

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 738 212**

51 Int. Cl.:

G01N 33/53 (2006.01)

G01N 33/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.01.2012 PCT/JP2012/050226**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.07.2012 WO12096245**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.01.2012 E 12733987 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.05.2019 EP 2664922**

54 Título: **Procedimiento de predicción de un pronóstico de septicemia**

30 Prioridad:

11.01.2011 JP 2011003016

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

20.01.2020

73 Titular/es:

LSI MEDIENCE CORPORATION (50.0%)

13-4, Uchikanda 1-chome, Chiyoda-ku

Tokyo 101-8517, JP y

MOCHIDA PHARMACEUTICAL CO., LTD. (50.0%)

72 Inventor/es:

MATSUYA TAKESHI;

OKAMURA YOSHIKAZU;

THOMAE, RALF;

SPANUTH, EBERHARD;

IVANDIC, BORIS;

SHIRAKAWA KAMON y

ENDO SHIGEATSU

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 738 212 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

Procedimiento de predicción de un pronóstico de septicemia

5 La presente invención se refiere a un procedimiento de medición para un nivel de sCD14-ST en una muestra con el fin de predecir el progreso de un paciente después de que haya surgido la sospecha de septicemia. También se describe un kit para realizar el procedimiento.

10 Se ha divulgado el diagnóstico de septicemia mediante la medición del nivel de sCD14-ST en una muestra (Documento No Relacionado con Patentes 1, Documento de Patente 1). Además, también se ha divulgado la medición de sCD14-ST utilizando un anticuerpo específico para el mismo (Documento de Patente 1, Documento de Patente 2). Además, se ha divulgado un procedimiento para la detección temprana y para evaluar su gravedad (Documento de patente 2, Documentos No de Patente 2 a 4). Sin embargo, en estos documentos, solo se ha divulgado que se puede realizar una evaluación de si el estado del paciente es grave o no en un determinado momento, y también se puede hacer una evaluación de si el síntoma corresponde o no a septicemia inmediatamente después de la aparición de la septicemia, y no se puede suponer ni divulgar que el pronóstico de la septicemia desde varios días hasta decenas de días después de la aparición de la septicemia se puede predecir mediante la medición de la sCD14-ST cuando haya surgido la sospecha de septicemia. Se ha divulgado el uso de sCD14 como marcador pronóstico en la septicemia (Documento No Relacionado con Patentes 6, Documento No de Patente 7). Sin embargo, sCD14 difiere de sCD14-ST. Se ha descrito un procedimiento para detectar una enfermedad asociada con la fagocitosis por un fagocito que comprende medir sCD14-ST (documento de patente 3). Sin embargo, la presente memoria no divulga un procedimiento para predecir el pronóstico de la septicemia.

25 Incidentalmente, además de la sCD14-ST, la procalcitonina (PCT) también se conoce como marcador de diagnóstico para la septicemia. Se cree que la procalcitonina se puede usar no solo para evaluar si el síntoma corresponde o no a septicemia en el momento de la medición, sino también para una predicción con respecto al nivel de gravedad de la septicemia, es decir, el pronóstico (y especialmente el riesgo de muerte) (Documento No Relacionado con Patentes 5), y está aprobado como un marcador capaz de predecir el nivel de gravedad de la septicemia por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) de los Estados Unidos.

30

Literatura de patente

[Literatura de Patente 1] Patente Japonesa No. 4040666
 [Literatura de Patente 2] Publicación de Patente Japonesa No Examinada (Kokai) No. 2005-106694
 35 [Literatura de Patente 3] WO 2009/142303

Documentos no relacionados con patentes

[Literatura No De Patente 1] J. Infect. Chemother. 2005; 11: 234-238.
 40 [Literatura No De Patente 2] Medical Postgraduates 2010; 48: 25-27.
 [Literatura No De Patente 3] Therapeutic Research 2004; 25: 1689-1694.
 [Literatura No De Patente 4] UCI y CCV 2005; 29: 21-26.
 [Literatura No De Patente 5] Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2001; 164: 396-402.
 [Literatura No De Patente 6] Clin. Immunol. Immunopath. 1996; 80: 307-310.
 45 [Literatura No De Patente 7] Scand. J. Infect. Dis. 2007; 39: 596-603.

Problema técnico

50 Cuando existe una sospecha de septicemia, se requiere una decisión rápida de una estrategia de tratamiento adecuada. Un objeto de la presente invención es proporcionar un marcador novedoso que pueda usarse para la predicción pronóstica y que sea superior a la procalcitonina, conocido como marcador para predecir el pronóstico en pacientes con septicemia.

Solución al problema

55 Durante las investigaciones intensivas y extensas, con el fin de resolver el problema mencionado anteriormente, los presentes inventores han descubierto que el pronóstico de la septicemia con respecto a qué tan grave será (la denominada estratificación de riesgo) desde varios días hasta decenas de días después de la aparición de la septicemia, o el riesgo de muerte, se puede predecir mediante la medición del nivel de sCD14-ST en la muestra dentro de las 72 horas posteriores a la sospecha de septicemia, a partir de los valores medidos o el nivel, y como consecuencia se completó la presente invención .

60

La presente invención se refiere a lo siguiente:

65 [1] Un procedimiento de medición para un nivel de sCD14-ST en una muestra para predecir el progreso de

- un paciente después de que haya surgido la sospecha de septicemia;
- [2] El procedimiento de medición de conformidad con [1], en el que el nivel de sCD14-ST se mide dentro de las 72 horas desde un punto en el tiempo en el que haya surgido la sospecha de septicemia;
- [3] El procedimiento de medición de conformidad con [1], en el que el nivel de sCD14-ST se mide después de tratar la septicemia;
- [4] El procedimiento de medición de conformidad con [1], en el que la predicción es una predicción para el desarrollo de complicaciones sépticas;
- [5] El procedimiento de medición de conformidad con [1], que incluye una etapa para medir el nivel de sCD14-ST en una muestra recolectada de un paciente con sospecha de septicemia o un paciente con septicemia, y una etapa para diagnosticar un mal pronóstico cuando el nivel de sCD14-ST es mayor en comparación con el nivel de un individuo sano;
- [6] El procedimiento de conformidad con [5], en el que el nivel de sCD14-ST se compara con un valor de umbral, que se determina con anticipación, en la etapa de diagnóstico;
- [7] El procedimiento de conformidad con [5], en el que el nivel de sCD14-ST se correlaciona con cada grupo de cuantiles, que se determina con anticipación, en la etapa de diagnóstico;
- [8] El procedimiento de conformidad con uno cualquiera de [1] a [7], en el que el nivel de sCD14-ST se mide mediante un procedimiento de medición inmunológica.

En la presente memoria descriptiva, el término "sCD14-ST humana" (también denominada Presepsina (marca registrada)), como se usa en la presente memoria, se refiere al "antígeno CD14 soluble del primer aspecto" descrito en la Patente Japonesa No. 4040666, y más específicamente se refiere a un antígeno CD14 soluble con las siguientes características 1) a 3):

- 1) Peso molecular de 13 ± 2 kDa medido por SDS-PAGE en una condición no reductora;
- 2) Inclusión de una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 dentro de la secuencia N-terminal; y
- 3) Se une específicamente a un anticuerpo, que se prepara utilizando un péptido que consta de 16 residuos de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2 como antígeno.

El término "sCD14-ST", como se usa en la presente memoria, significa sCD14-ST humana, a menos que se especifique lo contrario.

SEQ ID NO: 1:

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

SEQ ID NO: 2:

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

El término "septicemia" se refiere a un estado en el que, por ejemplo, un individuo satisface dos o más criterios de los siguientes cuatro criterios, que son los componentes para el diagnóstico del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), además de la presencia de infección [Chest 1992; 101(6): 1644-1655].

- 1) Temperatura corporal $> 38^{\circ}\text{C}$ o $< 36^{\circ}\text{C}$;
- 2) Frecuencia cardíaca > 90 por minuto;
- 3) Frecuencia respiratoria > 20 por minuto o $\text{PaCO}_2 > 32$ torr;
- 4) Recuento de glóbulos blancos > 12.000 , $< 4.000/\text{m}^3$ o leucocitos inmaduros $> 10\%$.

La "infección" mencionada anteriormente incluye infecciones por bacterias, hongos, parásitos o virus.

El procedimiento para verificar la presencia de infección no está particularmente limitado, y sus ejemplos incluyen, además del hemocultivo comúnmente llevado a cabo, procedimientos de identificación de genes (como PCR y RP-PCR), diagnóstico por imagenología, diagnóstico ultrasónico, endoscopia y biopsia [Am. J. Infect. Control 1988; 16: 128-140].

El término "septicemia grave" se refiere al síntoma de septicemia que se acompaña además de hipoperfusiones orgánicas que se manifiestan a partir de los signos de al menos un fallo orgánico (por ejemplo, hipoxemia, oliguria, acidosis metabólica o anomalía cerebral).

El término "shock séptico" se refiere al síntoma de septicemia grave que se acompaña además de la hipotensión

que se desprende de una presión arterial sistólica < 90 mmHg o la necesidad de una intervención farmacológica para mantener la presión arterial.

5 Ejemplos de "complicaciones de la septicemia" incluyen el síndrome de disfunción orgánica múltiple (MODS), el síndrome de coagulación intravascular diseminada (DIC), el síndrome de dificultad respiratoria aguda (ARDS) y la insuficiencia renal aguda (AKI). La posibilidad de inducir las complicaciones de la septicemia aumenta a medida que la gravedad de la septicemia aumenta a una septicemia grave y luego a un shock séptico. Por ejemplo, el "síndrome de disfunción orgánica múltiple (MODS)" es un síndrome en el que dos o más órganos vitales causan un trastorno funcional al mismo tiempo, y se identifica en asociación con los criterios SIRS.

10 El término "septicemia" utilizado en la presente memoria incluye el síntoma de septicemia asociado con la etapa final de la septicemia y la aparición de la "septicemia grave", el "shock séptico" y las "complicaciones de la septicemia" descritas anteriormente, así como todas las etapas de la septicemia, lo cual no está limitado.

15 Aunque la septicemia puede tratarse mediante el uso de antibióticos o terapia de soporte, sigue siendo una causa grave de mortalidad. Según una estimación realizada en un estudio reciente, en los Estados Unidos ocurren 751.000 casos de septicemia grave cada año, y la tasa de mortalidad es de 30 a 50%. Los especialistas en cuidados intensivos o enfermedades infecciosas que pertenecen a la Sociedad de Medicina de Cuidados Intensivos (SCCM), la Sociedad Europea de Medicina de Cuidados Intensivos (ESICM) y el ISF (Foro Internacional de Septicemia) han establecido un programa internacional denominado la "Campaña para Sobrevivir a la Septicemia" (SSC) en 2002 con el fin de reducir la tasa de mortalidad por septicemia grave en un 25% durante los próximos 5 años, y se han preparado las normas de la Campaña para Sobrevivir a la Septicemia (SSGC) como parte del enfoque. Estas normas se publican como una guía para el diagnóstico/tratamiento de la septicemia grave, que se basa en la primera evidencia de 2004, y su edición revisada publicada en 2008 [Crit. Care. Med. 2008; 36: 296-327]. Estas normas se basan en la terapia de fluidos inicial (terapia dirigida hacia el objetivo inicial) para la septicemia grave o similar [New Engl. J. Med. 2001; 345: 1368-1377].

30 Ejemplos de los tratamientos para la septicemia descritos en las presentes normas incluyen el uso de agentes antimicrobianos, terapia con fluidos, vasoconstrictores, medicamentos para el corazón, terapia con esteroides, preparaciones de sangre, control de azúcar en la sangre, procedimientos de purificación de la sangre [como hemofiltración continua (CHF), hemodiafiltración continua (CHDF) y hemodiálisis (HD)] y cirugía (como drenaje de abscesos y extirpación de tejidos necróticos infectados), además de la terapia de adsorción de endotoxinas con polimixina (PMX) y preparaciones de globulina y [Crit. Care Med. 2008; 36: 296-327]. Los agentes terapéuticos para la septicemia no se limitan a los fármacos descritos anteriormente, y es posible referirse, por ejemplo, a "Medicamentos terapéuticos de hoy: explicaciones y manuales 2006", editado por Yutaka MIZUSHIMA y publicado en 2006 por Nankodo Co., Ltd., o similares.

40 En la presente memoria, el término "pronóstico" se refiere al progreso de un paciente después de que haya surgido la sospecha de septicemia. Los ejemplos de riesgos pronósticos incluyen un tratamiento de respiración artificial, transferencia a una unidad de cuidados intensivos (UCI), diálisis, aparición de complicaciones y muerte, y estos riesgos pueden identificarse, en comparación con los marcadores convencionales conocidos. Especialmente, los riesgos para diálisis y muerte pueden predecirse con alta precisión.

45 En la presente memoria, la "predicción" de pronóstico se refiere a la predicción del progreso de un paciente después de que haya surgido la sospecha de septicemia. La "estratificación del riesgo" es una de las técnicas disponibles para esta "predicción". La "estratificación del riesgo" es una técnica para clasificar y diferenciar a los pacientes según la gravedad de la septicemia. La clasificación en función de la gravedad puede llevarse a cabo debido a la extensión del estado patológico, como alto, moderado y bajo, o debido al tipo de estado patológico, como SIRS, septicemia inicial, septicemia grave y shock séptico. Además, también es posible clasificar el riesgo de muerte o la tasa de supervivencia.

55 De acuerdo con el procedimiento de la presente invención, el pronóstico de la septicemia, por ejemplo, la gravedad pronóstica, el riesgo de muerte o la tasa de supervivencia se puede predecir en una etapa temprana de la aparición de la septicemia. La precisión de la predicción es muy superior a la del uso de procalcitonina, que ha sido aprobada por la FDA en los Estados Unidos como un marcador capaz de predecir el nivel de gravedad de la septicemia.

60 Adicionalmente, de acuerdo con el procedimiento de la presente invención, se puede desarrollar una estrategia de tratamiento apropiada de acuerdo con el pronóstico predicho como se describe anteriormente, y el pronóstico de la septicemia, por ejemplo, la gravedad del pronóstico, el riesgo de muerte o la tasa de supervivencia pueden Se predice incluso después del tratamiento. En otras palabras, los efectos terapéuticos también son predecibles.

Además, de acuerdo con el procedimiento de la presente invención, la aparición de complicaciones de septicemia puede predecirse basándose en la gravedad pronóstica predicha.

Además, el kit de la presente divulgación se puede usar para el procedimiento de la presente invención.

65 **Breve descripción de los dibujos**

La Figura 1 es un gráfico que muestra la relación entre el nivel de sCD14-ST en las muestras de plasma recolectadas de los pacientes (146 individuos) con sospecha de septicemia en el momento de la admisión y la tasa de supervivencia dentro de los 30 días posteriores a la admisión. Los niveles de sCD14-ST en los grupos I a IV son 177-512 pg/ml (grupo I), 524-927 pg/ml (grupo II), 950-1810 pg/ml (grupo III) y 1858 pg/ml o más (grupo IV), respectivamente.

La Figura 2 es un gráfico que muestra la relación entre el nivel de sCD14-ST en las muestras de plasma recogidas de los pacientes (146 individuos) con sospecha de septicemia en el momento de la admisión y la tasa de supervivencia dentro de los 30 días posteriores a la admisión. El valor de umbral se establece en 920 ng/ml, y el grupo de pacientes que exhibió un valor más bajo que el valor de umbral se clasifica como grupo a, y el grupo de pacientes que exhibió el valor de umbral o más alto se clasifica como grupo b.

La Figura 3 es un gráfico que muestra la relación entre el nivel de procalcitonina (PCT) en las muestras de plasma recogidas de los mismos pacientes de la Figura 2 en el momento de la admisión y la tasa de supervivencia dentro de los 30 días posteriores a la admisión. El valor de umbral se establece en 1,86 ng/ml, y el grupo de pacientes que exhibió un valor más bajo que el valor de umbral se clasifica como grupo a, y el grupo de pacientes que exhibió el valor de umbral o más alto se clasifica como grupo b.

La Figura 4 es un gráfico que muestra el resultado del análisis de las características operativas del receptor (ROC) que compara las relaciones entre cada uno de los niveles de sCD14-ST y PCT en las muestras de plasma recolectadas de los pacientes (146 individuos) con sospecha de septicemia al momento de la admisión y la tasa de mortalidad dentro de los 30 días posteriores a la admisión.

La Figura 5 es un gráfico que muestra el resultado del análisis de ROC que compara la tasa de mortalidad dentro de los 30 días posteriores a la admisión y los niveles de sCD14-ST en cada momento para la extracción de sangre, mediante la recolección de muestras de plasma de los pacientes (146 individuos) con sospecha de septicemia al momento de la admisión (grupo a), 24 horas después (grupo b) y 72 horas después (grupo c).

La Figura 6 es un gráfico que muestra el resultado del análisis de ROC que compara la tasa de mortalidad dentro de los 30 días posteriores a la admisión y los niveles de PCT en cada momento para la extracción de sangre, mediante la recolección de muestras de plasma de los mismos pacientes de la Figura 5 al momento de la admisión (grupo a), 24 horas después (grupo b) y 72 horas después (grupo c).

Descripción de las realizaciones

En el procedimiento de medición de la presente invención (en lo sucesivo, denominado el procedimiento de la presente invención), se mide el nivel de sCD14-ST en una muestra recogida de un sujeto, especialmente un paciente que se sospecha que tiene septicemia o un paciente con septicemia. Dichos sujetos también incluyen a los pacientes de enfermedades infecciosas que requieren un tratamiento antimicrobiano y los pacientes deteriorados con infección.

El procedimiento de medición sCD14-ST en sí mismo ya es conocido, y la medición se puede llevar a cabo mediante diversos procedimientos analíticos para proteínas, por ejemplo, un ensayo inmunológico que utiliza un anticuerpo o un ensayo bioquímico como la electroforesis, y también se pueden utilizar un autoanalizador para una prueba de laboratorio clínico. Los procedimientos analíticos que utilizan los materiales con propiedades similares a los de los anticuerpos, como los aptámeros de ARN, también forman parte de la presente invención.

Por ejemplo, en la Patente Japonesa No. 4040666, un procedimiento para medir el nivel de sCD14-ST humana, más específicamente, se ha descrito un anticuerpo policlonal (anticuerpo S68) preparado utilizando un péptido que consiste en 16 residuos de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2 (el péptido S68 descrito en la Patente Japonesa No. 4040666) como un antígeno y un inmunoensayo enzimático (EIA) de tipo sándwich, que utiliza una combinación de un anticuerpo monoclonal (anticuerpo F1146-17-2) y un anticuerpo monoclonal preparado utilizando CD14 como antígeno (por ejemplo, el anticuerpo F1031-8-3, el anticuerpo F1106-13-3, o similar) [Ejemplo 7-(1) en la Patente Japonesa No. 4040666], y estos pueden aplicarse al procedimiento de la presente invención.

Además, como se muestra en los Ejemplos descritos más adelante, también es posible realizar la medición del nivel de sCD14-ST, utilizando un analizador de inmunoensayo quimioluminiscente automatizado (PATHFAST; fabricado por Mitsubishi Chemical Medience Corporation), o por un inmunoensayo de enzimas quimioluminiscentes utilizando partículas magnéticas.

No hay limitaciones particulares en la muestra usada en el procedimiento de la presente invención siempre que pueda medirse el nivel de sCD14-ST. Por ejemplo, se pueden usar muestras de sangre (por ejemplo, sangre entera, plasma o suero), orina, linfa, líquidos cefalorraquídeos y otros fluidos corporales.

En el procedimiento de la presente invención, se adopta un aumento en el nivel de sCD14-ST en la muestra como un indicador de un mal pronóstico. Por ejemplo, como se muestra en el Ejemplo 2 que se describe más adelante, la tasa de supervivencia disminuye a medida que aumenta el nivel de sCD14-ST, y la tasa de supervivencia fue del 35% en el grupo de pacientes con valores altos de sCD14-ST (grupo IV; 1,858 pg/ml o más). Como se describió anteriormente, en el procedimiento de la presente invención, cuando el nivel de sCD14-ST muestra un valor alto, es posible juzgar que el estado del pronóstico de la septicemia es bajo y el riesgo de muerte es alto. Por otro lado, cuando el nivel de sCD14-ST muestra un valor bajo, es posible juzgar que el estado del pronóstico de la septicemia es favorable y el riesgo de muerte es bajo. Por ejemplo, es posible juzgar que el estado del pronóstico de la septicemia es malo si el nivel de sCD14-ST en la muestra es más alto que un valor de cuantil (por ejemplo, la mediana) para el de los individuos sanos. Además, es posible emplear técnicas estadísticas como la regresión de Cox y la regresión logística para este análisis. Además, es posible predecir la gravedad pronóstica de la septicemia de acuerdo con el nivel de sCD14-ST. Para los criterios, se puede utilizar un "valor umbral" preparado con anticipación.

En el procedimiento de la presente invención, aunque se espera que el valor de umbral para el nivel de sCD14-ST para predecir el pronóstico varíe dependiendo de varias condiciones, como el sexo y la edad, el valor de umbral para el juicio se puede determinar para los expertos en la técnica mediante la selección apropiada de una población adecuada que corresponda a los sujetos y el procesamiento estadístico de los datos adquiridos de la población. Con la población mencionada anteriormente, se puede seleccionar un grupo de individuos sanos, un grupo de septicemia, grupos sépticos de diferentes niveles patológicos, grupos sépticos de diferentes tipos patológicos o similares. En el Ejemplo 4 que se describe más adelante, se definió un valor de corte óptimo de 1,108 pg/ml (sensibilidad = 78%, especificidad = 66%) mediante el análisis de la característica operativa del receptor (ROC) que se muestra en la Figura 4. En el procedimiento de la presente invención, es posible predecir automáticamente el pronóstico de septicemia sin consultar a un médico al determinar el valor de umbral para el juicio, y comparando el nivel de sCD14-ST medido en la muestra con el valor de umbral para el juicio.

En el procedimiento de la presente invención, aunque el tiempo para la recolección de la muestra ocurre preferentemente en una etapa en la que se ha incrementado la sospecha de septicemia o en una etapa posterior al tratamiento, la muestra puede recolectarse con el tiempo después de que el paciente haya sido admitido. Más específicamente, la muestra se puede recolectar, por ejemplo, cuando el paciente ingresa en un hospital o en una sala de emergencias por primera vez, antes y/o después del tratamiento en una unidad de cuidados intensivos, 24 horas después del tratamiento, 48 horas después del tratamiento y 72 horas después del tratamiento.

De acuerdo con el primer aspecto del procedimiento de la presente invención, el pronóstico de septicemia se puede predecir en una etapa temprana de la aparición de la septicemia. La etapa temprana de la aparición de la septicemia también incluye una etapa en la que surge la sospecha de septicemia.

La etapa en la que surge la sospecha de septicemia se refiere a una etapa temprana de la septicemia, que es, por ejemplo, previa a una etapa en la que los síntomas clínicos convencionales apoyan suficientemente una sospecha clínica de septicemia. Dado que el procedimiento de la presente invención se puede usar para detectar septicemia antes de la confirmación de la septicemia utilizando una guía de diagnóstico convencional, en una realización específica, el estado de la enfermedad del paciente en una etapa temprana de la septicemia se puede confirmar en una fecha mucho más temprana, en comparación con el momento en que los signos de septicemia son clínicamente evidentes, es decir, la etapa en la que el médico plantea la sospecha clínica de septicemia basándose en los síntomas clínicos. Más específicamente, la etapa en la que un médico plantea la sospecha clínica de septicemia dentro de las 72 horas posteriores a la transferencia del paciente a un hospital, una UCI o similar. Un mecanismo preciso por el cual el paciente desarrolla septicemia no es una realización importante de la presente invención. El procedimiento de la presente invención es muy útil ya que la aparición de la septicemia puede detectarse independientemente del origen del proceso de infección, y puede predecir su pronóstico en una etapa en la que surge la sospecha de septicemia.

De acuerdo con el segundo aspecto del procedimiento de la presente invención, se puede predecir el pronóstico de la septicemia atribuible a los efectos terapéuticos de la septicemia. Aunque el uso para la predicción del pronóstico atribuible a los efectos terapéuticos no está particularmente limitado, puede usarse para controlar los efectos terapéuticos de la siguiente manera. Por ejemplo, después de la admisión, en aquellos casos en que la muestra se tomó del paciente antes del tratamiento, después del tratamiento y en una etapa en la que los efectos terapéuticos se hacen evidentes, y también el nivel obtenido de sCD14-ST superó el valor de umbral preestablecido independientemente del tratamiento, se predice un mal pronóstico sin efectos terapéuticos. Además, en aquellos casos en que el nivel de sCD14-ST, que ya era más alto que el valor de umbral en el momento de la admisión, se redujo para llegar a ser más bajo que el valor de umbral debido al tratamiento, se predice un pronóstico favorable con ciertos efectos terapéuticos.

De acuerdo con el tercer aspecto del procedimiento de la presente invención, se puede predecir el desarrollo de complicaciones de septicemia. Aunque la predicción para el desarrollo de complicaciones de septicemia no está

particularmente limitada, se predice que la posibilidad de desarrollar complicaciones aumenta cuando el nivel de sCD14-ST excede el valor de umbral preestablecido. Además, se predice que la posibilidad de desarrollar complicaciones se reduce cuando el nivel de sCD14-ST es más bajo que el valor de umbral preestablecido.

- 5 El kit de la presente divulgación se puede usar para llevar a cabo el procedimiento de la presente invención e incluye:
- (a) un anticuerpo específico para sCD14-ST;
 - (b) datos estándar que muestran una correlación entre el nivel de sCD14-ST en una muestra y el pronóstico;
 - 10 y
 - (c) un manual de instrucciones.

15 El anticuerpo mencionado anteriormente utilizado en el kit de la presente divulgación puede ser un anticuerpo monoclonal o un anticuerpo policlonal. Además, es posible usar un fragmento de anticuerpo que retenga una capacidad de unión específica a sCD14-ST en el kit, por ejemplo, como el fragmento Fab, Fab', F(ab')₂ o Fv.

20 Además, el anticuerpo mencionado anteriormente se puede usar, tal como está, en el kit, o también se puede usar en el kit en una forma adecuada basada en la técnica inmunológica que será empleada, por ejemplo, fijándose sobre un portador de látex cuando se emplea un inmunoensayo de aglutinación de látex, fijándose a partículas magnéticas cuando se emplea un procedimiento de medición altamente sensible que usa partículas magnéticas o similares, fijándose a un sustrato cuando se emplea un procedimiento que usa un sustrato, como una inmunocromatografía, y marcándose con sustancias de marcado (por ejemplo, enzimas, sustancias fluorescentes, sustancias quimioluminiscentes, isótopos radiactivos, biotina, avidina) si es necesario.

25 Los datos estándar mencionados anteriormente incluidos en el kit de la presente divulgación no están particularmente limitados siempre que muestren una correlación entre el nivel de sCD14-ST en una muestra y el pronóstico, y sus ejemplos incluyen el valor de umbral para el juicio, y los datos originales o datos estadísticamente procesados para calcular el valor de umbral para el juicio. Los datos estándar se pueden describir en el manual de instrucciones mencionado anteriormente o se pueden adjuntar por separado como una hoja de datos. Además, la forma del documento adjunto incluye papel, medios electrónicos como el CD-ROM y los descargados de páginas web o similares.

35 Además, no hay limitaciones particulares en el manual de instrucciones mencionado anteriormente incluido en el kit de la presente divulgación, siempre que se refiera al menos a la relación entre el nivel de sCD14-ST en la muestra y el pronóstico de la septicemia. Por ejemplo, además de la referencia anterior, el manual de instrucciones puede incluir la explicación sobre el procedimiento para realizar la medición inmunológica que utiliza el kit de la presente divulgación, la explicación sobre el procedimiento para predecir el pronóstico en función de los valores de medición obtenidos, las precauciones con respecto al almacenamiento y manejo del kit en sí, o similares.

40 Ejemplos

La presente invención se describirá a continuación con mayor detalle a través de una serie de ejemplos no limitantes.

45 Se llevó a cabo un estudio prospectivo para septicemia para pacientes registrados en emergencias en un sitio clínico de una instalación durante un cierto período de tiempo. Cabe señalar que esta prueba se realizó con la aprobación del comité de ética. Los pacientes registrados para la prueba eran hombres y mujeres de 18 años o más que ingresaron en un hospital de emergencia con signos de infección grave y que también mostraban signos claros de septicemia o con una fuerte sospecha de tener septicemia al satisfacer dos o más de los siguientes 4 requisitos.

- 1) Temperatura corporal > 38°C o < 36°C;
- 2) Frecuencia cardíaca > 90 por minuto;
- 3) Frecuencia respiratoria > 20 por minuto o PaCO₂ > 4,3 kPa;
- 55 4) Recuento de glóbulos blancos > 12.000, < 4.000/m³ o leucocitos inmaduros > 10%.

60 Un médico observó los hallazgos clínicos y los síntomas de los pacientes e hizo un juicio sobre la presencia y ausencia de infección en el momento del registro sin requerir los resultados del hemocultivo. Se debe tener en cuenta que se excluyó a los pacientes a los que se confirmó que padecían de SIRS distintos a los síntomas sépticos de los resultados del hemocultivo después del registro.

65 Las muestras utilizadas para medir el nivel de sCD14-ST se prepararon recogiendo las muestras de plasma con EDTA de los pacientes inmediatamente después de la admisión, 24 horas después y 72 horas después, y almacenándolas a -70°C hasta el momento de la medición. La expresión "inmediatamente después de la admisión" se refiere a un período de tiempo dentro de las seis horas.

Además, la gravedad después de la admisión se determinó utilizando "Fisiología aguda y puntuación de salud crónica II" (APACHEII), la "Escala de coma de Glasgow" (GCS), la "Puntuación de evaluación de insuficiencia orgánica relacionada con septicemia" (SOFA) y la "Mortalidad en casos de septicemia en urgencias" (MEDS).

5 El pronóstico se determinó el día de la muerte del paciente dentro de los 30 días posteriores a la admisión en un hospital de emergencias, o el día en que el paciente se transfirió a una unidad de cuidados intensivos (UCI) o se sometió a ventilación mecánica o terapia de reemplazo renal (por ejemplo, diálisis). Cuando el paciente fue dado de alta del hospital dentro de los 30 días, el estado de supervivencia se verificó mediante una llamada telefónica
10 30 días después.

Ejemplo 1: Procedimiento de medición de sCD14-ST

15 La medición de sCD14-ST se llevó a cabo modificando el procedimiento descrito en el Ejemplo 7-(1) de la Patente Japonesa No. 4040666. Más particularmente, se usó un anticuerpo policlonal (anticuerpo S68) marcado con fosfatasa alcalina (ALP) y un anticuerpo monoclonal (anticuerpo F1031-8-3) inmovilizado sobre partículas magnéticas (fabricadas por JSR), y la medición se llevó a cabo utilizando un analizador de inmunoensayo quimioluminiscente automatizado (PATHFAST; fabricado por Mitsubishi Chemical Medience Corporation). El anticuerpo policlonal (anticuerpo S68) marcado con fosfatasa alcalina (ALP) se preparó uniendo una fracción Fab' del anticuerpo policlonal (anticuerpo S68) con ALP mediante un procedimiento de maleimida. Se usó CPD-star (fabricado por Applied Biosystems) como sustrato luminiscente.

25 La medición se llevó a cabo de la siguiente manera. Se hizo reaccionar una muestra con el anticuerpo inmovilizado en partículas magnéticas y el anticuerpo marcado con ALP, para formar un complejo compuesto por sCD14-ST contenido en la muestra y ambos anticuerpos. El complejo fue recogido por un cuerpo magnético para eliminar el anticuerpo marcado con ALP no unido de la mezcla de reacción. El sustrato luminiscente se agregó para detectar la cantidad de luminiscencia como el nivel de sCD14-ST.

Ejemplo 2: Relación entre el nivel de sCD14-ST y la tasa de supervivencia

30 La relación entre el nivel de sCD14-ST en las muestras de plasma recogidas de los pacientes (146 individuos) en el momento de la admisión con sospecha de septicemia y la tasa de supervivencia dentro de los 30 días posteriores a la admisión se muestra en la Figura 1. El nivel de sCD14-ST se midió de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1. En la Figura 1, el eje horizontal indica un número de días transcurridos después de la admisión de un paciente. El eje vertical indica la tasa de supervivencia (cuanto más baja es la tasa de supervivencia, mayor es la tasa de mortalidad).

35 Los pacientes se clasificaron en cuatro grupos para el análisis basado en los niveles de sCD14-ST [177-512 pg/ml (grupo I en la Figura 1), 524-927 pg/ml (grupo II), 950-1,810 pg/ml (grupo III), y 1,858 pg/ml o más (grupo IV)]. Como resultado, la tasa de supervivencia se redujo a medida que aumentó el nivel de sCD14-ST, y la tasa de supervivencia en el grupo de pacientes IV que exhibió un nivel de sCD14-ST de 1,858 pg/ml o más en el momento de la admisión fue del 35% (importancia entre el grupo III y el grupo IV: $P < 0,0005$). A partir de los resultados anteriores, se hizo evidente que el nivel de sCD14-ST puede predecir el riesgo de muerte de los pacientes con septicemia.

Ejemplo 3: Evaluación comparativa de las tasas de supervivencia pronosticadas por el nivel de procalcitonina (PCT) y el nivel de sCD14-ST

45 La relación entre el nivel de sCD14-ST en las muestras de plasma recogidas de los pacientes (146 individuos; igual que en el Ejemplo 2) con sospecha de septicemia en el momento de la admisión y la tasa de supervivencia dentro de los 30 días posteriores a la admisión se muestra en la Figura 2 (sCD14-ST), y la relación entre el nivel de PCT en las muestras de plasma recolectadas de los mismos pacientes en el momento de la admisión y la tasa de supervivencia dentro de los 30 días posteriores a la admisión se muestra en la Figura 3 (PCT), respectivamente. El nivel de sCD14-ST se midió de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1. Se usó un reactivo utilizado exclusivamente para la medición por el analizador automático Kryptor (Brahms, Henningsdorf, Alemania) para medir el nivel de PCT. Las tasas de supervivencia se muestran cuando los valores de umbral se definieron como 920 ng/ml para el nivel de sCD14-ST y 1,86 ng/ml para el nivel PCT. Como estos valores de umbral, se utilizaron las medianas de los valores medidos de los pacientes registrados en el momento de la admisión. El grupo de pacientes que mostró un valor más bajo que el valor de umbral se clasificó como grupo a, y el grupo de pacientes con un valor más alto que el valor de umbral se clasificó como grupo b. El eje horizontal indica un número de días transcurridos después de la admisión de un paciente. El eje vertical indica la tasa de supervivencia (cuanto más baja es la tasa de supervivencia, mayor es la tasa de mortalidad). Se hizo evidente que el nivel de sCD14-ST puede evaluar la tasa de supervivencia con mayor precisión que el nivel PCT y también puede predecir el riesgo de muerte.

65

Ejemplo 4: Evaluación comparativa de nivel PCT y nivel de sCD14-ST por análisis ROC

Se midieron el nivel de sCD14-ST y el nivel de PCT en las muestras de plasma recogidas de los pacientes (146 individuos; igual que en el Ejemplo 2) con sospecha de septicemia en el momento de la admisión, y se realizó un análisis de ROC para comparar la tasa de mortalidad dentro de los 30 días posteriores a la admisión con cada uno de los niveles sCD14-ST y PCT. El nivel de sCD14-ST se midió de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1. Para medir el nivel de PCT se utilizó un reactivo utilizado exclusivamente para la medición por el analizador automático Kryptor (Brahms, Henningsdorf, Alemania). En la Figura 4, el eje horizontal indica "100 - (especificidad)" y el eje vertical indica la "sensibilidad".

El área bajo la curva (AUC) para el nivel de sCD14-ST fue 0,779, que fue mayor que el AUC (0,521) para el nivel PCT. Aunque PCT ha sido aprobado por la FDA en los Estados Unidos como un marcador capaz de predecir el nivel de gravedad de la septicemia, se confirmó a partir del resultado anterior que la predicción por el nivel de sCD14-ST fue más precisa.

Ejemplo 5: Evaluación comparativa del nivel de PCT y del nivel de sCD14-ST en cada momento para la extracción de sangre dentro de las 72 horas posteriores a la admisión del paciente con septicemia y la tasa de supervivencia

Las muestras de plasma se obtuvieron de los pacientes con sospecha de septicemia en el momento de la admisión, 24 horas después y 72 horas después, y se realizó un análisis de ROC para comparar la tasa de mortalidad dentro de los 30 días posteriores a la admisión con el nivel de sCD14-ST y el nivel PCT en cada punto para la extracción de sangre. Esta evaluación se llevó a cabo para los pacientes (68 individuos para sCD14-ST, 32 individuos para PCT), de los cuales los datos se obtuvieron en todos los puntos en el tiempo para la extracción de sangre. El nivel de sCD14-ST se midió de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1. Se usó un reactivo utilizado exclusivamente para la medición por el analizador automático Kryptor (Brahms, Henningsdorf, Alemania) para medir el nivel de PCT. Los resultados se muestran en la Figura 5 (sCD14-ST) y la Figura 6 (PCT). El AUC en el momento de la admisión, el AUC después de 24 horas y el AUC después de 72 horas están indicadas por las líneas poligonales a, b y c, respectivamente. Se demostró que el nivel de sCD14-ST, cuando se mide en cualquier momento dentro de las 72 horas, puede predecir de forma estable el riesgo de muerte de los pacientes con septicemia dentro de los 30 días posteriores a la admisión con alta precisión.

Ejemplo 6: Evaluación comparativa del nivel de PCT y de sCD14-ST durante la admisión de un paciente con septicemia y pronóstico

En una prueba clínica a pequeña escala realizada antes de los Ejemplos 2 a 5, las muestras de plasma se tomaron de los pacientes (68 individuos) en el momento de la admisión que se sospechaba de septicemia, y se llevó a cabo un análisis de ROC para comparar el estado del paciente (sometido a un tratamiento de respiración artificial, transferido a una unidad de cuidados intensivos (UCI), sometido a diálisis, o muerte) dentro de los 30 días posteriores a la admisión con el nivel de sCD14-ST y el nivel PCT. El nivel de sCD14-ST se midió de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1. Para medir el nivel de PCT se utilizó un reactivo utilizado exclusivamente para la medición por el analizador automático Kryptor (Brahms, Henningsdorf, Alemania). El valor de AUC obtenido por el análisis de ROC se muestra en la Tabla 1. Los resultados muestran que el nivel de sCD14-ST fue superior al nivel PCT para predecir el riesgo de cualquiera de los indicadores, y también fue capaz de predecir el riesgo de diálisis y La muerte con una precisión considerablemente alta.

Estado \ Marcador	Tratamiento de respiración artificial	Diálisis	Transferencia a la UCI	Muerte
PCT	0,578	0,576	0,611	0,517
sCD14-ST	0,611	0,882	0,646	0,838

Aplicabilidad industrial

La presente invención se puede usar para predecir el pronóstico (especialmente el riesgo de muerte) de pacientes con sospecha de tener septicemia.

Listado de secuencias

< 110 > Mitsubishi Chemical Medience Corporation
MOCHIDA PHARMACEUTICAL CO., LTD.

< 120 > Procedimiento para la predicción de un pronóstico de septicemia

ES 2 738 212 T3

< 130 > MCM-899

< 150 > JP 2011-003016

< 151 > 2011-01-11

5

< 160 > 2

< 170 > PatentIn versión 3.5

10

< 210 > 1

< 211 > 11

< 212 > PRT

< 213 > Homo sapiens

15

< 400 > 1

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

20

< 210 > 2

< 211 > 16

< 212 > PRT

< 213 > Homo sapiens

25

< 400 > 2

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

30

REIVINDICACIONES

- 5
1. Un procedimiento de medición para un nivel de sCD14-ST en una muestra para predecir el progreso de un paciente después de que haya surgido la sospecha de septicemia.
2. El procedimiento de medición de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el nivel de sCD14-ST se mide dentro de las 72 horas desde un punto en el tiempo en el que haya surgido la sospecha de septicemia.
- 10
3. Procedimiento de medición de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el nivel de sCD14-ST se mide después de realizar un tratamiento para la septicemia.
4. El procedimiento de medición de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la predicción es una predicción para el desarrollo de complicaciones sépticas.
- 15
5. El procedimiento de medición de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende:
- una etapa para medir el nivel de sCD14-ST en una muestra obtenida de un paciente con sospecha de septicemia o un paciente con septicemia; y
- 20
- una etapa para diagnosticar un mal pronóstico cuando el nivel de sCD14-ST es mayor en comparación con el nivel de un individuo sano.
6. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 5, en el que el nivel de sCD14-ST se compara con un valor umbral, que se determina con anticipación, en la etapa de diagnóstico.
- 25
7. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 5, en el que el nivel de sCD14-ST se correlaciona con cada grupo de cuantiles, que se determina con anticipación, en la etapa de diagnóstico.
- 30
8. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que el nivel de sCD14-ST se mide mediante un procedimiento de medición inmunológica.

FIGURA 1

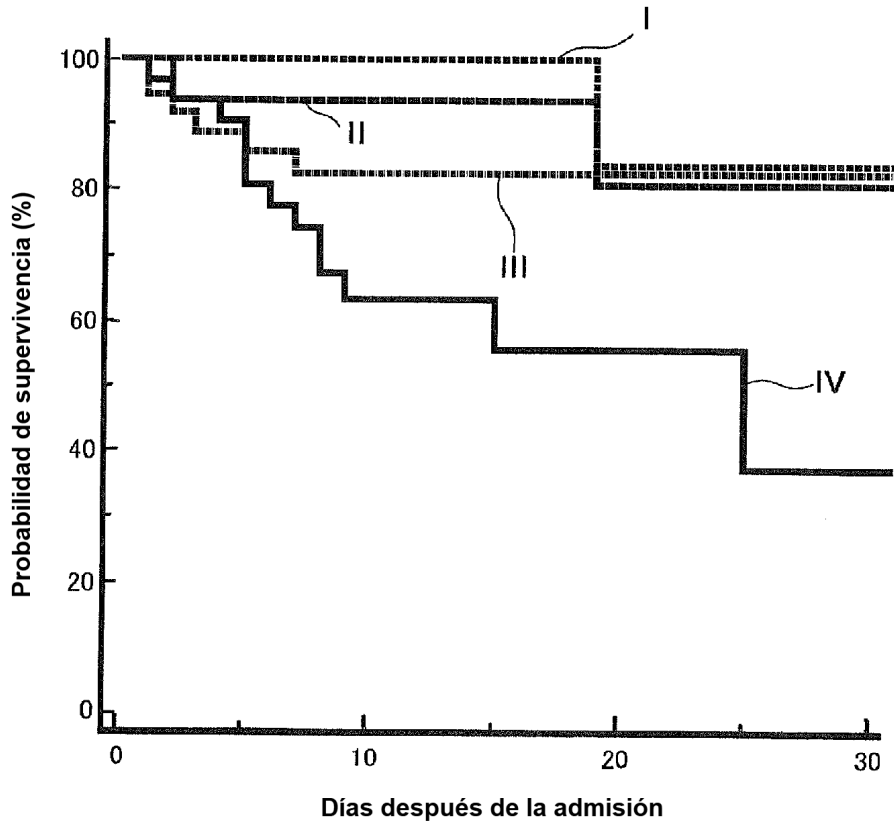


FIGURA 2

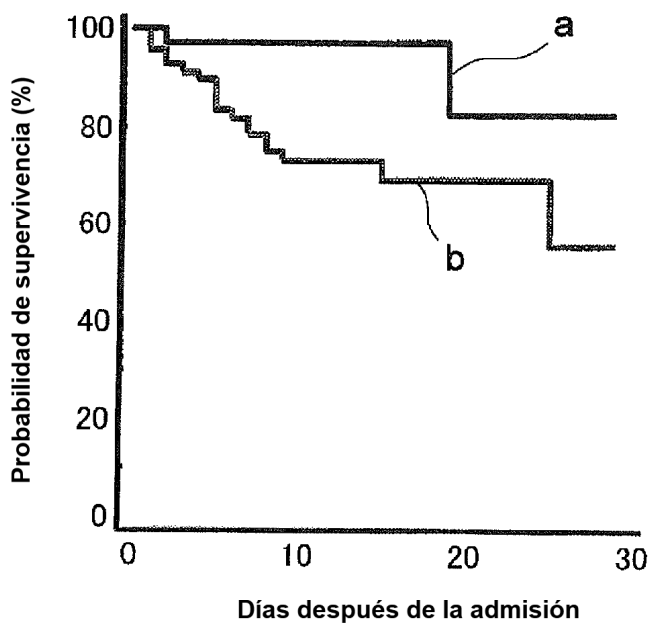


FIGURA 3

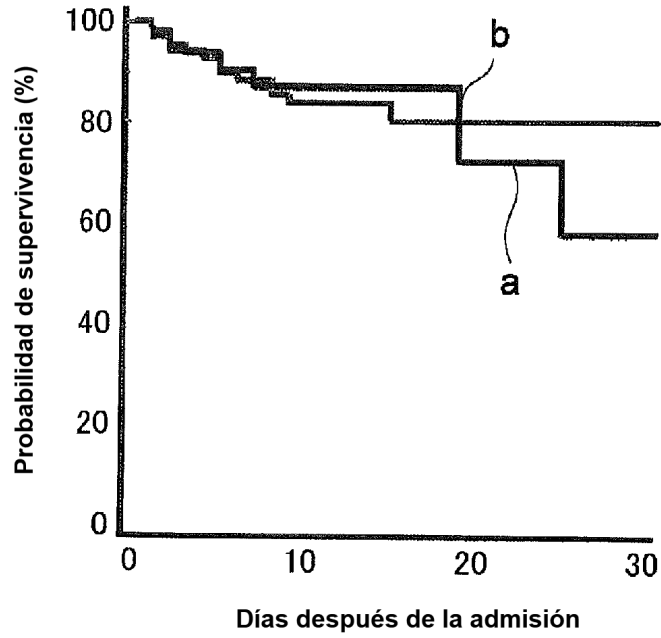


FIGURA 4

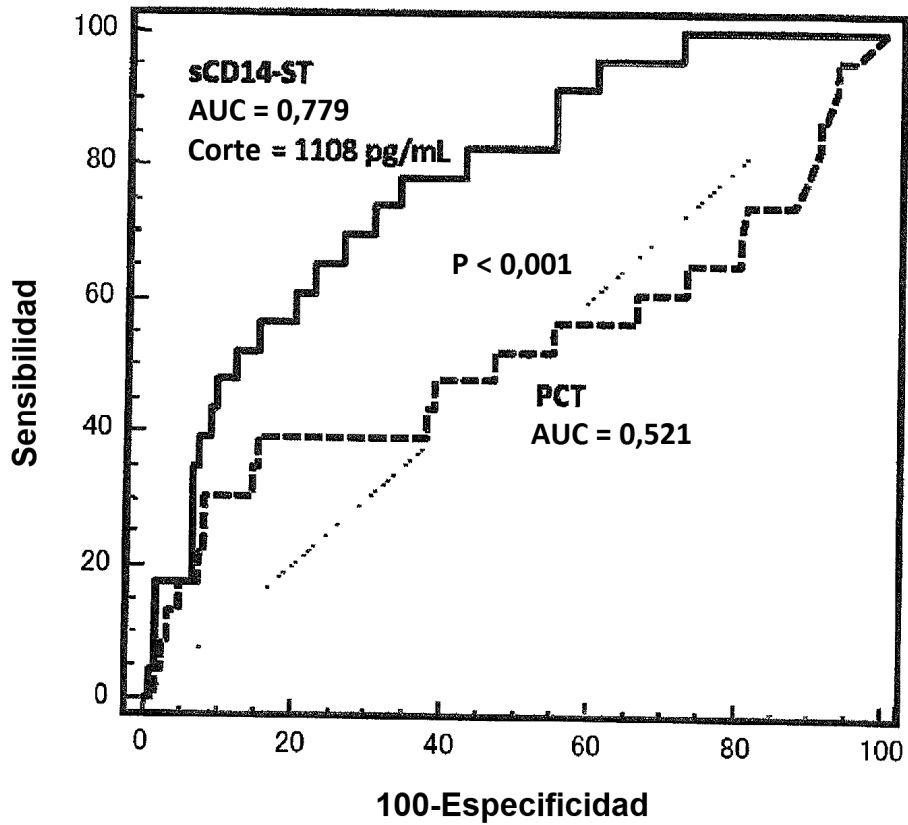


FIGURA 5

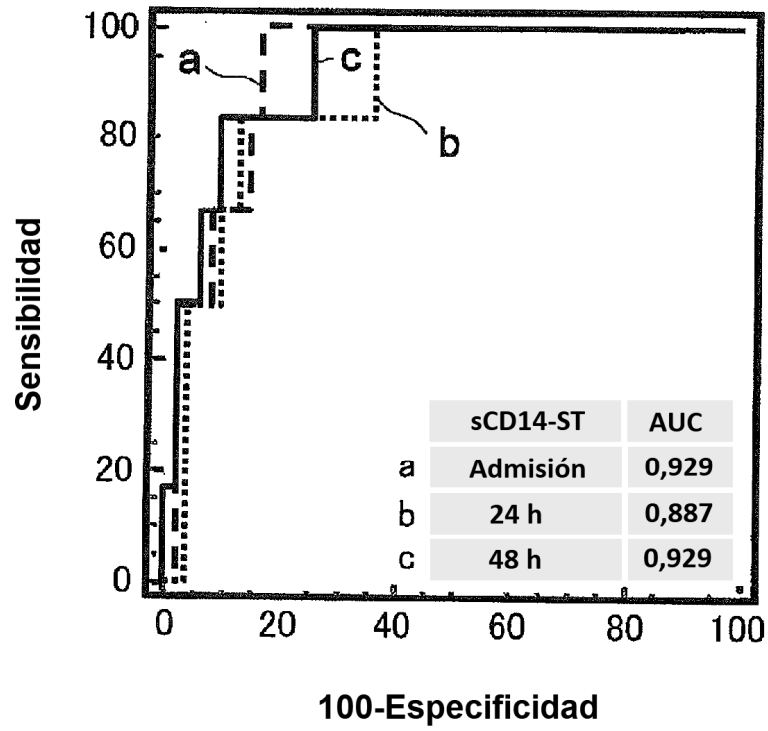


FIGURA 6

