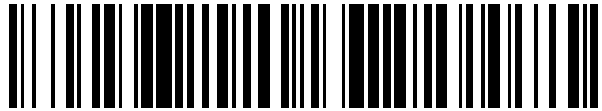


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 459 715**

51 Int. Cl.:

G01N 33/86 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.07.2009 E 09799916 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.01.2014 EP 2310864**

54 Título: **Procedimiento para la determinación prequirúrgica del riesgo de hemorragia intraquirúrgica de un paciente**

30 Prioridad:

24.07.2008 CH 11572008

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

12.05.2014

73 Titular/es:

**ZENTRUM FÜR LABORMEDIZIN (100.0%)
Institut für Klinische Chemie und Hämatologie
Frohbergstrasse 3
9001 St. Gallen, CH**

72 Inventor/es:

KORTE, WOLFGANG

74 Agente/Representante:

SAMMUT LINARES , Rodrigo

ES 2 459 715 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Procedimiento para la determinación prequirúrgica del riesgo de hemorragia intraquirúrgica de un paciente

5 La invención se refiere a un procedimiento para la determinación prequirúrgica del riesgo de un paciente en cuanto a la tendencia a hemorragia intraquirúrgica, tal como se reivindica.

10 En caso de intervenciones quirúrgicas pueden producirse complicaciones debido a hemorragias intraquirúrgicas. Cuando aparecen hemorragias difusas en la zona de la herida o en los márgenes de la herida sin que exista una causa mecánica evidente, entonces se ha de partir de una tendencia a hemorragia debido a una coagulopatía.

15 Para aclarar las hemorragias o problemas de coagulación ya son conocidos distintos ensayos. Un ensayo usado con frecuencia es conocido como ensayo de TTP o TTPa (tiempo de tromboplastina parcial activada). El mismo mide el intervalo de tiempo (en segundos) que se necesita para la formación de un coágulo en el tubo de ensayo. Con este fin se centrifuga una muestra de sangre citratada y se usa el sobrenadante de plasma.

Otro ensayo es el ensayo de TP (tiempo de protrombina) que, en caso de realización como razón frente a un plasma normal, se denomina ensayo de Quick.

20 Los ensayos de TTPa y TP ya se han usado en el pasado incluso para la determinación del riesgo de la tendencia a hemorragias intraquirúrgicas. No obstante, distintos estudios han mostrado que estos ensayos son poco adecuados para esto. De este modo, en un artículo publicado el año 2005 ("Preoperative fibrin monomer measurement allows risk stratification for high intraoperative blood lective surgery" en THROMBOSIS & HAEMOSTASIS, jul. 2005, vol. 1, páginas 211) se ha constatado que la pérdida intraquirúrgica de sangre no tiene ninguna relación con el tiempo de protrombina (prothrombin time), los valores de TTPa y el recuento de plaquetas.

30 En un artículo redactado por Teruya *et al.* con el título "A normal aPTT does not guarantee adequate coagulation factor levels" (en ANESTHESIOLOGY, vol. 94, N° 3, marzo 2001, página 542) se expone que un TTP normal no predice que exista también una actividad normal de los factores de la coagulación. Se constata que el TTPa no se puede emplear como factor predictivo de un nivel disminuido de los factores de la coagulación, sino que, por el contrario, no es fiable. Por tanto, no se puede recomendar el uso del TTPa de forma prequirúrgica. En el artículo mencionado en particular tampoco se establece ninguna relación entre el TTPa y la tendencia a hemorragia intraquirúrgica.

35 Los pacientes con una tendencia aumentada a hemorragia intraquirúrgica muestran una mayor activación de la coagulación. El valor del TTPa, entre otras cosas, se ve influido también por el grado de la activación de la coagulación (Ten Boekel E, Bartels P. Abnormally short activated partial thromboplastin times are related to elevated plasma levels of TAT, F1+2, D-dimer and FVIII:C. Pathophysiol Haemost Thromb. 2002; 32: 137-142).

40 Es sabido que el monómero de fibrina (MF) puede servir para el establecimiento de un "estado pretrombótico", es decir, para una detección temprana y el control de procesos activadores de la coagulación; esto sucede, por ejemplo, en la trombosis venosa profunda (TVP) o la coagulación intravascular diseminada (CID o DIC). No obstante, como el monómero de fibrina (MF) también es adecuado para la comprobación de un riesgo aumentado de hemorragias intraquirúrgicas. De este modo, en el documento DE 198 33 844 se describe el uso de monómero de fibrina como marcador de diagnóstico del riesgo de un paciente a hemorragias intraquirúrgicas. Se ha constatado que de los potenciales marcadores examinados, los monómeros de fibrina son los más adecuados para valorar, prequirúrgicamente, el riesgo de una tendencia a hemorragia intraquirúrgica.

50 Correspondientemente, la determinación con monómero de fibrina (MF) como identificación prequirúrgica para la valoración de la tendencia a hemorragia intraquirúrgica ya ha dado buen resultado en el marco de estudios clínicos.

No obstante, continúa existiendo una necesidad de mejorar la calidad de predicción del ensayo. Por tanto, el objetivo de la presente invención es continuar mejorando la identificación prequirúrgica descrita.

55 Como se ha mencionado anteriormente, el TTPa depende, en parte, del grado de la activación de la coagulación, pero de forma aislada no se puede usar para la estratificación del riesgo de una tendencia a hemorragia intraquirúrgica. Por otro lado, la determinación con monómero de fibrina ya muestra un buen potencial para la estratificación prequirúrgica del riesgo de una tendencia a hemorragia intraquirúrgica.

60 El objetivo se resuelve combinándose ambos métodos de examen y determinándose, en una muestra del paciente, tanto el contenido de monómero de fibrina (MF) como el tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa). En comparación con el procedimiento conocido, en el que se comprueba únicamente el contenido de monómero de fibrina (MF), el procedimiento de acuerdo con la invención lleva a una sensibilidad de diagnóstico aumentada, es decir, la capacidad de detectar los pacientes de riesgo reales. Al mismo tiempo aumenta también la especificidad; la mejora de un ensayo que lleva a la mejora tanto de la sensibilidad como de la especificidad es un objetivo al que hay que aspirar que, no obstante, lamentablemente se alcanza infrecuentemente. La solución presentada en el presente

documento de la combinación de TTPa y monómero de fibrina permite alcanzar este objetivo.

Ventajosamente se determina el monómero de fibrina (MF) inmunológicamente. Como muestra para la determinación del contenido de monómero de fibrina así como para la determinación del tiempo de tromboplastina activada (TTPa) se usa preferentemente plasma citratado.

Por tanto, la invención se refiere también al uso de monómero de fibrina (MF) en combinación con el tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa) como marcador de diagnóstico durante la estimación del riesgo de una tendencia a hemorragia intraquirúrgica.

Ejemplo 1: determinación conocida de monómero de fibrina como identificación prequirúrgica para la exclusión de una tendencia a hemorragia intraquirúrgica

En 226 pacientes consecutivos con distintas intervenciones sin circulación extracorpórea y con sonda arterial se examinó de forma prospectiva la concentración prequirúrgica de monómero de fibrina (MF) y se correlacionó con la aparición de una alteración intraquirúrgica de la hemostasia (AIH). El colectivo de pacientes ya se ha descrito en Korte *et al.*, Clin. Chem. Lab. Med. 1998, 36 (4), 235-240.

La extracción de la muestra se realizó después de desechar los primeros 3 ml de sondas arteriales enjuagadas con solución de NaCl al 0,9 % en citrato de Na 0,125 M (9+1). A este respecto se definió la AIH como la aparición de hemorragias difusas en la zona de la herida o en los márgenes de la herida sin causa mecánica evidente, después de que ya se hubiera conseguido una hemostasia local adecuada. El monómero de fibrina se determinó con el Enzymun-Test® FM en un aparato ES-300.

	MF (µg/ml)	MF (µg/ml)	Dímero-D Tine-quant (mg/l)		Dímero-D Látex (mg/l)	
	Percentil 75	Percentil 90	Perc. 75	Perc. 90	Perc. 75	Perc. 90
Percentiles de pacientes sin AIH	14,50	40,50	0,97	2,30	0,75	1,50
RR ¹ para AIH	3,79	3,16	1,56	2,56	2,88	2,21
OR ²	4,44	3,77	1,64	2,94	3,29	2,46
Sensibilidad	60 %	30 %	35 %	25 %	45 %	20 %
Especificidad	75 %	90 %	75 %	90 %	80 %	91 %
Valor predictivo pos.	19 %	22 %	12 %	19 %	18 %	17 %
Valor predictivo neg.	95 %	96 %	92 %	92 %	94 %	92 %

¹RR: riesgo relativo

²OR: odds ratio

valor de corte MF (µg/ml)	12	11	10	9	8	7	6	5	4
Valores > corte en pacientes con AIH frente a sin AIH	12/20: 63/206	12/20: 66/206	13/20: 71/206	14/20: 78/206	14/20: 88/206	14/20: 101/206	15/20: 110/206	17/20: 121/206	18/20: 137/206
Sensibilidad (%)	60	60	65	70	70	70	75	85	90
Especificidad (%)	69	68	65	62	57	51	47	41	33
Valor predictivo pos. (%)	16	15	15	15	14	12	12	12	12
Valor predictivo neg. (%)	95	95	95	95	95	95	95	97	97

Ejemplo 2: combinación de determinación prequirúrgica de TTPa y monómero de fibrina para la exclusión mejorada de una tendencia a hemorragia intraquirúrgica

5 En un segundo enfoque, de la población que se ha descrito anteriormente en 154 pacientes evaluables se determinó, además del MF, también el TTPa con Pathromtin SL en un aparato BCS. El MF y el TTPa se determinaron ambos en el procedimiento discontinuo de alícuotas almacenadas a -80 °C de las muestras y a partir de los valores de medición de TTPa y MF se formó una relación. Además, en estos pacientes se calculó el percentil 75 de la pérdida intraquirúrgica de sangre que se situaba en 500 ml. El uso prequirúrgico conjunto del TTPa en una relación con los valores de MF permite, en el punto óptimo según la curva ROC (10,7252), predecir con una sensibilidad del 94,44 %, una especificidad del 52,68 %, un valor predictivo positivo del 39,1 % y un valor predictivo negativo del 96,7 %, una pérdida intraquirúrgica de sangre de más de 500 ml, es decir, por encima del percentil 75.

15 Para la determinación del punto óptimo, la sensibilidad, la especificidad, el valor predictivo positivo (VPP) y negativo (VPN) se examinaron con distintos valores de la proporción entre TTPa y MF ("criterio") y se representaron en la Tabla 1. Con motivo de la mejor comprensión se han representado los puntos que dieron una sensibilidad del 80 % al 100 %.

20 A partir de esto es evidente que el valor de 10,7252 representa el punto más óptimo cuando se tienen en cuenta la sensibilidad, la especificidad, el valor predictivo positivo y el negativo. También se ve que mediante desplazamiento del punto se puede conseguir sobre todo una mayor sensibilidad o un mayor valor predictivo negativo (hasta el 100 %).

Tabla 1

Criterio	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
<=9,0515	80,56	58,04	38,2	90,3
<=9,3871	83,33	58,04	39,0	91,5
<=9,4041	83,33	57,14	38,5	91,4
<=9,4921	83,33	56,25	38,0	91,3
<=9,5074	86,11	56,25	38,7	92,6
<=9,7361	86,11	55,36	38,3	92,5
<=9,7561	86,11	54,46	37,8	92,4
<=9,7619	86,11	53,57	37,3	92,3
<=9,8095	88,89	53,57	38,1	93,7
<=10,1905	91,67	53,57	38,8	95,2
<=10,7059	91,67	52,68	38,4	95,2
<=10,7252 *	94,44	52,68	39,1	96,7
<=10,8127	94,44	51,79	38,6	96,7
<=10,8257	94,44	50,89	38,2	96,6
<=10,8609	94,44	50,00	37,8	96,6
<=11,0744	94,44	49,11	37,4	96,5
<=11,3704	97,22	49,11	38,0	98,2
<=11,8321	97,22	48,21	37,6	98,2

Criterio	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
<=11,9929	97,22	47,32	37,2	98,1
<=12,1254	97,22	46,43	36,8	98,1
<=12,439	97,22	45,54	36,5	98,1
<=12,4701	100,00	45,54	37,1	100,0

Los valores correspondientes para el uso único del valor de MF dan una sensibilidad del 91,67 %, una especificidad del 51,75 %, un valor predictivo positivo del 37,5 % y un valor predictivo negativo del 95,2 %.

- 5 La Figura 1 muestra una curva ROC con los valores para monómero de fibrina (MF) en solitario y los valores para la combinación de tiempo de tromboplastina parcial (TTP) y monómero de fibrina (MF). Las curvas de eficacia diagnóstica (receiver operating characteristic (ROC) o ROC sirven en la medicina para la valoración de ensayos de diagnóstico (Ulrich Abel: Bewertung diagnostischer Tests, Hippokrates Verlag, Stuttgart 1993). La sensibilidad representa la capacidad de un método de diagnóstico de identificar los pacientes de riesgo reales. La especificidad representa la capacidad de un método de diagnóstico de evitar ensayos falsamente positivos. Ahora en la Figura 1 se puede ver que la combinación de un ensayo de TTP y MF proporciona mejores resultados que un ensayo de MF en solitario, es decir, cuando se relacionan entre sí los resultados de la medición.
- 10

REIVINDICACIONES

- 5 1. Procedimiento para la determinación prequirúrgica del riesgo de un paciente en cuanto a la tendencia a hemorragia intraquirúrgica, caracterizado por que en una muestra del paciente se determina tanto el contenido de monómero de fibrina (MF) como el tiempo de tromboplastina parcial (TTP) y se relacionan entre sí formándose una proporción de los valores de medición de tiempo de tromboplastina parcial y monómero de fibrina.
- 10 2. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por que el monómero de fibrina (MF) se determina inmunológicamente.
3. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, caracterizado por que en el caso de la muestra se trata de una muestra de sangre.
- 15 4. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, caracterizado por que se trata de una muestra de plasma.
5. Uso de monómero de fibrina (MF) en combinación con el tiempo de tromboplastina parcial (TTP) como marcador de diagnóstico durante la estimación del riesgo de una tendencia a hemorragia intraquirúrgica formándose una proporción de los valores de medición de tiempo de tromboplastina parcial y monómero de fibrina.

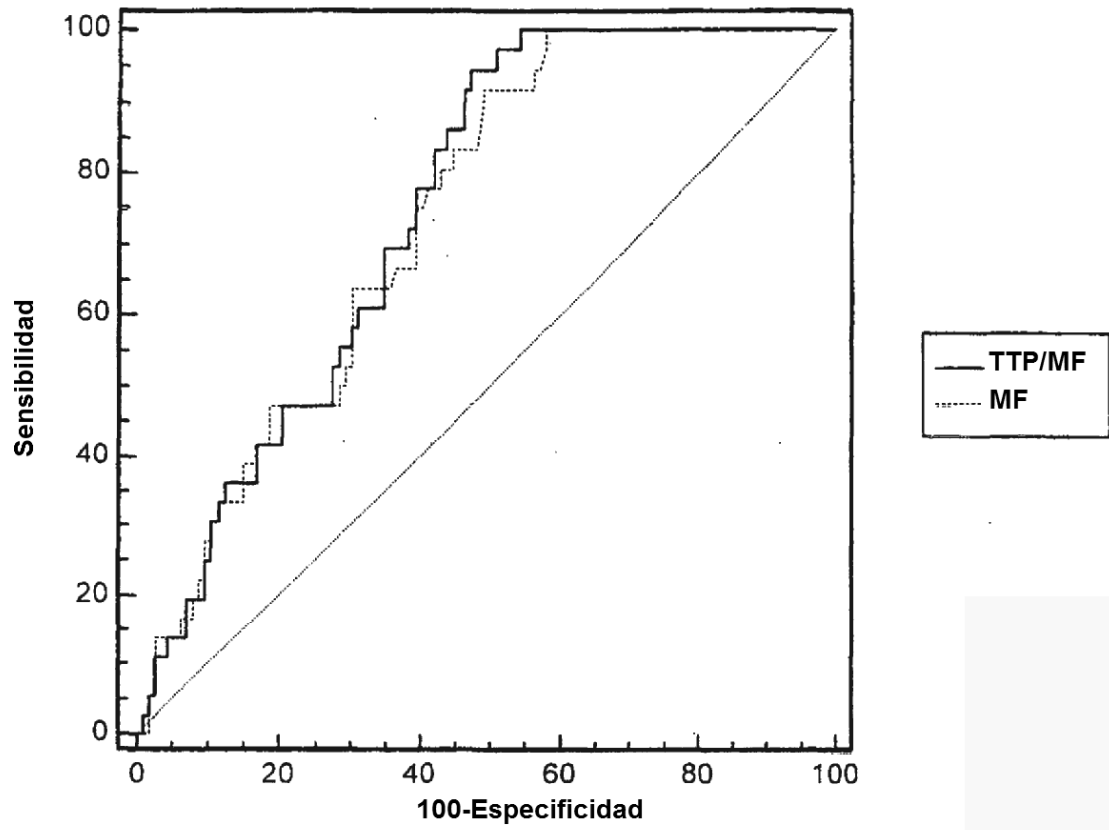


Fig. 1