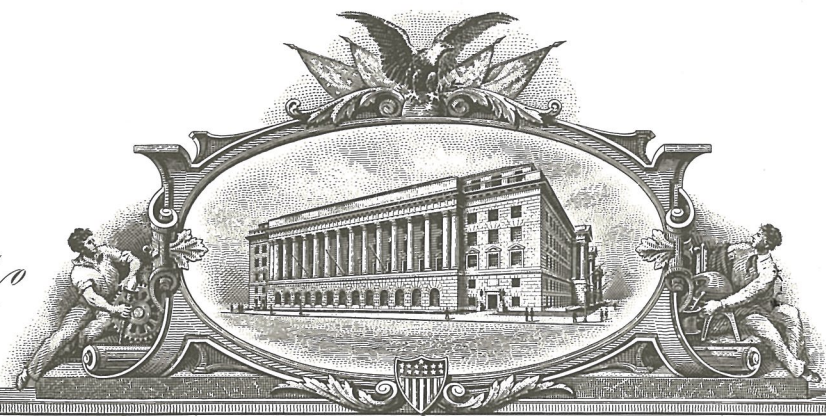


2/97

C. No.

4341527



THE UNITED STATES OF AMERICA

TO ALL TO WHOM THESE PRESENTS SHALL COME:

Whereas, THERE HAS BEEN PRESENTED TO THE
Commissioner of Patents and Trademarks

A PETITION PRAYING FOR THE GRANT OF LETTERS PATENT FOR AN ALLEGED NEW AND USEFUL INVENTION THE TITLE AND DESCRIPTION OF WHICH ARE CONTAINED IN THE SPECIFICATION OF WHICH A COPY IS HEREUNTO ANNEXED AND MADE A PART HEREOF, AND THE VARIOUS REQUIREMENTS OF LAW IN SUCH CASES MADE AND PROVIDED HAVE BEEN COMPLIED WITH, AND THE TITLE THERETO IS, FROM THE RECORDS OF THE PATENT AND TRADEMARK OFFICE IN THE CLAIMANT(S) INDICATED IN THE SAID COPY, AND WHEREAS, UPON DUE EXAMINATION MADE, THE SAID CLAIMANT(S) IS (ARE) ADJUDGED TO BE ENTITLED TO A PATENT UNDER THE LAW.

NOW, THEREFORE, THESE Letters Patent ARE TO GRANT UNTO THE SAID CLAIMANT(S) AND THE SUCCESSORS, HEIRS OR ASSIGNS OF THE SAID CLAIMANT(S) FOR THE TERM OF SEVENTEEN YEARS FROM THE DATE OF THIS GRANT, SUBJECT TO THE PAYMENT OF ISSUE FEES AS PROVIDED BY LAW, THE RIGHT TO EXCLUDE OTHERS FROM MAKING, USING OR SELLING THE SAID INVENTION THROUGHOUT THE UNITED STATES.

In testimony whereof I have hereunto set my hand and caused the seal of the Patent and Trademark Office to be affixed at the City of Washington this twenty-seventh day of July in the year of our Lord one thousand nine hundred and eighty-two, and of the Independence of the United States of America the two hundred and seventh.

Attest:

Marcilla A. Fuller
Attesting Officer.

George W. Smith

Commissioner of Patents and Trademarks.



[54] PROCESS
DETERM
CONTEN

[76] Inventors:

[21] Appl. No.

[22] Filed:

Rel:

[63] Continuation
done.

[30] Foreign

Jan. 25, 1978

[51] Int. Cl.³ ..

[52] U.S. Cl. ..

[58] Field of S

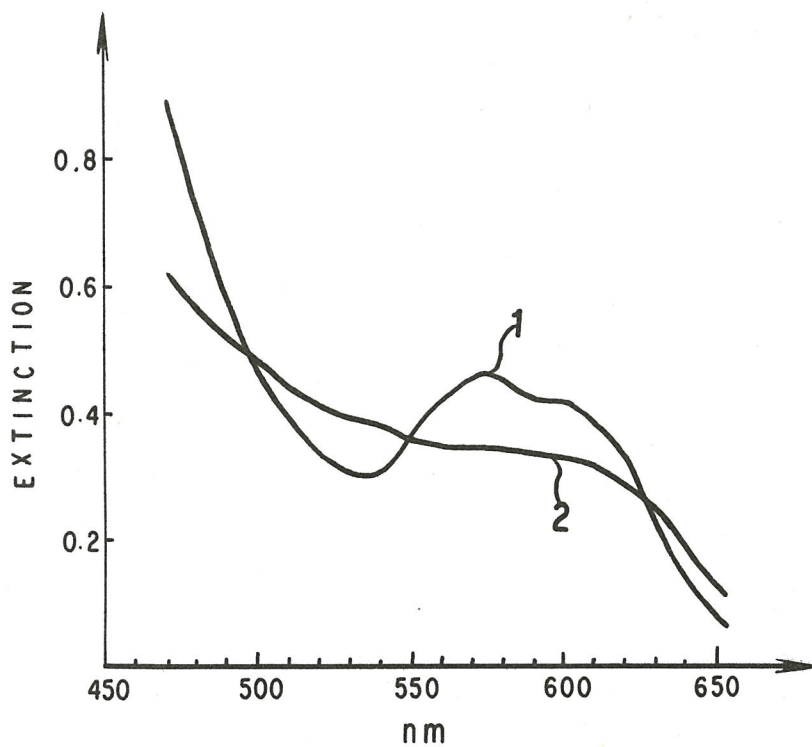


FIG. 1

[54] **PROCESS AND REAGENT FOR DETERMINATION OF THE HEMOGLOBIN CONTENT OF BLOOD**

[76] Inventors: **Rolf Zander**, Reinhold-Schneider-Str. 1; **Werner Lang**, Alter Ruh-Weg, both of Mainz; **Hans U. Wolf**, Lisztstrasse 10, Neu-Ulm, all of Fed. Rep. of Germany

[21] Appl. No.: **170,575**

[22] Filed: **Jul. 21, 1980**

Related U.S. Application Data

[63] Continuation of Ser. No. 5,456, Jan. 22, 1979, abandoned.

[30] Foreign Application Priority Data

Jan. 25, 1978 [DE] Fed. Rep. of Germany 2803109

[51] Int. Cl.³ **G01N 33/72**

[52] U.S. Cl. **23/230 B; 23/913; 252/174.21; 252/408; 356/40**

[58] Field of Search **23/230 B, 913; 252/408, 252/174.21**

[56] References Cited

U.S. PATENT DOCUMENTS

3,816,262	6/1974	Monte	23/230 B X
3,847,545	11/1974	Shanbrom	23/230 B
3,964,865	6/1976	Das	23/230 B
4,011,045	3/1977	Bonderman	23/230 B
4,290,772	9/1981	Frey	356/40 X
4,297,238	10/1981	Vormbrock	23/913

Primary Examiner—Sidney Marantz
Attorney, Agent, or Firm—Hammond & Littell,
Weissenberger & Muserlian

[57] ABSTRACT

A reagent for photometric determination of the hemoglobin content of blood, which produces a characteristic color upon addition of the blood sample, consisting of an aqueous alkaline solution comprising a water-soluble, non-ionic detergent, whereby all hemoglobin-derivatives occurring in the blood and hemedervatives are converted into a unitary end product having a distinct absorption maximum in the visible spectral range.

6 Claims, 1 Drawing Figure

2/97

19 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

12 Patentschrift
11 DE 2803 109 C 2

51 Int. Cl. 4:
G01 N 33/72

21 Aktenzeichen: P 28 03 109.6-52
22 Anmeldetag: 25. 1. 78
43 Offenlegungstag: 26. 7. 79
45 Veröffentlichungstag
der Patenterteilung: 26. 2. 87

DE 2803109 C 2

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden

73 Patentinhaber:
Zander, Rolf, Prof. Dr.med.; Lang, Werner, Dr.
rer.nat., 6500 Mainz, DE; Wolf, Hans Uwe, Prof.
Dr.rer.nat., 7910 Neu-Ulm, DE

72 Erfinder:
gleich Patentinhaber

56 Im Prüfungsverfahren entgegengehaltene
Druckschriften nach § 44 PatG:
Analyst, Vol. 80, 1955, S. 562-565;

54 Verfahren und Reagenz zur Bestimmung des Hämoglobingehaltes des Blutes

DE 2803109 C 2

garantieren muß;

4. die Reaktionszeiten der verschiedenen Hämoglobin-Derivate sind unterschiedlich und zum Teil erheblich zu lang. Ursprünglich wurde für alle Hämoglobin-Derivate eine Reaktionszeit von 3 Minuten angegeben (van KAMPEN und ZIJLSTRA, 1961), eine Aussage, die in den folgenden Jahren modifiziert wurde.

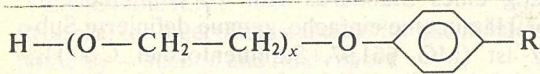
1965 weisen TAYLOR und MILLER nach, daß die Cyan-Hämoglobin-Bildung beim Vorliegen von Carboxy-Hämoglobin deutlich verlängert ist und dementsprechend erhebliche Fehler bei der Hämoglobin-Bestimmung auftreten müssen. Van KAMPEN und ZIJLSTRA schlagen 1965 eine Reaktionszeit von 90 Minuten vor, falls mit Carboxy-Hämoglobin im zu untersuchenden Blut zu rechnen ist. RODKEY weist 1967 nach, daß die Konvertierung von HbCO in Cyan-Hämoglobin bei Zimmertemperatur 90–120 Minuten benötigt, während HbO₂ nur 10 Minuten beansprucht. Dieser Autor kann die Reaktionszeit für die Umwandlung von HbCO zu Cyan-Hämoglobin auf 15 Minuten verkürzen, wenn die Konzentration von Kalium-Ferricyanid verfünffacht wird. RICE (1967) löst dieses Problem dadurch, daß die Lösung auf 56°C erhitzt wird. Die Reaktion von HbCO zu Cyan-Hämoglobin ist dann nach 3–5 Minuten abgeschlossen.

Daß Carboxy-Hämoglobin sehr viel langsamer zu Hämoglobin oxidiert wird als andere Derivate (Hb, HbO₂), wird zudem bei der sogenannten HOPPE-SEYLER'schen Probe für einen qualitativen HbCO-Nachweis im Blut benutzt (vergleiche MASSMANN, 1954).

Weitere Fehlermöglichkeiten konnten ausgeschlossen werden. Zum Beispiel wurde eine Ausfällung von Plasma-Eiweißen und eine damit verbundene Trübung (vergl. z. B. GREEN und TEAL, 1959) dadurch vermieden, daß der Reaktionslösung ein Detergens zugegeben wurde (van KAMPEN und ZIJLSTRA, 1961).

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, einen zuverlässigen quantitativen Hämoglobin-Nachweis zu entwickeln, der die genannten Vorteile des derzeitigen Cyan-Hämoglobin-Verfahrens besitzt und die genannten Nachteile desselben beseitigt.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß mit einem Reagenz gelöst, das aus einer wäßrig-alkalischen Lösung mit einem Gehalt an einem wasserlöslichen nichtionischen Detergens besteht, wobei das Detergens ein Polyäthylglykol-p-alkylphenyläther der allgemeinen Formel



ist, wobei $7 \leq x \leq 12$ und R einen Alkylrest vom Typ Methyl, Ethyl, Propyl, Butyl, Pentyl, Hexyl, Heptyl, Octyl, Nonyl, Decyl, Undecyl und Dodecyl bedeutet, oder ein Polyäthylenglycollauryl-, -cetyl-, -oleyl- oder -stearyläther ist.

Dadurch werden alle (im Blut vorkommenden) Hämoglobin-Derivate und Häm-Derivate in ein einheitliches Endprodukt mit einem ausgeprägten Absorptionsmaximum im sichtbaren Spektralbereich überführt. Das Absorptionsmaximum der Endprodukte liegt bei etwa 575 nm. Weiterbildungen und bevorzugte Ausführungsformen der Erfindung sind in den Unteransprüchen beschrieben.

Die Bestimmung des Hämoglobins als alkalisches Hämatin wurde erstmals 1922 von WU beschrieben. Allerdings zeichnete sich dieses Verfahren durch eine gewis-

se Umständlichkeit aus: Hämoglobin wurde durch Zugabe von konzentrierter Salzsäure in saures Hämatin umgewandelt, das anschließend durch Zugabe von Natronlauge alkalisiert wurde. Die benötigte Zeit für eine Bestimmung betrug deshalb auch etwa eine Stunde. Den Vorteil gegenüber anderen Verfahren, wie saures Hämatin, Methämoglobin oder Cyan-Hämoglobin, sah WU darin, daß Störungen durch Plasmabestandteile nicht auftraten. CLEGG und KING (1942) gaben ein Verfahren zur Hämoglobin-Bestimmung über das alkalische Hämatin an, bei welchem als Reaktionslösung eine 0,1 n Natronlauge benutzt wurde, die nach Zugabe des Blutes für 4–5 Minuten im Wasserbad von 100°C erhitzt wurde. Dieses Vorgehen erschien den Autoren deshalb notwendig, da fetales Hämoglobin und alkali-resistentes Erwachsenen-Hämoglobin eine zu langsame Farbentwicklung zeigten.

Nach 1942 gab es eine Reihe von Autoren, die über zufriedenstellende Ergebnisse mit dem Verfahren alkalisches Hämatin berichteten (KING et al., 1948; MacFARLANE et al., 1948; DONALDSON et al., 1951; KING et al., 1951; SCAIFE, 1955). Es wurden auch einige Modifizierungen vorgeschlagen, z. B. die Verwendung einer anderen Wellenlänge (SCAIFE, 1955) oder eines speziellen Standards (KING, 1947).

Andere Autoren hingegen verwarfen das Verfahren alkalisches Hämatin wegen zu langer Reaktionszeiten oder störender Einflüsse durch Plasmabestandteile (PONDER, 1942; SUNDERMAN et al., 1953). Die zur gleichen Zeit weit verbreitete Methode des Cyan-Hämoglobins verdrängte das Verfahren alkalisches Hämatin mehr und mehr, so daß später sogar auf eine "Besprechung des alkalischen Hämatins verzichtet werden konnte" (LEGOWSKI und BOROVICZENY, 1962).

Das erfindungsgemäße Verfahren geht von dem klassischen Verfahren auf der Basis von alkalischem Hämatin aus, wie es etwa bei J. F. SCAIFE, Analyst, Vol. 80, Seite 562–565 beschrieben ist. Jedoch unterscheidet sich das erfindungsgemäße Verfahren von dem bekannten insofern, als ein alkalisches Hämatin mit besonderen Eigenschaften bezüglich

- Spektrum,
- Bildungsgeschwindigkeit und
- Haltbarkeit

entsteht, das im folgenden kurz als "alkalisches Hämatin D-575" bezeichnet wird.

Mit der Erfindung sind folgende Besonderheiten und Vorteile verbunden:

1. Alle Häm- und Hämoglobin-Derivate werden quantitativ in ein einheitliches Reaktionsprodukt, alkalisches Hämatin D-575, überführt und bei der photometrischen Messung erfaßt: Hämoglobin, Oxy-Hämoglobin, Carboxy-Hämoglobin, Hämoglobin, Sulf-Hämoglobin, Cyan-Hämoglobin, fetales Hämoglobin sowie Chlorhäm.
2. Die Bildung des alkalischen Hämatins D-575 nach Zugabe der Probe zur Reaktionslösung ist nach spätestens 2 Minuten abgeschlossen, und das Reaktionsprodukt zeigt über Wochen die gleiche Extinktion. Dies gilt ohne Ausnahme für alle unter 1. genannten Häm- und Hämoglobin-Derivate.
3. Die verwendete Reaktionslösung zeigt ideale Eigenschaften:

- a. Es wird nur eine Reaktionslösung benötigt.

2/97

REPUBLIK ÖSTERREICH



PATENTURKUNDE

GEMÄSS DEM PATENTGESETZ IST
FÜR DIE IN DER ANGEFÜGTEN PATENTSCHRIFT
BESCHRIEBENE ERFINDUNG
EIN PATENT UNTER DER

NR. 367204

ERTEILT WORDEN.

WIEN, DEN 11. JUNI 1982

ÖSTERREICHISCHES PATENTAMT
PATENTREGISTER

Silde



DIE JAHRESGEBÜHREN
WERDEN ALLJÄHRLICH FÄLLIG AM 15. OKTOBER



ÖSTERREICHISCHES (51) Int.Cl³.: G01N 033/72
PATENTAMT

(19)

AT PATENTSCHRIFT

(11) Nr.367 204

(73) Patentinhaber: ZANDER ROLF DR.
MAINZ, BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND
LANG WERNER DR.
MAINZ, BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND
WOLF HANS UWE DR.
NEU-ULM, BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

(54) Gegenstand: VERFAHREN UND REAGENZ ZUR BESTIMMUNG DES
HÄMOGLOBINGEHALTES DES BLUTES

(61) Zusatz zu Patent Nr.

(62) Ausscheidung aus:

(22) (21) Angemeldet am: 1979 01 22, 432/79

(23) Ausstellungspriorität:

(33) (32) (31) Unionspriorität: BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND
2803109

(DE) 1978 01 25
BEANSPRUCHT

(42) Beginn der Patentdauer: 1981 10 15

Längste mögliche Dauer:

(45) Ausgegeben am: 1982 06 11

(72) Erfinder:

(60) Abhängigkeit:

(56) Druckschriften, die zur Abgrenzung vom Stand der Technik in Betracht gezogen wurden:

US-PS 3964865



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT - CONFÉDÉRATION SUISSE - CONFEDERAZIONE SVIZZERA

URKUNDE

über die Erteilung des Erfindungspatentes Nr.

Nachdem die gesetzlichen Bedingungen erfüllt worden sind, ist für die in der beigelegten Patentschrift dargelegte Erfindung ein Patent erteilt worden, das die oben angegebene Nummer erhalten hat.

Erfindungspatente werden ohne Gewährleistung des Staates erteilt.

Bern, Datum der Patenterteilung.

CERTIFICAT

de délivrance du brevet d'invention no

646525

Les conditions requises par la loi étant remplies, un brevet portant le numéro susmentionné a été délivré pour l'invention décrite dans le fascicule ci-joint.

Les brevets d'invention sont délivrés sans garantie de l'Etat.

Berne, date de la délivrance du brevet.

CERTIFICATO

di rilascio del brevetto d'invenzione no

Le condizioni prescritte dalla legge essendo soddisfatte, un brevetto contrassegnato dal suindicato numero è stato rilasciato per l'invenzione descritta nel fascicolo allegato.

I brevetti d'invenzione sono rilasciati senza garanzia dello Stato.

Berna, data del rilascio del brevetto.

BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM
OFFICE FÉDÉRAL DE LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE
UFFICIO FEDERALE DELLA PROPRIETÀ INTELLETTUALE

Der Direktor / Le Directeur / Il Direttore:

Braendli

Auf der ersten Seite der Patentschrift sind alle wesentlichen Angaben betreffend das vorliegende Erfindungspatent enthalten.

Weitere Angaben, die für den Patentinhaber von Interesse sind, befinden sich auf der dritten Umschlagseite.

Sur la première page du fascicule du brevet figurent toutes les indications essentielles relatives au brevet d'invention considéré.

D'autres indications utiles au titulaire du brevet figurent à l'avant-dernière page du présent certificat.

Sulla prima pagina del fascicolo del brevetto figurano tutte le indicazioni essenziali concernenti il brevetto in questione.

Altre indicazioni utili al titolare del brevetto si trovano in terza pagina del presente certificato.


Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

(12) PATENTSCHRIFT A5

(11)

646 525

(21) Gesuchsnummer: 3392/80	(73) Inhaber: Prof. Dr. med. Rolf Zander, Mainz (DE) Dr. rer. nat. Werner Lang, Mainz (DE) Prof. Dr. rer. nat. Hans Uwe Wolf, Neu-Ulm (DE)
(22) Anmeldungsdatum: 19.01.1979	(72) Erfinder: Zander, Rolf, Prof. Dr. med., Mainz (DE) Lang, Werner, Dr. rer. nat., Mainz (DE) Wolf, Hans Uwe, Prof. Dr. rer. nat., Neu-Ulm (DE)
(30) Priorität(en): 25.01.1978 DE 2803109	(74) Vertreter: Schmauder & Wann, Patentanwaltsbüro, Zürich
(24) Patent erteilt: 30.11.1984	(86) Europäische Anmeldung: EP 79100171.2 (De)
(45) Patentschrift veröffentlicht: 30.11.1984	(87) Europäische Veröffentlichung: EP 0 003 340 (De) 08.08.1979

(54) Reagenz und seine Verwendung zur Bestimmung des Hämoglobingehaltes einer Blutprobe.

(57) Beschrieben wird ein Reagenz für die photometrische Bestimmung des Hämoglobingehaltes im Blut, das nach Zugabe der Blutprobe eine charakteristische Farbe zeigt. Dieses Reagenz besteht aus einer wässrigen alkalischen Lösung, die ein wasserlösliches nicht-ionisches Detergens enthält. Diese Lösung bewirkt die Umwandlung aller Hämoglobin- und Häm-Derivate, die im Blut enthalten sind, in ein einziges Endprodukt, das ein bestimmtes Absorptionsmaximum im sichtbaren Spektralbereich aufweist.

Beschrieben wird ferner das Verfahren zur Bestimmung des Hämoglobingehaltes im Blut unter Verwendung des oben erwähnten Reagenz.



This application was originally filed on 19 Jan 1979 at the European Patent Office (EPO) under application number 79100171 and published on 8 Aug 1979 by the EPO under serial number 0003340 in the German language. The application has been converted to an application under Section 81(1)(A) of the Patents Act 1977.

(12) **UK Patent** (19) **GB** (11) **2 052 056 B**

(54) Title of invention

Process and reagent for determining the haemoglobin content of the blood

(51) INT CL³: G01N 33/72

(21) Application No
8004473

(22) Date of filing
19 Jan 1979

(30) Priority data

(31) **2803109**

(32) **25 Jan 1978**

(33) **Fed. Rep. of Germany (DE)**

(43) Date of issue
21 Jan 1981

(45) Patent published
12 Jan 1983

(52) Domestic classification
G1B BV

(56) Documents cited
GB, 1582224
GB, 1572509
GB 1533661
US, A, 3847545
FR, A, 1422881
Chemical Abstracts, Vol. 89, Nr
9, 28 Aug 1978
Zusammenfassung Nr. 71645n,
Columbus, Ohio, USA
L. Bolis et al; "Action of Some
Amionic and Non-ionic
Detergents on Human
Erythrocyte Membranes" Seite
115 Rechte Spalte & Boli, Soc
Ital Biol, Sper, 1977, 53 (20),
1755-61 (Ital) US, A, 4050898

(58) Field of search
G01N 33/16 G1B

(73) Proprietors
Rolf Zander,
1 Reinhold-Schneider-Strasse,
D—6500 Mainz, Federal
Republic of Germany,
Hans Uwe Wolf,
Prof. Dr. Lisztstrasse 10,
D—7910, Neu-Ulm, Federal
Republic of Germany,
E. Werner Lang,
Alter Ruh-Weg, D—6500
Mainz, Federal Republic of
Germany

(72) Inventors
Rolf Zander,
Werner Lang,
Hans Uwe Wolf

(74) Agents
Frank B Denn & Co.,
Imperial House, 15—19
Kingsway, London WC2B 6UZ

SPECIFICATION

Process and reagent for determining the haemoglobin content of the blood

5 The invention is concerned with a process and a reagent for photometric determination of the haemoglobin content of the blood, producing a characteristic staining upon addition of a blood sample.

10 The quantitative determination of haemoglobin in blood is one of the most frequently performed analyses in the field of clinical chemistry. During this century various processes have been developed therefor, showing, however, considerable differences regarding accuracy, reliability and reproducibility (see the following textbooks of clinical chemistry: HALLMANN, L. "Klinische Chemie und Mikroskopie", 10th Edition, Thieme, Stuttgart, 1966; HENRY R. J. "Clinical Chemistry", 1st Edition, Harper & Row, New York, 1964; RICHTERICH, R. "Klinische Chemie", 3rd Edition, Karger, Basel, 1971; HENRY, R. J., CANNON, D. C. and WINKELMAN, J. W. "Clinical Chemistry", 2nd Edition, Harper & Row, New York, 1974; and RICK, W. "Klinische Chemie und Mikroskopie", 4th Edition, Springer, Berlin/Heidelberg/New York, 1976):

1. Spectrophotometric processes (as carboxy-haemoglobin, oxy-haemoglobin or cyano-haemoglobin, as cyanohaematin, acid or alkaline haematin, as well as pyridine-haemochromagen);
2. Gasometric processes (determination of oxygen or carbon monoxide capacity);
3. Chemical processes (determination of iron content);
4. Other processes (refractometry, densimetry, and enzymatic reactions such as the pseudoperoxidase activity of haemoglobin).

40 Of these methods the spectrophotometric cyano-haemoglobin process has become predominant and is now used worldwide. In the years 1953 to 1963, after practically all laboratories had introduced this process in place of other processes (see SPAANDER, J. "Die Ververtung von Blutuntersuchungen", Strahlenschutz i. Forschung und Praxis 4 (1964) 122—127 and SUNDERMAN, F. W. "Status of clinical hemoglobinometry in the United States", Am. J. Clin. Pathol. 43 (1965) 9—15) and a cyano-haemoglobin standard has been recommended (CANNAN, R. K. "Proposal for a certified standard for use in hemoglobinometry — second and final report", J. Lab. Clin. Med. 52 (1958) 471—476), this process was recommended by the "Deutsche Gesellschaft für innere Medizin" 1962 (see "Beschluss der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin betreffend Standardisierung der Hämoglobin — Bestimmung", Ärztl. Labor 8 (1962) 188) and the International Committee for Standardisation in Haematology (ICSH) 1967 (see ICSH "Recommendations for haemoglobinometry in

human blood" Brit. J. Haemat. 13 (1967) 71—75). Since this time the process has been considered as routine procedure.

65 In Germany it has the function of a reference process, that is other processes may be applied only if the relation of the results obtained therewith to the result of the reference method is known (Deutsche Normen "Bestimmung des Hämoglobingehaltes im Blut", DIN standard 58 931 (1970)).

70 Introduction of the cyano-haemoglobin process as a standard process has led to the formation of prejudices against other methods among the specialists:

"Haemoglobin cyanide is the only known stable haemoglobin derivative" (RICHTERICH, R. "Klinische Chemie", 1971); "all other processes are to be rejected" (RICK, W. "Klinische Chemie und Mikroskopie", 1976); "... cyano-haemoglobin (most accurate proof)" (HALLMANN, L. "Klinische Chemie und Mikroskopie", 1966).

85 The principle of the cyano-haemoglobin process consists of oxidising the haemoglobin with potassium ferrocyanide to haemoglobin and converting same with potassium cyanide to cyano-haemoglobin. In doing so, a modified so-called Drabkin solution is used as reaction solution, as indicated originally by E. J. van KAMPEN and W. G. ZIJLSTRA ("Standardization of hemoglobinometry I. The extinction coefficient of hemoglobincyanide at $\nu = 540 \text{ m}\mu$: $\epsilon_{\text{HbCN}}^{540}$ ", Clin. Chim. Acta 5 (1960) 719—726 and "Standardization of hemoglobinometry. II. The hemoglobincyanide method", Clin. Chim. Acta 6 (1961) 538—544).

This process has the following advantages;

1. Use of one solution reaction only;
2. All haemoglobin derivatives of the blood are included (deoxy-haemoglobin, oxy-haemoglobin, carboxy-haemoglobin, haemoglobin and largely also sulphohaemoglobin);
3. The cyano-haemoglobin possesses a broad and flat extinction maximum at 540 nm, so that even with unpretentious filter photometers reliable results may be obtained;
4. The Lambert-Beer law is valid over a wide measuring range;
5. Production and dispatch of stable standard solutions for control purposes is possible; they may be produced either from crystalline haemoglobin or from washed erythrocytes;
6. Cyano-haemoglobin is a stable haemoglobin derivative, allowing measurement of the extinction after several minutes or after a matter of several days.

120 The disadvantages of the cyano-haemoglobin process are as follows (see HENRY, R. J. "Clinical Chemistry", 1964, page 740):

1. The toxicity of the reaction solution demands special measures for handling it (use of mechanical pipettes, careful elimination of the

SPAIN
SPANIEN
ESPAGNE

N.º 477.103

2/97

LETTERS PATENT
ERTEILUNGSURKUNDE
TITRE OFFICIEL DE BREVET

Case: }
Betr.: } Erfindungspatent Nr. 477.103
Réf.: }

Applicant: }
Anmelder: } PROF. DR. ROLF ZANDER, DR WERNER LANG und PROF. DR. HANS UWE WOLF }
Déposant: } Inventor: } d. Anmelder
Erfinder: }
Inventeur: }

Priority: }
Priorität: } B.R.D., Nr. P 28 03 109.6 }
Priorité: } v. 25.1.1978 } Short title: }
Kennwort: } HAEMOGLOBINGEHALT
Titre abrégé: }

Filed on: }
Hinterlegt am: } 24.1.1979
Déposé le: }

Granted on: } Erteilt am: } 27.4.1979 Accordé le: }

(This grant date, not shown on the Letters Patent itself, has been taken from the Gazette publication).

Term of this registration: years from the date of grant, which marks the due date for payment of taxes and compliance with working formalities.

Schutzdauer dieser Eintragung: 20 Jahre ab Erteilungsdatum, das auch für die Berechnung der Fälligkeiten von Jahresgebühren und Ausübungsformalitäten gilt.

Durée de cet enregistrement: ans à partir de la date de son accord qui marque les échéances des taxes et des formalités de mise en oeuvre.

Date of disclosure of this registration in Spain:

Datum der Verbreitung dieser Eintragung in Spanien:

Date de divulgation de cet enregistrement en Espagne:

20.7.1979

This grant has been announced in the Official Gazette published on
Diese Erteilung ist im Amtsblatt vom 2. 1.7.1979 veröffentlicht worden.
Cette concession a été publiée dans le Bulletin Officiel du



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 (21)	NUMERO 77103	(10) A1
	(22) FECHA DE PRESENTACION 24-1-79	

PATENTE DE INVENCION

(30) PRIORIDADES: (31) NUMERO P 28 03 109.6	(32) FECHA 25-1-78	(33) PAIS Rep. Fed. Alemana
---	-----------------------	--------------------------------

(47) FECHA DE PUBLICIDAD	(51) CLASIFICACION INTERNACIONAL G 01 N	(62) PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
--------------------------	--	--

(54) TITULO DE LA INVENCION

"PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACION DEL CONTENIDO DE HEMOGLOBINA DE UNA MUESTRA DE SANGRE"

(71) SOLICITANTE (S)

1) PROF. DR. ROLF ZANDER, 2) DR. WERNER LANG y 3) PROF. DR. HANS UWE WOLF

Case 2/97

DOMICILIO DEL SOLICITANTE

1) Reinhold-Schneider-Str. 1, D-6500 Mainz, 2) Alter Ruh-Weg, D-6500 Mainz, y 3) Lisztstrasse 10, D-7910 Neu-Ulm/Offenh., Fed. de República Federal Alemana

(72) INVENTOR (ES)

Los mismos solicitantes

(73) TITULAR (ES)

(74) REPRESENTANTE

D. FERNANDO DE ELZABURU MARQUEZ (P.- 70.790)

Le Ministre de l'Economie Nationale;

Vu la loi modifiée du 30 juin 1880 sur les brevets d'invention et les dispositions complémentaires applicables aux demandes européennes transformées et aux demandes internationales conformément aux lois du 27 mai 1977;

Vu la requête en délivrance d'un titre de protection luxembourgeois présentée le 3 mars 1979 et fondée sur la demande européenne/~~internationale~~ No. 79100171.2 déposée le 19 janvier 1979

Attendu que la requête et les pièces annexées sont régulières en la forme;

ARRÊTE:

ART. 1^{er}.- Il est délivré à Messieurs Hans Uwe WOLF Prof.Dr.à NEU ULM, Werner LANG, à MAINZ et Rolf ZANDER, Prof.Dr., à MAINZ, représentés par Monsieur Jacques de Muysen, à Luxembourg, qui a fait élection de domicile, pour lui et son mandant à Luxembourg, en sa demeure, un

BREVET D'INVENTION

No 82 052

pour: "Verfahren und Reagenz zur Bestimmung des Hämoglobingehaltes des Blutes"
Int.Cl. G01N

La durée de protection vient à expiration au plus tard au terme de la vingtième année comptée à partir du lendemain du jour de dépôt de la demande de brevet.

La délivrance de ce titre de protection a lieu sans examen préalable, aux risques et périls du demandeur, et sans garanties, soit de la réalité, de la nouveauté ou du mérite de l'invention, soit de la fidélité et de l'exactitude de la description.

Revendication de la priorité de la demande de brevet, déposée en R.F.A. le 25.1.1978. Les inventeurs de la présente sont Messieurs Rolf ZANDER, Prof.Dr., à MAINZ, Werner LANG, Dr. à MAINZ et Hans Uwe WOLF, Prof.Dr., à NEU-ULM.

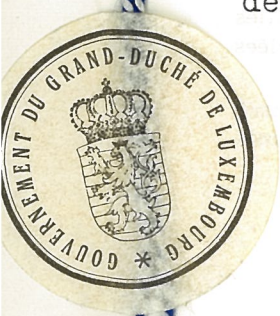
Art.2.- Le présent arrêté, qui constitue le brevet d'invention, est expédié au déposant pour lui servir de titre.

A cet arrêté demeureront joints les duplicata de la description et éventuellement des dessins déposés à l'appui de la demande.

Luxembourg, le 23 AVR. 1980

Pr. Le Ministre de l'Economie Nationale,
Le Conseiller de Gouvernement,

T.S.V.P.



Die Erfindung betrifft ein Verfahren und ein Reagenz zur photometrischen Bestimmung des Hämoglobingehaltes des Blutes, das beim Eindosieren der Blutprobe eine charakteristische Verfärbung liefert.

5

Die quantitative Bestimmung des Hämoglobins im Blut ist eine der am häufigsten durchgeführten Analysen im Bereich der klinischen Chemie. Im Laufe dieses Jahrhunderts sind dazu verschiedene Verfahren entwickelt worden, die sich jedoch
10 bezüglich Genauigkeit, Zuverlässigkeit und Reproduzierbarkeit erheblich voneinander unterscheiden (vgl. Lehrbücher der klinischen Chemie: HALLMANN, 1966; HENRY, 1964; RICHTERICH, 1971; HENRY et al., 1974; RICK, 1976):

- 15 1. Spektrophotometrische Verfahren (als Carboxy-Hämoglobin, Oxy-Hämoglobin oder Cyan-Hämoglobin, als Cyan-Hämatin, saures oder alkalisches Hämatin sowie als Pyridin-Hämochromogen);
- 20 2. Gasometrische Verfahren (Bestimmung der Sauerstoff- oder Kohlenmonoxid-Kapazität);
3. Chemische Verfahren (Bestimmung des Eisengehaltes);
- 25 4. Andere Verfahren (Refraktometrie, Dichtemessung, enzymatische Reaktionen wie die Pseudoperoxidaseaktivität des Hämoglobins).

Von diesen hat sich das spektrophotometrische Cyan-Hämoglobin-Verfahren durchgesetzt und eine weltweite Verbreitung
30 gefunden. Nachdem in den Jahren 1953 bis 1963 praktisch alle Laboratorien dieses Verfahren anstelle anderer Verfahren eingeführt hatten (vgl. SPAANDER, 1964; SUNDERMAN, 1965) und ein Cyan-Hämoglobin-Standard empfohlen worden war (CANNAN,
35 1958), wurde dieses Verfahren von der Deutschen Gesellschaft für innere Medizin 1962 und vom International Committee for Standardization in Hematology (ICSH) 1967 empfohlen. Seit dieser Zeit gilt dieses Verfahren als Routineverfahren.

rl



N° BTR 47

2/97

Classif. Internat. : G 01 N 33/16

MINISTÈRE DES AFFAIRES ÉCONOMIQUES

Le Ministre des Affaires Economiques,

Vu la Convention sur la délivrance de brevets européens, notamment les articles 135 à 137;

Vu la loi du 8 juillet 1977 portant approbation de divers actes internationaux, dont ladite Convention, notamment l'article 8;

Vu la loi du 24 mai 1854 sur les brevets d'invention;

Vu la Convention d'Union pour la protection de la propriété industrielle;

*Vu la demande de brevet européen déposée le ...19...janvier.....1979
sous le numéro.....791.00171.2*

Vu la requête en transformation de cette demande en demande de brevet belge reçue par le service belge de la propriété industrielle et commerciale le4...janvier 1980

ARRÊTE :

Article 1.- Il est délivré à MM. Rolf ZANDER, Werner LANG et Hans Uwe WOLF,
 resp. : Reinhold-Schneider-Strasse 1, 6500 Mainz,
 : Alter Ruh-Weg, 6500 Mainz,
 : Lisztstrasse 10, 7910 Neu-Ulm (Allemagne)
 repr. par l'Office Kirkpatrick-G.C. Plucker à Bruxelles,

*un brevet d'invention pour: Procédé et réactif pour la détermination de
la teneur en hémoglobine du sang,
(Inv. : R. Zander , W. Lang et H.U. Wolf)*

qu'ils déclarent avoir fait l'objet d'une demande de brevet
déposée en Allemagne (République Fédérale) le 25 janvier
1978, n° P 28 03109-6

Article 2.- Ce brevet lui est délivré sans examen préalable, à ses risques et périls, sans garantie soit de la réalité, de la nouveauté ou du mérite de l'invention, soit de l'exactitude de la description, et sans préjudice du droit des tiers.

Au présent arrêté demeurera joint un des doubles de la spécification de l'invention (mémoire descriptif et éventuellement dessins) fournie à l'appui de la requête en transformation.



BTR



BREVETS D'INVENTION - DESSINS ET MODÈLES INDUSTRIELS - MARQUES DE FABRIQUE

OFFICE KIRKPATRICK

G. C. L. PLUCKER

— FONDÉ EN 1858 —

CONSEILS EN PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

SQUARE DE MÉRÛS 4 - 1040 BRUXELLES

MÉMOIRE DESCRIPTIF

DÉPOSÉ A L'APPUI D'UNE DEMANDE

DE

BREVET D'INVENTION

FORMÉE PAR

Rolf ZANDER, Werner LANG et Hans Uwe WOLF.

p o u r

Procédé et réactif pour la détermination de la teneur en
hémoglobine du sang.

Demande de brevet déposée en Allemagne Fédérale n° P 2803109-6
du 25 janvier 1978 en leur faveur.

EXEMPLAIRE
CERTIFIÉ CONFORME

3e alinéa de l'article 57 du décret 79 821 du 7/9/1979



2-97

- ① N° de publication : **2 482 729**
(à n'utiliser que pour les commandes de reproduction)
- ② N° d'enregistrement national : **80 00188**
- ⑤ Int Cl³ : G 01 N 33/72, 21/79.

⑫

BREVET D'INVENTION**B1**

- ⑤④ Procédé et réactif pour la détermination de la teneur en hémoglobine du sang.

②② Date de dépôt : 3 janvier 1980.

③① Priorité : DE, 25 janvier 1978, n° P 28 03 109.6.

⑥① Références à d'autres documents nationaux apparentés : Transformation de la demande de brevet européen n° 79 100171.2 déposée le 19 janvier 1979 (chap. III du décret n° 781011 du 10 octobre 1978).

⑦① Demandeur(s) : ZANDER Rolf, LANG Werner et WOLF Hans Uwe. — DE.

④③ Date de la mise à disposition du public de la demande : BOPI « Brevets » n° 47 du 20 novembre 1981.

④⑤ Date de la mise à disposition du public du brevet d'invention : BOPI « Brevets » n° 19 du 7 mai 1987.

⑦② Inventeur(s) :

⑤⑥ Liste des documents cités dans le rapport de recherche :

⑦③ Titulaire(s) :

Se reporter à la fin du présent fascicule

⑦④ Mandataire(s) : Cabinet Passeraud.

FR 2 482 729 - B1

Procédé et réactif pour la détermination de la teneur en hémoglobine du sang.

L'invention concerne un procédé et un réactif pour la détermination photométrique de la teneur en hémoglobine du sang qui fournit une coloration caractéristique lors de l'introduction de l'échantillon de sang.

5 La détermination quantitative de l'hémoglobine dans le sang est l'une des analyses les plus souvent effectuées dans le domaine de la chimie clinique. Au cours du siècle actuel on a développé différents procédés dans ce but, qui cependant se différencient de façon considérable
10 les uns des autres en ce qui concerne la précision, l'exactitude et la reproductibilité (voir Lehrbücher der klinischen Chemie : HALLMANN, 1966; HENRY, 1964; RICHTERICH, 1971; HENRY et al., 1974; RICK, 1976) :

- 15 1. Procédé spectrophotométrique (sous forme de carboxy-hémoglobine, d'oxy-hémoglobine ou de cyano-hémoglobine, sous forme de cyano-hématine, d'hématine acide ou alcaline ainsi que sous forme de pyridine-hémochromogène);
2. Procédé gasométrique (dosage de la capacité en oxygène ou en monoxyde de carbone);
- 20 3. Procédé chimique (détermination de la teneur en fer);
4. Autres procédés (réfractométrie, densitométrie, réactions enzymatiques telles que l'activité de la pseudo-peroxydase de l'hémoglobine).

25 Parmi ceux-ci, le procédé spectrophotométrique à la cyano-hémoglobine s'est imposé et a trouvé une diffusion mondiale. Après que dans les années 1953 à 1963 pratiquement tous les laboratoires aient introduit ce procédé au
30 lieu d'autres procédés (voir SPAANDER, 1964; SUNDERMAN, 1965) et qu'une cyano-hémoglobine étalon ait été recommandée (CANNAN, 1958), ce procédé a été recommandé par le Comité Allemand pour la médecine interne (Deutsche Gesellschaft für innere Medizin) en 1962 et par le Comité International pour la standardisation en hématologie (International Committee for Standardization in Hematology -
35