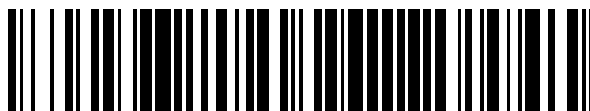


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 659 447**

51 Int. Cl.:

A61J 15/00 (2006.01)

A61B 5/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.12.2010** **PCT/US2010/058585**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.06.2011** **WO11068891**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.12.2010** **E 10835070 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.11.2017** **EP 2506821**

54 Título: **Ensayo para posicionar un tubo de alimentación y método del mismo**

30 Prioridad:

03.12.2009 US 283401 P

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

15.03.2018

73 Titular/es:

INGENZA LIMITED (100.0%)
Wallace Building, Roslin BioCentre, Roslin
Midlothian EH25 9PP, GB

72 Inventor/es:

CARR, REUBEN y
FARLEY, LUCY

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 659 447 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

Ensayo para posicionar un tubo de alimentación y método del mismo

5 Referencia cruzada a solicitud relacionada

La actual solicitud reivindica la prioridad para y el beneficio de la solicitud provisional Estadounidense No. 61/283,401 presentada el 3 de diciembre, 2009, y se incorpora por referencia y se hace una parte de esta.

10 Antecedente de la invención

Campo de la invención

15 La presente invención se refiere en general al campo de diagnóstico médico para verificar la ubicación de un dispositivo médico en un paciente. Mas particularmente, la presente invención se refiere al uso de una sustancia indicadora que se activa sobre, ya sea directa o indirectamente, mediante una enzima formada específicamente o ubicada en el lugar en el que se debe posicionar un dispositivo médico. Específicamente, la presente invención divulga un punto de método de cuidado y ensayo para posicionar precisamente un tubo de alimentación en el estómago de un paciente basado en detectar la presencia de una enzima hidrolasa encontrada en el estómago en el que se debe posicionar el tubo de alimentación.

20 Descripción de la técnica relacionada

25 Los tubos de alimentación son dispositivos médicos que le proporcionan principalmente a los pacientes alimentos y medicamentos adecuados para aquellos que no son capaces de ingerir fármacos o alimentos por su cuenta. Existe una serie de tipos de tubos de alimentación disponibles que dependen del método de inserción. Por ejemplo, se insertan tubos nasogástricos (tubos NG) a través de la nariz, después de la garganta, y hacia abajo dentro del estómago de los pacientes, mientras que los tubos orogástricos (tubos OG) se insertan a través de la boca, después de la garganta y dentro del estómago. Los tubos gástricos (tubos G) o tubos de gastronomía endoscópica percutánea, (tubos PEG) también están disponibles y se insertan dentro del abdomen a través de una pequeña incisión dentro del estómago. Los tubos G se utilizan comúnmente para nutrición entérica a largo plazo. Los tubos de alimentación tienen otros usos además de proporcionar nutrición ya que también se pueden utilizar para vaciar y descomprimir el estómago durante cirugía. El tipo de tubo de alimentación deseado variará en función de la edad del paciente y la afección médica. La adaptación y el uso de los tubos de alimentación se consideran procedimientos médicos comunes con amplio uso. De hecho, las cifras de ventas de los tres fabricantes de tubos nasogástricos más importantes se estima que vendieron 1.5 mil millones de tubos en 1999 (Hoffman, S. et al., Langenbeck's Arch Surg, 386:402-409 (2001)). Independientemente del método de inserción es importante que los tubos de alimentación se posicionen en forma precisa en el estómago de los pacientes.

40 La identificación positiva de la colocación de un tubo de alimentación en un paciente durante y después de inserción es altamente deseable hasta un alto grado de precisión y exactitud. La colocación incorrecta de un tubo de alimentación y la posterior administración del alimento o fármacos pueden tener serias consecuencias letales para un paciente. Para asegurar el posicionamiento seguro de los tubos de alimentación durante los procedimientos clínicos se debe posicionar el extremo distal del tubo de alimentación dentro del estómago y no en otras ubicaciones dentro del cuerpo. La falla en ubicar el tubo de alimentación en el estómago puede resultar en lesiones e incluso la muerte para el paciente particularmente si se presenta alimentación dentro de los pulmones. Una vez el tubo de alimentación está adaptado en el paciente, se requiere que se lleve a cabo revisión frecuente de la colocación por un médico para asegurar que se mantiene la colocación de tubo de alimentación en forma correcta. Las directrices clínicas recomendadas actuales dictan que se debe ensayar antes de cada alimentación o cuando la alimentación se administra, luego de vómito, arcadas o tos y si existe alguna indicación de que la colocación del tubo puede haber ocurrido, por ejemplo, si la cinta de aseguramiento del tubo esta suelta, si el tubo ya no se ve más o si esta retorcido. La duración media de un paciente que tiene un tubo de alimentación nasogástrico equipado es de 5.2 días ((Park, R.H.R., BMJ, 304:1406-9 (1992)) y la frecuencia de prueba debe ocurrir varias veces al día. Por lo tanto, el número total de pruebas para verificar la colocación de un tubo de alimentación es extremadamente alta.

55 Se conocen diversos métodos existentes para verificar la colocación del tubo de alimentación, que incluyen aquellos que se basan en una muestra obtenida por aspiración (extracción de una muestra líquida de un paciente a través del tubo después de colocación). Las pruebas de la muestra obtenida por aspiración incluyen examinar las características visuales del aspirado, medición de pH, mediciones del laboratorio de niveles de concentración de bilirrubina, pepsina y tripsina, y medición del dióxido de carbono en el extremo proximal del tubo de alimentación. Otras pruebas para confirmar la colocación de un tubo de alimentación no requieren muestreo de líquido, incluyen auscultación para un sonido de gorgoteo sobre el abdomen, medición de la longitud desde la nariz hasta el extremo proximal del tubo y exámenes de rayos x.

65 Existen opiniones en conflicto sobre la confiabilidad, exactitud y precisión de las pruebas de verificación utilizadas para confirmar la colocación del tubo de alimentación. La prueba de indicación "estándar dorado" ampliamente aceptada es

mediante el examen por rayos X. Aunque el examen de rayos X tiene un excelente índice de éxito, en la práctica esta prueba de verificación no se utiliza de forma rutinaria para revisar todas las colocaciones, como un resultado del coste prohibitivo, perjuicio y poco práctico para el paciente debido a la cantidad y frecuencia por la que las pruebas de confirmación se recomiendan que ocurran, el uso del examen de rayos X para determinar la colocación del tubo de alimentación resulta en mayores periodos entre alimentación, sobre exposiciones a rayos X e incomodidad general asociada con los exámenes de rayos X. Durante el retardo de tiempo entre la alimentación y los exámenes de rayos X puede haber movimiento, la prueba se invalida y se debe repetir el examen de rayos X. Ocasionalmente la prueba de rayos X se puede malinterpretar si la imagen no se interpreta correctamente por parte de un profesional capacitado adecuadamente o si la imagen se complica por el estado del paciente haciendo de esta manera la identificación del tubo o su ubicación menos certera. Todos estos factores son perjudiciales para la salud del paciente en estos casos de exámenes de rayos X para llevar a cabo esta prueba simplemente es inviable fuera de los hospitales o instituciones mayores que pueden ofrecer este servicio.

Las pruebas de laboratorio de niveles de concentración de bilirrubina, pepsina y tripsina pueden ser un indicador útil para predecir la ubicación del tubo de alimentación, pero dichos métodos no son prácticos para uso clínico, particularmente para un costado de la cama o unas instalaciones de punto de cuidado (Metheny, N. et al., J Parenter Enteral Nutr, 21: 279 (1997)). La implementación de las pruebas que implican medir los niveles de concentración de bilirrubina, pepsina y tripsina no se han seguido debido al alto número de muestras que requieren análisis, el requisito de un suministro rápido y entrega de resultados, el suministro de una instalación de laboratorios adecuada dentro de la proximidad cercana al paciente, el volumen sobrecogedor de pruebas requeridas y la carga de costo que se incurriría para suministrar este servicio. Un punto de cuidado confiable simple o prueba al lado de la cama es necesario para determinar la ubicación precisa de un tubo de alimentación en el estómago de un paciente. De hecho, el Departamento de Salud en el Reino Unido ha reconocido la necesidad de mejorar los métodos de prueba al lado de la cama que no se basen en técnicas de rayos X y también sean útiles de tal manera que en el futuro dichas pruebas se hagan posibles. (www.haps.bham.ac.uk/publichealth/psrp/documents/PS048_Call_for_proposals_NG_tubes.pdf)).

En la ausencia de una prueba precisa, no ambigua, conveniente, de bajo coste, adecuadamente rápida dentro de un punto de cuidado clínico o al lado de la cama, los métodos menos adecuados se utilizan en algunas ocasiones auscultando un sonido de gorgoteo sobre el abdomen o inspección visual del aspirado. Estas prácticas implican pruebas múltiples o de combinación, tal como aquellas destacadas anteriormente, para tratar de compensar los altos riesgos que se pueden atribuir a la persona que hace la prueba con base en su experiencia clínica. Dichas prácticas se reconocen como protocolos detallados y problemáticos que se escriben para evitar las posibles complicaciones (<http://www.nrls.npsa.nhs.uk/resources/?EntryId45=59794> and Yardley, I. et al., Clinical Medicine, Journal of the Royal College of Physicians, Vol. 10, No. 3: pp. 228-230(2010)).

Otra prueba utilizada comúnmente para verificar la colocación correcta del tubo de alimentación es medir el pH de una muestra de aspirado desde donde se coloca el tubo de alimentación. El pH del aspirado del estómago se espera que en general sea menor (más ácido) que el aspirado de un tubo de alimentación colocado de forma incorrecta (por ejemplo, los pulmones) debido a la presencia de ácido gástrico en el estómago. La confiabilidad proporcionada por un pH en la determinación de la colocación exitosa del tubo es mayor que los métodos comparables disponibles dentro de un entorno clínico al lado de la cama, pero incluso con este método, existen muchos casos en el que esta prueba no se puede utilizar. Esto es especialmente para aquellos pacientes cuyo pH gástrico se eleva de niveles normales por el uso de medicación y fármacos de prescripción común. Adicionalmente, el nivel normal del pH gástrico se sabe que varía ampliamente entre individuos, dependiendo de diversos factores externos. El pH del estómago incluso variará dependiendo del tiempo desde la última comida del paciente. Las pruebas de pH se administran por personal clínico que utilizan un papel indicador del pH. En razón a que el rango de pH para el aspirado gástrico está normalmente entre pH 0 y pH 7 pueden hacer diagnósticos exactos difíciles y poco confiables debido a las diferencias en el color del papel indicador a través de este rango. Esta diferencia de color, y por lo tanto la estimación de pH también se pueden ver influenciadas por factores externos tales como la luz ambiente y la visión del personal clínico que hace la evaluación.

Se han hecho evaluaciones detalladas por el Departamento de Salud en cuanto a lo que es una medición de "cortes" de pH ácido para asegurar que el tubo se posiciona de forma correcta dentro del estómago. En el pasado, se ha utilizado el papel de tornasol, pero el uso de la prueba de papel de tornasol se ha criticado recientemente por ser inexacta y por lo tanto se debe utilizar papel indicador de pH en su lugar. Como se describe en la tabla 1 y figura 7, una medición de pH de 4.0 o menos resulta en una colocación correcta del tubo, pero el índice de falla general de las pruebas de colocación aumenta, necesitando pruebas de rayos x adicional. Elevar "cortes" de medición de pH 5.5 permite que más prueban indiquen colocación en el estómago, mejorando de esta manera el "índice de paso" pero con un aumento de riesgo de que no se pueda hacer la ubicación correcta. Por lo tanto es preferible un "corte" de pH inferior (por ejemplo, pH 4.0) para asegurar la mejor seguridad posible del paciente al determinar la colocación en el estómago, aunque con un aumento de carga en el uso de rayos X. una opción preferible es por lo tanto utilizar un corte de pH más bajo (pH 4.0) pero con una prueba que alcance un "índice de paso" alto, manteniendo por lo tanto una seguridad del paciente y reduciendo o evitando un aumento en las pruebas de confirmación de rayos x.

Tabla 1. Resultados de las directrices clínicas

	Errores de colocación	Rayos X innecesarios
Alimentación pH 5.5; todos los rayos x	9.38%	24.15%

con pH>5.5		
Alimentación pH 4; todos rayos x con pH>4	0.62%	34.05%
Todos los rayos x	0	75%

Actualmente, los tubos naso u orogástricos mal colocados no detectados antes de uso es un problema de seguridad del paciente significativo y es el segundo incidente de seguridad de paciente prevenible más reportado en un informe anual del Servicio Nacional de Salud del Reino Unido 2009-2010. Dichos incidentes de seguridad prevenibles también se pueden denominar como “eventos nunca”, pueden conducir a pérdida importante de fondo de los hospitales. Se debe destacar que la incidencia de los tubos de alimentación identificados como mal colocados no es frecuente. Sin embargo, aunque la oportunidad de mala colocación es pequeña, debido al tremendo número de pruebas de verificación llevados a cabo cada año (que se estima es de muchos millones) el número absoluto de malas colocaciones es alto. La determinación precisa del índice de error de las malas de tubos de alimentación existentes es difícil de obtener en razón a que se reportan pobremente y dependen de cómo se definan, en adultos el rango de mala colocación se considera que promedia el 4%, aunque en niños la cifra es mayor que varía entre 21-43.5%, con base en el número extremadamente alto de pruebas de verificación que se llevan a cabo cada año, es claro que las pruebas de punto de cuidado robustas confirman que la colocación del tubo de alimentación es imperativo de razón a que incluso pueden ocurrir eventos de mala colocación de tubos de alimentación en un índice bajo con el uso actual, lo que sucederá razonablemente frecuentemente.

El documento US. 5 891 054 A, WESTHUS N: “Methods to test feeding tube placement in children”, MCN, vol. 29, no. 5, septiembre/octubre 2004, páginas 282-287, y WO 2007/141579 A1 muestran la determinación de la posición correcta de un tubo de alimentación basado en un contenido de enzimas y pH. Frédéric Beisson ET AL: “Methods for lipase detection and assay: a critical review”, European Journal of Lipid Science and Technology, febrero de 2000, páginas 133-153, Rani Gupta ET AL: “REVIEW Lipase assays for conventional and molecular screening: an overview”, Biotechnol. Appl. Biochem, enero de 2003, páginas 63-71 y Johnna Roberts ET AL: “A Colorimetric Assay of Pancreatic Lipase: Rapid Detection of Lipase and Colipase Separated by Gel Filtration INTRODUCTION”, Lipids, enero de 1985, páginas 42-45, muestran el uso de ensayos de tributirina para detectar la presencia de lipasas, tal como HGL, con indicación colorimétrica de la caída resultante en el pH.

En resumen, los resultados de estas prácticas se exponen a los pacientes equipados con un tubo de alimentación a un alto nivel de riesgo. El resultado negativo que resulta del diagnóstico erróneo o falta de diagnóstico de la colocación del tubo de alimentación son graves, provocando en numerosos casos daño severo y muerte. Por consiguiente, existe la necesidad crítica de superar los requerimientos de una prueba de verificación de punto de cuidado simple y adecuada. Los requisitos de dicha prueba de verificación deben incluir las siguientes características: operación en el punto de cuidado de un paciente, bajo costo, resultado rápido, baja complejidad de diseño, alteración mínima a las prácticas actuales, excelente confiabilidad y sin necesidad de que el usuario comprenda las características técnicas que sustentan la prueba.

El extremo distal del tubo de alimentación se debe colocar en el estómago y no en el pulmón o la garganta. Por lo tanto, la identificación de una especie o entidad que está únicamente presente en el estómago y cuyo uso incorpora las características deseables de la prueba de verificación de tubo de alimentación, como se indicó anteriormente, es altamente deseable. El pH es uno de dichos indicadores y se utiliza en pruebas existentes, pero se asocia con un alto grado de error y no se puede utilizar en todos los casos. En razón a que la función fisiológica primaria del estómago es la digestión de los alimentos, las entidades que facilitan la digestión probablemente están presentes en altos niveles suficientes o grado de función o actividad para proporcionar suficiente sensibilidad requerida durante la prueba de colocación del tubo de alimentación. Aquellas entidades que se presentan exclusivamente en el estómago proporcionan una ruta mediante la cual puede ser factible la prueba de colocación de tubo de alimentación en el punto de cuidado. Las entidades principales que pueden llevar a cabo esta función digestiva en el estómago son las enzimas hidrolasas. Estas ocurren extensivamente a través del estómago y se subclasifican en tres grupos principales: proteasas, hidrolasas, glucósido y lipasas/esterasas, que dependen de su modo de acción y sobre qué grupo de alimentación actúan. Los productos que resultan de estas reacciones químicas catalizada por enzimas ofrecen una oportunidad para que un método de detección adecuado. Para las proteasas los productos resultantes son fragmentos de péptidos más pequeños o aminoácidos, para las hidrolasas glucósido los productos son fragmentos de carbohidratos más pequeños o monosacáridos y para las lipasas/esterasas los productos son ácidos y alcoholes. La detección de uno o más de estos productos al lado de la cama utilizando una prueba, que caracteriza los atributos deseables destacados, resultara en una prueba de diagnóstico de colocación de tubo de alimentación altamente deseable. Críticamente, la selectividad excepcional asociada con las reacciones catalizadas por enzimas respaldaría la confiabilidad y especificidad con la prueba, en contraste directo a las pruebas ambiguas actualmente disponibles. La presente invención se proporciona para superar las limitaciones y desventajas de la técnica anterior y proporcionar aspectos novedosos hasta ahora no disponibles.

Resumen de la invención

La presente invención describe una prueba diagnóstica médica mejorada que reduce significativamente la frecuencia de error actual para posicionar un tubo de alimentación para administrar fármacos o alimentos a pacientes. La reducción en la frecuencia de error en la colocación del tubo reduce significativamente la probabilidad de daño severo o muerte a los pacientes de suministro de fármacos o alimentos a través de un tubo de alimentación posicionado incorrectamente en

En una realización se divulga un método para posicionar en forma precisa un dispositivo médico en pacientes. El método comprende proporcionar un dispositivo médico, obtener una muestra de fluido del área en el que se posiciona el dispositivo médico y detectar la presencia de una enzima mediante un sustrato de enzima como un indicador de un posicionamiento preciso del dispositivo médico, en el que la enzima se encuentra específicamente en el área del cuerpo en el que se debe posicionar el dispositivo médico. La detección de la enzima se realiza en el punto de cuidado del paciente.

En otra realización, se divulga un ensayo para posicionar en forma precisa un tubo de alimentación en el estómago de un paciente en el que el ensayo incluye impregnar un éster en el papel pH para detectar la presencia de una enzima hidrolítica.

En aun otra realización, se divulga un método para posicionar en forma precisa un tubo de alimentación en el estómago de un paciente. El método requiere proporcionar un tubo de alimentación y obtener una muestra de fluido corporal del aérea del cuerpo en el que se posiciona el tubo de alimentación. El posicionamiento exacto del tubo de alimentación se determina al detectar en la muestra de fluido la presencia de una enzima hidrolasa basada en un indicador éster utilizando un ensayo de punto de cuidado.

Estos y otros aspectos de la presente invención serán evidentes para los expertos en la técnica después de la lectura de la siguiente descripción de las realizaciones preferidas cuando se considera los dibujos, ya que soportan la invención reivindicada.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es un diagrama de flujo de un proceso para tomar decisiones de la presente invención para confirmar el posicionamiento seguro de un tubo de alimentación en un paciente con un papel indicador de pH impregnado con un sustrato éster;

La figura 2 es una fotografía de un pH observado cuando se aplican cuatro lipasas comerciales diferentes sobre un papel indicador de pH universal. El cambio de color ocurre y se completa sin cambio adicional de color después de 5 segundos. La columna a mano izquierda (+) son bandas de pH impregnadas con tributirina éster como se describió anteriormente. La columna a mano derecha (-) es la prueba de control sin el sustrato en el papel de pH;

La figura 3 es un diagrama que describe diversos sustratos éster utilizados en relación con la presente invención;

La figura 4 es una fotografía que escribe los resultados del ensayo de la presente invención en el que una banda inferior tiene un pH = 6 y la banda superior tiene un pH = 4;

La figura 5 es una fotografía que describe los resultados del ensayo de la presente invención utilizando una prueba sí/no;

La figura 6 es una representación gráfica que muestra la actividad enzimática que no se interfiere con la presencia de determinados fármacos de descripción; y

La figura 7 es una representación gráfica de las directrices de verificación de tubo de alimentación y errores.

Descripción detallada

La presente invención es capaz de realizaciones en muchas formas diferentes. Las realizaciones preferidas de la invención se divulgan con la comprensión de que la presente divulgación se tiene que considerar como ejemplificaciones de los principios de la invención y no pretenden limitar los aspectos amplios de la invención a las realizaciones ilustradas.

Los inconvenientes destacados de las pruebas actuales y las características potencialmente ventajosas exhibidas por las enzimas hidrolasa ubicadas en el estómago son la base de la invención divulgada aquí. La lipasa gástrica humana (HGL) es una enzima que se forma y se ubica específicamente dentro del estómago y no en otra parte del cuerpo (véase, Moreau et al., (Gastroenterology (1988)) 95: 1221-6, "Human Preduodenal Lipase Is Entirely of Gastric Fundic Origin"). Esta es una enzima hidrolasa altamente funcional, selectiva y eficiente. La acción de esta enzima sobre los sustratos que contienen un éster resulta en la liberación de un ácido carboxílico y un producto de alcohol. La formación del producto ácido resulta en una reducción neta general en el pH del medio en el que se libera el producto ácido. Se

conocen bien numerosos modos de detección de pH y varios de estos serían susceptibles a limitaciones prácticas necesarias para una prueba de punto de cuidado.

En una realización, la presente invención divulga impregnar un compuesto éster adecuado en, sobre o dentro de una superficie que indica pH de tal manera que cuando ocurra la aplicación de HGL, se libere ácido y se registre el cambio de pH observado por el indicador asociado utilizando papel de pH o un medidor de pH. En otra realización, la enzima que indica la salida puede ser una corriente, un LCD, un voltaje o un dispositivo de medición portátil. Con el fin de determinar la presencia de una lipasa, se obtiene una muestra de aspirado del paciente en el que se posiciona el tubo de alimentación. Alternativamente, se puede posicionar un sustrato que indica enzima sobre el extremo distal del tubo de alimentación para aliviar la necesidad de obtener una muestra de aspirado. La reducción del pH en la presencia de sustrato de enzima daría una confirmación clara e inequívoca de la presencia de HGL por una reducción en el pH, lo que no ocurriría en la ausencia de HGL o su sustrato. Esto sería magnificaría efectivamente el cambio de pH ya asociado con la detección de ácido gástrico y en razón a que una enzima hidrolasa es un catalizador, el efecto sobre el pH se amplificaría en gran medida.

Debido al exquisito grado de control y selectividad exhibidos por la lipasa/esterasas, se puede hacer la selección de un éster particularmente adecuado para mejorar la prueba si es necesario con el fin de mejorar la selectividad y evitar resultados positivos falsos. El éster se selecciona de tal forma que solamente el HGL y no las otras lipasas/esterasas no gástricas, hidrolizarían eficientemente el éster, provocando por lo tanto un mayor grado de control, precisión y confiabilidad en la prueba. Las diferencias de selectividad en la forma en que las diferentes lipasas/esterasas actúan sobre los ésteres se informa ampliamente. Por ejemplo, la presente invención divulga el uso de ésteres que incluyen, pero no se limitan a, tributirina, tricaprilina, triacetina, ácido n-butírico metilo, bencil butirato, etil levulinato, etilacetato o triesterano.

Una característica adicional del HGL es el pH óptimo de la enzima está en el rango de pH ácido, de tal manera que puede funcionar eficientemente dentro del ambiente ácido normal del estómago. Esto permitirá adecuadamente un mayor grado de control y selectividad para discriminar entre HGL y lipasas/esterasas gástricas, debido a que menores lipasas/esterasas no gástricas son capaces de tolerar y funcionar dentro de la naturaleza ácida del método de detección descrito. Adicionalmente, en razón a que el HGL funciona óptimamente bajo condiciones ácidas, el cambio de pH es rápido de tal manera que es idealmente adecuado para una prueba al lado de la cama. La formulación y preparación del éster químico dentro del papel indicador de pH también puede seleccionar para permitir la reacción más rápida y eficiente del sustrato para promover la liberación de los productos. Las posibilidades de formulación y preparación incluyen, pero no se limitan a, homogeneización y emulsificación del sustrato. Los componentes adicionales pueden incluir mejorar el ensayo al aumentar el índice de reacciones HGL. Dichos componentes pueden incluir, pero no se limitan a, hormonas tal como gastrina o agentes adyuvantes conocidos por acelerar la función catalítica de las lipasas/esterasas.

La reducción del pH resultante de la liberación de productos ácidos mediante la acción específica de HGL supera la debilidad asociada con las pruebas indicadoras de pH existentes, que son los medios de prueba actualmente preferidos utilizados en entornos clínicos. En esta prueba específica de HGL mejorado surge un resultado positivo genuino a partir del ácido gástrico (es decir, la medición de pH bajo de un aspirado) que no cambia de la prueba indicadora de pH convencional: el pH del aspirado se medirá como bajo. Sin embargo, significativamente en aquellos casos de prueba en los que el pH gástrico se eleva por el uso de fármacos prescritos o afecciones médicas, esta prueba específica de HGL eliminaría en mayor grado el error presente en aquellas circunstancias. Bajo aquellas circunstancias, utilizar una prueba de papel indicadora de pH estándar corriente es ambiguo: el mayor pH observado puede ser de un tubo de alimentación colocado en forma incorrecta en el estómago de un paciente con un pH de estómago alto o puede ser el resultado de un tubo de alimentación ubicado incorrectamente. Por consiguiente, los resultados se interpretan mal frecuentemente o requieren más acción de seguimiento costosa (por ejemplo, rayos X) para determinar el posicionamiento del tubo de alimentación.

Con la presente invención, el pH alto original caerá rápidamente, provocado por la acción de HGL en el éster impregnado resultante en un cambio de color del papel de pH de diagnóstico concluyente. Específicamente, el pH será menor que el pH de una muestra medida utilizando una prueba de pH estándar sin la presencia de HGL. En aquellos casos en los que se puede obtener una muestra de aspirado, pero no contiene HGL, provocada por colocación incorrecta del tubo de alimentación tal como el pulmón y, por lo tanto, no se origina desde el estómago, el HGL estaría ausente y el pH permanecería alto y la prueba diagnóstica sería negativa. La decisión sobre si proceder a alimentación se puede hacer por lo tanto con un grado de confiabilidad mucho más alto que el tubo de alimentación posicionado en forma incorrecta para evitar daño al paciente. El proceso de toma de decisión hecho por un médico se alteraría como un resultado (figura 1).

Aunque la presente invención divulga específicamente la detección de la presencia de HGL utilizando un sustrato éster, se pueden detectar otras enzimas presentes específicamente en el estómago utilizando un sustrato adecuado. Por ejemplo, la presencia de pepsina, basada en el sustrato Azocoll se puede utilizar para generar un producto de color rojo que se puede detectar al lado de la cama. El tinte Azo es liberado mediante la digestión de Azocoll para generar un producto de color. Alternativamente, se puede determinar la presencia de una enzima hidrolítica basada en un producto de color o fluorescente y no en pH, en el que el producto se deriva de un alcohol tal como para-nitrofenol, umbeliferona,

resorufina o dimedona que produce una respuesta fluorescente o de color específico. Por ejemplo, el glucósido hidrolasas se pueden es conocido por la acción alfa-glucosidasa en 4-nitrofenil- α -D-glucopiranosida que produce para-nitrofenol. Adicionalmente, las enzimas proteasa se pueden detectar mediante un producto de color amarillo que es conocido por tener actividad proteasa en péptidos que producen incremento de liberación de grupos amino que reaccionan fácilmente con ácido trinitrobenceno sulfónico para formar aductos de producto que generan un color amarillo.

La pepsina se clasifica como una proteasa, pero también presenta actividad esterasa (Nature, Vol. 204: p.580 (1964)). Por lo tanto, la detección de pepsina utilizando su comportamiento esterasa se puede implementar como la base para una prueba al lado de la cama utilizando el mismo enfoque que se destacó aquí con HGL. La detección al lado de la cama alternativa se puede basar en el acoplamiento del producto generado hidrolasa a un segundo proceso enzimático con el fin de generar un producto de color, por ejemplo, utilizando enzimas deshidrogenasa u oxidasa. Por ejemplo, monosacáridos como productos generados mediante acción hidrolasa glucósido que se pueden detectar al acoplar con oxidasa glucosa, aminoácidos como productos generados mediante la acción de proteasa se pueden detectar al acoplarse con aminoácidos oxidasa y alcoholes generados mediante la acción de esterasa se pueden detectar al acoplarse con oxidasa alcohol. Existen diversos métodos disponibles para ensayar la oxidasa pertinente o deshidrogenasa y ya existen métodos que permiten pruebas de punto de cuidado para identificar su actividad (es decir, dispositivos de monitorización de glucosa en sangre en punto de cuidado). La detección de cada una de las enzimas hidrolasa que utilizan el ensayo deshidrogenasa u oxidasa acoplado pertinente pueden permitir un producto formador de color específico o cambio en el potencial redox (electroquímico) que se genera el cual permite una detección al lado de la cama de las tres clases principales de hidrolasas.

Adicionalmente, la presente invención además contempla detectar la presencia de enzimas que se encuentran específicamente en el área del cuerpo en el que el dispositivo médico se va a posicionar utilizando un indicador de sustrato. Por ejemplo, es posible determinar la ubicación adecuada de un dispositivo médico en el duodeno o en otra parte en el tubo digestivo más allá del esfínter pilórico de un paciente al determinar la presencia de enzimas digestivas tal como lipasas pancreáticas utilizando un indicador de sustrato. La ubicación de los tubos de alimentación más allá del estómago, más abajo del tubo digestivo puede ser deseable dependiendo de los requerimientos y necesidades del paciente.

Las ventajas de esta prueba específica de HGL superan los inconvenientes asociados con las pruebas de indicación clínica existentes utilizadas para confirmar la colocación del tubo de alimentación. Una mayor frecuencia de resultados de prueba concluyentes se alcanzaría y con una prueba con grado de precisión mucho mayor cuando se evalúa junto con los métodos de prueba de verificación existentes. La reducción en el uso de exámenes de rayos X existentes para alcanzar el mismo grado de confiabilidad ofrecería beneficios adicionales. Estos beneficios incluyen períodos más cortos de alimentación retardada, costes reducidos y mayor tranquilidad de que los pacientes no sufrirán daños durante la alimentación. El uso de exámenes de rayos X sigue siendo un medio viable para confirmar cualquier resultado ambiguo de la prueba HGL propuesta, pero se espera que estos sean muchos menos numerosos que los observados actualmente.

La confiabilidad de la prueba es notablemente mejorada para pacientes con medicación que provocan un aumento en el pH gástrico. Cuando el pH del estómago es bajo, la salida de datos, operación y resultados de la prueba específica HGL permanece virtualmente sin cambio, en comparación con la prueba de indicación de pH existente en el ejemplo de un resultado positivo genuino. La resolución y contraste de la indicación de pH mejoraría generalmente en razón a que la mayoría de los valores de pH ácido resultan de (pH 0-4) la prueba específica HGL y tienen colores mucho más fácilmente distinguibles que los valores de pH normalmente obtenidos utilizando la prueba indicadora de pH existente (pH 0-7), reduciendo por lo tanto el riesgo de diagnósticos erróneos. Las directrices recomendadas actuales para colocación de tubo de alimentación al probar el pH, como lo definen las agencias que asesoran médicos en la revisión de colocación de tubo de alimentación, (por ejemplo, National Patient Safety Agency in the National Health Service) pueden permanecer virtualmente sin cambios. No se requiere conocimiento técnico o entendimiento fundamental más allá de los niveles actuales de competencias clínicas para llevar a cabo la prueba divulgada e interpretar los resultados. El coste de producción para fabricar la prueba HGL es bajo. Se ha demostrado una reducción significativa en la frecuencia de diagnósticos erróneos de colocación de tubo de alimentación para pacientes con medicamentos o fármacos que aumentan el pH gástrico. El error médico es una de las cinco causas principales de muerte en el mundo occidental. La prueba específica HGL, reducirá el número de incidencias de daños y muertes asociadas con la mala colocación de tubos de alimentación.

Ejemplo uno

El ensayo de la presente invención tiene un químico éster impregnado en papel indicador de pH. Se lleva a cabo la impregnación al agregar 1ml de tributirina de Sigma a 9 ml de agua, después de lo cual la mezcla se agita vigorosamente durante 30 segundos para dispersar la tributirina a través del agua en microgotas. El papel indicador del pH se sumerge en la mezcla resultante, se retira y luego se seca para evaporar el agua residual. Una vez seco, el papel indicador de pH preparado que contiene tributirina tiene una gota de 20 microlitros aplicada que contiene una lipasa disuelta de Amano. Junto con esto, un segundo papel indicador de pH de la misma fuente, pero que carece de la tributirina impregnada tiene otra gota de 20 microlitros de la misma lipasa disuelta aplicada. Después de un corto

periodo de pH se examina utilizando la escala indicadora del pH de referencia proporcionada por el fabricante del papel indicador de pH. El pH del papel indicador que contiene tributirina es pH 4, aunque la medición del indicador de pH de control sin tributirina medida estuvo cerca a pH 7. También se probaron tres de otras lipasas de diferentes fuentes en la misma forma y dieron resultados cercanamente similares demostrando el cambio de pH significativamente mayor cuando se incluye éster. Los resultados de estas pruebas se muestran en la figura 2.

Ejemplo dos

Es bien sabido en la técnica que la bioquímica y fisiología entre la lipasa gástrica de conejo (RGL) y la lipasa gástrica de humano (HGL) son similares. (Véase, Gargouri et al. (Biochimica et Biophysica Acta, 1006 (1989) 255-27, "Gastric lipases: biochemical and physiological studies"). Por lo tanto, se obtiene una muestra de extractos de estómago de Conejos liofilizados (JO4001) después de enjuagar estómagos en un tampón adecuado. El procedimiento corresponde a la primera etapa de purificación de lipasa gástrica según se reporta en Carriere et al. (Eur. J. Biochem. (1991) 202:75-83). "Purification and biochemical characterization of dog gastric lipase").

La actividad lipasa se mide en pH 5.5 utilizando la técnica pH-stat y tributirina como sustrato (Véase, Enzymology at Interfaces and Physiology of Lipolysis, "Standard assay of gastric lipase using pHstat and tributyrin as substrate") de acuerdo con Moreau et al., Biochem Biophys Ascta. 960: 286-93 (1988). "Purification, characterization and kinetic properties of the rabbit gastric lipase"). El polvo contiene 66.3 unidades lipasa (U) por mg de polvo, es decir 6.63% p/p de lipasa gástrica de conejo (RGL) basado en la actividad específica de RGL purificado (1000 U/mg) bajo las mismas condiciones de ensayo. 1 U = 1 mol de liberación de ácido butírico por minuto. El frasco contiene un gramo de JO-4001, es decir 66.3 mg RGL. Es valioso destacar que la pepsina también está presente en JO4001, pero su concentración no está bien caracterizada.

Se ensayan extractos gástricos de conejo para determinar si la actividad lipasa está presente utilizando un método de laboratorio "pH stat" analítico estándar. El extracto gástrico de conejo se ensaya adicionalmente con un rango de sustratos éster fácilmente disponibles, que incluyen tributirina, triaceprilina, triacetina, metiléster de ácido n-butírico, bencil butirato, etil levulinato, etil acetato y triestearina. Se detecta actividad en otro triacilglicerol (tricaprilina) y éster de monobutirato (benzilbutirato). Los resultados de aquellos ensayos se muestran en la figura 3.

Se prueba un prototipo de banda al lado de la cama utilizado extracto gástrico de conejo reconstituido que imita el jugo gástrico humano. Una banda de pH de control que no tiene sustrato éster se sumerge y seca con la mezcla de ensayo de banda de pH (la mezcla de ensayo comprende 1 g/L de tauroxicolato de sodio, 9 g/L de cloruro de sodio de sodio y 0.1 g/L de albúmina de suero bovino) y una banda de pH de prueba que tiene adición de tributirina y se suspende en 17 g/L en la mezcla de ensayo que se sumerge y seca. Una gota de 10 microlitros de extracto gástrico de conejo reconstituido se aplica a mano izquierda de la banda de pH. Después de 5 segundos, los resultados se demuestran en la figura 4, la banda inferior sin un sustrato de éster tiene un pH de 6, y la banda superior tiene tributirina que tiene un pH de 4. Los resultados confirman que una prueba al lado de la capa para detectar la presencia de una lipasa con un sustrato éster resulta en una reducción neta general de pH debido a la liberación de producto de alcohol y ácido carboxílico. Por consiguiente, la reducción del pH con la prueba al lado de cama de la presente invención proporciona una confirmación clara e inequívoca de la presencia de lipasa gástrica que no ocurre en la ausencia de lipasa gástrica o su sustrato.

Ejemplo tres

Un aspecto significativo de la presente invención es proporcionar una prueba de punto de cuidado para determinar la colocación adecuada de un tubo de alimentación que se puede utilizar fácilmente en un entorno clínico al lado de la cama. Para hacer la prueba más fácil de leer, se prueba un diseño de banda de pH alterno utilizando tecnología sí/no similar a los equipos de prueba de embarazo domésticos. La banda de pH se prepara con 0.2% p/v de fenol rojo, 1% p/v de tributirina en metanol. El pH se aumenta a 9.5 mediante la adición de hidróxido de sodio. La prueba de indicador rojo de fenol muestra un cambio de color para un pH por debajo de 6.8 (amarillo) y ningún cambio para un pH por encima de 8.2 (rojo). El pH inicial antes de aplicar la muestra es alto y de esta manera el fenol rojo es de color rojo debido a la adición de hidróxido de sodio en la formulación de la banda. Solamente cuando la enzima y el sustrato están presentes se genera suficiente ácido en la banda para reducir el suficiente pH para permitir que el fenol rojo se convierte de un color rojo a un color amarillo. En la ausencia de enzima o sustrato el ácido no se puede formar y permanece rojo el fenol rojo. Los resultados se describen en la figura 5 y tabla 2 adelante.

Tabla 2.

Posición	Tributirina	Lipasa
Derecha arriba	-	+
Izquierda arriba	+	-
Derecha abajo	-	+
Izquierda abajo	+	+

Ejemplo cuatro

Como se discutió anteriormente, uno de los problemas actuales con la verificación de la colocación correcta de un tubo de alimentación basado en el pH de una muestra de aspirado es que los fármacos de prescripción aumentarían inherentemente el pH gástrico de un paciente lo que resulta en diagnóstico impreciso y no confiable. Para determinar si la presente invención es aún efectiva en la presencia de fármacos de prescripción, el efecto de determinados fármacos de prescripción, a saber, Pantoloc (pantoprazol), Zanol (omeprazol) y Zantac (ranitidina) en la actividad lipasa se ensaya. Los resultados que se muestran en la figura 6 indican que la actividad de la enzima no se inhibe por la presencia de un fármaco. Para la ranitidina no existe reducción discernible en la actividad enzimática, mientras que el pantoprazol y el omeprazol mostraron una reducción en la actividad enzimática. Aunque la actividad enzimática reducida, permanece aún queda una cantidad detectable de enzimas para uso con la presente invención.

Ocurrirán determinadas mejoras y modificaciones a aquellos expertos en la técnica luego de la lectura de la anterior descripción. Se proporcionan los ejemplos mencionados anteriores para servir al propósito de clarificar los aspectos de la invención y serán evidentes para aquellos expertos en la técnica que no sirven para limitar el alcance de la invención. Todas las modificaciones y mejoras se han eliminado en el presente documento en aras de concisión y legibilidad, pero están dentro del alcance de las siguientes afirmaciones.

REIVINDICACIONES

1. Un método para determinar el posicionamiento preciso de un dispositivo médico en un paciente, el método comprende:
- 5 proporcionar un dispositivo médico;
- proporcionar una muestra de fluido corporal del área del cuerpo en el que se posiciona el dispositivo médico;
- 10 caracterizado por
- proporcionar un dispositivo indicador del pH impregnado con un sustrato de enzima;
- 15 seleccionar la muestra de fluido corporal con el dispositivo indicador de pH en un punto de cuidado para determinar el posicionamiento preciso del dispositivo médico basado en la acción catalítica de una enzima en la muestra de fluido corporal en el sustrato enzimático, en el que la acción catalítica de la enzima produce un pH menor que el pH detectado por una prueba de pH estándar.
- 20 2. El método de la reivindicación 1, en el que la enzima se encuentra específicamente en el área del cuerpo en el que se debe posicionar el dispositivo médico.
3. El método de la reivindicación 1, en el que la enzima es una hidrolasa, lipasa o una esterasa.
- 25 4. El método de la reivindicación 1, en el que la enzima es glucósido hidrolasa.
5. El método de la reivindicación 3, en el que el sustrato de enzima es un éster.
6. El método de la reivindicación 3, en el que la enzima es la lipasa humana gástrica (HGL).
- 30 7. El método de la reivindicación 6, en el que el sustrato de enzima es tributirina, tricaprilina. triacetina, metilo de ácido n-butírico, bencil butirato, etil levulinato, etil acetato o triestearina.
8. El método de la reivindicación 6, en el que la presencia de HGL produce un pH menor que el pH de una muestra sin HGL medido utilizando una prueba de pH estándar.
- 35 9. El método de la reivindicación 1, en el que el dispositivo médico es un tubo nasogástrico, tubo orogástrico o tubo PEG.
- 40 10. El método de la reivindicación 1, en el que el ensayo de punto de cuidado se posiciona sobre un extremo distal del tubo de alimentación.
11. El método de la reivindicación 1, en el que el tubo de alimentación es un tubo nasogástrico, tubo orogástrico o tubo PEG.

FIG. 1

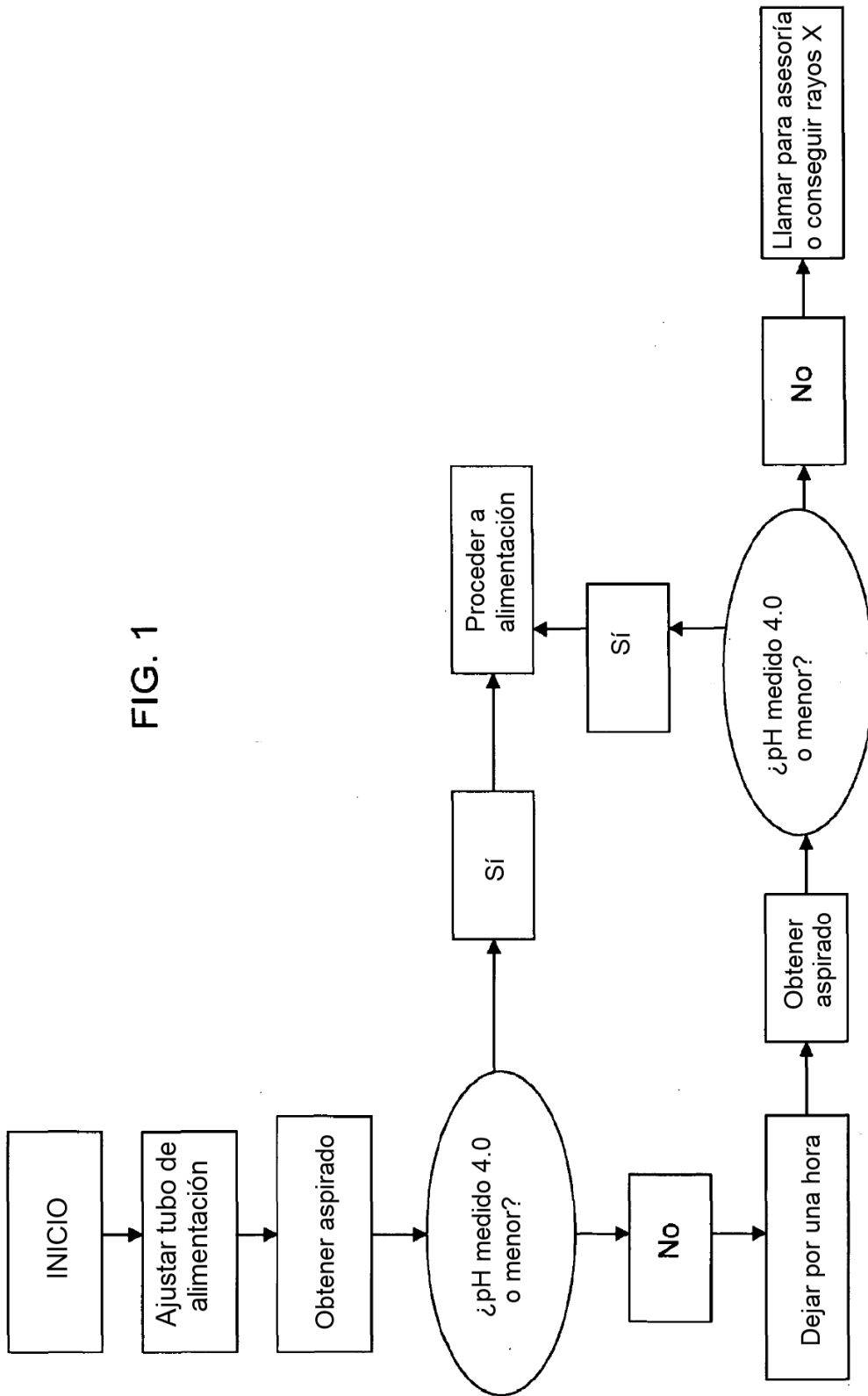


FIG. 2

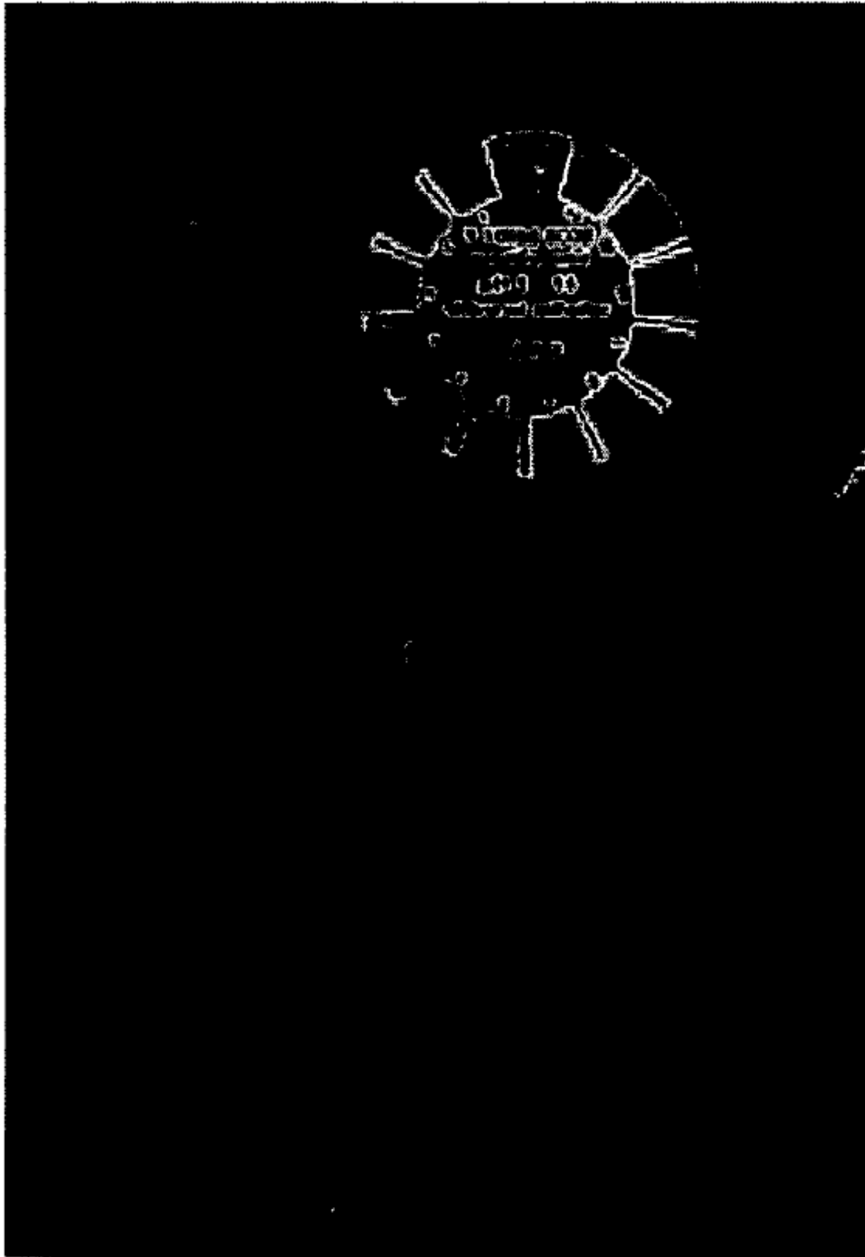


FIG. 3

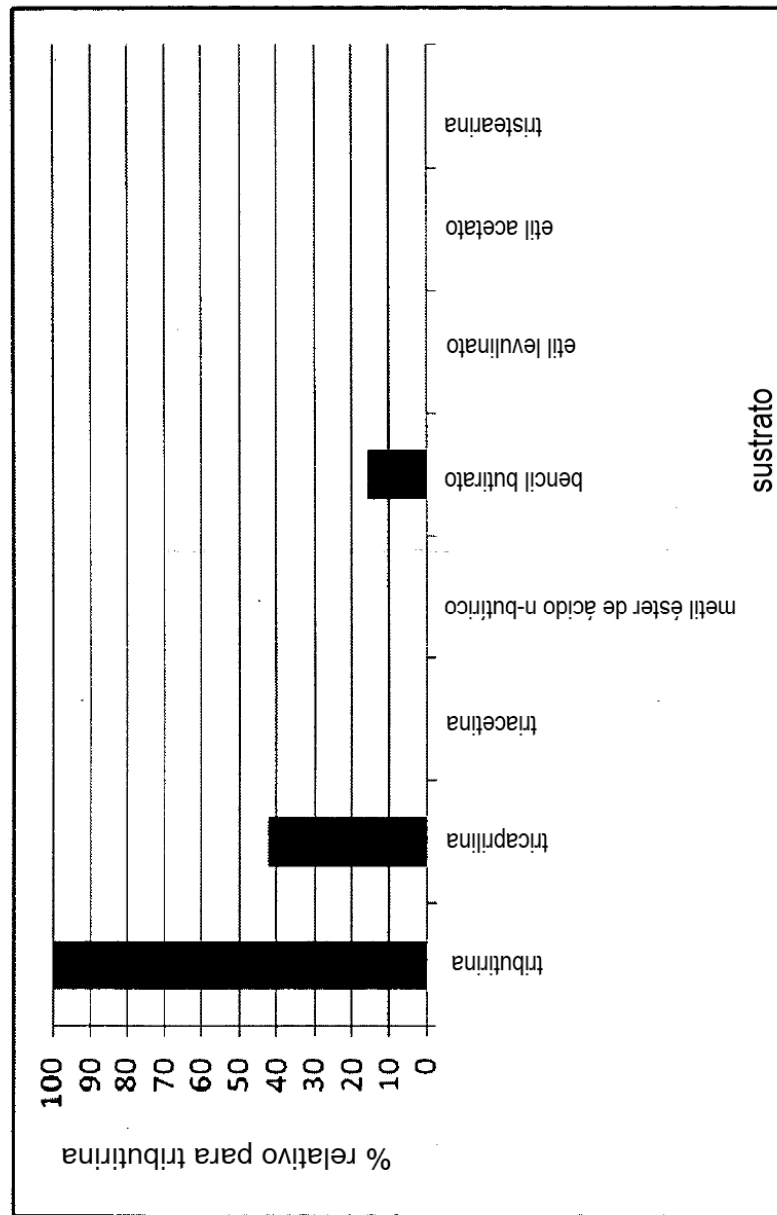
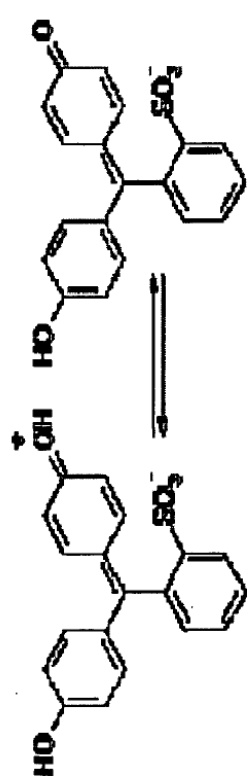


FIG. 4



FIG. 5



Fenol rojo-indicador de pH	
Por debajo de pH 6.8	Por encima de pH 8.2
6.8	

Posición	tributirina	lipasa
Derecha superior	-	-
Izquierda superior	+	-
Derecha inferior	-	+
Izquierda inferior	+	+

FIG. 6

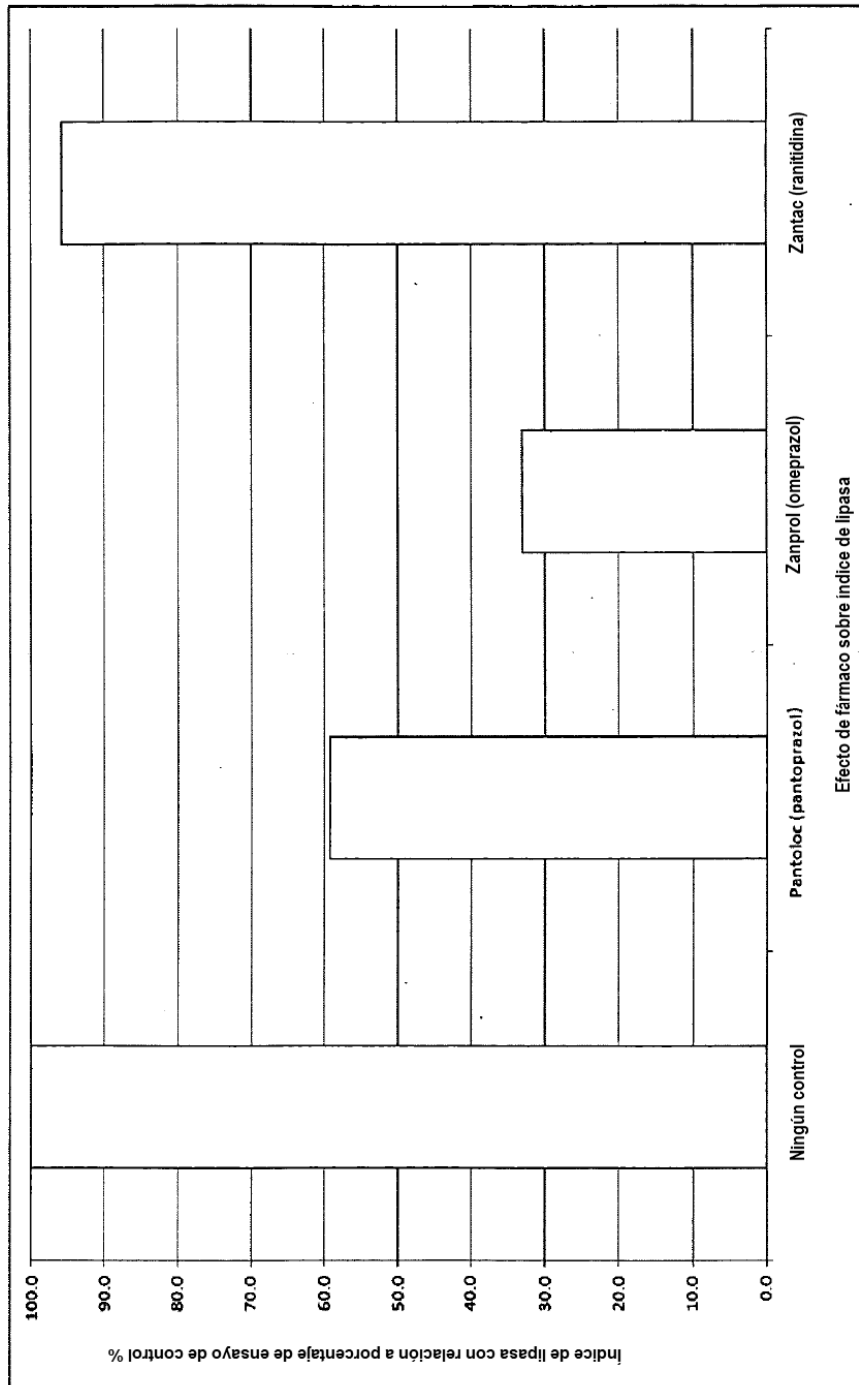


FIG. 7

