

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 628 868**

51 Int. Cl.:

A61K 45/00 (2006.01)

G01N 33/569 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.05.2012 PCT/JP2012/062797**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.11.2012 WO12157751**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.05.2012 E 12785982 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.04.2017 EP 2711710**

54 Título: **Diagnóstico de enfermedades infecciosas del tracto respiratorio usando muestras de orina**

30 Prioridad:

19.05.2011 JP 2011112699

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

04.08.2017

73 Titular/es:

**MOCHIDA PHARMACEUTICAL CO., LTD. (100.0%)
7 Yotsuya 1-chome Shinjuku-ku
Tokyo 160-8515, JP**

72 Inventor/es:

SHIRAKAWA KAMON

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 628 868 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

Diagnóstico de enfermedades infecciosas del tracto respiratorio usando muestras de orina

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a un procedimiento para detectar una infección respiratoria asociada con infección bacteriana, un procedimiento para seleccionar pacientes con infección respiratoria para recibir un antibiótico y un procedimiento para determinar el momento adecuado para finalizar la administración de un antibiótico a un paciente con infección respiratoria que recibe el antibiótico. Además, la presente invención también se refiere a una composición para su uso en un procedimiento para tratar una infección respiratoria asociada con infección bacteriana.

Antecedentes técnicos

10 La infección respiratoria es una enfermedad frecuentemente encontrada en sitios clínicos. Hay dos tipos de infección respiratoria, concretamente, infección respiratoria causada por infección vírica e infección respiratoria causada por infección bacteriana. Los antibióticos no tienen efecto sobre la infección respiratoria vírica. En principio, tras la administración de antibióticos, se identifica en primer lugar un microorganismo causante, y un antibiótico usado para
15 ello después se selecciona dependiendo de la sensibilidad del microorganismo causante a fármacos, etc. Sin embargo, como se tarda un largo periodo de tiempo en buscar dicho microorganismo causante por cultivo de sangre o examen de esputo, en realidad, se ha iniciado un tratamiento usando antibiótico antes de la determinación de un patógeno en casi todos los casos. Además, como la sensibilidad de detección de las bacterias no es necesariamente alta en dicho cultivo de sangre o examen de esputo, incluso si los resultados son negativos, no se puede negar una
20 infección bacteriana. Por tanto, se usan antibióticos incluso par pacientes con infección respiratoria sospechosos de tener infección bacteriana. Por tanto, la administración de antibióticos en pacientes que los necesitan causa un aumento en las bacterias resistentes.

(Documento que no es patente 1)

25 Para el uso apropiado de antibióticos, es necesario que pueda diagnosticarse con prontitud y de forma precisa la presencia o ausencia de infección bacteriana en infección respiratoria en sitios clínicos. Como dicho marcador de diagnóstico, ha sido adecuada la utilidad de la procalcitonina. Se ha informado de que cuando se trata una infección del tracto respiratorio inferior o una neumonía con antibióticos, aunque como indicación se use la concentración de procalcitonina en sangre, pueden disminuirse las cantidades de los antibióticos usados (documento que no es patente 2 y documento que no es patente 3).

30 La procalcitonina también se ha usado como marcador de diagnóstico para septicemia, en este caso, la procalcitonina se usa como indicación, de modo que cuando la concentración de procalcitonina en sangre es 0,5 ng/ml o mayor, se determina que el sujeto tiene septicemia, y cuando la concentración de procalcitonina es 2,0 ng/ml o mayor, se determina que el sujeto tiene septicemia severa. Por otro lado, cuando se usa la procalcitonina como marcador para infección del tracto respiratorio inferior o neumonía, debe detectarse un cambio en una concentración
35 de procalcitonina en sangre que varía de 0,1 a 0,5 ng/ml y, por tanto, no hay restricciones de que deba usarse un ensayo altamente sensible. Además, también se ha informado de que, como la procalcitonina está presente de forma estable en sangre, la concentración de procalcitonina en sangre disminuye de forma relativamente lenta incluso en un caso en que el tratamiento ha sido satisfactorio (documento de patente 1). Se considera que cuando la semivida de la procalcitonina en sangre es larga, difícilmente se detecta un cambio en la concentración.

40 Como marcador novedoso para septicemia que es superior a procalcitonina, se ha estudiado la utilidad de sCD14-ST (subtipo de antígeno CD14 soluble; sobrenombre: presepsina). Se ha informado de que incluso si dicho sCD14-ST se usa en una comparación entre un paciente con septicemia y un paciente con síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) que es difícil de distinguirse de septicemia, muestra un alto valor en la sangre del paciente con septicemia. Por tanto, se ha considerado que sCD14-ST es útil como marcador de diagnóstico para septicemia (documento que no es patente 4 y documento de patente 2).

45 Además, también se ha informado de que sCD14-ST se genera en un proceso en que las células engloban y digieren microorganismos foráneos o materias foráneas, y que un aumento en la concentración de sCD14-ST en fluido sinovial puede detectarse en una enfermedad que implica fagocitosis con participación de respuesta autoinmunitaria o infección en sitios locales, tal como artritis (documento de patente 3).

50 Lista de citas

Documentos de patente

Documento de patente 1: Publicación internacional WO2008/104321

Documento de patente 2: Publicación internacional WO2005/108429

Documento de patente 3: Publicación internacional WO2009/142303

Documentos que no son patente

Documento que no es patente 1: Ball y col., Journal of Antimicrobial Chemotherapy 49: 31-40, 2002.

Documento que no es patente 2: Christ-Crain y col., The Lancet 363: 600-607, 2004.

Documento que no es patente 3: Christ-Crain y col., Am J Respir CritCare Med 174: 84-93, 2006.

5 Documento que no es patente 4: Yaegashi y col., Journal of Infection and Chemotherapy 11: 234-238, 2005.

Sumario de la invención

Problema técnico

Un objetivo de la presente invención es proporcionar un procedimiento para seleccionar apropiadamente pacientes con infección respiratoria a los que tiene que administrarse antibiótico, y un procedimiento para ajustar el periodo de administración de un antibiótico. Es decir, la presente invención se refiere a conseguir el objetivo que es el uso apropiado de antibióticos para infección respiratoria. Específicamente, la presente invención proporciona un procedimiento para detectar infección respiratoria asociada con infección bacteriana, un procedimiento para seleccionar pacientes con infección respiratoria para recibir un antibiótico y un procedimiento para determinar el momento adecuado para la finalización de la administración de un antibiótico a un paciente con infección respiratoria que recibe el antibiótico. Para conseguir estos objetivos, se ha deseado desarrollar un marcador novedoso usado para seleccionar apropiadamente infección respiratoria asociada con infección bacteriana. Además, también se ha deseado desarrollar un marcador sensible, cuya concentración disminuye con prontitud con la disminución y/o desaparición de la infección bacteriana en órganos respiratorios. Además, la presente invención proporciona una composición para su uso en un procedimiento para tratar una infección respiratoria asociada con infección bacteriana.

Solución al problema

El autor de la presente invención ha descubierto que llega a ser posible seleccionar apropiadamente los pacientes con infección respiratoria a los que tiene que administrarse un antibiótico, y también ajustar el periodo de administración de un antibiótico, usando como indicación un valor medido de sCD14-ST en orina, completando de ese modo la presente invención.

Más específicamente, la presente invención incluye las siguientes características.

La presente invención proporciona los siguientes procedimientos para detectar infección respiratoria asociada con infección bacteriana:

(1-1) Un procedimiento para detectar infección respiratoria asociada con infección bacteriana, que comprende:

30 1) medir sCD14-ST en una muestra de orina obtenida de un sujeto.

(1-2) El procedimiento de acuerdo con el anterior (1-1), que comprende adicionalmente la siguiente etapa:

2) determinar si el sujeto está afectado o no con infección respiratoria asociada con infección bacteriana usando como indicación un valor medido de sCD14-ST en la muestra.

(1-3) el procedimiento de acuerdo con el anterior (1-1) que comprende adicionalmente las siguientes etapas:

35 2) comparar un valor medido de sCD14-ST en la muestra con un valor normal; y

3) determinar si el valor medido de la muestra es mayor que el volumen normal.

(1-4) El procedimiento de acuerdo con el anterior (1-3), en el que, como valor normal, se usa un valor promedio de valores medidos de sCD14-ST en muestras de orina de sujetos normales + 2 DT.

40 (1-5) El procedimiento de acuerdo con cualquiera de los anteriores (1-1) a (1-4), en el que la infección respiratoria asociada con infección bacteriana es infección del tracto respiratorio inferior o neumonía.

(1-6) El procedimiento de acuerdo con cualquiera de los anteriores (1-1) a (1-5), en el que es posible un diagnóstico diferencial de infección respiratoria causada por infección vírica.

45 (1-7) El procedimiento de acuerdo con cualquiera de los anteriores (1-1) a (1-6), en el que, además de la medición de sCD14-ST en una muestra de orina obtenida de un sujeto, se realiza al menos un tipo de ensayo de microorganismo causante.

(1-8) El procedimiento de acuerdo con el anterior (1-7), en el que el ensayo del microorganismo causante es al menos uno seleccionado del grupo que consiste en ensayo de frotis teñido, ensayo de antígeno de virus de la gripe, adenovirus, *Legionella*, *Chlamydia*, *Mycoplasma*, *Aspergillus*, *Candida*, *Cryptococcus*, citomegalovirus, o *Pneumococcus*, y el ensayo de cultivo de sangre, esputo o fluido de lavado broncoalveolar.

50 La presente invención proporciona los siguientes procedimientos para seleccionar pacientes con infección respiratoria para recibir un antibiótico:

(2-1) Un procedimiento para seleccionar pacientes con infección respiratoria para recibir un antibiótico, que

comprende: 1) medir sCD14-ST en muestra de orina obtenidas de pacientes.

(2-2) El procedimiento de acuerdo con el anterior (2-1) que comprende adicionalmente la etapa:

2) determinar si los pacientes están afectados o no con infección respiratoria asociada con infección bacteriana usando como indicación valores medidos de sCD14-ST en las muestras.

5 (2-3) El procedimiento de acuerdo con el anterior (2-1) que comprende adicionalmente las siguientes etapas:

2) comparar los valores medidos de sCD14-ST en las muestras con un valor normal; y

3) determinar si los valores medidos de las muestras son mayores que el valor normal.

(2-4) El procedimiento de acuerdo con el anterior (2-3), en el que, como valor normal, se usa un valor promedio de valores medidos de sCD14-ST en muestras de orina de sujetos normales + 2 DT.

10 (2-5) El procedimiento de acuerdo con cualquiera de los anteriores (2-1) a (2-4), en el que la infección es infección del tracto respiratoria inferior o neumonía.

La presente invención proporciona los siguientes procedimientos para determinar el momento adecuado de la finalización de la administración de un antibiótico a un paciente con infección respiratoria que recibe el antibiótico.

15 (3-1) Un procedimiento para determinar el momento adecuado de finalización de la administración de un antibiótico a un paciente con infección respiratoria que recibe el antibiótico, en el que como indicación se usa un valor medido de sCD14-ST en una muestra de orina obtenida del paciente.

(3-2) El procedimiento de acuerdo con el anterior (3-1) que comprende las siguientes etapas:

1) comparar el valor medido de sCD14-ST en la muestra con un valor de referencia predeterminado; y

20 2) cuando el valor medido de la muestra es inferior al valor de referencia predeterminado, determinar la finalización de la administración del antibiótico.

(3-3) El procedimiento de acuerdo con el anterior (3-2), en el que, como valor de referencia predeterminado, se usa un valor promedio de los valores medidos de sCD14-ST en muestras de orina de sujetos normales + DT.

(3-4) Un procedimiento para seleccionar pacientes para finalizar la administración de un antibiótico de pacientes con infección respiratoria que reciben el antibiótico usando los valores medidos de sCD14-ST en muestras de orina obtenidas de pacientes como indicaciones.

25 (3-5) El procedimiento de acuerdo con el anterior (3-4) que comprende las siguientes etapas:

1) comparar los valores medidos de sCD14-ST en muestras con un valor de referencia predeterminado; y

2) cuando los valores medidos de las muestras son inferiores al valor de referencia predeterminado, determinar la finalización de la administración del antibiótico.

30 (3-6) El procedimiento de acuerdo con el anterior (3-5), en el que, como valor de referencia predeterminado, se usa un valor promedio de los valores medidos de sCD14-ST en muestras de orina de sujetos normales + DT.

(3-7) El procedimiento de acuerdo con cualquiera de los anteriores (3-1) a (3-6) en el que la infección respiratoria es infección del tracto respiratorio inferior o neumonía.

35 La presente invención proporciona las siguientes composiciones para su uso en un procedimiento de tratamiento de una infección respiratoria asociada con infección bacteriana.

(4-1) Una composición para su uso en un procedimiento de tratamiento de una infección respiratoria asociada con infección bacteriana, que comprende un antibiótico como ingrediente activo, en la que la composición se usa de modo que se mide sCD14-ST en una muestra de orina obtenida de un paciente sospechoso de tener infección respiratoria asociada con infección bacteriana, se compara el valor medido con un valor normal y cuando el valor medido en la muestra es mayor que el valor normal, la composición se administra al paciente.

40 (4-2) La composición de acuerdo con el anterior (4-1) para su uso en un procedimiento de acuerdo con el anterior (4-1), en el que, como valor normal, se usa un valor promedio de los valores medidos de sCD14-ST en muestras de orina de sujetos normales + 2 DT.

45 (4-3) La composición de acuerdo con el anterior (4-1) para su uso en un procedimiento de acuerdo con el anterior (4-1), en el que se mide sCD14-ST en muestras de orina durante un periodo de administración en el tiempo, y cuando un valor medido es inferior a un valor predeterminado, se finaliza la administración de la composición.

(4-4) La composición de acuerdo con el anterior (4-1) para su uso en un procedimiento de acuerdo con el anterior (4-3), en el que, como valor normal, se usa un valor promedio de los valores medidos de sCD14-ST en muestras de orina de sujetos normales + 2 DT y como valor de referencia predeterminado un valor promedio de los valores medidos de sCD14-ST en muestras de orina de sujetos normales + DT.

50 (4-5) La composición de acuerdo con el anterior (4-1) para su uso en un procedimiento de acuerdo con cualquiera de los anteriores (4-1) a (4-4), en la que la infección respiratoria asociada con infección bacteriana es infección del tracto respiratorio inferior o neumonía.

55 (3-3) El procedimiento de acuerdo con el anterior (3-2), en el que, como valor de referencia predeterminado, se usa un valor promedio de los valores medidos de sCD14-ST en muestras de orina de sujetos normales + DT.

(3-4) Un procedimiento para seleccionar pacientes para finalizar la administración de un antibiótico de pacientes

con infección respiratoria que reciben el antibiótico usando los valores medidos de sCD14-ST en muestras de orina obtenidas de pacientes como indicaciones.

(3-5) Un procedimiento para seleccionar pacientes para finalizar la administración de un antibiótico de pacientes con infección respiratoria que reciben el antibiótico, que comprende las siguientes etapas de:

- 5
- 1) medir sCD14-ST en muestras de orina obtenidas de pacientes;
 - 2) comparar los valores medidos de sCD14-ST en muestras con un valor de referencia predeterminado; y
 - 3) cuando los valores medidos de las muestras son inferiores al valor de referencia predeterminado, determinar la finalización de la administración del antibiótico.

10 (3-6) El procedimiento de acuerdo con el anterior (3-5), en el que, como valor de referencia predeterminado, se usa un valor promedio de los valores medidos de sCD14-ST en muestras de orina de sujetos normales + DT.

(3-7) El procedimiento de acuerdo con cualquiera de los anteriores (3-1) a (3-6) en el que la infección respiratoria es infección del tracto respiratorio inferior o neumonía.

La presente invención proporciona los siguientes procedimientos de tratamiento de infección respiratoria asociada con infección bacteriana.

15 (4-1) Un procedimiento para tratar una infección respiratoria asociada con infección bacteriana, que comprende las siguientes etapas de:

- 1) medir sCD14-ST en muestras de orina obtenidas de pacientes;
 - 2) seleccionar pacientes para recibir un antibiótico usando como indicación los valores medidos de sCD14-ST en las muestras; y
 - 3) administrar el antibiótico a los pacientes seleccionados.
- 20

(4-2) El procedimiento de acuerdo con el (4-1) anterior, en el que la etapa de selección de los pacientes para recibir un antibiótico, usando como indicación los valores medidos de sCD14-ST en las muestras, comprende las siguientes etapas de:

- 25
- 1) comparar los valores medidos de sCD14-ST en las muestras con un valor normal; y
 - 2) seleccionar pacientes para recibir un antibiótico cuyos valores medidos en las muestras son mayores que el nivel normal.

(4-3) El procedimiento de acuerdo con el (4-2) anterior, en el que, como valor normal, se usa un valor promedio de los valores medidos de sCD14-ST en muestras de orina de sujetos normales + 2 DT.

30 (4-4) El procedimiento de acuerdo con cualquiera de los anteriores (4-1) a (4-3), que comprende adicionalmente las siguientes etapas de:

- 1) medir en el tiempo sCD14-ST en muestras de orina obtenidas de pacientes que reciben un antibiótico;
 - 2) comparar los valores medidos de sCD14-ST en muestras con un valor de referencia predeterminado; y
 - 3) cuando los valores medidos de las muestras son inferiores al valor de referencia predeterminado, determinar la finalización de la administración del antibiótico.
- 35

(4-5) El procedimiento de acuerdo con el (4-4) anterior, en el que, como valor de referencia predeterminado, se usa un valor promedio de los valores medidos de sCD14-ST en muestras de orina de sujetos normales + DT.

(4-6) El procedimiento de acuerdo con cualquiera de los anteriores (4-1) a (4-5), en el que la infección respiratoria asociada con infección bacteriana es infección del tracto respiratorio inferior o neumonía.

40 La presente invención proporciona las siguientes composiciones para tratar una infección respiratoria asociada con infección bacteriana.

(5-1) Una composición para tratar una infección respiratoria asociada con infección bacteriana, que comprende un antibiótico como ingrediente activo, en la que la composición se usa de modo que se mide sCD14-ST en una muestra de orina obtenida de un paciente sospechoso de tener infección respiratoria asociada con infección bacteriana, el valor medido se compara con un valor normal y cuando el valor medido en la muestra es mayor que el valor normal, se administra la composición al paciente.

45

(5-2) La composición para tratar una infección respiratoria asociada con infección bacteriana de acuerdo con el anterior (5-1), en la que, como valor normal, se usa un valor promedio de los valores medidos de sCD14-ST en muestras de orina de sujetos normales + 2 DT.

50 (5-3) Una composición para tratar una infección respiratoria asociada con infección bacteriana, que comprende un antibiótico como ingrediente activo, en la que la composición se usa de modo que se mide sCD14-ST en una muestra de orina obtenida de un paciente sospechoso de tener infección respiratoria asociada con infección bacteriana, el valor medido se compara con un valor normal y cuando el valor medido en la muestra es mayor que el valor normal, se administra la composición al paciente, y se mide sCD14-ST en muestras de orina durante un período de administración en el tiempo y cuando el valor medido es inferior a un valor predeterminado, se finaliza la administración de la composición.

55

(5-4) La composición para tratar una infección respiratoria asociada con infección bacteriana de acuerdo con el

anterior (5-3), en la que, como valor normal, se usa un valor promedio de los valores medidos de sCD14-ST en muestras de orina de sujetos normales + 2 DT y como valor de referencia predeterminado un valor promedio de los valores medidos de sCD14-ST en muestras de orina de sujetos normales + DT.

5 (5-5) La composición para tratar una infección respiratoria asociada con infección bacteriana de acuerdo con cualquiera de los anteriores (5-1) a (5-4), en la que la infección respiratoria asociada con infección bacteriana es infección del tracto respiratoria inferior o neumonía.

10 (6) El procedimiento, marcador o composición de acuerdo con cualquiera de los anteriores (1-1) a (5-5) en el que, en la medición de sCD14-ST en la muestra de orina, un valor promedio de los valores medidos de pacientes con neumonía asociada con infección bacteriana es mayor que el de sujetos normales, y un valor promedio de los valores medidos de pacientes con neumonía vírica es inferior al de sujetos normales.

(7) El procedimiento, marcador o composición de acuerdo con cualquiera de los anteriores (1-1) a (6) en el que, con respecto a la medición de sCD14-ST en la muestra de orina, se mide la concentración de sCD14-ST en una muestra de sangre obtenida del mismo paciente y después se comparan los dos valores medidos entre sí.

Efectos de la invención

15 De acuerdo con la presente invención, usando como indicación un valor medido de sCD14-ST en orina, llega a ser posible seleccionar apropiadamente pacientes con infección respiratoria a los que se tiene que administrar antibiótico, y también ajustar el periodo de administración del antibiótico. Los antibióticos deben administrarse a las enfermedades con participación de infección bacteriana. Midiendo la concentración de sCD14-ST en orina, los
20 pacientes que tienen infección respiratoria asociada con infección bacteriana pueden detectarse con alta especificidad y/o alta sensibilidad. Además, determinando el momento adecuado para la finalización de la administración de un antibiótico usando como indicación un valor medido de sCD14-ST en orina, el periodo de administración del antibiótico puede reducirse. El uso apropiado de un antibiótico para infección respiratoria, usando como indicación un valor medido de sCD14-ST en orina, es útil porque posibilita la supresión de la aparición de bacterias resistentes a múltiples fármacos, una reducción en el periodo de tratamiento, una reducción en la cantidad del antibiótico usado y una reducción en los costes médicos, sin alterar la seguridad y utilidad del mismo.

Breve descripción de los dibujos

[Figura 1] La figura 1 es una vista que ilustra una curva patrón del sistema de medición de sCD14-ST producido en el ejemplo 1.

30 [Figura 2] La figura 2 es una vista que ilustra una distribución de las concentraciones de sCD14-ST en orina de pacientes con neumonía medidas en el ejemplo 2. El eje horizontal indica la cantidad de días que han pasado desde el diagnóstico de neumonía hasta la recogida de las muestras y el eje longitudinal indica la concentración de sCD14-ST en orina. En la figura, la línea sólida indica un valor promedio (3338 pg/ml) de sujetos sanos y la línea de puntos indica un valor promedio + 2 DT (5758 pg/ml) de sujetos sanos.

35 [Figura 3] La figura 3 es una vista que ilustra una distribución de las concentraciones de sCD14-ST en orina de pacientes con neumonía con infección bacteriana y pacientes con neumonía con infección vírica, que se midieron en el ejemplo 5. El eje longitudinal indica la concentración de sCD14-ST en orina.

40 [Figura 4] La figura 4 es una vista que ilustra una transición en las concentraciones de sCD14-ST en sangre y una transición en las cantidades de sCD14-ST en orina en el caso de administración intravenosa de sCD14-ST, que se midieron en el ejemplo 6. El eje horizontal indica el tiempo que ha pasado después de completarse la administración. El eje longitudinal izquierdo indica la cantidad de sCD14-ST en orina y el eje longitudinal derecho indica la concentración de sCD14-ST en sangre.

Descripción de las realizaciones

A partir de ahora en el presente documento, la presente invención se describirá en detalle

1. sCD14-ST

45 sCD14-ST (sobrenombre: presepsina) es una especie molecular de CD14 soluble. sCD14-ST se caracteriza porque el peso molecular medido por SDS-PAGE en condiciones no reductoras es 13 ± 2 kDa y retiene una parte N-terminal de CD14. Además, cuando dicha sCD14-ST se compara con la CD14 de longitud completa, tiene una secuencia de aminoácidos que comprende una delección significativa en el lado C-terminal de la misma y las dos proteínas anteriores son diferentes entre sí en términos de conformación. Por tanto, muestran diferente inmunogenicidad. Por tanto, las dos proteínas pueden distinguirse entre sí basándose en los anticuerpos a los que se unen. sCD14-ST
50 tiene la propiedad de unirse específicamente a un anticuerpo producido usando un péptido que consiste en los 16 restos de aminoácido mostrados en la SEQ ID NO: 2 como antígeno. Además, sCD14-ST puede tener una o más características dadas cualesquiera seleccionadas de unirse específicamente a un péptido que consiste en los aminoácidos en las posiciones 17 a 26 de la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 3, de no unirse a un anticuerpo 3C10, de no unirse a un anticuerpo MEM-18, de no tener capacidad de unión a LPS y de poder obtenerse de sangre humana. Además, sCD14-ST se caracteriza porque tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 1 como secuencia N-terminal. Más específicamente sCD14-ST puede especificarse por las características de que el extremo N-terminal de sCD14-ST es el aminoácido en la posición 1 de la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 3 y de que el extremo C-terminal de la misma es uno cualquiera de los
55

aminoácidos en las posiciones 59 a 90 de la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 3. Dicha sCD14-ST se divulga en detalle en la publicación internacional WO2005/108429. El término "sCD14-ST" se usa en la presente memoria descriptiva para indicar sCD14-ST humana, salvo que se especifique lo contrario.

5 Para la medición de sCD14-ST en una muestra de orina, puede usarse un sistema de medición inmunológico para detectar específicamente sCD14-ST, que se divulga en la publicación internacional WO2004/044005 o la publicación internacional WO2005/108429, por ejemplo. Específicamente, puede usarse un sistema de inmunoensayo de tipo sándwich que comprende una combinación de un anticuerpo producido usando un péptido que consiste en los 16 restos de aminoácido mostrados en la SEQ ID NO: 2 como antígeno con un anticuerpo que se une a un péptido que consiste en los aminoácidos en las posiciones 17 a 26 de la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 3 o con un anticuerpo competitivo para el anticuerpo mencionado anteriormente (un anticuerpo F1106-13-3 o un anticuerpo F1031-8-3).

15 El valor medido de sCD14-ST en una muestra de orina puede indicarse generalmente como una concentración de sCD14-ST en orina. Tras el cálculo de la concentración de sCD14-ST en orina, el valor medido de sCD14-ST puede corregirse basándose en la concentración de la orina de acuerdo con la corrección de creatinina o similar. Además, el valor medido de sCD14-ST puede ser uno cualquiera de un valor cuantitativo, un valor semicuantitativo y un valor cualitativo. Cuando se usa dicho valor semicuantitativo, la concentración de sCD14-ST puede indicarse como una fase de 0, 1, 2 y 3, o de +, ++ y +++. Como esta fase se correlaciona con la concentración cuantitativa de sCD14-ST, puede determinarse si la concentración de sCD14-ST obtenida es mayor o no que el valor de referencia predeterminado basándose en la correlación de la fase semicuantitativa con la concentración cuantitativa de sCD14-ST. A parte de eso, en el caso de un ensayo semicuantitativo, el valor inferior al valor de referencia puede establecerse a una fase de 0 o - (menos). Cuando se usa un valor cuantitativo, el valor inferior al valor de referencia puede establecerse en negativo y el valor mayor que el valor de referencia, puede establecerse en positivo.

25 sCD14-ST de orina significa sCD14-ST en sangre que se ha eliminado en la orina. La sCD14-ST en sangre se elimina de forma relativamente rápida en la orina después de haberse generado. Además, como sCD14-ST contenida en la sangre en circulación se concentra y después se elimina en orina, la concentración de sCD14-ST en orina es mayor que la concentración de sCD14-ST en sangre. Por consiguiente, usando como indicación el valor medido de sCD14-ST en una muestra de orina, puede detectarse de forma sensible la presencia o ausencia de infección bacteriana en órganos respiratorios.

2. Procedimiento para detectar infección respiratoria asociada con infección bacteriana

30 La presente invención proporciona un procedimiento para detectar una infección respiratoria asociada con infección bacteriana, que comprende medir sCD14-ST en una muestra de orina obtenida de un sujeto.

Los ejemplos preferentes de infección respiratoria asociada con infección bacteriana incluyen infección del tracto respiratorio inferior y neumonía.

35 La infección del tracto respiratorio inferior incluye infección aguda del tracto respiratorio inferior e infección crónica del tracto respiratorio inferior. La infección aguda del tracto respiratorio inferior incluye traqueítis aguda, bronquitis aguda y bronquiolitis aguda. La mayoría de estas enfermedades se desarrollan como resultado de la expansión de la infección vírica del tracto respiratorio inferior al tracto respiratorio superior. En algunas de estas enfermedades, después tiene lugar una infección secundaria por bacterias. Cuando se encuentran los síntomas de dicha infección secundaria por bacterias, se aplica la administración de antibióticos. La infección crónica del tracto respiratorio inferior es una afección patológica en que se ha encontrado infección bacteriana persistente en el tracto respiratorio inferior que tiene trastornos orgánicos causados por bronquiectasia o enfermedad pulmonar obstructiva crónica, e incluye infección persistente y exacerbación aguda. Las enfermedades que causan trastornos orgánicos al tracto respiratorio inferior incluyen bronquiectasia, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, bronquitis crónica, panbronquiolitis difusa, tuberculosis pulmonar infrecuente, neumoconiosis, infección micobacteriana no tuberculosa, aspergilosis broncopulmonar alérgica, fibrosis pulmonar y asma bronquial crónica. En ambos casos de infección persistente y exacerbación aguda, se aplica la administración de antibióticos.

La neumonía incluye neumonía extrahospitalaria y neumonía adquirida en el hospital. En la presente invención, es preferente la neumonía extrahospitalaria.

50 El tipo de sujeto no está particularmente limitado en el presente documento. Un sujeto preferente es una persona sospechosa de tener infección respiratoria basándose en los hallazgos clínicos. Dichos hallazgos clínicos incluyen al menos disnea o toses. Además, los hallazgos clínicos preferentes incluyen al menos uno seleccionado del grupo que consiste en expectoración, dolor torácico, sibilancias, sombra en el examen torácico por rayos-X, fiebre y recuento de leucocitos.

55 El procedimiento para la detección de infección respiratoria asociada con infección bacteriana de la presente invención se caracteriza porque comprende las siguientes etapas de: 1) medir sCD14-ST en una muestra de orina obtenida de un sujeto; y 2) determinar si el sujeto está afectado o no con infección respiratoria asociada con infección bacteriana usando como indicación un valor medido de sCD14-ST en la muestra. Más específicamente, la etapa 2) mencionada anteriormente puede comprender las siguientes etapas de: 3) comparar un valor medido de sCD14-ST

en la muestra con un valor normal; y 4) determinar si el valor medido de la muestra es mayor que el valor normal.

Comparando un valor medido de sCD14-ST en la muestra con el valor de referencia predeterminado, puede determinarse si el sujeto tiene o no infección respiratoria asociada con infección bacteriana. El valor de referencia usado en el procedimiento para detectar infección respiratoria asociada con infección bacteriana de la presente invención es preferentemente un valor normal que se ha establecido basándose en el valor medido de sCD14-ST en una muestra de orina obtenida de un sujeto sano. Como dicho valor normal, puede usarse un valor promedio de los resultados de medición de sCD14-ST en las muestras de orina de sujetos sanos o un valor normalizado por definición del alcance, etc. Cuando el valor medido de una muestra obtenida de un sujeto sano es casi igual que el valor del fondo en un sistema de medición, puede usarse un valor promedio de los valores de fondo en el sistema de medición o un valor normalizado por definición del alcance, etc. El valor de fondo en el sistema de medición significa un valor medido obtenido en un caso en que no se ha añadido una muestra, sino un tampón, una solución de ensayo o similar al sistema de medición. Como valor obtenido por normalización de los valores medidos de las muestras obtenidas de sujetos, puede usarse un valor promedio + 0,5 DT a + 5 DT (DT: desviación típica) de los valores medidos de sujetos sanos, un percentil 5 a 95, 10 a 90, 15 a 85 o 25 a 75 de los valores medidos de sujetos sanos o similares. Un valor preferente es un valor promedio + DT, + 2 DT o + 3 DT de los valores medidos de sujetos sanos.

Tras establecer un valor normal basándose en los valores medidos de sCD14-ST en muestras de orina de sujetos sanos, puede usarse el valor de sCD14-ST en una muestra de orina obtenida de un paciente que tiene infección respiratoria asociada con infección bacteriana, que se ha medido previamente, como referencia. En este caso, puede usarse un valor de corte que optimiza la sensibilidad y/o especificidad en la detección de una enfermedad como valor normal. Es decir, por ejemplo, 5000 pg/ml.

Cuando el valor medido de una muestra obtenida de un sujeto se compara con un valor normal y el valor medido de la muestra es mayor que el valor normal, puede determinarse que el sujeto es muy probable que esté afectado con infección respiratoria asociada con infección bacteriana, concretamente, el sujeto es positivo. Además, según aumenta el valor medido, puede determinarse que el grado de la enfermedad y/o la gravedad de la enfermedad, es elevada.

Como sCD14-ST se genera poco en sangre en el caso de infección vírica respiratoria sin infección bacteriana, la concentración de sCD14-ST en orina no aumenta, tampoco. Por tanto, midiendo sCD14-ST en una muestra de orina, puede distinguirse infección respiratoria asociada con infección bacteriana de infección vírica respiratoria.

Además, en el procedimiento para detectar infección respiratoria asociada con infección bacteriana de la presente invención, puede realizarse al menos un ensayo de microorganismo causante, además de la medición de sCD14-ST en una muestra de orina obtenida de un sujeto. Como dicho ensayo de microorganismo causante, puede seleccionarse apropiadamente un procedimiento entre procedimientos conocidos tales como ensayo de frotis teñido, un ensayo de antígeno y un ensayo de cultivo, y después pueden usarse.

Además, en el procedimiento para detectar infección respiratoria asociada con infección bacteriana de la presente invención, puede medirse al menos un biomarcador diferente de sCD14-ST, además de la medición de sCD14-ST en una muestra de orina obtenida de un sujeto. Como dicho biomarcador diferente de sCD14-ST, puede seleccionarse un marcador adecuado entre un marcador inflamatorio, un marcador relacionado con trombosis/hemostasis, un marcador de infección, un marcador de neumonía intersticial, y similares y después puede usarse. Los ejemplos preferentes de dicho biomarcador incluyen, aunque sin limitación procalcitonina, una proteína C-reactiva (CRP) y KL-6.

El procedimiento para detectar infección respiratoria asociada con infección bacteriana de la presente invención también puede mencionarse como un procedimiento para seleccionar pacientes con infección respiratoria para recibir un antibiótico. Un sujeto en que se ha detectado una infección respiratoria asociada con infección bacteriana es un paciente que tiene alta probabilidad de estar afectado con la infección respiratoria asociada con infección bacteriana y, por tanto, el sujeto puede ser una diana preferente para administración de antibióticos. Entre dichos pacientes sospechosos de tener infección respiratoria basándose en los hallazgos clínicos, los pacientes a los que tienen que administrarse los antibióticos son aquellos que tienen infección respiratoria asociada con infección bacteriana. Usando como indicación un valor medido de sCD14-ST en una muestra de orina, puede detectarse la presencia o ausencia de infección respiratoria asociada con infección bacteriana y, por tanto, ha llegado a ser posible seleccionar pacientes con infección respiratoria a los que tienen que administrarse antibióticos. Es decir, la presente invención proporciona un procedimiento para seleccionar pacientes con infección respiratoria para recibir un antibiótico, que se caracteriza porque comprende medir sCD14-ST en una muestra de orina obtenida de un paciente. Para el procedimiento para seleccionar pacientes con infección respiratoria para recibir un antibiótico de la presente invención, puede aplicarse directamente el aspecto del procedimiento para detectar infección respiratoria asociada con infección bacteriana.

3. Procedimiento para determinar el momento adecuado para la finalización de la administración de un antibiótico a un paciente con infección respiratoria que recibe el antibiótico

La presente invención proporciona un procedimiento para determinar el momento adecuado de la finalización de la administración de un antibiótico a un paciente con infección respiratoria que recibe el antibiótico, en el que como indicación se usa un valor medido de sCD14-ST en una muestra de orina obtenida del paciente.

5 El tipo de paciente, al que se aplica el procedimiento para determinar el momento adecuado de la finalización de la administración de un antibiótico de la presente invención, no está particularmente limitado, siempre que sea un paciente con infección respiratoria al que tiene que administrarse un antibiótico. Un ejemplo preferente es un sujeto, en el que se ha detectado infección respiratoria asociada con infección bacteriana por el procedimiento descrito en 2 anterior, y que se ha seleccionado como paciente con infección respiratoria al que se administra un antibiótico.

10 El procedimiento para determinar el momento adecuado para la finalización de la administración de un antibiótico de la presente invención se caracteriza porque comprende las siguientes etapas de: 1) medir sCD14-ST en una muestra de orina obtenida de un paciente; y 2) determinar el momento adecuado para la finalización de la administración de un antibiótico al paciente usando como indicación un valor medido de sCD14-ST en la muestra obtenida. Más específicamente, la etapa 2) mencionada anteriormente puede comprender las siguientes etapas de: 3) comparar el valor medido de sCD14-ST en la muestra con un valor de referencia predeterminado; y 4) cuando el valor medido de la muestra es inferior al valor de referencia predeterminado, determinar la finalización de la administración del antibiótico.

20 En el procedimiento para determinar el momento adecuado para la finalización de la administración de un antibiótico de la presente invención, cuando se mide sCD14-ST en una muestra de orina obtenida de un paciente, puede medirse en el tiempo. En general, en el caso de infección respiratoria asociada con infección bacteriana, los antibióticos se administran durante un periodo de aproximadamente 5 a 14 días. Para reducir la carga en el paciente y evitar la aparición de bacterias resistentes, se desea terminar la administración de un antibiótico tan pronto como pueda confirmarse la curación o mejora de la infección. Midiendo sCD14-ST en el tiempo, puede determinarse de forma más precisa el momento adecuado para la finalización de la administración de un antibiótico. Como la concentración de sCD14-ST en orina disminuye con prontitud con la disminución y/o desaparición de la infección bacteriana en órganos respiratorios, es útil como indicación para determinar la terminación del tratamiento. El periodo de medición puede establecerse apropiadamente. Puede establecerse, por ejemplo, cada día, cada dos días, en el 3.^{er} día, el 5.^o día o el 7.^o día después del inicio de la administración de un antibiótico.

30 Como se usa un valor medido de sCD14-ST en la muestra como indicación de la presencia o ausencia de infección bacteriana en el paciente, cuando el valor medido de la muestra es inferior al valor de referencia predeterminado, puede determinarse que la infección se ha curado o mejorado, determinando de ese modo finalizar la administración del antibiótico. El valor de referencia usado en el procedimiento para determinar el momento adecuado para la finalización de la administración del antibiótico de la presente invención no está particularmente limitado, siempre que pueda usarse para confirmar que el antibiótico ha sido eficaz. Por ejemplo, un valor que es 1/2, 1/5 o 1/10 del valor de sCD14-ST medido durante un periodo desde antes de la administración del antibiótico hasta 24 horas después del inicio de la administración del antibiótico puede usarse como valor de referencia. Por el contrario, también puede usarse un valor normal establecido basándose en el valor medido de sCD14-ST en una muestra de orina obtenida de un sujeto sano, como se describe en el aspecto 2 anterior, como valor de referencia. Por ejemplo, es un valor promedio + DT, + 2 DT o + 3 DT de sujetos sanos. Si el valor medido de sCD14-ST está en el intervalo de valores normales, puede considerarse que la infección se ha curado o mejorado hasta un nivel equivalente a los sujetos sanos. Preferentemente, usando los valores medidos previamente de sCD14-ST en muestras de orina obtenidas de sujetos sanos y de pacientes que tienen infección respiratoria asociada con infección bacteriana, se estableció un valor de corte de modo que pueda optimizarse la sensibilidad y/o especificidad en la detección de una enfermedad. El valor de corte así establecido puede usarse como valor de referencia. Es, por ejemplo 5000 pg/ml.

45 El procedimiento para determinar el momento adecuado para la finalización de la administración de un antibiótico de la presente invención también puede mencionarse como un procedimiento para seleccionar pacientes para finalizar la administración de un antibiótico de pacientes con infección respiratoria que reciben el antibiótico. Determinando el momento adecuado para la finalización de la administración de un antibiótico, un paciente se convierte en una diana para la finalización de la administración del antibiótico. Por tanto, el procedimiento para determinar el momento adecuado para la finalización de la administración del antibiótico tiene el mismo significado que el del procedimiento para seleccionar pacientes para finalizar la administración de un antibiótico. Es decir, la presente invención proporciona un procedimiento para seleccionar pacientes para finalizar la administración de un antibiótico de pacientes con infección respiratoria que reciben el antibiótico usando valores medidos de sCD14-ST en muestras de orina obtenidas de pacientes como indicaciones. Para el procedimiento para seleccionar pacientes para finalizar la administración de un antibiótico de la presente invención, puede aplicarse directamente el aspecto del procedimiento para determinar el momento adecuado para la finalización de la administración de un antibiótico.

4. Procedimiento para tratar una infección respiratoria asociada con infección bacteriana

60 Se divulga un procedimiento para tratar una infección respiratoria asociada con infección bacteriana. El procedimiento de tratamiento se caracteriza porque comprende seleccionar pacientes con infección respiratoria para recibir un antibiótico usando como indicación el valor medido de sCD14-ST en una muestra de orina obtenida de un sujeto, y este es un procedimiento para tratar una infección respiratoria asociada con infección bacteriana

administrando un antibiótico a los pacientes así seleccionados. Específicamente, los pacientes con infección respiratoria para recibir un antibiótico se seleccionan por el procedimiento descrito en el aspecto 2 anterior, y el antibiótico se administra después a los pacientes seleccionados. Además, el momento adecuado para finalizar la administración de un antibiótico se determina por el procedimiento descrito en el aspecto 3 anterior, para proporcionar un tratamiento más eficaz.

Además, la presente invención proporciona una composición para su uso en un procedimiento de tratamiento de una infección respiratoria asociada con infección bacteriana, que se caracteriza porque usa un antibiótico mediante un uso que es de acuerdo con el procedimiento de tratamiento mencionado anteriormente. La composición comprende un antibiótico como ingrediente activo. La composición puede comprender cualquier aditivo y/o vehículo dado farmacéuticamente aceptable, así como una cantidad eficaz de antibiótico.

Los tipos de antibióticos usados en las invenciones de acuerdo con los aspectos descritos en 2 a 5 anteriores no están particularmente limitados. Los antibióticos que pueden aplicarse a al menos una infección del tracto respiratorio inferior y/o neumonía son preferentes. Los ejemplos de dichos antibióticos incluyen antibióticos de penicilina, antibióticos de penem, antibióticos de carbapenem, antibióticos de cefem, antibióticos de monobactama, antibióticos de fosfomicina, antibióticos glucopeptídicos, antibióticos aminoglucosídicos, antibióticos de macrólido, antibióticos de cetólido, antibióticos de lincomicina, antibióticos de tetraciclina, nuevos antibióticos de quinolona, antibióticos de sulfonamida, antibióticos de oxazolidinona y antibióticos de estreptogramina. Puede seleccionarse apropiadamente uno o múltiples antibióticos entre estos antibióticos y después pueden usarse. Para la selección de antibióticos, pueden aplicarse procedimientos conocidos tales como el procedimiento descrito en la Japanese Respiratory Society, "The Japanese Respiratory Society Guidelines for Management of Adult Community-Acquired Pneumonia" (Asu no Rinsho, Vol. 19, n.º 1, pág. 41-61, 2007).

A partir de ahora en el presente documento, se describirá más específicamente la presente invención en los siguientes ejemplos.

Ejemplos

(Ejemplo 1) Producción del sistema de medición de sCD14-ST

(1-1) Preparación de anticuerpo marcado con peroxidasa

Para producir un sistema de ELISA de tipo sándwich, se marcó el anticuerpo F1106-13-3 descrito en la publicación internacional WO2004/044005 con peroxidasa. En primer lugar, el anticuerpo F1106-13-3 se digirió con lisil endopeptidasa (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) para producir F(ab')₂. Específicamente, el anticuerpo F1106-13-3 se dializó frente a Tris-HCl 50 mM (pH 8,5) y el anticuerpo resultante después se mezcló con lisil endopeptidasa (en la que la relación molar fue 10:1). La mezcla obtenida se hizo reaccionar a 37 °C durante 1 hora. Después de ello, se añadió TLCK (Sigma) al producto de reacción hasta una concentración final de 30 mM, para terminar la reacción. Posteriormente, para retirar Fc, se añadió la solución de reacción a una columna de proteína A (Prosep-A; Millipore) y después se recuperó un producto no adsorbido. La fracción no adsorbida así recuperada se concentró y después se purificó por filtración en gel (Superdex 75; GE Healthcare), de modo que se separó el F(ab')₂ contenido del Fab. El F(ab')₂ obtenido se concentró y después se dializó frente a un tampón carbonato 10 mM (pH 9,5).

Posteriormente, de acuerdo con el procedimiento de Nakane y col. (J. Histochem. Cytochem., 22, 1084, 1974), se disolvió 1 mg de peroxidasa (Toyobo Co., Ltd.) en agua destilada y después se añadió a la misma ácido peryódico 100 mM disuelto en agua destilada. La mezcla obtenida se hizo reaccionar a 25 °C durante 15 minutos. Después de completarse la reacción, se añadió etilenglicol al 1,5 % a la solución de reacción y después se hizo reaccionar la mezcla obtenida a 25 °C durante 20 minutos. Después de ello, la solución de reacción se dializó frente a tampón acetato 1 mM (pH 4,4). En el siguiente día, se añadió tampón carbonato 0,2 M (pH 9,5) con respecto a 1 mg de un anticuerpo F(ab')₂ F1106-13-3 y después se mezclaron 0,8 mg de peroxidasa activada con la mezcla anterior. La mezcla así obtenida se hizo reaccionar a 25 °C durante 2 horas. Después, se añadieron 4 mg/ml de borohidruro sódico a la solución de reacción y la mezcla obtenida se hizo reaccionar adicionalmente a 4 °C durante 2 horas. La solución de reacción se dializó frente a PBS (pH 7,4) para obtener un anticuerpo marcado con peroxidasa. Se midió la cantidad del líquido y después se calculó la concentración de anticuerpo basándose en la cantidad del anticuerpo usado.

(1-2) Producción de sistema EIA de tipo sándwich

El anticuerpo policlonal peptídico S68 descrito en la publicación internacional WO2004/044005 se diluyó con D-PBS (pH 7,4), produciendo una concentración de 5 µg/ml y después se añadieron 50 µl de la solución de anticuerpo a cada pocillo de una inmunoplaaca (Maxisorp; NUNC). El anticuerpo se hizo reaccionar a 4 °C durante una noche y después se lavó con agua de intercambio de iones cinco veces. Después de ello, se añadieron 200 µl de D-PBS que contenía StabilGuard al 0,1 % (SurModics, Inc) y Tween 20 al 0,1 % a cada pocillo para bloquearlo. Posteriormente, se usó D-PBS (pH 7,4) que contenía suero absorbido de CD14 al 1 % y BSA al 0,1 % como diluyente para preparar una serie de dilución de productos patrón de proteína sCD14-ST que tienen cada uno, una concentración de 0, 0,015, 0,031, 0,063, 0,125, 0,25, o 0,5 ng/ml. Como dicho producto patrón de proteína sCD14-ST, se usó rsCD14-ST

descrito en la publicación de patente WO2005/108429. Se añadieron 50 µl de cada uno de la serie de dilución de los productos patrón a cada pocillo y después se hizo reaccionar la mezcla obtenida a 25 °C durante 1 hora (una primera reacción). Después de completarse la reacción, la mezcla de reacción se lavó con una solución salina normal que contenía Tween 20 al 0,05 % cinco veces. Después de ello, se añadieron 50 µl de un anticuerpo F(ab')₂ F1106-13-3 marcado con peroxidasa que se había diluido hasta una concentración de 0,25 µg/ml con PBS (pH 7,4) que contenía suero de rata al 2 %, suero de ratón al 1 % y Tween 20 al 0,1 % a cada pocillo. La mezcla obtenida se hizo reaccionar a 25 °C durante 1 hora (una segunda reacción) y, después de ello, la mezcla de reacción se lavó cinco veces de la misma manera que se ha descrito anteriormente. Después de ello, se añadieron 50 µl de una solución de tetrametilbencidina (TMB, BioFix) a cada pocillo y la mezcla obtenida después se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 20 minutos. Después de eso, se añadieron 50 µl de una solución de ácido sulfúrico 0,5 M a la mezcla de reacción para terminar la reacción. Se midió la absorbancia a 450/630 nm usando un espectrofotómetro de placa (Multiscan JX; Thermo Electron). Mostró la curva patrón producida en la figura 1.

(Ejemplo 2) Medición de sCD14-ST en orina

Usando el sistema EIA de tipo sándwich preparado en el ejemplo 1, se midieron las concentraciones de sCD14-ST en muestras de orina (dilución de factor 200) de 10 sujetos normales (adquiridas de Bioreclamation, LLC) y de 6 pacientes con neumonía asociada con infección bacteriana (neumonía extrahospitalaria) (adquiridas de Bioreclamation, LLC). Como resultado, como se muestra en la tabla 1, el valor promedio de la concentración de sCD14-ST en muestras de orina de sujetos normales fue 3338 pg/ml y la DT fue 1210 pg/ml. El valor promedio de las de pacientes con neumonía fue de 2591 a 7937 pg/ml. Para referencia, se midió la concentración de sCD14-ST en una muestra de sangre que se había recogido en la misma fecha que la de una muestra de orina obtenida de cada uno de los pacientes con neumonía. Como resultado, una fluctuación en las concentraciones de sCD14-ST en orina se correlacionó con una fluctuación en las concentraciones de sCD14-ST en sangre y la concentración de sCD14-ST en orina fue mayor que la de sangre en aproximadamente 5 veces. A partir de estos resultados se asumió que sCD14-ST en sangre en circulación se concentraba de forma relativamente rápida y se eliminaba en la orina. Como se muestra en la figura 2, en que la cantidad de días desde el día del diagnóstico como neumonía hasta el día del muestreo se representó en la abscisa y la concentración de sCD14-ST en la ordenada, cantidades más pequeñas de días desde el diagnóstico condujeron a una mayor concentración y las cantidades más grandes de días desde el diagnóstico condujeron a una concentración menor. En general, se recomienda el inicio de la administración de un antibiótico en 4 horas después del diagnóstico de neumonía. Por tanto, se demostró que pacientes con neumonía asociada con infección bacteriana tienen mayor concentración de sCD14-ST en orina y que la mejora sintomática por el tratamiento y la reducción en la concentración de sCD14-ST en orina están correlacionadas. Es decir, se demostró que, usando como indicación la concentración de sCD14-ST en orina (por ejemplo, usando un valor promedio de sujetos normales + 2 DT como valor de corte), puede detectarse una infección respiratoria asociada con infección bacteriana y pueden seleccionarse los pacientes para recibir un antibiótico. Además, se demostró que, cuando la concentración de sCD14-ST en orina es inferior a un valor de referencia (por ejemplo, un valor promedio de sujetos normales + 2 DT o, para condiciones más estrictas, un valor promedio de sujetos normales + DT), puede determinarse la finalización de la administración de un antibiótico.

[Tabla 1]

Tabla 1

Número de muestra	Clasificación	Cantidad de días que han pasado desde el diagnóstico hasta la recogida de las muestras	Concentración de sCD14-ST (pg/ml)
N1	Normal	-	2069
N2	Normal	-	2143
N3	Normal	-	2550
N4	Normal	-	2994
N5	Normal	-	5586
N6	Normal	-	5252
N7	Normal	-	2735
N8	Normal	-	3771
N9	Normal	-	2994
N10	Normal	-	3290
S1	Neumonía	3 días	7937
S2	Neumonía	4 días	7291
S3	Neumonía	7 días	5552
S4	Neumonía	11 días	4170
S5	Neumonía	11 días	2591
S6	Neumonía	18 días	3749

(Ejemplo 3) Selección de pacientes con infección respiratoria para recibir un antibiótico usando como indicación la concentración de sCD14-ST.

5 Los pacientes que muestran al menos dificultad para respirar o tos como hallazgo clínico y sospechosos de tener infección respiratoria, se asignan a un grupo de control para recibir tratamiento habitual con un antibiótico y un grupo de sCD14-ST para recibir tratamiento con el antibiótico usando como indicación la concentración de sCD14-ST. Los pacientes del grupo de control reciben el antibiótico a criterio del médico como es habitual. Los pacientes del grupo de sCD14-ST reciben el antibiótico dependiendo del valor medido de sCD14-ST en una muestra de orina; cuando el valor medido de sCD14-ST es mayor que un valor normal, se recomienda la administración del antibiótico y cuando el valor medido de sCD14-ST es igual al valor normal o inferior al valor normal, no se recomienda la administración del antibiótico.

10 La mejora sintomática en ambos grupos de pacientes se evalúa a las 2, 4, 6 u 8 semanas después del inicio del estudio. También se evalúa la administración del antibiótico hasta 2 o 4 semanas después del inicio del estudio. Como información adicional, cuando es apropiado, se comprueba neumonía, bronquitis, exacerbación aguda de enfermedad pulmonar obstructiva crónica, asma bronquial, y similares de infecciones del tracto respiratorio en ambos grupos de pacientes basándose en sombras de rayos-X, analítica de sangre, ensayo de función respiratoria, y similares.

15 La mejora sintomática se evalúa como una mejora de los hallazgos clínicos. Como puntos finales adicionales, puede añadirse la autoevaluación por los pacientes (VAS, cuestionario QOL y similares) y los valores medidos de sCD14-ST.

20 Como resultado, no hay diferencia en la mejora sintomática entre ambos grupos. Sin embargo, la administración del antibiótico se reduce significativamente en el grupo de sCD14-ST. Además, se demuestra que, en el grupo de sCD14-ST, el subgrupo de pacientes con una enfermedad a menudo asociada con infección bacteriana (por ejemplo, neumonía) tienen un porcentaje mayor de recibir el antibiótico y el otro subgrupo de pacientes con una enfermedad raramente asociada con infección bacteriana (por ejemplo, asma bronquial) tienen un menor porcentaje de recibir el antibiótico.

25 Por lo tanto, usando como indicación la concentración de sCD14-ST, pueden seleccionarse apropiadamente los pacientes con infección respiratoria para recibir un antibiótico, y puede reducirse el uso de un antibiótico (número de pacientes para recibir el antibiótico, cantidad del antibiótico a recibir, duración a estar recibiéndolo o cantidad de prescripciones) sin ser destructivo para la seguridad y la eficacia de la terapia con antibióticos.

(Ejemplo 4) Optimización de la duración para recibir un antibiótico en pacientes con neumonía usando como indicación la concentración de sCD14-ST

30 Los pacientes cuya afección se diagnostica como neumonía basándose en los hallazgos clínicos y para recibir un antibiótico se asignan a un grupo de control para recibir tratamiento habitual con el antibiótico y a un grupo de sCD14-ST para recibir tratamiento con el antibiótico usando como indicación la concentración de sCD14-ST. Los pacientes del grupo de control dejan de recibir el antibiótico a criterio del médico como es habitual. Los pacientes del grupo de sCD14-ST reciben el antibiótico dependiendo del valor medido de sCD14-ST en una muestra de orina; cuando el valor medido de sCD14-ST es igual al valor normal o inferior al valor normal, se recomienda la finalización de la administración del antibiótico. El valor medido de sCD14-ST se obtiene preferentemente con el tiempo (por ejemplo, cada día después del inicio de recibir el antibiótico).

40 La mejora sintomática en ambos grupos de pacientes se evalúa a las 2, 4, 6 u 8 semanas después del inicio de la administración del antibiótico. También se evalúa el periodo que ha pasado hasta que ha terminado la administración del antibiótico. Como información adicional, se determina la gravedad de la neumonía en ambos grupos de pacientes.

La mejora sintomática se evalúa como una mejora de los hallazgos clínicos. En particular, preferentemente se comprueba la cura de la neumonía. Como puntos finales adicionales, puede añadirse la autoevaluación por los pacientes (VAS, cuestionario QOL y similares) y los valores medidos de sCD14-ST.

45 Como resultado, no hay diferencias en la mejora sintomática entre ambos grupos. Sin embargo, la duración de la administración del antibiótico se reduce significativamente en el grupo de sCD14-ST.

Por lo tanto, usando como indicación la concentración de sCD14-ST, puede determinarse apropiadamente el momento adecuado para la finalización de la administración del antibiótico y puede reducirse la duración de la administración del antibiótico sin ser destructiva para la seguridad y la eficacia de la terapia de antibióticos.

50 (Ejemplo 5) Medición de sCD14-ST en orina

55 Las condiciones de medición aplicada al sistema EIA de tipo sándwich preparado en el ejemplo 1 se revisaron y se cambiaron las condiciones de la primera reacción descrita en el ejemplo 1 a 25 °C durante 1 hora y las condiciones de la segunda reacción a 25 °C durante 2 horas. Usando este sistema, se midieron las concentraciones de sCD14-ST en muestras de orina (dilución de factor 5) de 9 pacientes con neumonía asociada con infección bacteriana y de 2 pacientes con neumonía vírica (adquiridas de Bioreclamation, Inc.). Como resultado, las concentraciones de sCD14-ST en orina de pacientes con neumonía asociada con infección bacteriana fueron de 419 a 3859 pg/ml

(mediana, 1885 pg/ml) y las de pacientes con neumonía vírica fueron de 115 a 517 pg/m (mediana, 316 pg/ml). Por consiguiente, las concentraciones de sCD14-ST en orina de pacientes con neumonía vírica eran inferiores al valor promedio de sujetos normales y eran claramente inferiores a las de pacientes con neumonía asociada con infección bacteriana que necesita administración del antibiótico (figura 3). Por lo tanto, se indicó que medir sCD14-ST en una muestra de orina puede distinguir la infección respiratoria asociada con infección bacteriana de infección vírica respiratoria.

(Ejemplo 6) Eliminación de sCD14-ST de sangre en la orina

Se determinó la tasa de eliminación de sCD14-ST de la sangre en la orina. A 3 perros (perros beagle macho, de 7 u 8 meses de edad, adquiridos de Kitayama Labes Co., Ltd.), se les administró por vía intravenosa sCD14-ST recombinante (rsCD14-ST descrito en el documento WO 2005/108429) a una dosis de 10 µg/kg, y se recogió la sangre y la orina en el tiempo hasta 24 horas después de la administración. Usando el sistema EIA de tipo sándwich descrito en el ejemplo 1, se midió la concentración de sCD14-ST en sangre y la cantidad de sCD14-ST en orina. Se calculó la cantidad de sCD14-ST en orina de acuerdo con la fórmula: la concentración de sCD14-ST (pg/ml) x la cantidad de orina (ml).

La sangre se recogió antes de la administración, 5 minutos, 10 minutos, 30 minutos, 60 minutos, 90 minutos, 120 minutos, 4 horas y 24 horas después de la administración y se usó plasma centrifugado como muestra de medición. La orina se recogió por cateterización uretral en condiciones sin anestesia. Toda la cantidad de orina restante en la vejiga se recogió antes de la administración y 15 minutos, 30 minutos, 60 minutos, 90 minutos, 120 minutos, 150 minutos, 6 horas y 24 horas después de la administración. Además, después de completarse la recogida de orina, se administraron por vía oral 100 ml de solución salina normal a cada perro antes de la administración de la sCD14-ST.

La figura 4 ilustra la transición en las concentraciones de sCD14-ST en sangre y la transición de las cantidades de sCD14-ST en orina. La semivida de sCD14-ST en sangre fue 25 minutos en 1 hora después de la administración, y después fue de 58 minutos y, por tanto, la sCD14-ST en sangre mostró una cinética bifásica. La concentración de sCD14-ST en sangre 120 minutos después de la administración se redujo hasta aproximadamente un 6 % de la concentración en sangre 5 minutos después de la administración, y se eliminó completamente sCD14-ST de la sangre 24 horas después de la administración. La cantidad de sCD14-ST en orina alcanzó un pico en 30 minutos después de la administración y, después, 150 minutos después de la administración, la cantidad de sCD14-ST en orina se redujo hasta aproximadamente un 4 % la del tiempo del pico. Veinticuatro horas después de la administración, sCD14-ST desapareció completamente de la orina. A partir de estos resultados, queda claro que sCD14-ST en sangre empieza a eliminarse en la orina en 1 hora después de la administración y que la mayor parte de sCD14-ST después se elimina incluso de la orina en 3 horas después de la administración. La aparición y eliminación de sCD14-ST en orina tiene lugar con mucha prontitud y se considera que refleja de forma sensible el movimiento de sCD14-ST generada en un cuerpo por infección bacteriana. Es decir, se demostró que cuando se disminuye o elimina una infección bacteriana en los órganos respiratorios, la concentración de sCD14-ST en orina también se reduce rápidamente y puede usarse apropiadamente para la determinación de la finalización de la administración de un antibiótico y similares.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> MOCHIDA PHARMACEUTICAL CO., LTD.

<120> Diagnóstico de enfermedades infecciosas del tracto respiratorio usando muestras de orina

<130> W-4725PCT

<160>3

<170> PatentIn versión 3.1

<210> 1

<211> 11

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 1

ES 2 628 868 T3

Thr Thr Pro Glu Pro Cys Glu Leu Asp Asp Glu
 1 5 10

<210> 2

<211> 16

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 2

Arg Val Asp Ala Asp Ala Asp Pro Arg Gln Tyr Ala Asp Thr Val Lys
 1 5 10 15

10

<210> 3

<211> 356

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

15

<400> 3

Thr Thr Pro Glu Pro Cys Glu Leu Asp Asp Glu Asp Phe Arg Cys Val
 1 5 10 15

Cys Asn Phe Ser Glu Pro Gln Pro Asp Trp Ser Glu Ala Phe Gln Cys
 20 25 30

Val Ser Ala Val Glu Val Glu Ile His Ala Gly Gly Leu Asn Leu Glu
 35 40 45

Pro Phe Leu Lys Arg Val Asp Ala Asp Ala Asp Pro Arg Gln Tyr Ala
 50 55 60

Asp Thr Val Lys Ala Leu Arg Val Arg Arg Leu Thr Val Gly Ala Ala
 65 70 75 80

Gln Val Pro Ala Gln Leu Leu Val Gly Ala Leu Arg Val Leu Ala Tyr
 85 90 95

ES 2 628 868 T3

Ser Arg Leu Lys Glu Leu Thr Leu Glu Asp Leu Lys Ile Thr Gly Thr
100 105 110

Met Pro Pro Leu Pro Leu Glu Ala Thr Gly Leu Ala Leu Ser Ser Leu
115 120 125

Arg Leu Arg Asn Val Ser Trp Ala Thr Gly Arg Ser Trp Leu Ala Glu
130 135 140

Leu Gln Gln Trp Leu Lys Pro Gly Leu Lys Val Leu Ser Ile Ala Gln
145 150 155 160

Ala His Ser Pro Ala Phe Ser Cys Glu Gln Val Arg Ala Phe Pro Ala
165 170 175

Leu Thr Ser Leu Asp Leu Ser Asp Asn Pro Gly Leu Gly Glu Arg Gly
180 185 190

Leu Met Ala Ala Leu Cys Pro His Lys Phe Pro Ala Ile Gln Asn Leu
195 200 205

Ala Leu Arg Asn Thr Gly Ile Glu Thr Pro Thr Gly Val Cys Ala Ala
210 215 220

Leu Ala Ala Ala Gly Val Gln Pro His Ser Leu Asp Leu Ser His Asn
225 230 235 240

Ser Leu Arg Ala Thr Val Asn Pro Ser Ala Pro Arg Cys Met Trp Ser
245 250 255

Ser Ala Leu Asn Ser Leu Asn Leu Ser Phe Ala Gly Leu Glu Gln Val
260 265 270

Pro Lys Gly Leu Pro Ala Lys Leu Arg Val Leu Asp Leu Ser Cys Asn
275 280 285

Arg Leu Asn Arg Ala Pro Gln Pro Asp Glu Leu Pro Glu Val Asp Asn
290 295 300

Leu Thr Leu Asp Gly Asn Pro Phe Leu Val Pro Gly Thr Ala Leu Pro
305 310 315 320

His Glu Gly Ser Met Asn Ser Gly Val Val Pro Ala Cys Ala Arg Ser
325 330 335

Thr Leu Ser Val Gly Val Ser Gly Thr Leu Val Leu Leu Gln Gly Ala

340

345

350

Arg Gly Phe Ala
355

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para detectar infección respiratoria asociada con infección bacteriana, que comprende:
 medir sCD14-ST en una muestra de orina obtenida de un sujeto.
2. El procedimiento de la reivindicación 1, que comprende la siguiente etapa:
5 determinar si el sujeto está afectado o no con infección respiratoria asociada con infección bacteriana usando como indicación un valor medido de sCD14-ST en la muestra.
3. El procedimiento de la reivindicación 1, que comprende las siguientes etapas:
 comparar un valor medido de sCD14-ST en la muestra con un valor normal; y
 determinar si el valor medido de la muestra es mayor que el valor normal.
- 10 4. Un procedimiento para seleccionar pacientes con infección respiratoria para recibir un antibiótico, que comprende:
 medir sCD14-ST en muestras de orina obtenidas de pacientes.
5. El procedimiento de la reivindicación 4, que comprende la siguiente etapa:
 determinar si los pacientes están afectados o no con infección respiratoria asociada con infección bacteriana usando como indicación valores medidos de sCD14-ST en las muestras.
- 15 6. El procedimiento de la reivindicación 4, que comprende las siguientes etapas:
 comparar los valores medidos de sCD14-ST en las muestras con un valor normal; y
 determinar si los valores medidos de las muestras son mayores que el valor normal.
7. Un procedimiento para determinar el momento adecuado para la finalización de la administración de un antibiótico a un paciente con infección respiratoria que recibe el antibiótico, en el que como indicación se usa un valor medido de sCD14-ST en una muestra de orina obtenida del paciente.
- 20 8. El procedimiento de la reivindicación 7, que comprende las siguientes etapas:
 comparar el valor medido de sCD14-ST en la muestra con un valor de referencia predeterminado; y
 cuando el valor medido de la muestra es inferior al valor de referencia predeterminado, determinar la finalización de la administración del antibiótico.
- 25 9. Un procedimiento para seleccionar pacientes para finalizar la administración de un antibiótico de pacientes con infección respiratoria que reciben el antibiótico usando valores medidos de sCD14-ST en muestras de orina obtenidas de pacientes como indicaciones.
10. El procedimiento de la reivindicación 9, que comprende las siguientes etapas:
30 comparar los valores medidos de sCD14-ST en muestras con un valor de referencia predeterminado; y
 cuando los valores medidos de las muestras son inferiores al valor de referencia predeterminado, determinar la finalización de la administración del antibiótico.
11. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que la infección respiratoria es infección del tracto respiratorio inferior o neumonía.
- 35 12. Una composición para su uso en un procedimiento de tratamiento de una infección respiratoria asociada con infección bacteriana, que comprende un antibiótico como ingrediente activo, en la que la composición se usa de modo que se mide sCD14-ST en una muestra de orina obtenida de un paciente sospechoso de tener infección respiratoria asociada con infección bacteriana, el valor medido se compara con un valor normal y cuando el valor medido en la muestra es mayor que el valor normal, se administra la composición al paciente.
- 40 13. La composición de la reivindicación 12 para su uso en el procedimiento de la reivindicación 12, en la que se mide sCD14-ST en muestras de orina durante un periodo de administración en el tiempo, y cuando un valor medido es inferior al valor predeterminado, se finaliza la administración de la composición.
14. La composición de la reivindicación 12 para su uso en el procedimiento de la reivindicación 12 o 13, en la que la infección respiratoria asociada con infección bacteriana es infección del tracto respiratorio inferior o neumonía.

Fig. 1

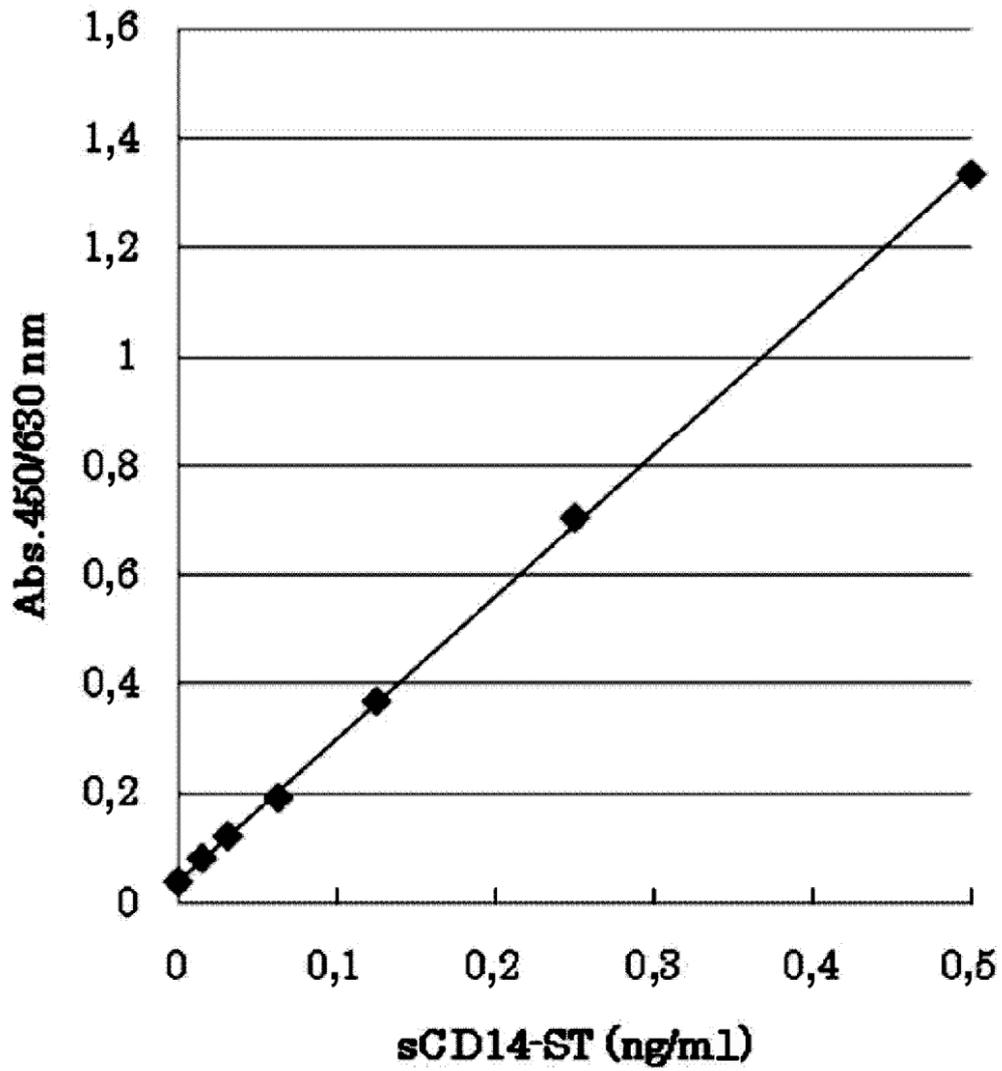


Fig. 2

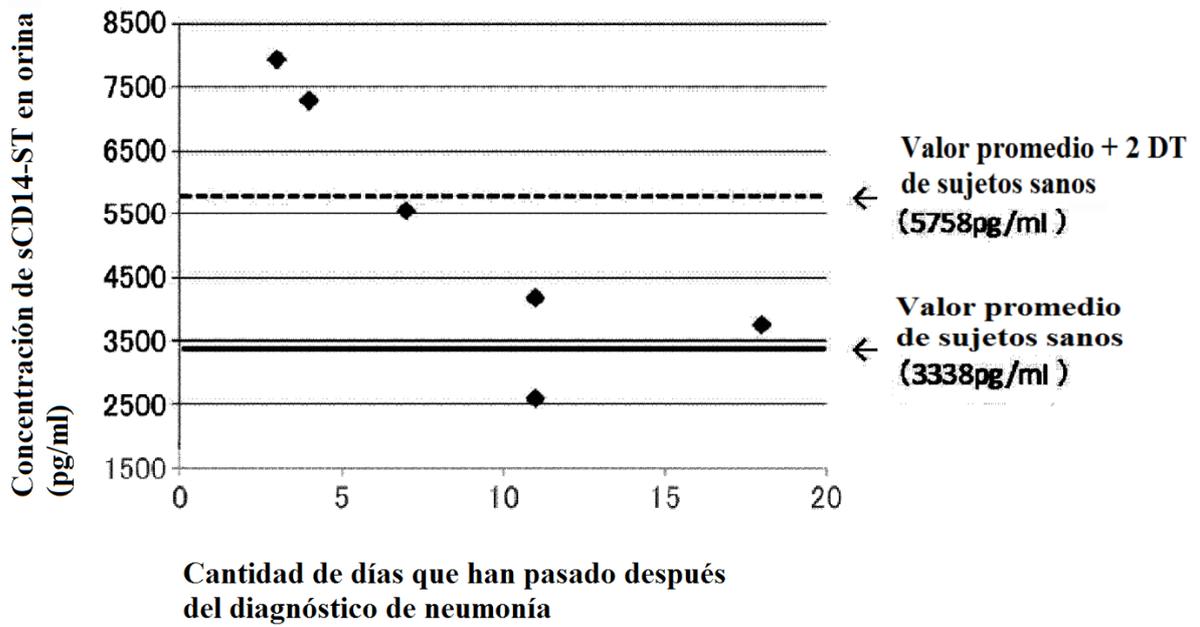


Fig. 3

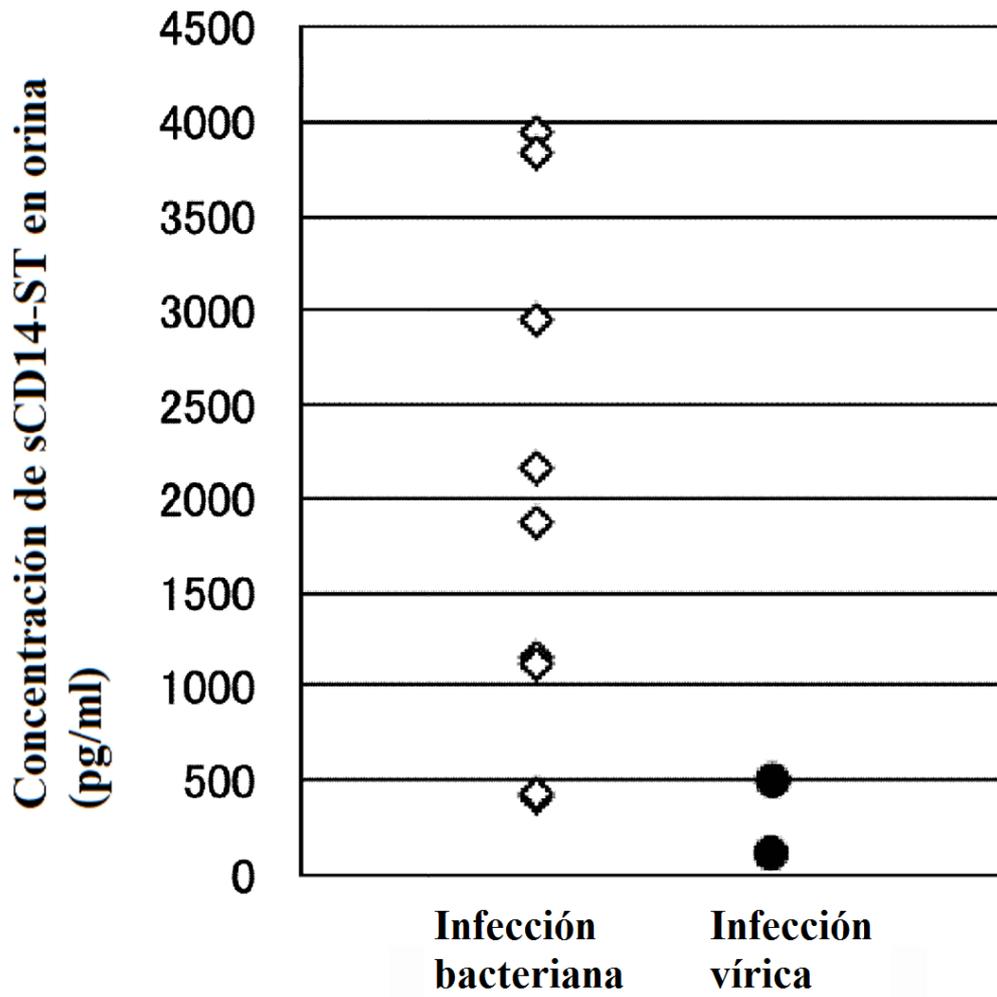


Fig. 4

