

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 466 246**

51 Int. Cl.:

G01N 33/50 (2006.01)

G01N 33/80 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.01.2004** **E 04705633 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.04.2014** **EP 1588164**

54 Título: **Mejora de la aplicación de análisis hematológicos**

30 Prioridad:

31.01.2003 US 355439

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

09.06.2014

73 Titular/es:

ABBOTT LABORATORIES (100.0%)
Dept. 377, Bldg AP6A-1 100 Abbott Park Road
Abbott Park, IL 60064-6008, US

72 Inventor/es:

KENDALL, RICHARD G. y
SCHISANO, THOMAS V.

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 466 246 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

Mejora de la aplicación de análisis hematológicos

5 **Antecedentes de la invención****1. Campo de la invención**

10 La presente invención se refiere a un método para analizar datos, y, más particularmente, a un método para analizar datos relacionados con los resultados de ensayos hematológicos en muestras de sangre envejecida.

2. Discusión de la técnica

15 Los analizadores hematológicos automatizados son instrumentos que se han diseñado para automatizar por completo el análisis de muestras de sangre. Típicamente, los analizadores hematológicos automatizados se emplean para diferenciar las células sanguíneas individuales en las muestras, contar las células sanguíneas individuales en las muestras, y en algunos casos, estimar el tamaño de las células sanguíneas individuales en las muestras. El volumen corpuscular medio eritrocitario (en lo sucesivo, como alternativa, "VCM") es uno de los determinantes clave utilizados en la exploración y clasificación de enfermedades hematológicas. Los analizadores hematológicos automatizados tienen la capacidad de medir con precisión el valor del VCM como parte del recuento sanguíneo. El valor del VCM es útil para la clasificación primaria de diversos trastornos de los glóbulos rojos sanguíneos.

25 Se acepta ampliamente que durante el almacenamiento de muestras de sangre, el volumen corpuscular medio eritrocitario aumenta en función tanto del tiempo como de la temperatura. Se pueden observar cambios significativos en el valor del VCM después de aproximadamente 24 horas de almacenamiento a temperatura ambiente (aproximadamente 21 °C). Estos aumentos pueden ser de suficiente magnitud para dar lugar a una clasificación inadecuada de los resultados hematológicos, por tanto dando lugar a un problema para los laboratorios a los que se les solicita que procesen muestras de sangre envejecida. Una clasificación inadecuada de muestras de sangre envejecida puede dar lugar a problemas tales como no poder efectuar estudios de seguimiento en pacientes microcíticos cuyo valor del VCM se ha sobrevalorado, y, en consecuencia, indicado como normal. También es posible sobrevalorar el valor del VCM de un paciente cuando el valor del VCM es normal en realidad, por tanto dando lugar a ensayos confirmatorios de seguimiento innecesarios, que son inapropiados y posiblemente costosos.

35 En comparación con el volumen corpuscular medio eritrocitario, la hemoglobina corpuscular media eritrocitaria (en lo sucesivo, como alternativa, "HCM") no está sujeta a cambios a corto plazo (por ejemplo, durante un periodo de varios días), debido a que la hemoglobina está atrapada dentro de los eritrocitos hasta que las células se rompen, es decir, sufren hemólisis. En casi todas las muestras de sangre, este proceso de hemólisis no sucede en gran medida hasta pasados un número de días desde la extracción de la muestra.

40 La relación entre el valor del VCM y el valor de HCM es generalmente constante, y se define preferentemente como concentración de hemoglobina corpuscular media eritrocitaria (en lo sucesivo, como alternativa, "CHCM"). La concentración de hemoglobina corpuscular media eritrocitaria se determina dividiendo la hemoglobina corpuscular media eritrocitaria entre el volumen corpuscular medio eritrocitario ($CHCM = HCM/VCM$). Debido a que el valor del VCM aumenta en función del tiempo, el valor de CHCM disminuye en función del tiempo. El valor de CHCM de una muestra de sangre reciente está fuertemente limitado, por ejemplo, variando típicamente de aproximadamente 32 a aproximadamente 36 g/dl. Sin embargo, hay una correlación directa entre el valor de HCM y el valor de CHCM. Por consiguiente, si una muestra de sangre se ha almacenado y ya no es reciente, sería deseable estimar el valor del VCM para esta muestra de sangre cuando era reciente. Consecuentemente, se desea desarrollar un método para usar los valores de HCM y CHCM de una muestra de sangre almacenada para calcular el valor del VCM para esa muestra de sangre cuando esa muestra de sangre era reciente (es decir, antes de que se almacenase la muestra).

55 En los métodos convencionales en hematología, las muestras de sangre típicamente se refrigeran para disminuir la tasa a la que aumenta el valor del VCM durante el almacenamiento. Aunque este enfoque es útil, es difícil mantener las condiciones exigidas, especialmente durante actividades tales como el transporte desde instalaciones distantes.

60 Para una discusión sobre un aparato y método de la técnica anterior para el análisis *in vivo* de índices de glóbulos rojos y blancos, véase el documento US 4.998.553, publicado el 12 de marzo de 1991. Esta técnica anterior también divulga antecedentes de la técnica en el campo de la evaluación y ensayo sanguíneos.

Sumario de la invención

65 En un aspecto, la presente invención proporciona un método para determinar el valor del VCM de una muestra de sangre reciente cuando se conoce el valor del VCM para esa muestra de sangre, pero se desconoce el periodo de tiempo durante el cual esa muestra de sangre se ha almacenado. El método comprende las etapas de:

(a) proporcionar una muestra de sangre;

(b) determinar al menos los siguientes parámetros hematológicos de la muestra: VCM, HCM y CHCM;

5 (c) calcular el valor teórico de CHCM de la muestra de sangre, siendo el valor teórico de CHCM el valor de CHCM que se esperaría de la muestra cuando la muestra era reciente, determinándose el valor teórico mediante la relación entre el valor de HCM y el valor de CHCM determinado en una pluralidad de sujetos;

10 (d) comparar el valor teórico de CHCM con el valor de CHCM determinado para la muestra de sangre; y

(e) corregir el valor del VCM determinado para determinar el valor del VCM de la muestra cuando la muestra era reciente.

15 El método de la presente invención permite que un analizador hematológico automatizado proporcione una indicación más fiable del valor inicial del VCM de una muestra de sangre, es decir, el valor del VCM que se podría haber esperado para la muestra de sangre cuando la muestra era reciente. El método de la presente invención permite realizar una estimación razonable del valor inicial del VCM de una muestra de sangre, es decir, el valor del VCM que se podría haber esperado para la muestra de sangre cuando la muestra era reciente, incluso cuando en el laboratorio se desconocen tanto la duración del almacenamiento de la muestra como las condiciones en las que se ha almacenado. Además, el método de la presente invención emplea datos que están fácilmente disponibles como parte de los datos de recuento sanguíneo.

Breve descripción de las figuras

25 FIG. 1 es una gráfica que muestra cómo los valores del VCM de muestras de sangre determinados a tiempos dados cambian en función del tiempo a temperatura ambiente. En la FIG. 1, cada uno de los trazados de A a K, ambos incluidos, se determinaron a partir de muestras de sangre tomadas de 11 sujetos distintos.

30 FIG. 2 es una gráfica que muestra cómo los valores de HCM de muestras de sangre determinados a tiempos dados cambian en función del tiempo a temperatura ambiente. En la FIG. 2, cada uno de los trazados de A a K, ambos incluidos, se determinaron a partir de muestras de sangre tomadas de 11 sujetos distintos.

35 FIG. 3 es una gráfica que muestra como los valores del VCM de muestras de sangre a tiempos dados, calculados mediante el método de la presente invención, cambian en función del tiempo a temperatura ambiente. En la FIG. 3, cada uno de los trazados de A a K, ambos incluidos, se determinaron a partir de muestras tomadas de 11 sujetos distintos.

40 FIG. 4 es una gráfica que muestra cómo los valores de CHCM de muestras de sangre varían en función de los valores de HCM.

FIG. 5 es una gráfica que muestra cómo los valores de HCM de muestras de sangre varían en función de los valores del VCM.

45 FIG. 6A es una gráfica que muestra cómo los valores del VCM de muestras de sangre determinados 24 horas después de extraer las muestras se comparan con los valores del VCM determinados inicialmente.

FIG. 6B es una gráfica que muestra cómo los valores iniciales del VCM de muestras de sangre, calculados mediante el método de la presente invención, se comparan con los valores del VCM determinados inicialmente.

50 FIG. 6C es un trazado que muestra la diferencia entre (a) los valores del VCM de muestras de sangre determinados inicialmente y (b) los valores del VCM determinados después de que las muestras se envejeciesen durante 24 horas en función de los valores del VCM determinados inicialmente.

55 FIG. 6D es un trazado que muestra la diferencia entre (a) los valores del VCM de muestras de sangre determinados inicialmente y (b) los valores iniciales del VCM, calculados mediante el método de la presente invención, después de que las muestras se envejeciesen durante 24 horas en función de los valores del VCM determinados inicialmente.

Descripción detallada

60 Tal como se usa en el presente documento, "VCM" significa volumen corpuscular medio eritrocitario; "HCM" significa hemoglobina corpuscular media eritrocitaria; "CHCM" significa concentración de hemoglobina corpuscular media eritrocitaria. Los parámetros VCM, HCM y CHCM son índices de recuento de glóbulos rojos (RGR). Estos índices de RGR indican el volumen y carácter de la hemoglobina y, en consecuencia, ayudan al diagnóstico diferencial del tipo de anemia presente en un paciente. Estos índices derivan de las mediciones del hematocrito, hemoglobina y recuento de glóbulos rojos. La expresión "valor teórico" significa el valor de un parámetro de una muestra de sangre

que se espera determinar en una muestra de sangre reciente de un paciente normal. La expresión "valor inicial" y similar significa el primer valor de un parámetro de una muestra de sangre determinado en una serie cronológica de determinaciones de ese parámetro. La expresión "valor determinado" y similar significa el valor de un parámetro de una muestra de sangre que se mide y se indica mediante un instrumento analítico. La expresión "valor medido" y similar significa el valor de un parámetro de una muestra de sangre que se mide e indica mediante un instrumento analítico. La expresión "valor calculado" significa un valor de un parámetro de una muestra de sangre que se ha determinado mediante una relación matemática que utiliza al menos un parámetro adicional de la muestra de sangre y al menos una constante. La expresión "valor esperado" significa el valor de un parámetro de una muestra de sangre que se puede esperar si el parámetro se ha determinado a partir de la muestra cuando la muestra era reciente. El término "envejecida" significa almacenado durante un periodo de tiempo igual o mayor a 16 horas. El término "reciente", en referencia a la medición de un parámetro de una muestra de sangre, significa que la venopunción se ha realizado dentro de las cuatro horas anteriores a la medición del parámetro.

De acuerdo con el método de la presente invención, el valor del VCM de una muestra de sangre se puede calcular mediante referencia al valor HCM de la muestra y el valor de CHCM de la muestra determinado o medido mediante un instrumento analítico. En los casos de muestras de sangre en los que el valor del VCM medido o determinado ha aumentado debido al envejecimiento durante el almacenamiento, el método de la presente invención permite una determinación más precisa del valor inicial del VCM de la muestra.

La FIG. 1 muestra el efecto del almacenamiento sobre muestras de sangre que se han almacenado a temperatura ambiente durante periodos de hasta 48 horas. Los valores del VCM se midieron mediante un analizador hematológico "CELL-DYN" 4000, comercializado por Abbott Laboratories. Se pone de manifiesto que después de almacenarse durante un periodo de tiempo sustancial, una muestra de sangre dada mostrará un aumento en el valor del VCM medido. La FIG. 2 muestra que los valores iniciales de HCM de muestras de sangre dadas están próximos a los valores de HCM de aquellas muestras cuando éstas se han almacenado durante periodos de tiempo de hasta 48 horas. La FIG. 5 muestra que el valor de HCM y el valor del VCM de una muestra de sangre tienen una correlación lineal sustancial. En consecuencia, la pendiente de la gráfica en la FIG. 5 indica la concentración de hemoglobina corpuscular media, o CHCM, de la muestra.

El valor de CHCM en la población humana es típicamente de aproximadamente 33,3 g/dl. En consecuencia, el valor calculado del VCM es igual al valor medido de HCM dividido entre 33,3. Aunque esta relación matemática simple puede usarse por sí misma para calcular el valor inicial del VCM de una muestra de sangre envejecida, el uso únicamente de esta relación matemática es deficiente debido a que el valor de CHCM no es constante a lo largo de un periodo de tiempo en relación al valor de HCM. Este hallazgo se presenta en la FIG. 4, que muestra la relación entre HCM y CHCM. Por tanto, a medida que el valor de HCM disminuye, se puede esperar que el valor de CHCM también disminuya de algún modo. En ausencia de una corrección adicional, la estimación del valor inicial del VCM de una muestra de sangre únicamente mediante el valor de HCM podría tender o bien a sobrevalorar o a infravalorar el valor del VCM en los extremos del intervalo de medición, es decir, menos de 27 pg HCM en el extremo inferior de el intervalo de medición y más de 35 pg de HCM en el extremo superior del intervalo de medición.

El conocimiento de la relación típica entre el valor de HCM y el valor de CHCM para una muestra de sangre reciente permite determinar el valor teórico de CHCM para una muestra de sangre reciente. A su vez, el valor teórico de CHCM para una muestra de sangre se puede comparar después con el valor de CHCM determinado para una muestra de sangre y usarlo después para calcular el valor teórico del VCM para una muestra de sangre reciente.

Basándose en el valor medido de HCM de una muestra de sangre, puede obtenerse un valor de CHCM calculado para la muestra de sangre mediante el siguiente conjunto de relaciones:

$$(1) \text{ valor calculado de CHCM} = a \times (\text{valor medido de HCM}) + b$$

donde "a" representa una constante y "b" representa una constante, y "a" y "b" se obtienen de la relación de regresión de HCM en función de CHCM.

Los valores de "a" y "b" se obtienen determinando la relación entre el valor calculado de CHCM y el valor medido de HCM para un número grande de muestras recientes (por ejemplo, muestras recientes de aproximadamente 100 pacientes) procesadas en un instrumento analítico bien caracterizado y bien calibrado. El número de muestras recientes necesarias para obtener "a" y "b" debe ser suficiente para proporcionar resultados que se consideren fiables desde un punto de vista estadístico. Para un analizador hematológico automatizado típico, el número de muestras recientes necesarias para la determinación de las constantes "a" y "b" es preferentemente de al menos 50, más preferentemente de al menos 100, y más preferentemente de más de 200.

$$(2) \text{ valor teórico del VCM para una muestra reciente} = (\text{valor medido de CHCM dividido entre el valor calculado de CHCM}) \times (\text{valor medido del VCM})$$

Debe reconocerse que debido a que el valor de HCM y el valor de CHCM se determinan matemáticamente, hay numerosas formas de calcular el valor del VCM. La obtención mostrada anteriormente es meramente un ejemplo.

Los resultados de un cálculo típico se muestran en la FIG. 3. Para el conjunto de datos ilustrados, el valor de la constante "a" es de 0,2929 y el valor de la constante "b" es de 24,514. La FIG. 3 muestra que para muestras almacenadas a temperatura ambiente durante hasta 48 horas, el valor calculado del VCM permanece sustancialmente constante. Sin embargo, en la FIG. 1 puede observarse que los valores medidos del VCM para las mismas muestras, muestran que el valor medido del VCM aumenta en función del tiempo.

La confirmación de la validez del método de la presente invención para un número grande de muestras puede observarse en las figuras 6A, 6B, 6C y 6D. El número de muestras en el conjunto fue de 100. Estas figuras comparan el valor inicial del VCM de las muestras con (1) el valor del VCM de las muestras medidas realmente después de 24 horas y (2) el valor del VCM de las muestras después de 24 horas, calculado mediante el método de la presente invención. Las figuras 6A, 6B, 6C y 6D muestran que el método de la presente invención puede usarse para determinar con mayor precisión el valor inicial del VCM de una muestra que se ha envejecido tras el almacenamiento. Más particularmente, los datos de las FIGS. 6B y 6D muestran que el método de la presente invención elimina sustancialmente la desviación que se introduce utilizando muestras envejecidas en la determinación del valor inicial del VCM de una muestra de sangre.

La relación entre los valores de HCM y CHCM puede establecerse para un instrumento hematológico dado. La relación puede obtenerse mediante datos recogidos de muestras recientes procesadas mediante instrumentos adecuadamente calibrados.

A continuación los siguientes ejemplos no limitantes ilustran el método de la presente invención.

EJEMPLO 1

En el siguiente ejemplo, se empleó el analizador hematológico "CELL-DYN" 4000, comercializado por Abbott Laboratories, para la generación de los datos. Se utilizaron cien (100) muestras de sangre para establecer la relación de regresión entre el valor de HCM y el valor de CHCM. Se utilizó la regresión lineal de mínimos cuadrados convencional para obtener la pendiente (constante "a") y la ordenada en el origen (constante "b"), cuyas constantes variarán de un modelo de instrumento a otro. En el análisis de regresión lineal mostrado en la FIG. 4, la constante "a" es de 0,2929 y la constante "b" es de 24,514. En consecuencia, si el valor de HCM de la muestra de sangre fuese de 30 pg, el valor del VCM medido sería de 100 fl, y el valor de CHCM medido sería de 30 g/l, por tanto:

$$\begin{aligned} \text{Valor calculado de CHCM} &= 30 \times 0,2929 + 24,514 = 33,3 \text{ g/dl} \\ \text{Valor teórico del VCM} &= (30/33,3) \times 100 = 90,1 \text{ fl} \\ \text{Valor teórico del VCM} &= (30 \times 100)/(30 \times 0,2929) + 24,524 = 90,1 \text{ fl} \end{aligned}$$

En este ejemplo, un valor del VCM de 100 fl se corregiría mediante el método de la presente invención a un valor del VCM de 90,1 fl.

EJEMPLOS 2-5

En estos ejemplos, los valores del VCM medidos después de que las muestras se almacenasen durante 24 horas a temperatura ambiente y los valores iniciales del VCM, tal como se calcularon mediante el método de la presente invención después de las muestras se almacenasen durante 24 horas a temperatura ambiente, se compararon con los valores del VCM medidos antes del almacenamiento de las muestras. La Tabla 1 muestra los resultados de la comparación para las mediciones realizadas con cuatro instrumentos comercializados por Abbott Laboratories.

Tabla 1

	"CELL-DYN" 4000	"CELL-DYN" 3700	"CELL-DYN" 3200	"CELL-DYN" 1200
Cambio en el valor del VCM de las muestras observado después de almacenamiento a las 24 horas en relación al valor inicial del VCM de las muestras observadas (fl)	5,11	3,0	4,0	6,08
Desviación típica del cambio anterior (fl)	1,71	1,45	1,39	1,90
Cambio en el valor del VCM de muestras calculado mediante el método de la presente invención después de almacenamiento a las 24 horas en relación al valor inicial del VCM de muestras observadas (fl)	0,362	0,39	0,44	0,59
Desviación típica del cambio anterior (fl)	2,05	1,50	2,66	1,65

En una diversidad de analizadores automatizados "CELL-DYN", el valor del VCM calculado mediante el método de la presente invención reflejó con mayor precisión el valor del VCM determinado inicialmente de lo que lo hizo el valor del VCM determinado para muestras almacenadas durante 24 horas a temperatura ambiente.

Diversas modificaciones y cambios de la presente invención serán evidentes para los expertos en la técnica sin apartarse del alcance y espíritu de la presente invención, y debe entenderse que la presente invención no ha de limitarse indebidamente a las realizaciones ilustrativas expuestas en el presente documento.

REIVINDICACIONES

1. Un método para determinar el valor inicial del volumen corpuscular medio ("VCM") para una muestra de sangre, comprendiendo dicho método las etapas de:
- 5
- (a) proporcionar una muestra de sangre;
 - (b) determinar al menos los siguientes parámetros hematológicos de la muestra; volumen corpuscular medio ("VCM"), hemoglobina corpuscular media ("HCM"), y concentración de hemoglobina corpuscular media ("CHCM");
 - 10 (c) calcular el valor teórico de CHCM de dicha muestra de sangre, siendo dicho valor teórico de CHCM el valor de CHCM que se esperaría para dicha muestra de sangre cuando dicha muestra de sangre era reciente, determinándose dicho valor teórico mediante la relación entre el valor de HCM y el valor de CHCM determinado en una pluralidad de sujetos;
 - 15 (d) comparar dicho valor teórico de CHCM con el valor de CHCM determinado para dicha muestra de sangre; y
 - (e) corregir dicho valor del VCM determinado para determinar el valor del VCM para la muestra cuando dicha muestra era reciente.
2. El método de la reivindicación 1, donde dichos parámetros hematológicos se determinan mediante un analizador hematológico automatizado.
- 20
3. El método de la reivindicación 1, donde dicha muestra de sangre se ha envejecido por estar almacenada durante al menos 16 horas.
- 25
4. El método de la reivindicación 1, donde dicha etapa de corregir el valor del VCM observado utiliza una ecuación lineal.

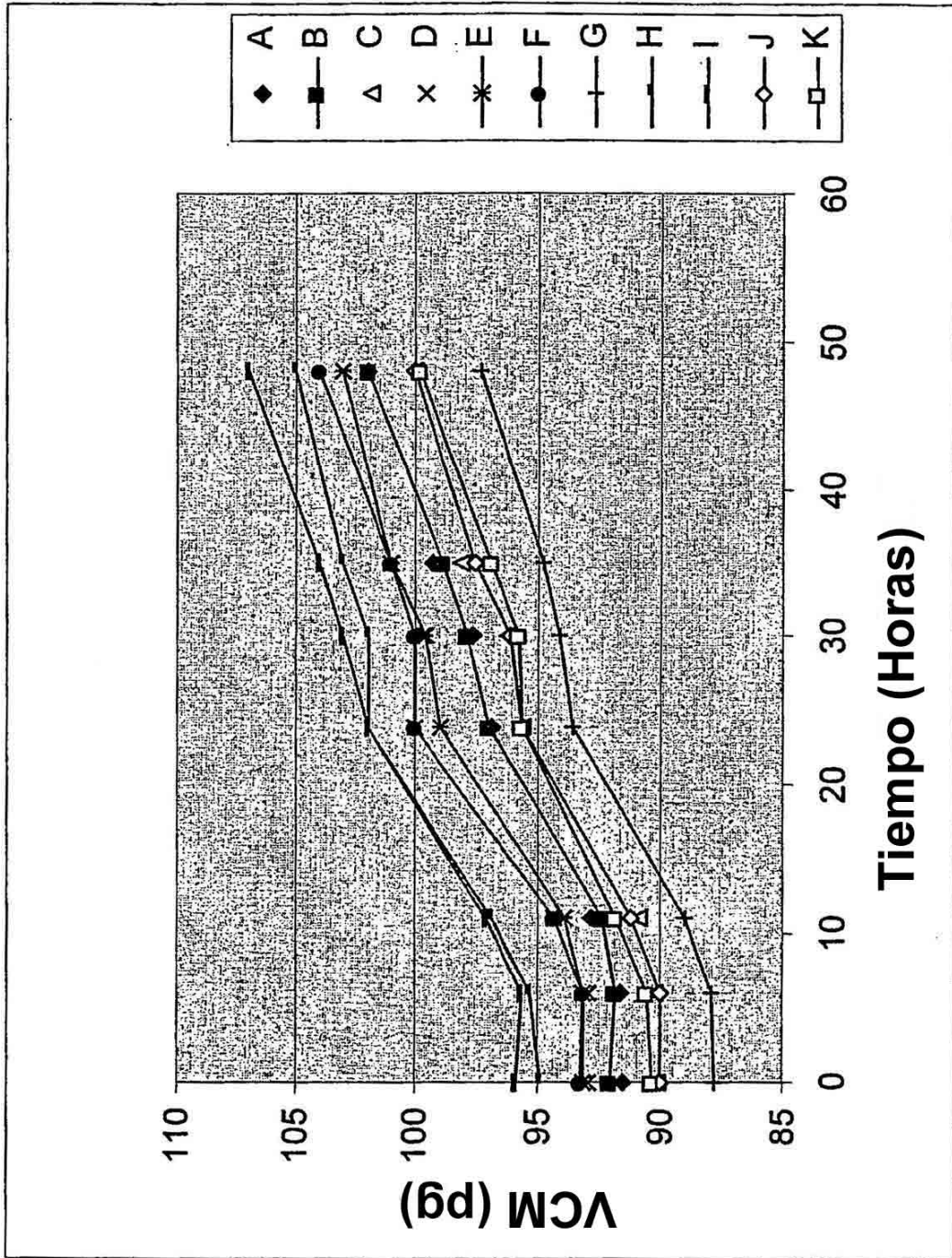


FIG. 1

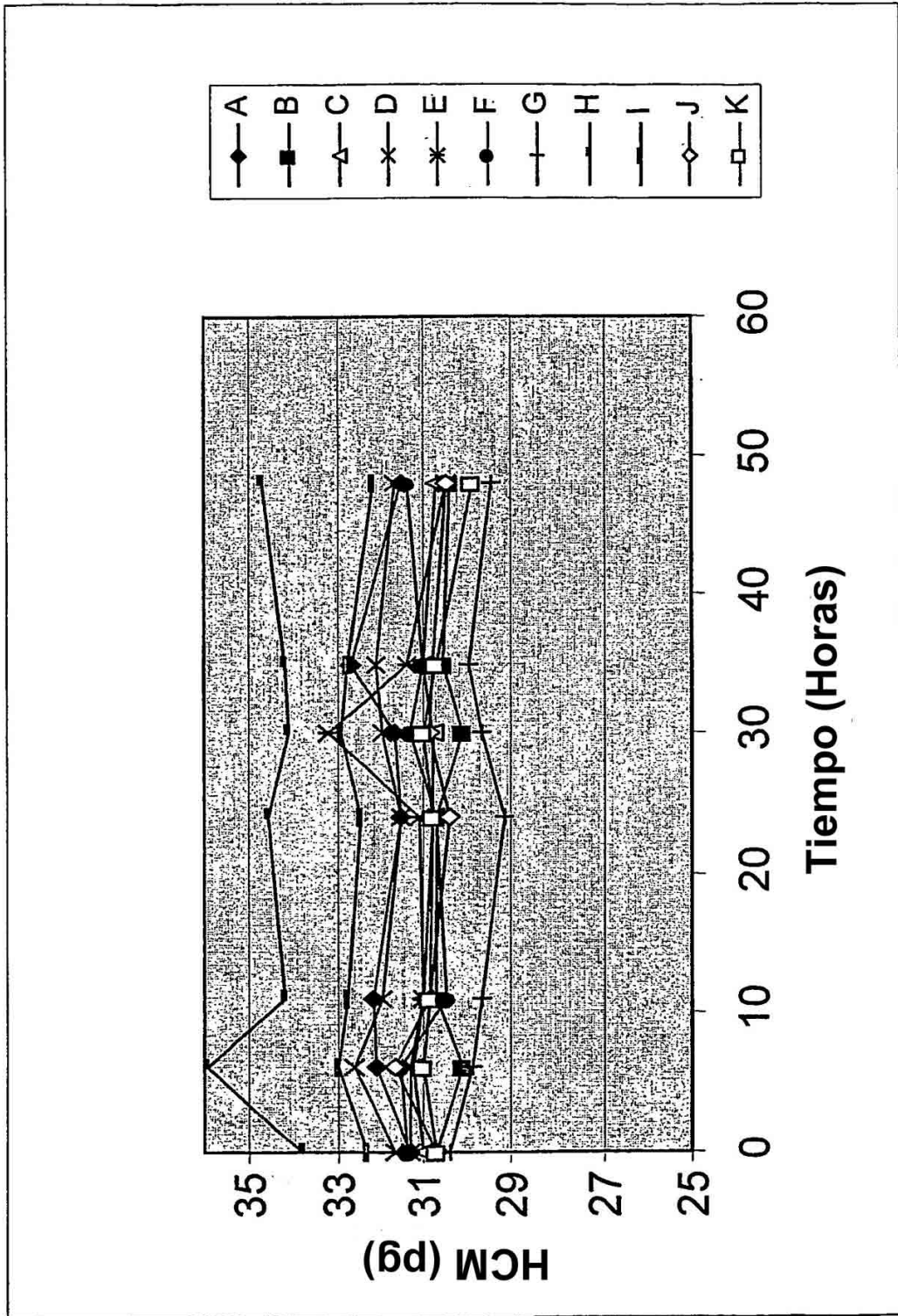


FIG. 2

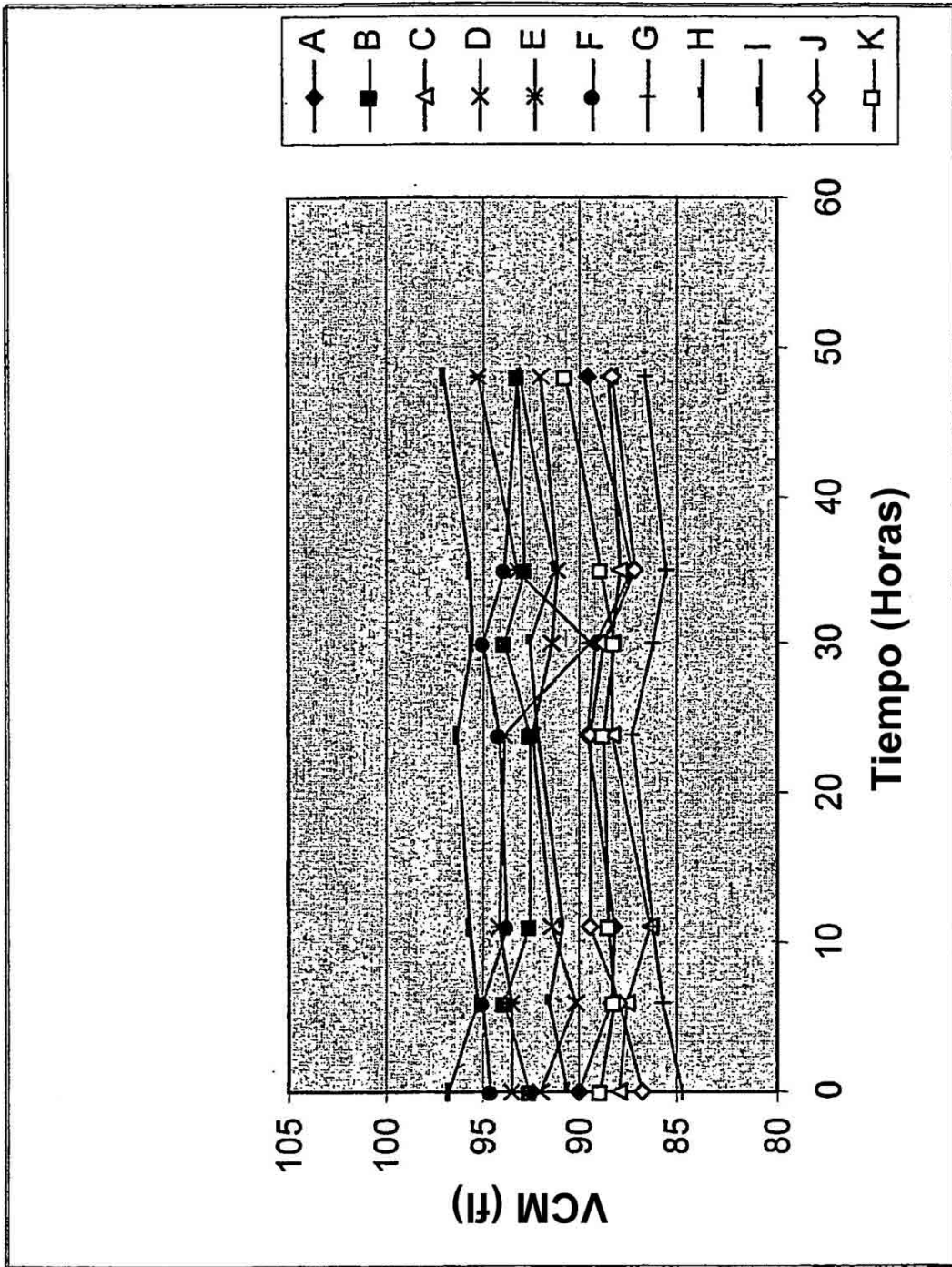


FIG. 3

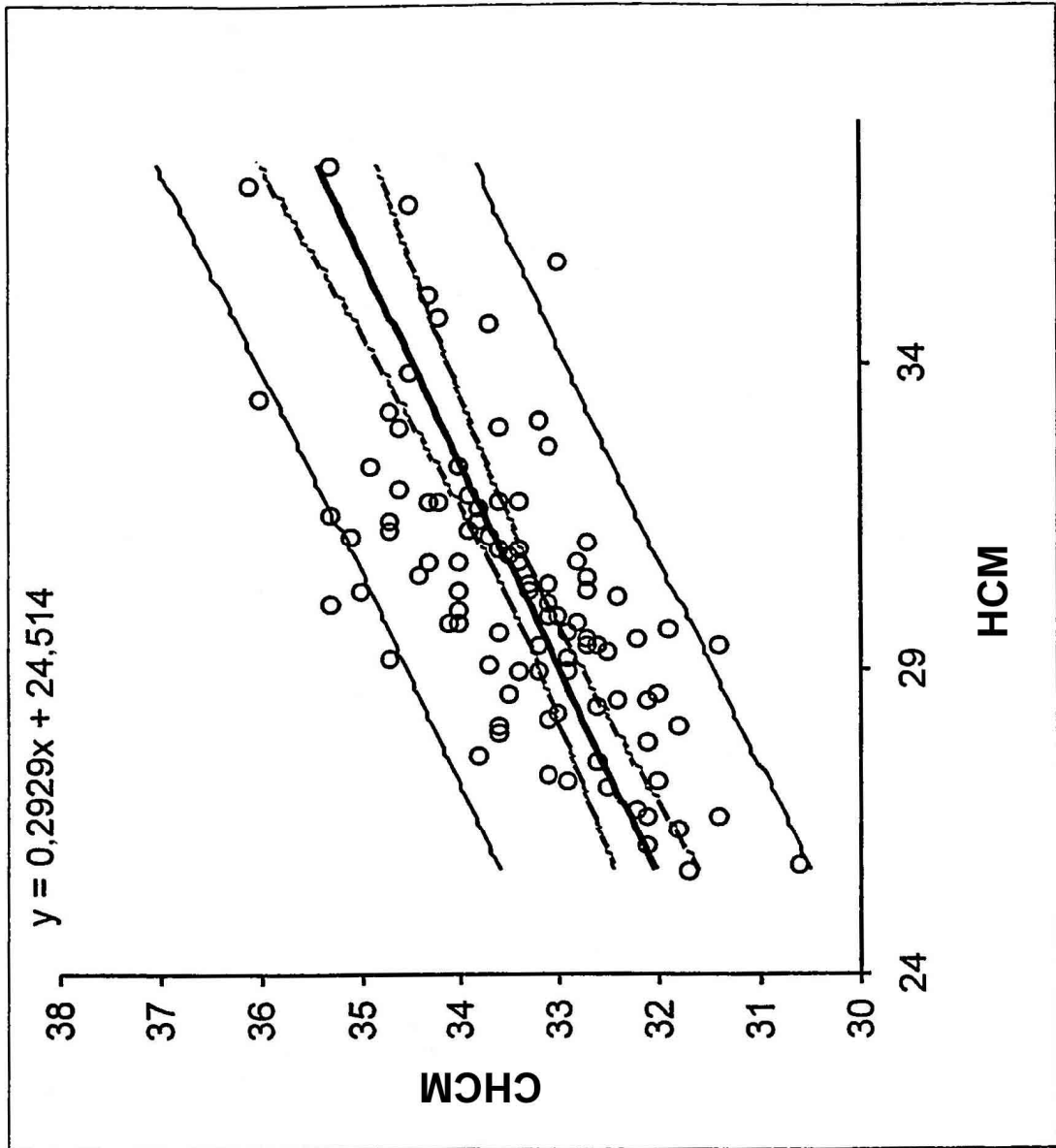


FIG. 4

FIG. 5

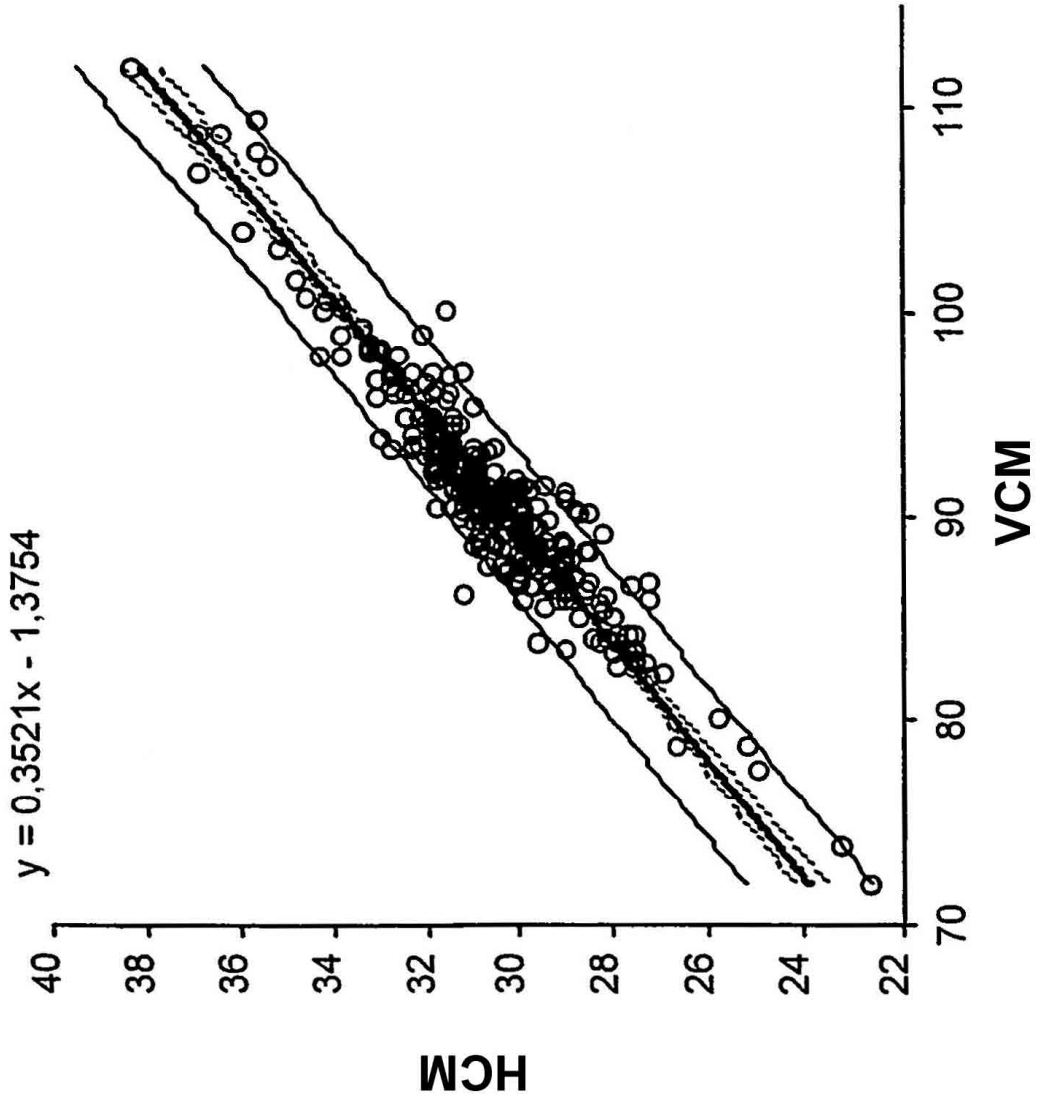


FIG. 6A

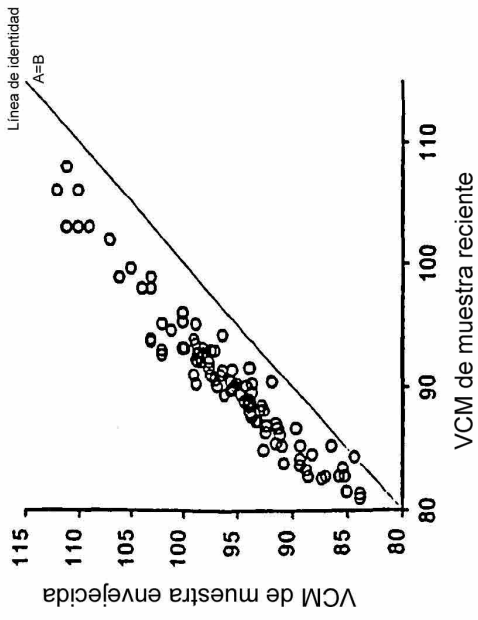


FIG. 6C

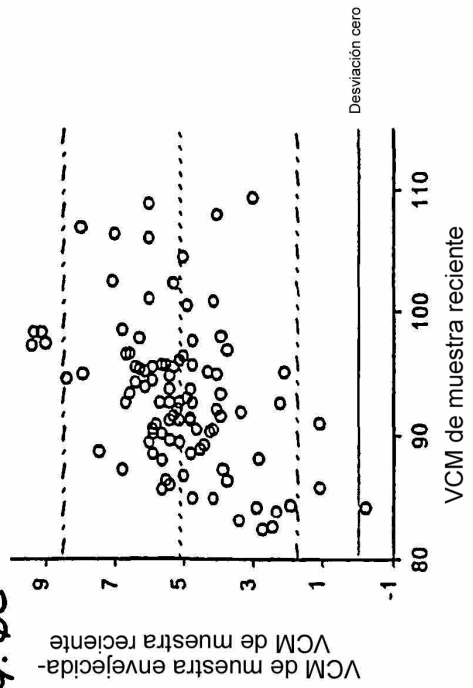


FIG. 6B

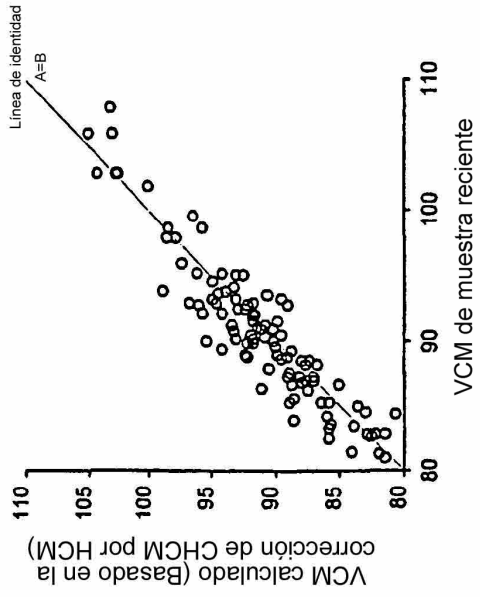


FIG. 6D

