



ESPAÑA

19 ES 11 21 22
- 6 JUN. 1977
Concedido el Registro de acuerdo con los datos que figuran en la presente descripción y según el contenido de la memoria o partes.

NUMERO	459.675
FECHA DE PRESENTACION	- 2 JUN. 1977

10 A1

PATENTE DE INVENCION

30 PRIORIDADES:	31 NUMERO Serial nº	32 FECHA	33 PAIS
	689.242	24 de Mayo de 1976	USA
	794.864	9 de Mayo de 1977	USA

37 FECHA DE PUBLICIDAD	38 CLASIFICACION INTERNACIONAL	39 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	C07C; G01N	

34 TITULO DE LA INVENCION

"UN PROCEDIMIENTO PARA LA FABRICACION DE UN SUERO PARA EL CONTROL CLINICO".

35 SOLICITANTE (ES)

D. William Vilee Dorwart, Jr. y
D. Walter Brummund, Jr.,

DOMICILIO DEL SOLICITANTE

BALA CYNWYD, Estado de Pennsylvania (U.S.A.)
124 Maple Avenue y CITY OF PHILADELPHIA, Estado de Pennsylvania (U.S.A.) 4033 Spruce Street, respectivamente.

36 INVENTOR (ES)

D. William Vilee Dorwart, Jr. y
D. Walter Brummund, Jr.

37 TITULAR (ES)

38 REPRESENTANTE

D. Alfonso Durán Olivella.

MEMORIA DESCRIPTIVA

La presente Patente de Invención se refiere a un material patrón para laboratorio y más particularmente, a un suero sanguíneo estable de referencia o patrón, así como al método de preparación y a su utilización.

5. Se han desarrollado diferentes tipos de aparatos en tiempos recientes para el análisis automático de suero de la sangre humana, cuyos aparatos son capaces de llevar a cabo de modo rápido ciertas determinaciones analíticas simultáneas, sobre una base cuantitativa precisa, de diferentes componentes de una serie de muestras de suero sanguíneo sucesivamente introducidas en el aparato. Las determinaciones bioquímicas que se pueden realizar, por ejemplo, por dicho aparato, se refieren a los siguientes componentes del suero sanguíneo: albúmina,
10. fosfatasa alcalina, bilirrubina, calcio, cloruros, colesterol, contenido en dióxido de carbono, creatinina, glucosa, dehidrogenasa láctica, fósforo inorgánico, potasio, sodio, proteínas totales, transaminasa, nitrógeno de urea,
15. ácido úrico y creatina fosfoquinasa.
20. Para calibrar el aparato del tipo utilizado para realizar estas determinaciones se utiliza una muestra de suero de sangre de tipo patrón o de referencia, cuyos componentes tienen valores predeterminados de modo exacto. Es necesario en cuanto a dichos sueros patrón o de referencia, que se puedan almacenar durante largos períodos de tiempo sin sufrir deterioro, y por esta razón, ha constituido práctica habitual el secarlos por congelación o
- 25.

- liofilizarlos. Ha constituido asimismo práctica habitual el reconstituir el suero patrón de referencia antes de su utilización por medio, por ejemplo, de una solución acuosa que contiene bicarbonato amónico a efectos de res
5. taurar el dióxido de carbono perdido en el suero sanguíneo durante el proceso de liofilización. Como ejemplo de soluciones reconstituyentes que se pueden utilizar según las técnicas conocidas, se pueden citar las de las Patentes USA n^{os}. 3.466.249 y 3.629.142.
10. Si bien el compuesto de esta invención tiene como principal finalidad la reconstitución de suero liofilizado para substituir al mismo una cantidad conocida de carbonatos o bicarbonatos, de manera que el aparato se puede calibrar para determinar la cantidad de dióxido
15. de carbono en la sangre, el compuesto de esta patente es útil para otros distintos análisis químicos. Como es bien sabido, los materiales secundarios de referencia o patrones sirven para dos importantes funciones en los laboratorios de química analítica. Se utilizan como patrones
20. para el calibrado de instrumentos y se utilizan para comprobar la exactitud y precisión de los resultados de ensayos. Dichos materiales de referencia secundarios contienen habitualmente múltiples sustancias, de modo que se puede utilizar una solución única para la mayor parte
25. de los ensayos llevados a cabo en laboratorio. Además, los materiales patrón de sustancias múltiples son esenciales para su utilización con analizadores de ensayo químico de tipo múltiple.

En la preparación de estos materiales, se presentan frecuentemente cierta dificultad en la fijación de la concentración de uno o más aniones a un nivel determinado en el material, sin que los consiguientes cationes afecten a otros ensayos de laboratorio. Un ejemplo importante del problema es el que se presenta especialmente en la fijación del contenido total de dióxido de carbono (bicarbonato y carbonato) en sueros de referencia o de control de calidad utilizados en laboratorios de química clínica.

Las sales de bicarbonato que se han utilizado para fijar el contenido total de dióxido de carbono en dichos sueros son los bicarbonatos de sodio, potasio, litio, rubidio, TRIS (tris(hidroxi-metil) aminometano) y amoniaco. Los bicarbonatos de sodio, potasio y litio no son adecuados para las finalidades dichas puesto que el sodio, potasio y litio son importantes elementos de análisis y a causa de que el litio se utiliza también como patrón interno en la determinación fotométrica por llama común del sodio y el potasio. El bicarbonato de rubidio (con una concentración de 25 mM) no es apropiado como material de referencia para el dióxido de carbono total, puesto que eleva las determinaciones de sodio aproximadamente en 2 mM, posiblemente a causa del efecto matriz en el fotómetro de llama.

Se ha descubierto que el material de referencia a base de TRIS bicarbonatos, dado a conocer en la antes mencionada patente USA nº 3.629.142 tiene un inconvenien

- te esencial para su utilización como referencia a causa de disminuir el resultado de urea (método ureasa-Berthelot) aproximadamente en un 15% y favorece los resultados en proteínas aproximadamente en 10%. El efecto del TRIS
5. en los resultados de urea se puede relacionar a la interferencia con la reacción Berthelot de un cierto número de compuestos de nitrógeno, tal como informaron Gips y Reitsema en "Clin. Chem. Acta." 33, 257 (1971). Los materiales de referencia reconstituidos a base de
10. bicarbonato amónico, que son los más ampliamente utilizados como materiales de referencia para el dióxido de carbono total, son inútiles para la mayor parte de los procedimientos basados en la ureasa para la determinación de la urea, a causa de la interferencia de iones
15. amonio. El ión amonio distorsiona también gravemente los electrodos especiales empleados para la determinación del potasio.

- Así pues, los materiales de referencia actualmente disponibles para la determinación del dióxido de
20. carbono total no son apropiados como materiales de referencia para otros varios e importantes ensayos de química analítica. Un laboratorio que lleve a cabo mediciones de dióxido de carbono total como añadidura a los ensayos
25. interferidos por los materiales patrón antes mencionados de dióxido de carbono total, debe preparar dos referencias de suero liofilizadas distintas, es decir, una de ellas reconstituida con agua, y la otra reconstituida con una solución de bicarbonato. Esta duplicación es

engorrosa, especialmente si las pruebas antedichas se llevan a cabo mediante un instrumento único de canales múltiples, puesto que se requiere el doble de patrones y/o controles de calidad que lo que es habitual.

5. Los solicitantes de la presente Patente han descubierto que la duplicación se elimina y que se reducen los gastos cuando los materiales de referencia de esta invención se utilizan como patrón para la determinación del dióxido de carbono total, puesto que los mate-
10. riales de referencia de esta Invención no afectan el nivel de analito alguno de interés en química clínica, excepto el dióxido de carbono total. Otra ventaja adicional de la presente invención es la comparabilidad directa de los datos para diferentes laboratorios que participen
15. en un programa de control de calidad regional (en el cual los laboratorios participantes utilizan el mismo suero liofilizado), incluso si algunos de los laboratorios utilizan sueros de control reconstituidos a base de agua en vez de los reconstituidos a base de bicarbonato.
20. La presente invención comprende la utilización de una sal seleccionada del tipo de compuestos escritos a continuación, para su utilización en la fijación de la concentración de un anión en materiales patrón para química analítica, y los cuales, cuando se utilizan para
25. otra finalidad, no presentan interferencias con otros ensayos químicos. Los materiales de esta Invención, que los solicitantes de esta Patente han utilizado para normalizar y controlar la calidad de ensayos de química clí

- nica, continen sales de compuestos de amonio cuaternario. Dichos compuestos contienen por lo menos un nitrógeno tetrasustituido, con lo que algunos de los grupos sustituyentes pueden ser unidos para formar heterociclos, por ejemplo, 1-alquilpiririna y 1,1-dialquilpiperidina o pueden ser polimerizados a través de enlace de los subsiguientes grupos. Los grupos sustituyentes deben exhibir una interferencia mínima en determinaciones clínicas tales como las indicadas a continuación y los compuestos en si mismos deben estar esencialmente libres de contaminantes, por ejemplo, sodio, potasio, cloruros, calcio, hierro y amonio. Las cantidades de estos iones que pueden encontrarse respectivamente presentes en un diluyente comercialmente practicable no superan los valores de
5. 2 milimoles, 0,25 milimoles, 3,0 milimoles, 0,5 miligramos/100 mililitros, 3,0 microgramos/100 mililitros y 3,0 microgramos/100 mililitros, siendo los valores preferidos respectivamente, 1,0 milimoles, 0,2 milimoles, 2,0 milimoles, 0,2 miligramos/100 ml., 2,0 microgramos/100 mililitros y 2,0 microgramos/100 mililitros que interferirían en dichas determinaciones.
10. 15. 20.

- De modo adicional los sustituyentes no deben hacer los compuestos insolubles de modo tal que las partículas de los mismos pudieran interferir o distorsionar la medición óptica del material de referencia. De modo muy importante, no deben existir sustituyentes que introduzcan una capacidad equilibradora significativa en los compuestos. Como grupos sustituyentes típicos se pueden
- 25.

- citar los heterociclos saturados o insaturados tales como los radicales furano o tetrahidrotiofeno, grupos cicloalqueno tales como fenol, grupos cicloalquilo tales como ciclohexil y ciclopropil así como alquenos ramificados
5. o normales tales como metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, octilo, hexeno, isobutilo y neohexilo. Además, cualquiera de los grupos antedichos puede quedar accionalmente sustituido o puede contener oxígeno o tioéteres, cetonas, esterés, haluros, nitro o hidroxilo.
10. Sin embargo es preferible utilizar los alquenos ramificados o normales o alquenos puesto que éstos son los grupos sustituyentes con mayor carácter inerte, siendo el metilo el preferente. Cada uno de los cuatro grupos sustituyentes puede ser igual o distinto de uno o más de los grupos
15. restantes.

- Los aniones que se pueden utilizar para formar las sales de amonio cuaternario pueden ser, por ejemplo, carbonato, bicarbonato, mezclas de carbonatos y bicarbonatos, haluros y cualquier otro anión de interés clínico.
20. El anión preferible es el carbonato o bicarbonato.

- Utilizando las sales preferentes de carbonato o bicarbonato de amonio tetrasustituido según la presente invención, el nivel total de dióxido de carbono en el suero u otro fluido de control biológico se puede ajustar
25. convenientemente a cualquier nivel deseado, sin interferencias con otros procedimientos químicos. Se pueden citar como ensayos en los que no han aparecido interferencias, los siguientes: sodio, potasio, cloruros, glucosa,

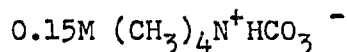
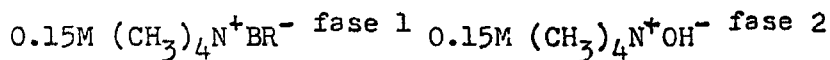
- nitrógeno de urea de la sangre, creatinina, calcio, fósforo, proteínas totales, fosfatasa alcalina, bilirrubina total, hierro, capacidad de valencia total del hierro, colesterol, triglicéridos, ácido úrico, alanín aminotransferasa, lactato dehidrogenasa, hidroxibutirato dehidrogenasa, gamaglutamiltransferasa, dehidrogenasa del ácido láctico, fosfatasa ácida, fosfatasa alcalina, captación de hormona del tiroides, hormona del tiroides total y amilasa. Los materiales a base de bicarbonatos no añaden color, de modo que no afectan a las determinaciones colorimétricas. No provocan precipitación de cualquiera de los otros componentes del material de control que podrían resultar en el taponado de los instrumentos. Además, el pH de la solución de control se puede ajustar variando la proporción de bicarbonato a carbonato en la sal de amonio tetrasustituido. Una importante característica de la presente invención es que el ión amonio tetrasustituido no tiene ninguna capacidad equilibradora y como resultado, se requieren solamente cantidades mínimas de dichos iones para fijar el contenido de dióxido de carbono del material de referencia, sin tener en cuenta el pH. Por otra parte el TRIS es un producto equilibrador con pH 8 y por lo tanto las soluciones de bicarbonato TRIS contienen una cantidad mayor de TRIS que bicarbonato, por lo que una cierta cantidad de TRIS no está cargado. Además, la presencia de una capacidad equilibradora interferirá con los métodos de titulación para la determinación de CO₂.

EJEMPLO 1

A título de ejemplo de la aplicación de la presente invención, se describe a continuación la síntesis y utilización del bicarbonato de tetrametil amonio

(TMA-HCO₃) como material de referencia para el contenido

5. total de dióxido de carbono (ver también el esquema de reacción). Se convirtió una solución analíticamente pura de bromuro de tetrametil amonio de la concentración deseada (por ejemplo 0,15 M) en hidróxido de tetrametilamnio por paso a través de una columna cromatográfica con-
10. teniendo una resina de intercambio fuertemente básica en forma de hidróxido (fase 1)



- La conversión del hidróxido de tetrametil amonio TMA-HCO₃, se logró haciendo burbujear una corriente
15. de CO₂ en forma gaseosa en la solución agitada hasta conseguir un pH de valor 8. El pH de la solución se puede cambiar alterando la cantidad de CO₂ añadida a la solución. La solución de TMA-HCO₃ se diluyó al contenido deseado de dióxido de carbono total (por ejemplo 30 mM).
20. Esta solución de TMA-HCO₃ se utiliza entonces para reconstituir sueros de control previamente liofilizados. De modo alternativo, el bicarbonato TMA o sal de carbonato se puede añadir al suero de control liofilizado antes
25. de su reconstitución con agua destilada.

Estos controles, TMA-CHO₃ reconstituidos se analizaron por procedimientos químicos analíticos conocidos. Muchos de dichos sueros reconstituidos de este modo

se analizaron en paralelo con controles reconstituidos solamente con agua destilada. No se encontró diferencia significativa entre estos dos controles para cualquiera de los ensayos en los cuales se utilizaron los controles,

5. incluyendo los antes mencionados.

En otra aplicación de la invención presente se ha encontrado que otras sales de aniones amonio tetrasustituidos se pueden utilizar en laboratorios de química analítica. Por ejemplo, se pueden utilizar sales de haluros de amonio tetrasustituidos como normales y controles en laboratorios químicos y toxicológicos. Al igual que las sales de carbonato y bicarbonato amónico tetrasustituido, éstas sales no añaden color alguno a los materiales patrón a los cuales se añaden, de manera que no afectan las determinaciones colorimétricas. Son químicamente no reactivos en otros métodos de laboratorio y no provocan precipitación de cualesquiera otros componentes de los materiales de control a los cuales se puedan añadir, lo cual podría tener como resultado el taponado de los instrumentos.

EJEMPLO 2

El suero de control reconstituido a base de bromuro de tetrabutilo de amonio es una aplicación de la presente invención que se puede utilizar para fijar el nivel de bromuros en los ensayos para dicho ión. Se utilizó una solución de bromuro de tetrabutil amonio 30 mM. para reconstituir el suero de control liofilizado, de forma análoga al utilizado para los bicarbonatos de tetralquil

amonio. El material de control resultante a base de bromuro de tetrabutil amonio se analizó por medios de química analítica conocidos. Estos sueros de control se analizaron en paralelo con controles reconstituidos solamente con agua destilada. No se encontraron diferencias significativas entre estos dos controles en ninguno de los ensayos en los cuales se utilizaron dichos controles, excepto los ensayos de haluros, en los cuales los controles reconstituidos a base de bromuro de tetrabutil amonio se elevaron en una cantidad correspondiente a bromuro 30 nM.

Las sales de aniones amonio tetrasustituido de la presente invención son conocidas en la técnica. Sin embargo, estas sales no se han utilizado en los procedimientos de química analítica en los cuales se utilizan las sales de la presente invención. Las sales y sus métodos de producción se dan a conocer en la Patente checoslovaca nº 157.000 y en las Patentes USA nºs. 3.190.919, 3.579.581, 3.539.605 y 3.397.215. También se dan a conocer en la literatura por Mahajan y Rao "Resonancia magnética de los protones y movimientos internos en algunos compuestos de tetrametil amonio", J. Phys., Solid State Phys, Vol. 7, Gran Bretaña (1974) y la tesis Ph. D. de Teeter, Truman E. titulada "Reducción de dióxido de carbono en cátodos de mercurio" Universidad de Oregón, Eugene, Oregón, junio de 1954.

EJEMPLO 3

Para mostrar la eficacia de los carbonatos y

bicarbonatos de amonio cuaternario de la presente invención en la añadidura de dióxido de carbono a un material de referencia de suero sanguíneo, se tomaron dos muestras del mismo lote de suero sanguíneo liofilizado. Cada una

5. de las muestras consistía en una cierta cantidad de suero sanguíneo que podía liofilizarse a partir de 10 ml. de suero sanguíneo. 10 ml. de agua destilada se añadieron en el primer caso y la botella que contenía la muestra se agitó de manera que el suero se podía disolver completamente. El contenido de esta muestra se analizó con un aparato convencional para análisis de suero sanguíneo.

10. La segunda muestra de suero sanguíneo liofilizado se reconstituyó añadiendo 10 ml. de bicarbonato de tetrametil amonio 22 nM. También en este caso la mezcla se agitó ligeramente, de manera que el suero se disolvió completamente en la solución de bicarbonato de tetrametil amonio. La segunda muestra se analizó dejando el mismo aparato de la primera muestra.

15. La siguiente tabla da los resultados de las pruebas de los componentes sometidos a este ensayo y muestra también la escala normal para los componentes.

-

-

-

-

-

-

-

-

<u>COMPONENTES</u>	<u>VALOR ANTES DE LA AÑADIDURA DEL CARBONATO DE TETRAMETIL AMONIO</u>	<u>VALOR DESPUES DE LA AÑADIDURA DE BICARBONATO DE TETRAMETIL AMONIO</u>	<u>ESCALA NORMAL</u>
Sodio	150meq/l	150meq/l	138 - 146
Potasio	6.4meq/l	6.4meq/l	3.5 - 5.3
Cloruro	107meq/l	107meq/l	97 - 108
Dióxido de carbono	3meq/l	25meq/l	24 - 32
Glucosa	172mg/dl	171mg/dl	60 - 105
Nitrógeno de urea	44mg/dl	44mg/dl	10 - 20
Creatinina	4.9mg/dl	4.9mg/dl	0.7 - 1.4
Calcio	11.9mg/dl	12.0mg/dl	8.5 - 10.5
Fósforo	7.3mg/dl	7.3mg/dl	2.4 - 4.4
Proteína total	6.5mg/dl	6.4mg/dl	5.8 - 8.5
Fosfatasa alcalina	107IU/l	109IU/l	12 - 40
Bilirrubina	3.6mg/dl	3.6mg/dl	0.2 - 1.2
Hierro	198µg/dl	196µg/dl	70 - 200
Capacidad de valencia del hierro	386µg/dl	412µg/dl	250 - 400
Colesterol	153mg/dl	150mg/dl	260 (dependiente edad)
Triglicéridos	0.9meq/l	0.88meq/l	2.15 (dependiente edad)
Ácido úrico	9.1mg/dl	9.0mg/dl	3 - 8
Aspartato transaminasa	63IU/l	61IU/l	6 - 38
Alanino transaminasa	165IU/l	166IU/l	9 - 25
Lactato dehidrogenasa	737IU/l	738IU/l	140 - 270
Creatín quinasa	260IU/l	274IU/l	14 - 90
Hidroxibutirato dehidrogenasa	587IU/l	591IU/l	110 - 230
Gama glutamil transpeptidasa	26IU/l	26IU/l	4 - 40
Amilasa	430U	434U	40 - 180

Notas:

IU/l = unidades internacionales por litro

meq/l = mili equivalentes/litro

mg/dl = miligramos/decilitro

5. $\mu\text{g/dl}$ = microgramos/decilitro

gm/dl = gramos/decilitro

- Se aprecia por lo tanto de lo anterior que con la excepción del dióxido de carbono, la añadidura del bicarbonato de tetrametil amonio no afectó ni interfirió con la medición de cualquiera de los otros constituyentes del suero sanguíneo ni contribuyó ningún otro componente del suero para cambiar la concentración del componente en el suero. En lo que respecta al dióxido de carbono, se puede apreciar de los análisis anteriores que la concentración de dióxido de carbono había disminuido a 3 meq/l en el suero sanguíneo durante la liofilización. Esto se encuentra en una escala normal de 24 a 32 meq/l. Sin embargo, mezclando el suero sanguíneo liofilizado con la solución de bicarbonato de tetrametil amonio, la concentración de dióxido de carbono se había elevado a 25 meq/l, lo cual se encuentra dentro de la escala normal. Las pruebas subsiguientes dieron resultados similares.
10. con la medición de cualquiera de los otros constituyentes del suero sanguíneo ni contribuyó ningún otro componente del suero para cambiar la concentración del componente en el suero. En lo que respecta al dióxido de carbono, se puede apreciar de los análisis anteriores que la concentración de dióxido de carbono había disminuido a 3 meq/l en el suero sanguíneo durante la liofilización. Esto se encuentra en una escala normal de 24 a 32 meq/l. Sin embargo, mezclando el suero sanguíneo liofilizado con la solución de bicarbonato de tetrametil amonio, la concentración de dióxido de carbono se había elevado a 25 meq/l, lo cual se encuentra dentro de la escala normal. Las pruebas subsiguientes dieron resultados similares.
15. concentración de dióxido de carbono había disminuido a 3 meq/l en el suero sanguíneo durante la liofilización. Esto se encuentra en una escala normal de 24 a 32 meq/l. Sin embargo, mezclando el suero sanguíneo liofilizado con la solución de bicarbonato de tetrametil amonio, la concentración de dióxido de carbono se había elevado a 25 meq/l, lo cual se encuentra dentro de la escala normal. Las pruebas subsiguientes dieron resultados similares.
20. concentración de dióxido de carbono se había elevado a 25 meq/l, lo cual se encuentra dentro de la escala normal. Las pruebas subsiguientes dieron resultados similares.

- Las aminas cuaternarias útiles en esta invención son todas ellas solubles en agua. De modo adicional, cuando se utilizan como suero sanguíneo, son también solubles en el suero. Son también solubles en las mezclas químicas utilizadas en las pruebas clínicas. Naturalmente, la amina no debe interferir en cualquier ensayo clínico.
25. cuando se utilizan como suero sanguíneo, son también solubles en el suero. Son también solubles en las mezclas químicas utilizadas en las pruebas clínicas. Naturalmente, la amina no debe interferir en cualquier ensayo clínico.

- Los compuestos que contienen las aminas deben ser estériles. La esterilidad se puede obtener por métodos bien conocidos que no afectarán las aminas cuaternarias, por ejemplo, filtrado de una solución de aminas a través de un filtro que retenga partículas del tamaño de microorganismos.

Entre los cationes que se pueden utilizar en la formación de aminas de esta invención se encuentran las siguientes:

10. Trimetil hidroxietilamonio.
Dimetil clorometil fenilamonio.
Tetraetilamonio.
Tetrametilamonio.
Tetrapropilamonio.
15. Tetrabutilamonio.
N, N - dimetil - N - etil- p - nitrofenilamonio
N, N - dimetil - N - fluorometil- N- fenilamonio
N - cicloexil - N,N - dimetil - N - isobutilamonio
N - etil - N - metilpiperidinio.
20. N, N - dimetil - N - etil - N - vinyl-amonio.
N,N - dietil - N- (2 - metoxietil) -N-n- butilamonio
N - n - octil - N, N, N, - trimetilamonio.
N, N, N, N', N', N', - exametietilen diaminio
N - (2 - hidroxietil) - trimetilamonio.
25. Los aniones que se pueden utilizar son los especificados anteriormente, que incluyen carbonatos, bicarbonatos, mezcla de carbonatos y bicarbonatos, haluros y cualquier otro anión de interés clínico.

Al llevar a cabo el método de esta invención, el suero liofilizado es reconstituido con suficiente carbonato o bicarbonato amónico para proporcionar de 10 a 40 meq/l de dióxido de carbono en el suero reconstituido.

5.

El suero de referencia de la invención se puede preparar mezclando una solución de la sal de amonio tetrasustituido de la concentración deseada final con suero sanguíneo previamente liofilizado. De modo alternativo, se puede preparar añadiendo una cantidad determinada de sal de amonio tetrasustituido al suero sanguíneo antes de la liofilización del suero. Para preparar el suero de referencia de la invención con este último método, la sal de amonio tetrasustituido se añade al suero sanguíneo en cantidad suficiente para proporcionar el nivel total deseado de CO₂ en el suero reconstituido. Por ejemplo, 1,0 ml de bicarbonato de tetraetil amonio 0,4 M es añadido a 10,0 ml de suero sanguíneo. Esta mezcla es liofilizada por un procedimiento de liofilización conocido. El suero de liofilización se puede reconstituir antes de su utilización disolviéndolo en 10,0 ml de agua destilada, después de lo cual se puede analizar por métodos conocidos.

10.

15.

20.

Sin otra elaboración posterior, lo anterior ilustrará de modo completo nuestra invención, de manera que cualesquiera otros puedan, por aplicación de sus conocimientos actuales o futuros, adaptar fácilmente la misma para su utilización en diferentes condiciones de servicio.

25.

REIVINDICACIONES

1.- Un procedimiento para la fabricación de un suero para el control clínico, en el que se constituye un compuesto que comprende agua y como mínimo un carbonato o bicarbonato amónico cuaternario, caracterizado por quedar
5. dicho compuesto esencialmente libre de iones sodio, potasio, calcio, amonio, cloruro y hierro.

2.- Un procedimiento para la fabricación de un suero para el control clínico, según la reivindicación 1, caracterizado porque la cantidad de iones sodio, potasio, calcio, amonio, cloruro y hierro, son respectivamente me-
10. nores de 2 milimoles, 0,25 milimoles, 0,5 mg/100 ml, 0,5 microgramos/ 100 ml, 3 milimoles y 3 microgramos/ 100 ml.

3.- Un procedimiento para la fabricación de un suero para el control clínico, según cualquiera de las
15. reivindicaciones anteriores, caracterizado porque la cantidad de iones sodio, potasio, calcio, amonio, cloruro y hierro es, respectivamente, menor de 1 milimol, 0,1 milimoles, aproximadamente 0,2 mg/100 ml, 0,2 microgramos/100 ml, 2 milimoles y 2 microgramos/100 ml.

20. 4.- Un procedimiento para la fabricación de un suero para el control clínico, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque el compuesto tiene características estériles.


25. 5.- Un procedimiento para la fabricación de un suero para el control clínico, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque el carbonato o bicarbonato amónico cuaternario se encuentra en

una concentración suficiente para proporcionar una concentración de CO_2 de 10 a 40 MEQ/l.

5. 6.- Un procedimiento para la fabricación de un suero para el control clínico, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque en el compuesto no se incluye sustancia alguna que afecte los ensayos para iones sodio, potasio, cloruro, hierro, fósforo y calcio, urea, ácido úrico, creatinina, glucosa, colesterol, bilirrubina, proteínas totales, dehidrogenasa del ácido láctico, amilasa, fosfatasa ácida, fosfatasa alcalina, absorción de hormona del tiróides y hormona total del tiroides.

15. 7.- Un procedimiento para la fabricación de un suero para el control clínico, según la reivindicación 6, caracterizado porque el carbonato o bicarbonato amónico cuaternario se encuentra con una concentración suficiente para proporcionar una concentración de CO_2 que oscila entre 10 y 40 MEQ/l.

20. 8.- Un procedimiento para la fabricación de un suero para el control clínico, según las reivindicaciones anteriores, caracterizado por la formación de un compuesto acuoso en el que se encuentra como mínimo un carbonato o bicarbonato amónico cuaternario, caracterizado porque los iones sodio, potasio, calcio, amonio, cloruro y hierro se encuentran presentes respectivamente en cantidades menores de 2 milimoles, 0,25 milimoles, 0,5 mg/100 ml, 0,5 microgramos/100 ml, 3 milimoles y 3 microgramos/100 ml y el carbonato o bicarbonato amónico cuaternario se



encuentra presente en una cantidad suficiente para proporcionar una concentración de CO_2 de 10 a 40 MEQ/l.

5. 9.- Un procedimiento para la fabricación de un suero para el control clínico, según la reivindicación 8, caracterizado porque la cantidad de iones sodio, potasio, calcio, amonio, cloruro y hierro es respectivamente, menor de 1 milimol, 0,1 milimoles, 0,2 mg/100 ml, 0,2 microgramos/100 ml, 2 milimoles y 2 microgramos/100 ml.

10. 10.- Un procedimiento para la fabricación de un suero para el control clínico, según las reivindicaciones 8 ó 9, caracterizado porque el compuesto es de características estériles.

15. 11.- Un procedimiento para la fabricación de un suero, para el control clínico, según la reivindicación 8, 9 ó 10, caracterizado porque el compuesto queda libre de cualquier sustancia que afecte los ensayos para la determinación de iones sodio, potasio, cloruro, hierro, fósforo y calcio, urea, ácido úrico, creatinina, glucosa, colesterol, bilirrubina, proteína total, dehidrogenasa del ácido láctico, amilasa, fosfatasa ácida, fosfatasa alcalina, absorción de hormona del tiroides y hormona total del tiroides.

25. 12.- Un procedimiento para la fabricación de un suero para el control clínico, según las reivindicaciones anteriores, caracterizado por la formación de un compuesto que comprende como mínimo un fluido corporal de un animal y como mínimo una sal de amonio cuaternario.

13.- Un procedimiento para la fabricación de



un suero para el control clínico, según la reivindicación 12, caracterizado porque la sal es un haluro, un carbonato o un bicarbonato.

14.- Un procedimiento para la fabricación de
5. un suero para el control clínico, según la reivindicación 12, caracterizado porque el fluido corporal es suero sanguíneo.

15.- Un procedimiento para la fabricación de
un suero para el control clínico, según las reivindicaciones anteriores, en el que se constituye una composición in vitro para la utilización como suero de control clínico comprendiendo suero sanguíneo y por lo menos un carbonato o bicarbonato de amonio cuaternario, caracterizado porque los iones sodio, potasio, calcio, amonio, cloruro y hierro se encuentran presentes en dicha sal amónica cuaternaria, respectivamente en cantidades menores de 2 milimoles, 0.25 milimoles, 0,5 mg/100 ml, 0,5 microgramos/ 100 ml, 3 milimoles y 3 microgramos/100 ml y que dicho carbonato o bicarbonato amónico cuaternario se encuentra presente en una cantidad suficiente para proporcionar de 10 a 40 MEQ/l de CO₂ en la mezcla.
10.
15.
20.

16.- Un procedimiento para la fabricación de un suero para el control clínico, según la reivindicación 15, caracterizado porque dicho compuesto adopta forma liofilizada.
25.

17.- Un procedimiento para la fabricación de un suero para el control clínico, según la reivindicación 16, caracterizado porque el carbonato o bicarbonato amóni-

co cuaternario se encuentra presente en cantidad suficiente para proporcionar de 10 a 40 MEQ/l de CO₂ en la mezcla cuando el compuesto liofilizado es reconstituido a su contenido original de agua antes de haber sido deshidratado.

5.

18.- Un procedimiento para la fabricación de un suero para el control clínico, según las reivindicaciones anteriores, caracterizado por comprender la mezcla de un compuesto amónico cuaternario con un fluido corporal animal.

10.

19.- Un procedimiento para la fabricación de un suero para el control clínico, según la reivindicación 18, caracterizado porque la mezcla se lleva a cabo in vitro.

15.

20.- Un procedimiento para la fabricación de un suero para el control clínico, según la reivindicación 18, caracterizado porque el compuesto se añade al fluido en forma seca.

20.

21.- Un procedimiento para la fabricación de un suero para el control clínico, según la reivindicación 18, caracterizado porque el fluido animal es deshidratado antes de su adición al compuesto.

25.

22.- Un procedimiento para la fabricación de un suero para el control clínico, según la reivindicación 21, caracterizado porque el compuesto es añadido como solución acuosa al fluido corporal animal y la mezcla es a continuación liofilizada.

23.- Un procedimiento para la fabricación de

un suero para el control clínico, según la reivindicación 22, caracterizado porque la mezcla liofilizada es ensayada como mínimo para la determinación de uno de sus componentes clínicamente significativos.

5. 24.- Un procedimiento para la fabricación de un suero para el control clínico, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque el compuesto es un carbonato o bicarbonato amónico cuaternario en concentración suficiente para proporcionar de 10 a 40 MEQ/l de CO₂ en la mezcla cuando el fluido corporal animal deshidratado es reconstituído a su contenido original de agua antes de haber sido deshidratado.

15. 25.- Un procedimiento para la fabricación de un suero para el control clínico, según las reivindicaciones anteriores, que comprende la mezcla de suero sanguíneo y como mínimo un carbonato o bicarbonato amónico cuaternario en el que los iones sodio, potasio, calcio, amonio, cloruro y hierro se encuentran presentes en dicho compuesto amónico cuaternario, respectivamente, en cantidades menores de 2 milimoles, 0,25 milimoles, 0,5 mg/100 ml, 0,5 microgramos/100 ml, 3 milimoles y 3 microgramos/100 ml y que dicho carbonato o bicarbonato amónico cuaternario se encuentra presente en una cantidad suficiente para proporcionar de 10 a 40 MEQ/l de CO₂ en la mezcla.

25. Sean cuales fueren las circunstancias que concurren en la esencialidad de la Patente de Invención definida en las anteriores reivindicaciones, cuyo objeto es:

26.- UN PROCEDIMIENTO PARA LA FABRICACION DE UN SUERO PARA EL CONTROL CLINICO.



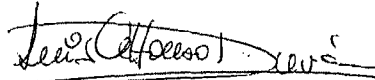
Consta la presente memoria de veinticinco hojas
foliadas, mecanografiadas por una sola cara,

Barcelona, - 2 JUN. 1977

P.A. de D. William Villee Dorwart, Jr. y
D. Walter Brummund, Jr.,

ALFONSO DURÁN

P. P.



Fdo.: Luis A. Durán Moyá

JR/pv.mj.

