



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 275 980**

51 Int. Cl.:  
**G01N 33/68** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **03017128 .4**

86 Fecha de presentación : **29.07.2003**

87 Número de publicación de la solicitud: **1391733**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **25.02.2004**

54 Título: **Combinación de proteína C reactiva y dímero-D para el diagnóstico de trombosis venosa profunda (TVP).**

30 Prioridad: **09.08.2002 EP 02017913**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**16.06.2007**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**16.06.2007**

73 Titular/es: **Dade Behring Marburg GmbH**  
**Postfach 11 49**  
**35001 Marburg, DE**

72 Inventor/es: **Korte, Wolfgang**

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

**ES 2 275 980 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

Combinación de proteína C reactiva y dímero-D para el diagnóstico de trombosis venosa profunda (TVP).

5 La presente invención se refiere a un método de diagnóstico *in vitro* para pacientes con sospecha de trombosis venosa profunda, en el que mediante el análisis combinado en muestras de pacientes de dímero-D y CRP (proteína C reactiva), se puede aumentar la sensibilidad y el valor predictivo negativo de los diagnósticos de TVP (trombosis venosa profunda) hasta el 100%.

10 La trombosis venosa se refiere a un proceso inflamatorio que incluye una infiltración precoz del endotelio por neutrófilos y un incremento precoz de citoquinas proinflamatorias<sup>1</sup>. Mas específicamente, resultados recientes sugieren papeles importantes de la IL-10<sup>2,3</sup> y la P-selectina<sup>4,5</sup> en la regulación de esta inflamación. Se han rebatido<sup>7,8</sup> informes anteriores sobre concentraciones incrementadas de proteína C reactiva (CRP) en la trombosis venosa aguda<sup>6</sup>. Recientemente, se introdujo en el laboratorio clínico el llamado ensayo “de alta sensibilidad” (hs) que permite la determinación  
15 fiable de CRP en un intervalo de concentraciones<sup>9</sup> de bajo a muy bajo. En pacientes con enfermedad de las arterias coronarias, la medida de la CRPhs (proteína C reactiva de alta sensibilidad) permite la estratificación del riesgo para episodios cardiovasculares futuros<sup>10,11</sup>. Por lo tanto, la investigación se ha centrado principalmente en el uso de CRPhs como un marcador de riesgo para síndromes coronarios agudos<sup>12</sup>. Ésta también se ha usado para excluir la posibilidad de trombosis<sup>6</sup> basándose en su alta sensibilidad, sin embargo, se demostró que la especificidad era solo del orden de  
20 50%. En consecuencia, en el mismo estudio se midió el dímero-D con objeto de confirmar de modo concluyente la posibilidad de TVP.

Las estrategias diagnósticas actuales para pacientes con trombosis venosa profunda normalmente combinan la valoración de la probabilidad clínica<sup>13</sup> con la medición del dímero-D; este sistema identifica pacientes que necesitan  
25 además un estudio diagnóstico<sup>14</sup>. La precisión diagnóstica de tal sistema depende obviamente de la calidad del ensayo de detección de dímero-D usado<sup>15</sup>. Aunque en los últimos años se ha mejorado en gran medida la calidad de los modernos, automatizados y cuantitativos ensayos de detección de dímero-D, las sensibilidades y los valores predictivos negativos no se han alcanzado al 100%<sup>16</sup>. De ese modo, parece necesario un procedimiento de diagnóstico por imagen adicional para excluir de modo fiable la TVP en pacientes con probabilidad clínica alta<sup>17</sup>. Los procedimientos de diagnóstico por imagen seriados han demostrado ser menos rentables en comparación con la cuantificación del dímero-D  
30 inicial seguida de diagnóstico por imagen en caso de concentraciones de dímero-D atípicas<sup>18</sup>. La estrategia actual para el estudio inicial en pacientes con sospecha de TVP está basada en la exclusión de la enfermedad. Por consiguiente, la sensibilidad y el valor predictivo negativo (VPN) son los parámetros más importantes de tales técnicas.

35 Por lo tanto, existe además la necesidad de mejorar el diagnóstico de TVP aumentando la sensibilidad y especificidad de los métodos de diagnóstico *in vitro*, con el fin de evitar tanto como sea posible procedimientos de diagnóstico por imagen seriados, costosos y lentos.

40 Sorprendentemente los presentes inventores han encontrado que mediante el análisis combinado de dímero-D y proteína C reactiva (CRP), tanto la sensibilidad como el valor predictivo negativo de los diagnósticos de TVP se pueden incrementar hasta el 100%.

Por lo tanto, la presente invención se refiere a un método para el diagnóstico de exclusión de la presencia de TVP en un paciente de riesgo, que comprende las siguientes etapas:

- 45
- (a) análisis de una muestra de líquido de dicho paciente con un reactivo para la detección del dímero-D;
  - (b) evaluación de los resultados del análisis:  
50
    - (i) si se encuentra que la concentración del dímero-D es igual o está por encima de un valor de corte predefinido, no se excluye TVP en dicho paciente;
    - (ii) si se encuentra que la concentración del dímero-D está por debajo de dicho valor de corte, además se lleva a cabo un análisis según (c):  
55
  - (c) análisis de una muestra de líquido de dicho paciente con un reactivo para la detección de proteína C reactiva (CRP);
  - (d) evaluación del resultado del análisis: si la concentración de CRP se encuentra por debajo de un valor de  
60 corte predefinido, se excluye TVP en dicho paciente.

La CRP y el dímero-D se pueden analizar utilizando los principios de diferentes pruebas de inmunoensayo conocidas por los expertos en la técnica tales como turbidimetría, nefelometría, turbidimetría de partículas mejorada, nefelometría de partículas mejorada, aglutinación de látex, ELISA y otros posibles métodos de determinación  
65 inmunohistoquímica o inmunoquímica. Estos y otros métodos de detección se describen, por ejemplo, en “Labor and Diagnose”, ed. L. Thomas, TH-Books Verlagsgesellschaft mbH, Frankfurt, 1998, capítulo 60, o en “Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology - An Introduction to Radioimmunoassay and Related Techniques”, ed. T. Chard, Elsevier, Amsterdam, 1987.

## ES 2 275 980 T3

La CRP detectable a bajas concentraciones se denomina frecuentemente CRP de alta sensibilidad (hsCRP), un término que también se utilizará a continuación.

Los valores de corte apropiados se pueden definir por los expertos en la técnica individualmente para el ensayo de dímero-D y para el ensayo de CRP en base a procedimientos bien conocidos. Como ejemplo, se puede aplicar el siguiente procedimiento: se pueden analizar el dímero-D y la CRP en muestras de un número de pacientes diagnosticados de TVP, por ejemplo según procedimientos por imagen, y de un número de probandos no afectados por TVP; mediante la evaluación de los resultados de las pruebas obtenidos en cada uno de los ensayos según los diferentes valores de corte, y la combinación de los resultados de dímero-D con los de CRP, dicha combinación de valores de corte por la que se excluyen las muestras negativas mientras que no se excluyen las probadas positivas, puede considerarse útil para el diagnóstico.

Una realización preferida de la presente invención es el método para el diagnóstico de exclusión de la presencia de TVP en un paciente de riesgo como se describió anteriormente, en el que se analiza el dímero-D mediante un ensayo turbidimétrico de partículas mejorado aplicando un valor de corte de aproximadamente 0,5 mg/l.

Otra realización preferida de la presente invención es el método para el diagnóstico de exclusión de la presencia de TVP en un paciente de riesgo como se describió anteriormente, en el que se analiza la CRP mediante un ensayo nefelométrico aplicando un valor de corte de aproximadamente 4 mg/l.

Una realización de la presente invención incluso más preferida es el método para el diagnóstico de exclusión de la presencia de TVP en un paciente de riesgo como se describió anteriormente, en el que se analiza el dímero-D mediante un ensayo turbidimétrico de partículas mejorado aplicando un valor de corte de aproximadamente 0,5 mg/l y la CRP se analiza mediante un ensayo nefelométrico aplicando un valor de corte de aproximadamente 4 mg/l.

Con el fin de comprobar la eficacia diagnóstica del método según la presente invención, se demostró TVP en 40 de 87 pacientes ambulatorios evaluados (TVP distal en 10, TVP proximal en 30 pacientes). La hsCRP se incrementó significativamente en pacientes con TVP (mediana 11,75 mg/l frente a 3,4 mg/l,  $p = 0,0003$ ) pero no fue diferente en pacientes con TVP distal o proximal. Las concentraciones de hsCRP fueron independientes del género pero mostraron una débil correlación con la edad en pacientes sin TVP ( $r = 0,36$ ,  $p = 0,013$ ). Los valores de hsCRP  $> 4$  mg/l predecían una alta probabilidad en la Puntuación de Well [Razón de posibilidades (Odds Ratio) 2,62, 95% IC 1,01 - 6,82] y TVP (Razón de posibilidades 3,41, 95% IC 1,36 - 8,53). Al combinar el dímero-D (valor de corte 0,5 mg/l) y la hsCRP (valor de corte 4 mg/l) según el método de la presente invención, sorprendentemente se incrementó al máximo la sensibilidad y el valor predictivo negativo (100% cada uno) y al mismo tiempo, se incrementó la especificidad y valor predictivo positivo.

### Leyendas

Figura 1: Las medianas y la distribución de CRP medida con un ensayo hsCRP en pacientes con sospecha de TVP, en relación con su probabilidad clínica (Wells), puntúa 13. Las diferencias de CRP entre los pacientes con probabilidad baja o intermedia en comparación con los pacientes con probabilidad alta son significativas. Se puede ver un incremento gradual en la mediana de los niveles de CRP con puntuaciones de probabilidad crecientes.

Figura 2: Se muestra la especificidad y el valor predictivo positivo (PPV) del ensayo de dímero-D con o sin combinación con las medidas de hsCRP. Los cálculos se hicieron a niveles idénticos de sensibilidad y valor predictivo negativo (100%). La adición de hsCRP al programa del estudio diagnóstico incrementa la especificidad hasta un 6% y el valor predictivo positivo hasta un 3%.

A continuación se describe con más detalle el método según la presente invención incluyendo detalles experimentales. Ninguno de estos detalles se puede considerar que limitan la presente invención de ningún modo.

La presente invención se describe, además, en las reivindicaciones de patente.

### Descripción detallada y experimentos

#### *Pacientes y métodos*

##### *Pacientes*

Se ha publicado en otro trabajo<sup>20</sup> una descripción detallada de la población de pacientes evaluados. El estudio fue aprobado por los comités éticos locales y los pacientes incluidos habían dado su consentimiento informado. En resumen, se incluyeron pacientes consecutivos derivados para el estudio diagnóstico de una posible trombosis venosa profunda (TVP); los pacientes se excluyeron si habían recibido cualquier terapia anticoagulante durante más de 24 horas antes del enrolamiento en el estudio; si fueron hospitalizados durante los 3 días precedentes al enrolamiento en el estudio; o si se conocía un embarazo. Después, se determinó la probabilidad clínica o previa según Wells *et al.*<sup>13</sup>, dando la distinción de grupos de probabilidad “alto”, “moderado” y “bajo”. Posteriormente se diagnosticó o excluyó la TVP por venografía de contraste o sonografía duplex codificada en color. Si el estudio diagnóstico era negativo,

## ES 2 275 980 T3

se hacía un seguimiento de los pacientes hasta los 3 meses. Se consideraba que estaban libres de TVP si el estudio diagnóstico inicial era negativo y no aparecía ningún signo de TVP durante los 3 meses siguientes.

### Ensayos

5 En la presentación del paciente, se extrajo el plasma citratado, se repartió en alícuotas y se almacenó a 70°C hasta su uso. Las concentraciones de dímero-D se determinaron usando un ensayo inmunoturbidimétrico con látex perfeccionado, automatizado (dímero-D Tinaquant<sup>16,20</sup>, realizado en un analizador Hitachi 917, Roche Diagnostics). Se usó un valor de corte de 0,5 mg/l<sup>16</sup> para la exclusión de TVP. La CRP se midió con el ensayo de CRP de alta  
10 sensibilidad (hsCRP) Dade Behring, realizado en un nefelómetro II BN (Dade Behring).

### Estadística

15 Se representó una Curva de Rendimiento Diagnóstico (ROC, Receiver Operating Characteristics) de la hsCRP para predecir la TVP. Los niveles de hsCRP se correlacionaron con la edad, el género, la concentración de dímero-D y la puntuación de Wells (clasificación de Spearman). Se compararon las medianas de los niveles de hsCRP en pacientes con o sin TVP y en pacientes con baja, moderada y alta probabilidad en la puntuación de Wells (Prueba de Mann-Whitney). Para los niveles de hsCRP por encima del valor de corte, se calculó la Razón de Posibilidades (Odds Ratios) para la presencia de una puntuación de alta probabilidad y una TVP. Se usaron los paquetes de programas informáticos  
20 SigmaStat (Versión 2.0, SPSS, Chicago, USA) y MedCalc (Versión - 5 - 5.0, Software Medcalc, Mariakerke, Belgium; Curva ROC, Odds Ratios).

25 Se usó el siguiente algoritmo para evaluar el uso combinado de dímero-D y hsCRP: si la concentración de dímero-D estaba por encima del valor de corte 0,5 mg/l, no se podía excluir la presencia de una TVP. Si el dímero-D estaba por debajo de 0,5 mg/l, también se consideró la concentración de la hsCRP: si la hsCRP estaba por debajo del valor de corte 4 mg/l (véase a continuación), se consideró que el paciente no tenía TVP, de lo contrario no se excluía la trombosis.

30 Para comparar la precisión del uso de dímero-D frente a dímero-D más hsCRP, se compararon las especificidades y valores de predicción positivos de ambos métodos a idéntica (100%) sensibilidad y VPN.

### Resultados

35 Se evaluaron 87 pacientes ambulatorios consecutivos con sospecha de TVP. La puntuación de Wells estaba disponible para 76 pacientes, con 10, 31 y 35 pacientes que tenían puntuación de baja, moderada o alta probabilidad respectivamente. La venografía de contraste o la ultrasonografía duplex codificada en color revelaron una TVP en 40 pacientes (10 TVP distal y 30 TVP proximal).

40 Los pacientes sin TVP tenían una mediana de la concentración de hsCRP inferior (3,4 mg/l, 95% IC 1,61 - 5,54 mg/l) comparado con los pacientes con TVP (11,75 mg/l, 95% IC 6,10 - 29,70 mg/l,  $p = 0,0003$ ). La hsCRP no fue diferente en pacientes con TVP proximal o distal.

45 Las medianas de las concentraciones de hsCRP fueron 3,01 mg/l para la probabilidad baja según la puntuación de Wells, 4,31 mg/l para la moderada y 9,7 mg/l para la alta con diferencias significativas entre los grupos de probabilidad alta y baja a intermedia (figura 1). Las puntuaciones de Wells en bruto mostraron una baja correlación con las concentraciones de hsCRP ( $r = 0,363$ ,  $p = 0,002$ ).

50 Las concentraciones de CRP de alta sensibilidad fueron independientes del género pero mostraron una débil correlación lineal con la edad en pacientes sin TVP ( $r = 0,36$ ,  $p = 0,013$ ) pero no en pacientes con TVP ( $r = 0,28$ ,  $p = 0,081$ ).

55 Había una correlación moderada entre el dímero-D y la hsCRP ( $r = 0,550$ ,  $p = < 0,0001$ ). La curva ROC para hsCRP (área bajo la curva 0,724, 95% IC 0,617-0,814) muestra el valor de corte más preciso (resultados de falso positivo y falso negativo mínimos) a 6 mg/l. A ese valor de corte, sin embargo, la sensibilidad y el VPN estuvieron por debajo de lo óptimo. Por lo tanto, también se evaluó un nivel de valor de corte de 4 mg/l, dado que este nivel reflejaba una especificidad máxima media.

60 Valores de CRP de alta sensibilidad  $> 4$  mg/l predecían alta probabilidad en la puntuación de Wells (Razón de posibilidades (OR) 2,62, 95% IC 1,01-6,82) y TVP (Razón de posibilidades (OR) 3,41, 95% IC 1,36-8,53).

La precisión diagnóstica para el dímero-D más la hsCRP fue superior que para el dímero-D solo (la especificidad y el valor predictivo positivo (VPP) se incrementaron un 6% y un 3% cuando se compararon a una sensibilidad del 100% y a un VPN del 100%, véase figura 2), pero la tasa de exclusión fue un poco más baja (21% frente a 29%).

65 Empleando el algoritmo esbozado anteriormente (es decir, considerar la hsCRP solamente si el dímero-D está por debajo del valor de corte), la consideración de las concentraciones de hsCRP sería necesaria en el 30% de los pacientes evaluados en este estudio.

*Discusión de los resultados*

En pacientes con enfermedad de arteria coronaria, la presencia de una inflamación (nivel bajo) -como la cuantificada por ensayos de hsCRP- distingue entre pacientes de alto riesgo y de no alto riesgo, por ejemplo para síndromes coronarios agudos recurrentes<sup>12</sup>. En consecuencia, se está tratando específicamente la inflamación como parte de la enfermedad en los ensayos de intervención<sup>22</sup>.

La trombosis en el sistema venoso también induce una respuesta inflamatoria de nivel bajo<sup>1</sup>. Nosotros postulábamos que el grado de inflamación en dichos pacientes podía estar relacionado con el cuadro clínico como se valoraba con la puntuación de Wells<sup>13</sup> y, por consiguiente, correlacionaba las concentraciones de hsCRP con esta puntuación. Los pacientes con la hsCRP por encima del valor de corte (4 mg/l) tenían mayor posibilidad de tener alta probabilidad según la puntuación de Wells y TVP, con una relación de posibilidades (OR) de 2,62 y 3,41. Los pacientes con TVP tienen concentraciones de hsCRP significativamente más altas que aquellos sin TVP. Otros han referido<sup>23</sup> o refutado<sup>24</sup> que la cuantificación de la CRP puede ser útil en el estudio diagnóstico de pacientes con sospecha de TVP. Sin embargo, no se ha investigado el uso de ensayos de CRP de alta sensibilidad en este contexto, ni por sí solos ni en combinación con la medición del dímero-D.

Al combinar la medición del dímero-D (valor de corte 0,5 mg/l) y la de la hsCRP (valor de corte 4 mg/l), se incrementaron la sensibilidad y el VPN para la TVP al 100% cada uno, obteniéndose un porcentaje de exclusión del 21%. Teóricamente, se puede alcanzar el 100% de sensibilidad y de VPN simplemente bajando el nivel del valor de corte de dímero-D, lo cual sugeriría que la hsCRP verdaderamente no añade una mejora en la precisión del diagnóstico. Para evaluar esta cuestión, nosotros calculábamos la especificidad y el VPP del ensayo del dímero-D solo (es decir, sin hsCRP) a un nivel de valor de corte que permita el 100% de sensibilidad y el 100% de VPN (es decir, 0,32 mg/l). Luego comparábamos esos resultados con la especificidad y VPP del método combinado (dímero-D valor de corte 0,50 mg/l mas hsCRP, valor de corte 4 mg/l). Encontrábamos que la especificidad y el VPP se incrementaban con el uso del método combinado (figura 2). Esto pone de manifiesto que el incluir la hsCRP en el método combinado verdaderamente añade precisión al ensayo del dímero-D.

Estos resultados demuestran que una combinación de dímero-D y hsCRP -si ambos están por debajo del valor de corte respectivo- se puede usar para excluir la presencia de una TVP. De ese modo, aunque los niveles de hsCRP correlacionan con la presentación clínica valorada según la puntuación de Wells, parece que una combinación de dímero-D y hsCRP posiblemente permite valorar a los pacientes mediante marcadores bioquímicos solamente - y de ese modo renunciar a la necesidad de exámenes de seguimiento y ultrasonido en una parte considerable de los pacientes, dedicando mucho tiempo y trabajo.

De nuestros datos, concluimos que la hsCRP se puede usar como una nueva herramienta de diagnóstico en el estudio diagnóstico de pacientes con sospecha de DVT. De forma combinada, maximiza la sensibilidad y el valor predictivo negativo (al 100% cada uno) de la prueba del dímero-D, al mismo tiempo que aumenta la especificidad y el valor predictivo positivo. El grado de inflamación de nivel bajo en la presentación valorado mediante hsCRP correlaciona con la puntuación de Wells y describe el riesgo de presencia de TVP.

**Referencias**

1. Wakefield TW, Strieter RM, Wilke CA, Kadell AM, Wroblewski SK, Burdick MD, Schmidt R, Kunkel SL, Greenfield LJ. Venous thrombosis-associated inflammation and attenuation with neutralizing antibodies to cytokines and adhesion molecules. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995; 15:258-68.

2. Henke PK, DeBrunye LA, Strieter RM, Bromberg JS, Prince M, Kadell AM, Sarkar M, Londy F, Wakefield TW. Viral IL-10 gene transfer decreases inflammation and cell adhesion molecule expression in a rat model of venous thrombosis. *J Immunol.* 2000; 164:2131-41.

3. Downing LJ, Strieter RM, Kadell AM, Wilke CA, Austin JC, Hare BD, Burdick MD, Greenfield LJ, Wakefield TW. IL-10 regulates thrombus-induced vein wall inflammation and thrombosis. *J Immunol.* 1998; 161:1471-6.

4. Myers DD, Jr., Schaub R, Wroblewski SK, Londy FJ, 3rd, Fex BA, Chapman AM, Greenfield LJ, Wakefield TW. P-selectin antagonism causes dose-dependent venous thrombosis inhibition. *Thromb Haemost.* 2001; 85:423-9.

5. Wakefield TW, Strieter RM, Schaub R, Myers DD, Prince MR, Wroblewski SK, Londy FJ, Kadell AM, Brown SL, Henke PK, Greenfield LJ. Venous thrombosis prophylaxis by inflammatory inhibition without anticoagulation therapy. *J Vasc Surg.* 2000; 31:309-24.

6. Jossang B, Runde I. Diagnostic value of C-reactive protein and D-dimer in deep venous thrombosis. *Tidsskr Nor Laegeforen.* 1992; 112:1153-5.

7. Wong NA, Laitt RD, Goddard PR, Virjee J. Serum C reactive protein does not reliably exclude lower limb deep venous thrombosis. *Thromb Haemost.* 1996; 76:816-7.

8. **Maskell NA, Butland RJ.** A normal serum CRP measurement does not exclude deep vein thrombosis. *Thromb Haemost.* 2001; 86:1582-3.
9. **Roberts WL, Sedrick R, Moulton L, Spencer A, Rifai N.** Evaluation of four automated high-sensitivity C-reactive protein methods: implications for clinical and epidemiological applications. *Clin Chem.* 2000; 46:461-8.
10. **Ridker PM.** High-sensitivity C-reactive protein: potential adjunct for global risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease. *Circulation.* 2001; 103:1813-8.
11. **Haverkate F, Thompson SG, Pyke SD, Gallimore JR, Pepys MB.** Production of C-reactive protein and risk of coronary events in stable and unstable angina. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *Lancet.* 1997; 349:462-6.
12. **Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, Sacks FM, Moye LA, Goldman S, Flaker GC, Braunwald E.** Inflammation, pravastatin, and the risk of coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators. *Circulation.* 1998; 98:839-44.
13. **Wells PS, Anderson DR, Bormanis J, Guy F, Mitchell M, Gray L, Clement C, Robinson KS, Lewandowski B.** Value of assessment of pretest probability of deep-vein thrombosis in clinical management. *Lancet.* 1997; 350:1795-8.
14. **Perrier A, Desmarais S, Miron MJ, de Moerloose P, Lepage R, Slosman D, Didier D, Unger PF, Patenaude JV, Bounameaux H.** Non-invasive diagnosis of venous thromboembolism in outpatients. *Lancet.* 1999; 353:190-5.
15. **Kovacs MJ, MacKinnon KM, Anderson D, O'Rourke K, Keeney M, Kearon C, Ginsberg J, Wells PS.** A comparison of three rapid D-dimer methods for the diagnosis of venous thromboembolism. *Br J Haematol.* 2001; 115:140-4.
16. **Janssen MC, Heebels AE, de Metz M, Verbruggen H, Wollersheim H, Janssen S, Schuurmans MM, Novakova IR.** Reliability of five rapid D-dimer assays compared to ELISA in the exclusion of deep venous thrombosis. *Thromb Haemost.* 1997; 77:262-6.
17. **Kraaijenhagen RA, Lensing AW, Lijmer JG, Prandoni P, Prins MH, Ginsberg JS, Buller HR.** Diagnostic strategies for the management of patients with clinically suspected deep-vein thrombosis. *Curr Opin Pulm Med.* 1997; 3:268-74.
18. **Perone N, Bounameaux H, Perrier A.** Comparison of four strategies for diagnosing deep vein thrombosis: a cost-effectiveness analysis. *Am J Med.* 2001; 110:33-40.
19. **Wakefield TW, Strieter RM, Prince MR, Downing LJ, Greenfield LJ.** Pathogenesis of venous thrombosis: a new insight. *Cardiovasc Surg.* 1997; 5:6-15.
20. **Funfsinn N, Caliezi C, Demarmels-Biasiutti FD, Korte W, Z'Brun A, Baumgartner I, Ulrich M, Cottier C, Lmmle B, Wuillemin WA.** Rapid D-dimer testing and pre-test clinical probability in the exclusion of deep venous thrombosis in symptomatic outpatients. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2001; 12:165-70.
21. **Ledue TB, Weiner DL, Sipe JD, Poulin SE, Collins MF, Rifai N.** Analytical evaluation of particle-enhanced immunonephelometric assays for C-reactive protein, serum amyloid A and mannose-binding protein in human serum. *Ann Clin Biochem.* 1998; 35 (Pt 6):745-53.
22. **Albert MA, Staggers J, Chew P, Ridker PM.** The Pravastatin Inflammation CRP Evaluation (PRINCE): Rationale and design. *Am Heart J.* 2001; 141:893-8.
23. **Horney E, Lagerstedt C.** Evaluation of analyses for exclusion of suspected thrombosis. Do not rely on the D-dimer test!. *Lakartidningen.* 1997; 94:4777-9.

REIVINDICACIONES

5 1. Un método para el diagnóstico de exclusión de la presencia de trombosis venosa profunda (TVP) en un paciente de riesgo, que comprende las siguientes etapas:

(a) análisis de una muestra de líquido seleccionado del grupo que consiste en suero, plasma y sangre completa de dicho paciente con un reactivo para la detección del dímero-D;

10 (b) evaluación del resultado del análisis:

(i) si se encuentra que la concentración de dímero-D es igual o está por encima del valor de corte predefinido, la TVP no se excluye en dicho paciente,

15 (ii) si se encuentra que la concentración de dímero-D está por debajo de dicho valor de corte, además se lleva a cabo un análisis según (c):

(c) análisis de una muestra de líquido de dicho paciente con un reactivo para la detección de proteína C reactiva (CRP);

20 (d) evaluación del resultado del análisis: si la concentración de CRP se encuentra por debajo de un valor de corte predefinido, se excluye la TVP en dicho paciente.

25 2. El método según la reivindicación 1, en el que los reactivos para la detección de dímero-D y para la detección de CRP son inmunoensayos con independencia el uno del otro.

30 3. El método según la reivindicación 2, en el que los reactivos para la detección de dímero-D y para la detección de CRP con independencia el uno del otro están basados en los principios de análisis seleccionados del siguiente grupo: ELISA, turbidimetría, nefelometría, turbidimetría de partículas mejorada, nefelometría de partículas mejorada y aglutinación de látex.

35

40

45

50

55

60

65

Fig. 1:

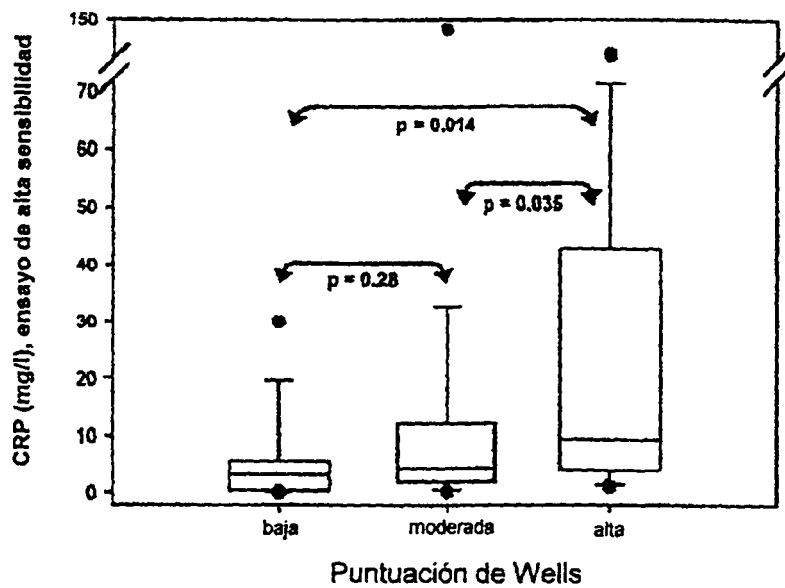


Fig. 2:

