva. Después de un tiempo de reacción de 7 mi-
nutos se retiran el papel con ureasa y la red de cubierta jun-
tamente con la capa separadora. La coloración de la capa indi-
cadora es medida desde arriba con un fotómetro de remisión.
Dependiendo de la concentración de urea se obtienen los si-
guientes valores de medición:

mg de urea/100 ml de suero	Señal de medición (fracciones de escala) \pm 1 s valor promedio de 10 valores
20	12,9 \pm 0,75
40	27,5 \pm 1,5
60	46,1 \pm 1,9
80	61,5 \pm 1,4
100	69,0 \pm 0,4

mg de urea/100 ml de suero	Señal de medición (fracciones de escala) ± 1 s valor promedio de 10 valores
-------------------------------	--

	150	77,2 ± 0,5
5	200	79,4 ± 0,5

Ejemplo 2

Detección cuantitativa de urea en sangre

a) Papel con ureasa véase Ejemplo 1

b) Papel indicador

10 Un papel de filtro es impregnado con una solución de la siguiente composición, y es secado.

	Cloruro de N-(bis-(2,4-dinitrofanil)-metil)-4-ter.-butil-pípidino	0,44 g
	Etilenglicolmonometiléter	40 ml
15	Poliacrilato (Acrytex SL 865 ^R de la firma Röhm)	6 g
	Agua	60 ml

c) Distanciador

20 Lámina de polipropileno de 20 µ de espesor con 35-45% de superficie de agujeros abiertos.

d) Red de cubierta véase Ejemplo 1

e) Lámina véase Ejemplo 1

25 El tratamiento y la determinación de la urea se llevan a cabo como en el Ejemplo 1, (pero utilizando AEDTA-plaques de sangre) obteniéndose los siguientes valores:

	mg de urea/100 ml de plasma	Señal de medición (fracciones de es- cala) \pm 1 s valores promedios de 10 valores.
	20	11,6 \pm 0,6
5	40	23,0 \pm 1,3
	60	41,2 \pm 1,9
	80	56,7 \pm 1,5
	100	66,4 \pm 0,5
	150	75,3 \pm 0,5
10	200	78,2 \pm 0,4

Ejemplo 3

Detección semicuantitativa de urea en sangre

a) Papel con ureasa

véase Ejemplo 1.

15 b) Papel indicador

Un papel de filtro es impregnado con una solución de la siguiente composición, y es secado a 70°C.

	Azul de bromofenol	0,1 g
	Etilenglicolmonometiléter	9 ml
20	Acido tartárico	0,4 g
	Agua	21 ml

c) Distanciador

Un velo de poliamida aprestado de modo hidrófobo - con resina de silicona, espesor aproximadamente 80 μ .

25 d) Red de cubierta

véase Ejemplo 1

Tratamiento véase Ejemplo 1

Para la determinación de urea en sangre completa se aplica una gota de sangre. Después de un tiempo de reacción

de 7 minutos resultan, dependiendo del contenido de urea, colores de reacción bien diferentes visualmente.

	20 mg de urea/100 ml de sangre	amarillo
	40 mg de urea/100 ml de sangre	verdoso-amarillo
5	60 mg de urea/100 ml de sangre	verde amarillo
	80 mg de urea/100 ml de sangre	verde
	100 mg de urea/100 ml de sangre	verde azul
	150 mg de urea/100 ml de sangre	azul verdoso
	200 mg de urea/100 ml de sangre	azul

10 Ejemplo 4

Detección cuantitativa de creatinina en suero o en sangre

a) Papel con creatinin-desiminasa

Un papel de filtro es impregnado con una solución de la siguiente composición, es secado y luego cortado en cintas de 6 mm de anchura.

	Creatinin-desiminasa	2000 U
	Ditioeritrita	0,1 g
	Tampón TRIS.HCl 0,3 m pH 8,5	100 ml

b) Capa indicadora

20 Una masa con la siguiente composición extendida como recubrimiento en un espesor de 0,1 mm sobre una lámina de policarbonato, se seca y se corta en cintas de 6 mm de anchura.

25	Cloruro de N-(bis-2,4-dinitrofenil)-metil)-4-terbutilpiridinio	0,15 g
	Hidroxipropilcelulosa Culminal PK 82 [®] (Henkel)	0,18 g
	Agua	30 ml
	HCl 0,01 n	1,5 ml

c) Distanciador

Un tejido de telar para serigrafía hidrofobizado - con resina de silicona, con un espesor de hilos de aproximadamente 100 μ y con una superficie de agujeros abiertos de -
5 aproximadamente 35% es cortada en forma de cintas de 25-40 mm de anchura.

d) Red de cubierta

Una red de Nylon hidrófila con un espesor de aproximadamente 60 μ , un espesor de hilos de 40 μ , una superficie
10 de agujeros libres de aproximadamente 65%, es cortada en forma de cintas de 15 mm de anchura.

e) Láminas

Como lámina de soporte y asidero se utiliza una -- cinta de 60-100 mm de anchura y aproximadamente 0,2-0,3 mm de
15 espesor a base de lámina de poliéster recubierta con pegamento por fusión.

Preparación de la tira de ensayo

El papel con creatinin-desiminasa (3), la capa indicadora (1) y el distanciador (2) son sellados juntamente
20 con una red (4) que cubre al papel con creatinin-desaminasa, tal como se muestra en el Ejemplo 1, sobre el extremo de la lámina (5) de 6-10 cm de anchura recubierta con un pegamento por fusión, y la cinta resultante es cortada en forma de tiras de 6 mm de anchura, de manera que resultan zonas de ensa
25 yo de 6 x 6 mm junto a un asidero de 6-10 cm de longitud.

Una de tales tiras es sometida a aplicación por gotas sobre la red de cubierta de 10 μ l de suero y es cerrada

con una etiqueta adhesiva. Después de un tiempo de reacción de 7 minutos se retiran el papel con creatinin-desiminasa y la red de cubierta juntamente con la capa separadora. La colocación de la capa indicadora es medida desde arriba con un
 5 fotómetro de remisión. Dependiendo de la concentración de creatinina se obtienen los siguientes valores de medición:

	mg de creatinina/100 ml	Señal de medición (fracciones de escala)
	0	28
10	0,5	37
	1	47
	2	60
	3	68
	4	73
15	5	76
	6	78
	7	80
	8	82
	9	83
20	10	84

Las concentraciones de creatinina determinadas de esta manera están falseadas de manera natural todavía por el amoníaco también existente en el suero. Se obtienen los valores reales de creatinina si se retiran las concentraciones de amoníaco según el Ejemplo 5 o se elimina el amoníaco desde
 25 el suero mediante medidas apropiadas (por ejemplo intercambiadores de iones) antes de la medición.

Observaciones

El falseamiento por NH_3 tiene importancia sólo en

el caso de la determinación de creatinina, pero no en el caso de la determinación de urea según los Ejemplos 1 y 2, a saber a causa de la proporción más favorable de los valores normales presentes en el suero:

5 NH_3 : 0,016 - 0,038 milimoles/litro;
 creatinina : 0,044 - 0,097 milimoles/litro;
 Urea : 3,5 - 8,3 milimoles/litro.

Ejemplo 5

Detección cuantitativa de amoníaco en suero o sangre

10 a) Papel que desprende amoníaco

Un papel de filtro es impregnado con una solución acuosa de tampón TRIS-HCl 0,3 M de pH 9, es secado y luego cortado en forma de cintas de 6 mm de anchura.

b) - e) análogamente al Ejemplo 4

15 La preparación y la utilización de la tira de ensayo asimismo de modo análogo al Ejemplo 4.

Dependiendo de la concentración de amoníaco, se obtienen los siguientes valores de medición:

20	μg de NH_3 /100 ml	Señal de medición (fracciones de escala)
	0	27
	50	41
	100	50
	150	54
25	200	59
	300	65
	600	75
	1500	85

- REIVINDICACIONES -

1.- Procedimiento para la preparación de un medio de diagnostico para la determinación de amoníaco o de substratos que reaccionan con formación de amoníaco, que consta de un asidero, de una capa indicadora para amoníaco gaseoso fijada sobre éste y una capa de reacción que contiene un tampón alcalino, la cual eventualmente contiene de manera adicional reactivos que reaccionan con el substrato con formación de amoníaco, caracterizado porque la capa indicadora está fijamente unida con el asidero y además de ello la capa de reacción está dispuesta a una distancia de 10-200 μ mediante un distanciador, y porque el distanciador y la capa de reacción pueden ser desprendidos fácilmente de la capa indicadora.

2.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque el distanciador es una red tejida en telar o de punto o una lámina agujereada con un espesor de 10-200 μ y una superficie de agujeros libres de por lo menos 25%.

3.- Procedimiento según las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque la capa de reacción está fijada sobre el asidero mediante una capa de cubierta hidrófila, permeable a los líquidos, preferiblemente por una red tejida en telar o de punto.

4.- Procedimiento según las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque el asidero consta de una lámina de material sintético.

5.- Procedimiento según las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque el substrato es urea y el reactivo

que reacciona con ésta es ureasa y cuando el sustrato es creatinina el reactivo que reacciona con ésta es creatinin-desiminasa.

5 6.- Procedimiento según las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque la capa de reacción contiene de modo adicional agentes humectantes o estabilizadores.

7.- "PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE UN MEDIO DE DIAGNOSTICO PARA LA DETERMINACION DE AMONIACO O DE SUBSTRATOS QUE REACCIONAN CON FORMACION DE AMONIACO".

10 Tal como se describe y reivindica en la presente Memoria Descriptiva que consta de diecinueve hojas escritas a máquina por una sola cara y de sus correspondientes dibujos.

Madrid, 16 MAYO 1979



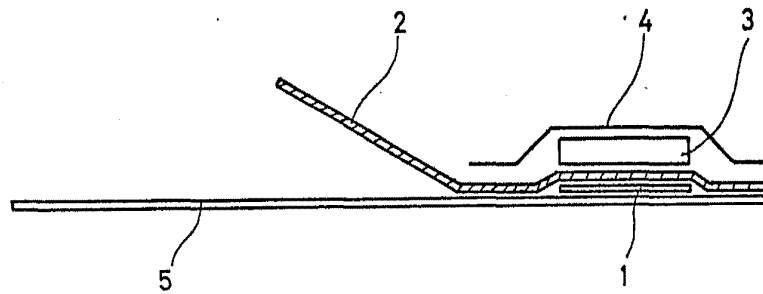


FIG. 1

escala variable

Madrid, 16 Mayo 1979