



287273

MEMORIA DESCRIPTIVA
=====

Correspondiente a una PATENTE DE INVENCION.

a favor de SOCIETE D'EXPLOITATION DE MARQUES ET BREVES, S.A.

(S.E.M.S.)

Establecida en ASNIERES (Francia) Rue Denis - Papin, 6

De nacionalidad Francesa.

Solicitada por VEINTE AÑOS PARA TODO EL TERRITORIO NACIONAL

por:

PROCEDIMIENTO Y DISPOSITIVO PARA LA EVALUACION DEL COMPLEJO
PROTROMBINICO.



287273

La presente invención tiene por objeto el examen de la coagulación sanguínea, por medio del estudio y de la dosificación biológica de un cierto número de factores que intervienen en este proceso complejo y sobre los cuales importa estar informado tan bien y tan rápidamente como sea posible, por ejemplo, en el caso de hemorragia grave o de vigilancia de un tratamiento médico de perturbaciones cardiovasculares por administración de medicamentos cuya actividad benéfica en cierto sentido, puede por otra parte alterar las características óptimas de la sangre humana, particularmente por lo que se refiere a su coagulación.

La invención tiene más particularmente por objeto un procedimiento para la evaluación rápida y segura del complejo protrombínico y de los factores emparentados, en condiciones cómodas y que se puedan reproducir perfectamente, eliminando al máximo los riesgos de error y de interpretación personal en la ejecución de operaciones basadas sobre la sencilla medida de los " tiempos de Quick ", es decir - de la medida in vitro de la duración de la coagulación, en presencia del tromboplastina cálcica sobreañadida y a la temperatura de 37° C, de un plasma obtenido a partir de una muestra de sangre recogida en mezcla anticoagulante. - Tiene igualmente por objeto, a título de producto industrial nuevo, un dispositivo sencillo, de manipulación y de lecturas cómodas para la explotación rápida y suficientemente precisa de los resultados proporcionados por la puesta en obra del procedimiento consabido.

En la puesta en obra del procedimiento según la invención, se utilizan únicamente técnicas perfectamente conocidas y de uso corriente en los laboratorios especializados

2 MAY.



- 3 -

287273

- de ciertos hospitales. Sin embargo, la aplicación de estas técnicas ha presentado hasta ahora serios inconvenientes. La construcción de una curva cotidiana, único procedimiento realmente válido hasta ahora para determinar un porcentaje de protombina y también para evaluar la concentración en cofactores del plasma que estudiar, es una operación fastidiosa. También se han utilizado ábacos o "familias" de curvas, generalmente establecidas una vez para todas y en condiciones experimentales que no pueden ser rigurosamente idénticas a las del utilizador; traen entonces una seguridad ilusoria pues no hacen intervenir más que un parámetro inherente a cada tromboplastina. Es así que dos tromboplastinas que conducen a un mismo tiempo de Quick sobre un plasma testigo dicho al 100% de protombina proporcionarán sobre el mismo plasma testigo, pero diluido en los dos casos en la misma proporción, dos tiempos diferentes de Quick. En fin, la técnica de la medida del tiempo de Quick efectuada después del enriquecimiento del plasma en calcio y en una tromboplastina preparada de manera clásica, por ejemplo a partir de sesos de mamíferos, proporciona un número que depende no solamente del porcentaje del complejo protrombínico (protrombina y cofactores) sino también de la presencia eventual y a menudo imprevisible de una anti-trombina en exceso (heparina) cuya influencia sobre el tiempo de Quick puede ser tanto más grande como su concentración en el plasma sea más elevada. El carácter aleatorio de las medidas efectuadas en estas condiciones puede proceder de la substitución del tratamiento heparínico por las antivitaminas K de la toma en un momento inoportuno de la sangre de enfermos sometidos a un tratamiento discontinuo
- 5.-
- 10.-
- 15.-
- 20.-
- 25.-
- 30.-



287273

por heparina o tambien, de una eliminación retardada de la heparina en enfermos hepáticos.

- El nuevo procedimiento según la invención para la -
evaluación rápida y segura del complejo protrombínico y de
- 5.- los factores emparentados en condiciones cómodas y que se pueden reproducir perfectamente, remedia a los inconvenientes expuestos más arriba. Se distingue particularmente por el hecho de que se determina por dos de sus puntos la curva representativa, en este caso una recta, de la actividad
 - 10.- trombocinética de una tromboplastina de tejido animal, - - actividad expresada por la inclinación de dicha curva establecida por referencia a un mismo plasma testigo, a saber - un plasma humano que procede de sangre tomada en un sujeto normal y recogida en todo medio anticoagulante, teniendo - por abscisa el primero de los dos puntos determinativos la
 - 15.- concentración dicha al 100% y teniendo por abscisa el segundo una concentración algo más débil, que corresponda -- por ejemplo a una dilución de dicho plasma testigo de la mitad o de la tercera parte, despues de que se mida en las mismas condiciones el tiempo de Quick de cualquier otro --
 - 20.- plasma no diluido que proceda de una muestra de sangre tomada en las mismas condiciones, y particularmente por receta en medio anticoagulante de composición idéntica, en todo sujeto que se ha de reconocer, se determina el punto de intersección, con dicha curva representativa, de la hori--
 - 25.- zontal teniéndolo por ordenada el tiempo de Quick de dicho plasma sin diluir por examinar y se lee directamente la -- concentración en complejo protrombínico de dicho plasma -- examinado bajando de dicho punto de intersección la perpendicular al eje de las abscisas, previamente marcado por incrementos de porcentajes entre las dos concentraciones ex-
 - 30.-



287273

tremas, por ejemplo 50 y 100%, del plasma testigo que ha servido para la elaboración de la curva representativa de la actividad de la tromboplastina puesta en obra.

Conforme a otra característica de la invención ten-

5.- diendo a facilitar la lectura y la precisión de la medida, se utiliza el artificio siguiente. La inclinación de la curva de Quick quedando evidentemente la misma si se le hace sufrir una rotación de 180°, se puede, modificando además en una misma relación convenientemente es-

10.- cogida la escala de las abscisas y la de las ordenadas, reducir en proporciones importantes el estorbo de la representación gráfica necesaria a la determinación del

porcentaje de protrombina estableciendo, tanto para la escala de las abscisas como para la de las ordenadas,

15.- dos graduaciones diferentes y utilizables una después de otra, según el sentido y la importancia de los espacios medidos entre el tiempo de Quick del testigo 50% y el del plasma examinado, por simple inversión de la orientación de la lectura.

20.- La tromboplastina de tejido animal que se utiliza con preferencia para la puesta en obra de la invención es el producto de la rehidritación extemporánea de un extracto acetónico de seso de mamífero con adición de cloruro de calcio, de un antiséptico tal como

25.- el timol, de suero fisiológico y de un aglutinante adecuado, luego ajustado a p_H comprendido entre alrededor de 7,3 y 8 y liofilizado después de una selección que

permita obtener un tiempo de Quick comprendido aproximativamente entre 11 y 13 segundos por adición de 0,2

30.- cm_3 de esta tromboplastina rehidratada a 0,1 cm_3 de -



287273

plasma humano normal. Se puede así, rehidratando una cantidad adecuada de dicha tromboplastina, efectuar en el mismo día o por lo menos en el intervalo de algunas horas toda una serie de medidas relacionadas con la misma curva de Quick de la cual los dos puntos determinativos se habrán establecido una vez para todas, de la manera arriba indicada.

- 5.- Según otra característica de la invención tendiendo a eliminar ciertas causas de errores señaladas más arriba e imputables a la presencia eventual de una antitrombina (por ejemplo heparínica) seañade a la tromboplastina de tejido animal, en el momento de su preparación y antes de su liofilización, una pequeña cantidad de una substancia conocida por sus propiedades que impiden la acción anticoagulante de la heparina y de las substancias análogas.
- 10.-
- 15.-

- El nuevo procedimiento según la invención es también ventajosamente aplicable, adaptándole técnicas conocidas, a la determinación de los porcentajes de los diversos factores de coagulación, consistiendo siempre el principio fundamental para medir el tiempo de coagulación de un sistema enriquecido en tromboplastina, en calcio y en todos los factores necesarios a la coagulación con la única excepción de el que se quiere dosificar. Se puede pues especialmente efectuar también la determinación rápida y segura de los cofactores (igualmente llamados arriba "factores emparentados") tales como la acelerina, la protrombina verdadera (factor II) la convertina (factor VII) y el factor Stuart (factor X) donde el conjunto protrombina (factor II) + convertina (factor VII) + factor Stuart (factor X). Basta para eso combinar el procedimiento conforme
- 20.-
- 25.-
- 30.-

287273



a la invención con el empleo de reactivos selectivos cuya preparación es clásica aparte algunas variantes y de los cuales ciertos están ya comercializados, y diluir más -- (por ejemplo 1/10 y 1/20 para el plasma testigo y 1/10 para el plasma que examinar).

5.-

En el cuadro de la invención se puede especialmente, utilizar:

1.- Un reactivo desacelerinado, rico en protrombina y en convertina.

10.-

2.- Un reactivo desconvertinado, rico en protrombina y en acelerina.

3.- Un reactivo deprotrombinado, rico en convertina y en acelerina.

15.-

4.- Un reactivo deprotrombinado y desconvertinado, rico en acelerina.

El conjunto de los resultados para un mismo enfermo se puede juntar ventajosamente en una tabla llamada -- coagulograma analítico, donde están consignadas igualmente otras observaciones relativas al hemostasis (resistencia vascular, tiempo de desangramiento, índice de coagulabilidad, numeración de la placa etc.) por medio de dos columnas dispuestas de cada lado de una columna central que corresponda a las características sanguíneas de un sujeto en perfecto equilibrio físico y fisiológico, estando por ejemplo la columna de la izquierda reservada a las observaciones hipocoagulabilidad y la de la derecha a las observaciones de hipercoagulabilidad. Además -- la misma tabla o coagulograma puede presentar en uno de sus bordes una especie de cuadrillaje permitiéndole al médico de cabecera decidir rápidamente los ensayos que --

20.-

25.-

30.-



287273

efectuar según cada caso (balance preparatorio, diagnóstico de los síndromes hemorrágicos; diagnóstico de las hipercoagulabilidades, establecimiento y vigilancia de los tratamientos anticoagulantes, diagnóstico o pronóstico de ciertas afecciones hepáticas etc.).

En fin, la invención tiene también por objeto, a título de producto industrial nuevo, un dispositivo para la materialización del procedimiento anteriormente descrito y para la utilización racional de los resultados. Este dispositivo, del cual un modo de realización preferencial pero no limitativo se representa en el dibujo adjunto, consta esencialmente de los elementos siguientes:

- a).- una placa rígida 1, de forma general rectangular, llevando paralelamente en la proximidad inmediata de sus dos grandes lados dos escalas E_1 y E_2 graduadas cada una en progresión aritmética y en el mismo sentido, a partir de dos puntos cero alineados sobre la misma perpendicular, estando marcadas las graduaciones por números expresando segundos y dispuestos de tal manera que al mantener la placa vertical los números leídos al derecho sean siempre los de la escala de la derecha, estando perforado el punto cero de la escala E_2 la más subdividida lo ajusta para dejar pasar un cordoncillo elástico 2 sujeto en la parte de atrás de la placa 1 e insertable a voluntad en una u otra de las ranuras 3 previstas a intervalos regulares que corresponden a las graduaciones de la escala E_1 la menos subdividida y a lo largo del lado interno de un pasillo estrecho 4 que corresponde a dicha escala E_1 ;
- b).- una regleta móvil 5 solidaria por sus dos extremidades de dos guías 6 y 7 bastante largas para permitirle desli-



287273

- zarse con flotamiento suave a lo largo de la placa 1 consabida quedando constantemente a escuadra con las dos escalas aritméticas E_1 y E_2 , estando prevista dicha regleta 5 para deslizarse sin frotamiento apreciable
- 5.- sobre el cordoncillo elastico 2 mantenido en tensión ligera en una de las ranuras para materializar por su inclinación o coeficiente angular, invariable sea cual sea el sentido utilizado para la lectura, la curva representativa de la actividad trombocinética de la tromboplastina utilizada para una misma serie de medidas y llevando dicha regleta 5 sobre cada uno de sus bordes y en toda su longitud útil una escala graduada de una manera distinta, por ejemplo, por su color o por su grafía, que recuerde la correspondencia con la escala aritmética que utilizar, llevando cada una de las dos escalas de la regleta 5 graduaciones bastante numerosas para una evaluación correcta y suficientemente precisa del porcentaje de protrombina, habiéndose establecido estas graduaciones según la curva de Quick para una elección de concentraciones convenientemente repartidas y de una manera suficientemente densa.
- 20.-
- Según el modo de realización preferencial de la invención, descrito unicamente a título de ejemplo no limitativo correspondiendo a las proporciones representadas en el dibujo adjunto, las dos escalas aritméticas E_1 y E_2 dispuestas paralelamente a los dos grandes lados de la placa 1 determinan un cuadrado de alrededor de 20 cm. de lado, la escala E_1 la menos subdividida representa, con ranuras dispuestas de medio segundo en medio segundo, una
- 25.-
- 30.- diferencia máxima de cinco segundos entre un testigo sin -



287273

- diluir (100%) y un testigo diluido a mitad (50%) y la Escala E₂ la más subdividida representa, con marcas dispuestas de segundo en segundo una diferencia de 40 segundos a lo más entre el tiempo del enfermo y el (el más corto) del testigo 50% mientras que las dos escalas de la regleta móvil 5 corresponden respectivamente a concentraciones globales (porcentaje de actividad protrombínica global o porcentaje de protrombina) comprendidas por una parte de 50 a 100% y, por otra, de 10 a -
- 5.- 50%, no pudiendo encontrarse concentraciones inferiores
- 10.- al 10% más que muy excepcionalmente y no presentando las mismas, por esta razón, ningún interés práctico. La invención se entenderá mejor refiriéndose, en el cuadro del dibujo adjunto, a dos ejemplos concretos de utilización del
- 15.- nuevo dispositivo que materializa el nuevo procedimiento.
- Vamos a suponer que se haya utilizado un plasma puro testigo (dicho de 100%) que da, con unatromboplastina conforme a la invención un tiempo de Quick de 13 segundos y, con la misma tromboplastina pero despues de dilución de la mitad (" testigo 50% ") con preferencia por
- 20.- una solución tampón de p_H 7,35 o a defecto por suero fisiológico, un tiempo de Quick de 17 segundos. Siendo la diferencia observada de 17 - 13 = 4 segundos, me inserta el cordoncillo elástico en la ranura de la escala E₁ situada enfrente de la cifra 4. La recta así concretizada
- 25.- por el cordoncillo tendido a razón de su elasticidad se caracteriza de la muestra de tromboplastina utilizada y se puede utilizar para todas las determinaciones efectuadas en la misma jornada antes de agotarse el lote de tromboplastina rehidratada.
- 30.-

287273



Vamos a imaginar ahora que el plasma sin diluir de un primer enfermo produzca un tiempo Quick de 14 segundos o sea un valor inferior de $17 - 13 = 3$ segundos al tiempo de Quick del testigo 50%.

- 5.- Al mantener la placa de manera que el pasillo de ranuras esté situado en la derecha, se hace entonces deslizar la regleta de manera que su borde superior este al nivel de la graduación 3 segundos de la escala derecha y basta leer la indicación marcada en el borde superior de la regleta en su intersección con el cordoncillo elástico para conocer el porcentaje de protrombina de plasma examinado = 80%.

- 15.- En otro caso (hipocoagulabilidad) podemos imaginar a un enfermo cuyo plasma sin diluir proporciona por ejemplo un tiempo de Quick de 29 segundos, o sea un valor superior de $29 - 17 = 12$ segundos al tiempo de Quick del testigo 50%.

- 20.- Despues de hacer girar la placa de 180° (pasillo de ranuras situado ahora a la izquierda) se lleva al borde (actualmente) superior de la regleta al nivel de la graduación 12 segundos de la escala vertical, La intersección de este mismo borde de la regleta con el cordoncillo elástico está situado enfrente del número 20 y se puede concluir enseguida que el porcentaje del protrombina del plasma examinado sea sensiblemente igual al 20%.

- 30.- Está bien entendido que la invención no se limita de ninguna manera al modo de realización más particularmente descrito y representado en el dibujo adjunto por lo que se refiere a la dosificación global del complejo protrombínico, y a las diversas variantes y adaptaciones bre-

287273



vemente indicadas anteriormente y que permiten asegurar la determinación de diversos cofactores según un modo de operatoria análoga, poniendo en obra reactivos selectivos, - bien conocidos en la técnica.

5.- REIVINDICACIONES.

- 1.- Proc dimiento y dispositivo para la evaluación del complejo protrombínico y de los factores emparentados, que se caracterizan porque se determina por dos de sus puntos la curva representativa, en este caso una recta, de la actividad trombotinética de una tromboplastina de tejido animal, actividad expresada por la inclinación de dicha curva establecida por referencia a un mismo plasma testigo, a saber un plasma humano procediendo de sangre tomada en un sujeto normal y recogida en todo medio anticoagulante usual, teniendo por abscisa el primero de los dos puntos determinativos la concentración dicha al 100% y teniendo por abscisa el segundo una concentración algo más débil, correspondiendo por ejemplo a una dilución de dicho plasma testigo en la mitad o en la tercera parte, despues de que se mide en las mismas condiciones el tiempo de Quick de cualquier otro plasma sin diluir procediendo de una muestra de sangre tomada en las mismas condiciones y especialmente por receta en medio anticoagulante de composición idéntica, en todo sujeto que reconocer, se determina el punto de intersección con dicha curva representativa de la horizontal teniendo por ordenada el tiempo de Quick de dicho plasma sin diluir que se examina y se lee directamente la concentración en complejo protrombínico de dicho plasma examinado al bajar de dicho punto de intersección la perpendicular al eje de las abscisas, previamente marcado por incrementos de porcen-
- 10.-
- 15.-
- 20.-
- 25.-
- 30.-

2 MAY.

287273



tajes entre las dos concentraciones extremas, por ejemplo 50 y 100% , del plasma testigo que haya servido a la elaboración de la curva representativa de la actividad de la tromboplastina puesta en obra,

- 5.- 2a.- Procedimiento y dispositivo para la evaluación del complejo protrombínico y de los factores emparentados, que se caracteriza porque se aumenta la facilidad de lectura y la precisión de la medida modificando en la misma - relación la escala de las abscisas y la de las ordenadas a partir de una concentración (bpor ejemplo 50%) por la cuál el tiempo de Quick del plasma testigo diluido a la concentración consabida llega a ser inferior a la del plasma examinado.
- 10.- 3a.- Proc dimiento y dispositivo para la evaluación del complejo protrombínico y de los factores emparentados, que se caracteriza porque se utiliza como tromboplastina de tejido animal el producto de la rehidratación extemporánea de un extracto acetónico de seso de mamifero con adición de cloruro de calcio, de un antiséptico tal como el timol, de suero fisiológico y de un aglutinante adecuado, luego ajustado a p_H comprendido entre alrededor de 7,3 y 8 liofilizado despues de una selección que permita obtener un tiempo de Quick comprendido aproximadamente entre 11 y 13 segundos - por adición de 0,2 cm_3 de esta tromboplastina rehidratada - a 0,1 cm_3 del plasma humano normal.
- 15.- 4a.- Procedimiento y dispositivo para la evaluación del complejo protrombínico y de los factores emparentados, que se caracteriza porque se eliminan las causas de errores imputables a la presencia eventual de una antitrombina (por ejemplo heparínica) utilizando una tromboplastina animal -
- 20.- con adición de una pequeña cantidad de una substancia conocida
- 25.-
- 30.-

2
287273



por prohibir la acción anticoagulante de la heparina y otras sustancias análogas.

- 5a.- Procedimiento y dispositivo para la evaluación del complejo protrombínico y de los factores emparentados,
- 5.- que se caracteriza porque se recurre a diversas variantes del procedimiento tal como está definido I^a para determinar tan rápida y tan seguramente los diferentes porcentajes de los factores de coagulación según un principio general bien conocido y que consiste en medir el tiempo de coagulación de un sistema enriquecido en tromboplastina en calcio y en todos los factores necesarios a la coagulación, unicamente a excepción de el que se quiera dosificar.
- 10.-
- 6a.- Procedimiento y dispositivo para la evaluación del complejo protrombínico y de los factores emparentados,
- 15.- que se caracteriza por la aplicación de un dispositivo de manipulación y de lectura cómodas para la explotación rápida y suficientemente exacta de los resultados proporcionados por la puesta en obra del procedimiento según las anteriores reivindicaciones que consta esencialmente de : a) una placa rígida
- 20.- I, de forma general rectangular llevando paralelamente y en la proximidad inmediata de sus dos grandes lados dos escalas E_1 y E_2 graduadas cada una en progresión aritmética y en el mismo sentido, a partir de dos puntos cero alineados en la misma perpendicular, estando marcadas las graduaciones por números que expresan segundos y dispuestos de tal manera que al mantener la placa vertical, los números leídos al derecho sean siempre los de la escala de la derecha, estando perforado el punto cero de la escala E_2 la más subdividida, justo lo suficiente para dejar paso a un cordoncillo elástico 2 sujeto al
- 25.-
- 30.- dorso de la placa y insertable a voluntad de una u otra de las



287273

- ranuras previstas en intervalos regulares que corresponden a las graduaciones de la escala menos subdividida y a lo largo del lado interno de un pasillo estrecho que corresponde a dicha escala; b) una regleta móvil solidaria por sus dos extremidades de dos guías bastante largas para permitir deslizarse con frotamiento suave todo a lo largo de la placa consabida quedándose constantemente a escuadra con las dos escalas aritméticas estando prevista dicha regleta para deslizarse sin frotamiento apreciable en el cordoncillo elástico mantenido en tensión ligera en una de las ranuras para materializar por su inclinación o coeficiente angular, invariable sea cual sea el sentido utilizado para la lectura, la curva representativa de la actividad trombocinética de la tromboplastina utilizada para una misma serie de medidas y dicha regleta llevando en cada uno de sus bordes y en toda su longitud útil una escala graduada de una manera distintiva, por ejemplo por su color o por su grafía que recuerde la correspondencia con la escala aritmética que utilizar, llevando cada una de las dos escalas de la regleta graduaciones bastante numerosas para una evaluación correcta y suficientemente precisa del porcentaje de protrombina, habiéndose establecido estas graduaciones según la curva de Quick para una elección de concentraciones convenientemente repartidas y de una manera suficientemente densa.
- 7.- Procedimiento y dispositivo para la evaluación -
- 25.- del complejo protrombínico y de los factores emparentados, que se caracteriza porque conforme a un modo de realización preferencial de la invención, las dos escalas aritméticas dispuestas paralelamente a los dos grandes lados de la placa determinando un cuadro de alrededor de 20 cm. de lado, representando la escala menos subdividida, con ranuras dispuestas cada medio segundo,-
- 30.-



287273

un intervalo máximo de 5 segundos entre un testigo sin diluir (100%) y un testigo diluido (50%) y representando la escala más subdividida, con marcas dispuestas cada segundo, un intervalo de 40 segundos a lo más entre el tiempo del enfermo y el (lo más corto) del testigo 50%, mientras que las dos escalas de la regleta móvil corresponden respectivamente a concentraciones globales (porcentajes de actividad protrombínica global o porcentaje de protrombina) comprendidas por una parte de 50 a 100 % y, por otra parte de 10 a 50 %, no pudiendo encontrarse concentraciones inferiores al 10% más que muy excepcionalmente y no presentando las mismas, por este hecho, ningún interés práctico.

8a.- PROCEDIMIENTO Y DISPOSITIVO PARA LA EVALUACION DEL COMPLEJO PROTROMBINICO Y DE LOS FACTORES EMPARENTADOS.

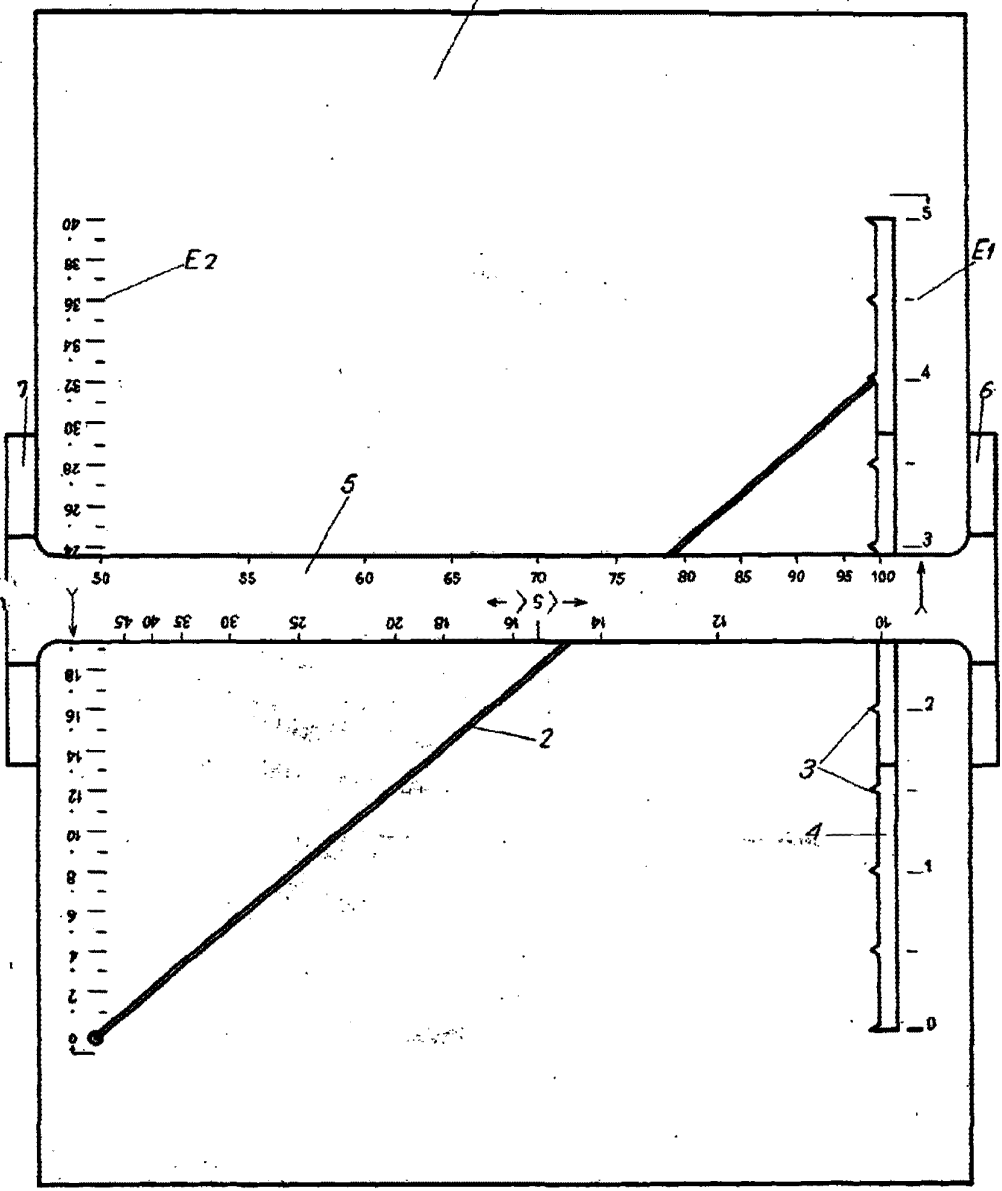
La presente Memoria Descriptiva consta de diez y seis hojas mecanografiadas por una sólo de sus caras y a dos espacios.

Madrid,

2 MAY. 1944



287273



Madrid, 22 FEB. 1963

Escala variable.