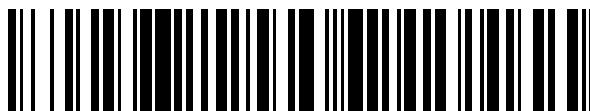


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 755 623**

51 Int. Cl.:

**G01N 33/86** (2006.01)

**G01N 33/68** (2006.01)

**C12Q 1/56** (2006.01)

**C07K 14/705** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.04.2013 PCT/JP2013/062352**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.11.2013 WO13168602**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.04.2013 E 13787336 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.10.2019 EP 2848936**

54 Título: **Procedimiento de detección de coagulación intravascular diseminada o coagulación intravascular diseminada infecciosa**

30 Prioridad:

**07.05.2012 JP 2012106216**  
**07.05.2012 JP 2012106217**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**23.04.2020**

73 Titular/es:

**LSI MEDIENCE CORPORATION (50.0%)**  
**13-4, Uchikanda 1-chome, Chiyoda-ku**  
**Tokyo 101-8517, JP y**  
**FUKUOKA UNIVERSITY (50.0%)**

72 Inventor/es:

**ISHIKURA, HIROYASU**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 755 623 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 detección de coagulación intravascular diseminada o coagulación intravascular diseminada infecciosa

### Campo técnico

- 5 La presente invención se refiere a un procedimiento para detectar la coagulación intravascular diseminada (CID) y a un kit para llevar a cabo dicho procedimiento. Adicionalmente, la presente invención se refiere a un procedimiento para detectar la coagulación intravascular diseminada infecciosa (CID infecciosa) y a un kit para llevar a cabo dicho procedimiento.

### Técnica antecedente

- 10 La coagulación intravascular diseminada (CID) es un síndrome con una tasa de mortalidad extremadamente alta, caracterizado por una tendencia a la hemorragia debido a la coagulopatía de consumo e insuficiencia orgánica debido a la trombosis microvascular, y el diagnóstico rápido y el tratamiento temprano son necesarios para mantener la vida de los pacientes y mejorar el pronóstico. El diagnóstico convencional de CID en la práctica clínica incluye los criterios de diagnóstico de CID del Ministerio de Salud y Bienestar de Japón, las mediciones de varios marcadores moleculares de coagulación y fibrinólisis [por ejemplo, monómero de fibrina soluble (SF), dímero D (DD), complejo trombina-antitrombina III (TAT) y complejo inhibidor de plasmina  $\alpha$ 2/plasmina (PIC)] y similares. Además, los criterios de diagnóstico de CID franca de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia (ISTH) como una modificación de los criterios de diagnóstico de CID del Ministerio de Salud y Bienestar de Japón, y los criterios de diagnóstico para la CID de la Asociación Japonesa de Medicina Aguda (JAAM). Sin embargo, se sabe que los criterios de diagnóstico de CID del Ministerio de Salud y Bienestar de Japón, y los criterios de diagnóstico de CID franca de ISTH exhiben baja sensibilidad, y los criterios de diagnóstico para CID de JAAM exhiben baja especificidad. Por lo tanto, se ha llevado a cabo un estudio para el diagnóstico con alta precisión (literatura no patentada 1) y, por ejemplo, se desea el descubrimiento de un marcador con alta sensibilidad y alta especificidad.

- 25 La CID se complica con enfermedades subyacentes graves, tales como tumores malignos, leucemia o infecciones graves (o sepsis grave) y, en particular, aproximadamente el 35 % de los pacientes que sufren sepsis severa sufren complicaciones con CID. Dado que la tasa de mortalidad de pacientes complicados con CID aumenta de 22,2-26,5 % a 40-46,2 % en comparación con los que no tienen CID, El diagnóstico de CID séptica es muy importante para mejorar el pronóstico de la sepsis.

- 30 Debido a que siempre existe una enfermedad subyacente en un paciente con CID, El tratamiento para la enfermedad subyacente se lleva a cabo primero. Por ejemplo, se lleva a cabo quimioterapia para leucemia aguda o cáncer avanzado, un tratamiento antibiótico sensible a la sepsis o similar. Debido a que la enfermedad subyacente es diversa, es importante comprender la afección del paciente para seleccionar el tratamiento más efectivo. Incluso si a un paciente se le diagnostica con CID, no es necesario decir que un tratamiento incorrecto daría lugar a una afección grave. Con respecto a la CID séptica, se informó que los pacientes resistentes a un tratamiento basado en una preparación de antitrombina podrían tratarse eficazmente utilizando una preparación de trombomodulina recombinante con un efecto antiinflamatorio, además de un efecto anticoagulante (literatura no patentada 2).

- 40 De manera convencional, la CID séptica se diagnostica mediante juicio médico, de acuerdo con los criterios de diagnóstico para sepsis o CID. Por ejemplo, tal como se ha descrito anteriormente, para el diagnóstico de CID, además de los criterios de diagnóstico CID del Ministerio de Salud y Bienestar de Japón, varios marcadores moleculares de coagulación y fibrinólisis [por ejemplo, monómero de fibrina soluble (SF), dímero D (DD), complejo trombina-antitrombina III (TAT) y complejo inhibidor de plasmina  $\alpha$ 2/plasmina (PIC)] se miden en la práctica clínica. Además, se conocen los criterios de diagnóstico de ISTH de CID franca como una modificación de los criterios de diagnóstico de CID del Ministerio de Salud y Bienestar de Japón, y los criterios de diagnóstico de CID para JAAM. Sin embargo, se sabe que los criterios de diagnóstico DE CID del Ministerio de Salud y Bienestar de Japón, y los criterios de diagnóstico de CID franca del ISTH exhiben baja sensibilidad y los criterios de diagnóstico de CID del JAAM exhiben baja especificidad.

- 50 Por otro lado, para el diagnóstico de sepsis, como índice se usan hemocultivo, recuento de glóbulos blancos, temperatura corporal, diagnóstico por imagen, la duración del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), hallazgos bioquímicos en sangre y similares. Adicionalmente, se ha indicado que procalcitonina (PCT) y sCD14-ST son marcadores capaces de detectar convenientemente la sepsis.

- 55 Se ha desvelado que el valor de sCD14-ST en una muestra obtenida de un paciente con sepsis es mucho mayor que el de las personas sanas y la sepsis se diagnostica midiendo sCD14-ST (literatura no patentada 3 y literatura de patente 1). Se desvela que sCD14-ST se mide usando un anticuerpo específico para sCD14-ST (literatura de patentes 1 y literatura de patentes 2). Se desvela un procedimiento para detectar rápidamente sCD14-ST y un procedimiento para evaluar la gravedad del mismo (Literatura de patentes 2 y Literaturas no de patentes 3-5). Tal como se ha descrito anteriormente, se sabe que sCD14-ST puede usarse para diagnosticar con precisión sepsis acompañada de infección bacteriana, pero no se ha indicado que sCD14-ST sea útil en la detección de CID.

Tal como se ha descrito anteriormente, no se ha notificado un marcador capaz de diagnosticar de manera conveniente y precisa la CID séptica (o CID infecciosa) y el hecho es que los médicos están intentando diagnosticar la CID séptica (o CID infecciosa) y es deseable el descubrimiento de dicho marcador.

**Lista de citas**

5 **Literatura de patentes**

[Referencias de patentes 1] patente japonesa n.º 4040666  
 [Literatura de patentes 2] Publicación de patente japonesa no examinada (Kokai) N.º 2005-106694

**Literatura no patentada**

10 [Literatura no patentada 1] Igaku no Ayumi (Journal of Clinical and Experimental Medicine) 2011; 238(1): 63-68.  
 [Literatura no patentada 2] Igaku no Ayumi (Journal of Clinical and Experimental Medicine) 2011; 238(1): 114-119.  
 [Literatura no patentada 3] J Infect Chemother 2005; 11: 234-238.  
 [Literatura no patentada 4] Medical Postgraduates 2010; 48: 25-27.  
 [Literatura no patentada 5] Therapeutic Research 2004; 25: 1689-1694.

**Citas adicionales**

15 El documento US 2004/248308 desvela un procedimiento para predecir la presencia de coagulación intravascular diseminada mediante la realización de un ensayo de tiempo de coagulación del tiempo de tromboplastina parcial activada (APTT) o un ensayo de tiempo de coagulación del tiempo de protrombina (PT).  
 P. E. Morange y col., European Journal of Human Genetics, vol. 12, n.º 12, 2004, p.1041-1049 es sobre TLR4/Asp299Gly, CD14/C-260T, niveles plasmáticos de sCD14 y el riesgo de enfermedad coronaria.

20 **Sumario de la invención**

**Problema técnico**

Un objeto de la presente invención es proporcionar un marcador eficaz en el diagnóstico de la coagulación intravascular diseminada (CID) o CID infecciosa. Después de sospechar CID infecciosa, existe la necesidad de determinar rápidamente un curso de tratamiento apropiado para ello.

25 **Solución del problema**

El presente inventor realizó un estudio intensivo para resolver el objeto y examinó la relación entre la cantidad de sCD14-ST en la sangre y la coagulación intravascular diseminada (CID) en ensayos clínicos. El inventor descubrió que sCD14-ST era un marcador específico que reacciona específicamente en un paciente con CID con alta sensibilidad y especificidad, y que CID podría detectarse sobre la base del valor o grado medido de sCD14-ST y después completó la presente invención. En particular, fue un hallazgo sorprendente que podía detectarse CID independientemente de la presencia o ausencia de infección.

Adicionalmente, el inventor descubrió que cuando se sospechaba una coagulación intravascular diseminada infecciosa (CID infecciosa), la CID infecciosa podría detectarse convenientemente y podría entenderse la afección clínica, midiendo sCD14-ST y un marcador relacionado con la coagulación contenido en una muestra, y basándose en el valor o grado medido, eran marcadores específicos, y, a continuación, el inventor completó la presente invención.

La presente invención se refiere a

[1] un procedimiento *in vitro* para detectar la coagulación intravascular diseminada, que comprende medir sCD14-ST en una muestra,  
 [2] el procedimiento para detectar la coagulación intravascular diseminada de [1], que comprende las etapas de:

40 medir sCD14-ST en una muestra obtenida de un paciente sospechoso de tener coagulación intravascular diseminada o un paciente que sufre de coagulación intravascular diseminada, y juzgar que el paciente sufre coagulación intravascular diseminada cuando un valor de sCD14-ST es más alto que el de un paciente de coagulación intravascular no diseminada,

45 [3] el procedimiento de [2], en el que el valor de sCD14-ST se compara en la etapa de evaluación con un umbral previamente determinado,

[4] el procedimiento de uno cualquiera de [1] a [3], en el que sCD14-ST se mide mediante un inmunoensayo,  
 [5] el procedimiento de [1], que comprende medir un marcador relacionado con la coagulación en una muestra además de sCD14-ST, en el que la coagulación intravascular diseminada es la coagulación intravascular diseminada infecciosa,

50 [6] el procedimiento de [5], que comprende las etapas de:

medir sCD14-ST y un marcador relacionado con la coagulación en una muestra obtenida de un paciente sospechoso de tener coagulación intravascular diseminada infecciosa o un paciente que sufre coagulación intravascular diseminada infecciosa, y

5 juzgar que el paciente sufre coagulación intravascular diseminada infecciosa cuando un valor de sCD14-ST y un valor marcador relacionado con la coagulación cambian en comparación con los de un paciente de coagulación intravascular diseminada no infecciosa,

[7] el procedimiento de [6], en el que el valor de sCD14-ST y el valor del marcador relacionado con la coagulación se comparan en la etapa de evaluación con los umbrales previamente determinados, respectivamente,

10 [8] el procedimiento de uno cualquiera de [5] a [7], en el que el marcador relacionado con la coagulación es al menos uno seleccionado del grupo que consiste en dímero D, FDP, complejo trombina-antitrombina III, recuentos de plaquetas y proteína C,

[9] el procedimiento de uno cualquiera de [5] a [8], en el que sCD14-ST se mide mediante un inmunoensayo,

[10] el uso de un kit para detectar la coagulación intravascular diseminada, que comprende:

- 15 (a) un anticuerpo específico para sCD14-ST,  
 (b) datos estándar que muestran una correlación entre la cantidad de sCD14-ST en una muestra y coagulación intravascular diseminada, y  
 (c) un manual de instrucciones,

[11] el uso de un kit para detectar coagulación intravascular diseminada infecciosa, que comprende:

- 20 (a) un anticuerpo específico para sCD14-ST,  
 (b) un reactivo para medir un marcador relacionado con la coagulación,  
 (c) datos estándar que muestran una correlación entre los valores medidos de sCD14-ST y el marcador relacionado con la coagulación en una muestra y coagulación intravascular diseminada infecciosa, y  
 (d) un manual de instrucciones, y

25 [12] el uso del kit de [11], en el que el marcador relacionado con la coagulación es al menos uno seleccionado del grupo que consiste en dímero D, FDP, complejo trombina-antitrombina III, recuentos de plaquetas y proteína C.

El término "sCD14-ST humano" (también denominado Presepsin (marca registrada)) como se usa en el presente documento significa el "antígeno CD14 soluble del primer aspecto" desvelado en la Patente japonesa N.º 4040666 y, más particularmente, es un antígeno CD14 soluble con las siguientes características 1) a 3):

- 30 1) Tener un peso molecular de  $13 \pm 2$  kDa medido por SDS-PAGE en condiciones no reductoras;  
 2) Tener la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 en la secuencia N-terminal; y  
 3) Unión específica a un anticuerpo preparado mediante el uso de un péptido que consiste en 16 restos de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2 como antígeno.

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  
 1 5 10

Ala Asp Thr Val Lys

15

35 El término "infección" como se usa en el presente documento incluye infección por bacterias, hongos, parásitos, virus o similares.

40 El procedimiento para confirmar la presencia de infección no está particularmente limitado., pero ejemplos del mismo incluyen, además de un hemocultivo de uso común, procedimientos de identificación de genes (tales como PCR y RP-PCR), diagnóstico por imagen, diagnóstico ultrasónico, endoscopia y biopsia (Am. J. Infect. Control, 1988; 16: 128-140).

El término "infección (como enfermedades infecciosas)" como se usa en el presente documento significa un fenómeno caracterizado por la invasión de tejidos normales por microorganismos o la respuesta inflamatoria a la presencia de los microorganismos (Chest 1992; 101(6): 1644-1655). Los patógenos que causan infecciones incluyen bacterias, hongos, parásitos y virus. Bacteriemia, sepsis, sepsis severa y shock séptico se incluyen entre dichas "infecciones".

La bacteriemia es un estado en el que las bacterias viables están presentes en la sangre (Saishin Naika-gaku Taikei (Manual Integrado de Medicina Interna), Vol. 27, Saikin Kansen-sho (Bacterial Infections), 1994: 69-84). La sepsis es un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) causado por una infección y un estado en el que los microorganismos, tales como bacterias u hongos y sus metabolitos, migran continuamente desde el foco de infección en el cuerpo hacia la sangre.

El término "sepsis" como se usa en el presente documento significa un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) que está causado por una infección. Es decir, la sepsis es un estado muy grave en el que la infección se ha extendido por todo el cuerpo y algunos de los pacientes sin tratamiento mueren debido a un shock, CID, insuficiencia multiorgánica o similar. "Sepsis" significa un estado en el que un paciente satisface, además de la presencia de la infección mencionada anteriormente, por ejemplo, dos o más criterios de los siguientes cuatro criterios, que son los criterios para el diagnóstico del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) (Chest, 1992; 101 (6): 1644-1655):

- 1) Temperatura corporal  $> 38\text{ }^{\circ}\text{C}$  o  $<36\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;
- 2) Frecuencia cardíaca  $> 90$  por minuto;
- 3) Frecuencia respiratoria  $>20$  por minuto o  $\text{PaCO}_2 >32$  Torr; y
- 4) Recuento de glóbulos blancos  $> 12000$  o  $<4000/\text{mm}^3$ , o leucocitos inmaduros  $> 10\%$ .

El término "CID infecciosa", como se usa en el presente documento, significa coagulación intravascular diseminada (CID) con una infección (o sepsis) como una enfermedad subyacente. Por ejemplo, se dice que aproximadamente el 35 % de los pacientes que sufren sepsis severa tienen complicaciones CID. De manera convencional, la "CID infecciosa" (o "CID séptica") se diagnostica mediante el juicio integral de un médico, de acuerdo con los criterios de diagnóstico para infección (o sepsis) y los criterios de diagnóstico para CID y se comprende el estado clínico.

Su tratamiento es un tratamiento sintomático de afecciones patológicas. Por ejemplo, un agente antibacteriano o similar y un anticoagulante o similar se usan apropiadamente para los tratamientos de infección (o sepsis) y CID, respectivamente.

### **Efectos ventajosos de la invención**

De acuerdo con el procedimiento de la presente invención, el inicio de la coagulación intravascular diseminada (CID) o CID infecciosa se puede detectar de forma rápida y precisa y, por lo tanto, se puede determinar un curso de tratamiento apropiado.

El kit de la presente invención puede usarse en el procedimiento de la presente invención.

### **Breve descripción de los dibujos**

La figura 1 es un gráfico que muestra los resultados del análisis ROC. Los pacientes (49 casos) registrados en un estudio clínico se clasificaron en un grupo CID (23 casos) y un grupo no CID (26 casos) de acuerdo con los criterios de diagnóstico de CID del JAAM y cada utilidad para la detección de CID de sCD14- S T, procalcitonina (PCT) e interleucina-6 (IL-6) en muestras recogidas al ingreso se compararon entre sí mediante análisis ROC.

La figura 2 es un gráfico que muestra los resultados del análisis ROC. Con respecto a los pacientes clasificados de manera similar a los de la figura 1, cada utilidad para la detección de CID de la proteína C reactiva (PCR), el dímero D y los productos de degradación de fibrina/fibrinógeno (FDP) en muestras recogidas en el momento del ingreso se compararon entre sí mediante análisis ROC.

La figura 3 es un gráfico que muestra los resultados del análisis ROC. Los pacientes (49 casos) registrados en un estudio clínico se clasificaron en un grupo CID (23 casos) y un grupo no CID (26 casos) de acuerdo con los criterios de diagnóstico de CID del Ministerio de Salud y Bienestar de Japón y cada utilidad para la detección de CID de sCD14-ST, procalcitonina (PCT) e interleucina-6 (IL-6) en muestras recogidas al ingreso se compararon entre sí mediante análisis ROC.

La figura 4 es un gráfico que muestra los resultados del análisis ROC. Con respecto a los pacientes clasificados de manera similar a los de la figura 3, cada utilidad para la detección de CID de la proteína C reactiva (PCR), el dímero D y los productos de degradación de fibrina/fibrinógeno (FDP) en muestras recogidas en el momento del ingreso se compararon entre sí mediante análisis ROC.

La figura 5 es un gráfico que muestra los resultados del análisis ROC. Los pacientes (49 casos) registrados en un estudio clínico se clasificaron en un grupo CID (23 casos) y un grupo no CID (26 casos) en función de los criterios de diagnóstico de CID franca del ISTH y cada utilidad para la detección de CID de sCD14 -S T, procalcitonina (PCT) e interleucina-6 (IL-6) en muestras recogidas al ingreso se compararon entre sí mediante análisis ROC.

La figura 6 es un gráfico que muestra los resultados del análisis ROC. Con respecto a los pacientes clasificados de manera similar a los de la figura 5, cada utilidad para la detección de CID de la proteína C reactiva (PCR), el dímero D y los productos de degradación de fibrina/fibrinógeno (FDP) en muestras recogidas en el momento del ingreso se compararon entre sí mediante análisis ROC.

La figura 7 es un gráfico que muestra la sensibilidad clínica y la especificidad de sCD14-ST calculada a partir de los resultados del análisis ROC de acuerdo con los criterios de diagnóstico de CID del JAAM en el ejemplo 2. El eje horizontal es el valor sCD14-ST y el eje vertical es la sensibilidad o la especificidad.

La figura 8 es un gráfico que muestra la sensibilidad clínica y la especificidad de sCD14-ST calculadas a partir de los resultados del análisis ROC de acuerdo con los criterios de diagnóstico de CID del Ministerio de Salud y Bienestar de Japón en el Ejemplo 3. El eje horizontal es el valor sCD14-ST y el eje vertical es la sensibilidad o la especificidad.

5 La figura 9 es un gráfico que muestra la sensibilidad clínica y la especificidad del dímero D calculadas a partir de los resultados del análisis ROC de acuerdo con los criterios de diagnóstico de CID del JAAM en el ejemplo 2. El eje horizontal es el valor del dímero D y el eje vertical es la sensibilidad o especificidad.

10 La figura 10 es un gráfico que muestra la sensibilidad clínica y la especificidad del dímero D calculado a partir de los resultados del análisis ROC de acuerdo con los criterios de diagnóstico de CID del Ministerio de Salud y Bienestar de Japón en el Ejemplo 3. El eje horizontal es el valor del dímero D y el eje vertical es la sensibilidad o especificidad.

15 La figura 11 es un gráfico que muestra la sensibilidad clínica y la especificidad de los productos de degradación de fibrina/fibrinógeno (FDP) calculadas a partir de los resultados del análisis ROC de acuerdo con los criterios de diagnóstico de CID del JAAM en el ejemplo 2. El eje horizontal es el valor de FDP y el eje vertical es la sensibilidad o la especificidad.

La figura 12 es un gráfico que muestra la sensibilidad clínica y la especificidad de los productos de degradación de fibrina/fibrinógeno (FDP) calculadas a partir de los resultados del análisis ROC de acuerdo con los criterios de diagnóstico de CID del Ministerio de Salud y Bienestar de Japón en el Ejemplo 3. El eje horizontal es el valor de FDP y el eje vertical es la sensibilidad o la especificidad.

20 La figura 13 es un gráfico que muestra los resultados del análisis ROC. Entre los pacientes (49 casos) registrados en un estudio clínico, 13 casos no infectados (SIRS y enfermedades no infecciosas) se clasificaron en un grupo CID (4 casos) y un grupo no CID (9 casos) de acuerdo con los criterios de diagnóstico de CID del JAAM y cada utilidad para la detección CID de sCD14-ST, procalcitonina (PCT) e interleucina-6 (IL-6) en muestras recogidas al ingreso se compararon entre sí mediante análisis ROC.

25 La figura 14 es un gráfico que muestra los resultados del análisis ROC. Con respecto a los pacientes clasificados de manera similar a los de la figura 13, cada utilidad para la detección de CID de la proteína C reactiva (PCR), el dímero D y los productos de degradación de fibrina/fibrinógeno (FDP) en muestras recogidas en el momento del ingreso se compararon entre sí mediante análisis ROC.

30 La figura 15 es un gráfico de caja y bigotes que muestra los resultados de la comparación de la distribución del valor medido de sCD14-ST para cada puntuación de CID. Entre los pacientes (49 casos) registrados en un estudio clínico, con respecto a 33 casos infectados (sepsis, sepsis severa, shock séptico y enfermedades infecciosas), se calculó una puntuación de CID y se midió sCD14-ST y la distribución de los valores medidos de sCD14-ST para cada puntuación de CID se comparó entre sí.

35 La figura 16 es un gráfico de caja y bigotes que muestra los resultados de la comparación de la distribución del valor medido de procalcitonina (PCT) para cada puntuación de CID. Con respecto a los mismos 33 casos que los de la Figura 15, se calculó una puntuación de CID y se midió la PCT, y la distribución de los valores de PCT medidos para cada puntuación de CID se comparó entre sí.

40 La figura 17 es un gráfico de caja y bigotes que muestra los resultados de la comparación de la distribución del valor medido de la proteína C reactiva (PCR) para cada puntuación de CID. Con respecto a los mismos 33 casos que los de la Figura 15, se calculó una puntuación de CID y se midió la CRP, y la distribución de los valores medidos de CRP para cada puntuación DE CID se compararon entre sí.

45 La figura 18 es un gráfico de caja y bigotes que muestra los resultados de la comparación de la distribución del valor medido de interleucina-6 (IL-6) para cada puntuación de CID. Con respecto a los mismos 33 casos que los de la Figura 15, se calculó una puntuación de CID y se midió la IL-6, y se comparó entre sí la distribución de los valores medidos de IL-6 para cada puntuación de CID.

La figura 19 es un gráfico que muestra los resultados del análisis ROC. Los pacientes (49 casos) registrados en un estudio clínico se clasificaron en 13 casos no infectados (SIRS y enfermedades no infecciosas) y 36 casos infectados (sepsis, sepsis severa, shock séptico y enfermedades infecciosas) y la utilidad de sCD14-ST para la detección de infecciones se evaluó mediante análisis ROC.

50 La figura 20 es un gráfico que muestra los resultados del análisis ROC. Entre los pacientes (49 casos) registrados en un estudio clínico, 36 casos infectados (sepsis, sepsis severa, shock séptico y enfermedades infecciosas) se clasificaron en un grupo CID (19 casos) y un grupo no CID (17 casos) de acuerdo con los criterios de diagnóstico de CID del JAAM, y la utilidad de sCD14-ST para la detección de CID infecciosa se evaluó mediante análisis ROC.

55 La figura 21 es un gráfico de caja y bigotes que muestra los resultados de la comparación de la distribución del valor medido del dímero D para cada puntuación de CID. Entre los pacientes (49 casos) registrados en el estudio clínico, con respecto a 26 casos infectados (sepsis, sepsis severa, shock séptico y enfermedades infecciosas), se calculó una puntuación de CID y se midió un dímero D, y la distribución de los valores medidos de dímero D para cada puntuación de CID se comparó entre sí.

60 La figura 22 es un diagrama de caja y bigotes que muestra los resultados de la comparación de la distribución del valor medido de los productos de degradación de fibrina/fibrinógeno (FDP) para cada puntuación de CID. Con respecto a los mismos 26 casos que los de la Figura 21, se calculó una puntuación de CID y se midió la FDP, y la distribución de los valores medidos de FDP para cada puntuación de CID se compararon entre sí.

65 La figura 23 es un gráfico de caja y bigotes que muestra los resultados de la comparación de la distribución del valor medido de las plaquetas (Plt) para cada puntuación de CID. Con respecto a los mismos 26 casos que los de la Figura 21, se calculó una puntuación de CID y se midieron las plaquetas, y la distribución de los valores medidos de plaquetas para cada puntuación de CID se comparó entre sí.

- La figura 24 es un gráfico de caja y bigotes que muestra los resultados de la comparación de la distribución del valor medido del tiempo de protrombina (PT) (segundos) para cada puntuación de CID. Con respecto a los mismos 26 casos que los de la Figura 21, se calculó una puntuación de CID, se midió el PT (segundos) y la distribución de los valores medidos de PT (segundos) para cada puntuación de CID se comparó entre sí.
- 5 La figura 25 es un gráfico de caja y bigotes que muestra los resultados de la comparación de la distribución del valor medido del tiempo de protrombina (PT) (%) para cada puntuación de CID. Con respecto a los mismos 26 casos que los de la Figura 21, se calculó una puntuación de CID y se midió el PT (%), y la distribución de los valores medidos de PT (%) para cada puntuación de CID se comparó entre sí.
- 10 La figura 26 es un gráfico de caja y bigotes que muestra los resultados de la comparación de la distribución del valor medido de INR para cada puntuación de CID. Con respecto a los mismos 26 casos que los de la Figura 21, se calculó una puntuación de CID, se midió el INR y se comparó entre sí la distribución de los valores de INR medidos para cada puntuación de CID.
- 15 La figura 27 es un gráfico de caja y bigotes que muestra los resultados de la comparación de la distribución del valor medido del tiempo de tromboplastina parcial activada (APTT) para cada puntuación de CID. Con respecto a los mismos 26 casos que los de la Figura 21, se calculó una puntuación de CID y se midió el APTT y se comparó la distribución de los valores APTT medidos para cada puntuación de CID entre sí.
- 20 La figura 28 es un diagrama de caja y bigotes que muestra los resultados de la comparación de la distribución del valor medido de fibrinógeno (FIB) para cada puntuación de CID. Con respecto a los mismos 26 casos que los de la Figura 21, se calculó una puntuación de CID y se midió FIB, y la distribución de los valores medidos de FIB para cada puntuación de CID se comparó entre sí.
- 25 La figura 29 es un gráfico de caja y bigotes que muestra los resultados de la comparación de la distribución del valor medido de antitrombina III (ATIII) para cada puntuación de CID. Con respecto a los mismos 26 casos que los de la Figura 21, se calculó una puntuación de CID y se midió ATIII, y la distribución de los valores de ATIII medidos para cada puntuación de CID se comparó entre sí.
- 30 La figura 30 es un diagrama de caja y bigotes que muestra los resultados de la comparación de la distribución del valor medido de lactato (Lact) para cada puntuación de CID. Con respecto a los mismos 26 casos que los de la Figura 21, se calculó una puntuación de CID, y se midió Lact, y la distribución de los valores medidos de Lact para cada puntuación de CID se comparó entre sí.
- 35 La figura 31 es un gráfico de caja y bigotes que muestra los resultados de la comparación de la distribución del valor medido del complejo trombina-antitrombina III (TAT) para cada puntuación de CID. Con respecto a los mismos 26 casos que los de la Figura 21, se calculó una puntuación de CID, se midió TAT y se comparó la distribución de los valores de TAT medidos para cada puntuación de CID entre sí.
- 40 La figura 32 es un diagrama de caja y bigotes que muestra los resultados de la comparación de la distribución del valor medido del complejo inhibidor de plasmina  $\alpha$ 2/plasmina (PIC) para cada puntuación de CID. Con respecto a los mismos 26 casos que los de la Figura 21, se calculó una puntuación de CID y se midió el PIC, y se comparó entre sí la distribución de los valores PIC medidos para cada puntuación de CID.
- 45 La figura 33 es un gráfico de caja y bigotes que muestra los resultados de la comparación de la distribución del valor medido de la proteína C (PC) para cada puntuación de CID. Con respecto a los mismos 26 casos que los de la Figura 21, se calculó una puntuación de CID y se midió la PC, y la distribución de los valores medidos de PC para cada puntuación de CID se comparó entre sí.
- 50 La figura 34 es un diagrama de caja y bigotes que muestra los resultados de la comparación de la distribución del valor medido de trombomodulina (TM) para cada puntuación de CID. Con respecto a los mismos 26 casos que los de la Figura 21, se calculó una puntuación de CID y se midió la TM, y la distribución de los valores medidos de TM para cada puntuación de CID se comparó entre sí.
- 55 La figura 35 es un gráfico de caja y bigotes que muestra los resultados de la comparación de la distribución del valor medido del complejo activador de plasminógeno tisular (tPA)/complejo inhibidor del activador de plasminógeno (PAI-1) (PAI-1 total) para cada puntuación de CID. Con respecto a los mismos 26 casos que los de la Figura 21, se calculó una puntuación de CID, se midió el PAI-1 total y se comparó entre sí la distribución de los valores totales de PAI-1 medidos para cada puntuación de CID.
- La figura 36 es un gráfico que muestra los resultados del análisis ROC. Entre los pacientes (49 casos) registrados en un estudio clínico, 13 casos no infectados (SIRS y enfermedades no infecciosas) se clasificaron en un grupo CID (4 casos) y un grupo no CID (9 casos) de acuerdo con los criterios de diagnóstico de CID del JAAM y cada utilidad para la detección CID de sCD14-ST, procalcitonina (PCT) e interleucina-6 (IL-6) en muestras recogidas al ingreso se compararon entre sí mediante análisis ROC.
- La figura 37 es un gráfico que muestra los resultados del análisis ROC. Con respecto a los pacientes clasificados de manera similar a los de la figura 36, cada utilidad para la detección de CID de la proteína C reactiva (PCR), el dímero D y los productos de degradación de fibrina/fibrinógeno (FDP) en muestras recogidas en el momento del ingreso se compararon entre sí mediante análisis ROC.

### **Descripción de las realizaciones**

- 60 En el procedimiento de detección de la presente invención (en adelante denominado el procedimiento de la presente invención), se mide sCD14-ST en una muestra obtenida de un sujeto, en particular, un paciente sospechoso de tener coagulación intravascular diseminada (CID) o un paciente que padece CID. Adicionalmente, en el caso de detectar CID infecciosa en el procedimiento de la presente invención, se mide sCD14-ST y un marcador relacionado con la coagulación en una muestra obtenida de un paciente sospechoso de tener coagulación intravascular diseminada

infecciosa (CID infecciosa) o un paciente que padece CID infecciosa.

Los ejemplos del marcador relacionado con la coagulación que se puede usar en la presente invención incluyen dímero D, productos de degradación de fibrina/fibrinógeno (FDP), recuentos de plaquetas (Plt), tiempo de protrombina (PT), valor INR, tiempo de tromboplastina parcial activada (APTT), fibrinógeno (FIB), antitrombina III (ATIII) (cuantificación, actividad), lactato (lact), complejo trombina-antitrombina (TAT), complejo inhibidor de  $\alpha$ 2-plasmina/plasmina (PIC), proteína C (PC) (cuantificación, actividad), trombomodulina (TM), complejo activador del plasminógeno tisular (tPA)/inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1) (PAI-1 total), inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1), fibrina soluble (SF), E-selectina y similares; y, preferentemente, dímero D, FDP, TAT, recuentos de plaquetas y PC.

Se conocen procedimientos para medir sCD14-ST y cada marcador relacionado con la coagulación, y se pueden usar reactivos de ensayo o aparatos de medición disponibles comercialmente. Como varios procedimientos analíticos conocidos para proteínas, por ejemplo, se puede realizar un inmunoensayo con un anticuerpo o un ensayo bioquímico como la electroforesis, y también se puede usar un autoanalizador para una prueba de laboratorio clínico. Los procedimientos analíticos que usan una sustancia con propiedades similares a las de un anticuerpo, tal como un aptámero de ARN, están incluidos en la presente invención.

Por ejemplo, la patente japonesa número 4040666 desvela un procedimiento para medir sCD14-ST humano, más particularmente, sistemas de EIA de tipo sándwich que usan combinaciones de un anticuerpo policlonal (anticuerpo S68) o un anticuerpo monoclonal (anticuerpo F1146-17-2), que se prepararon usando un péptido que consiste en 16 restos de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2 (el péptido S68 descrito en la patente japonesa n.º 4040666) como antígeno y anticuerpos monoclonales anti-antígeno CD14 (por ejemplo, anticuerpo F1031-8-3, anticuerpo F1106-13-3, o similar) [Ejemplo 7-(1) en la Patente japonesa N.º 4040666], y estos pueden aplicarse al procedimiento de la presente invención.

Adicionalmente, como se muestra en los ejemplos descritos a continuación, sCD14-ST se puede medir usando un analizador de inmunoensayo de quimioluminiscencia automatizado (PATHFAST; fabricado por LSI Medience Corporation) mediante un inmunoensayo enzimático quimioluminiscente que utiliza partículas magnéticas.

Una muestra utilizada en el procedimiento de la presente invención no está particularmente limitada, siempre que se pueda medir sCD14-ST (y un marcador relacionado con la coagulación, si se desea). Por ejemplo, se pueden usar muestras de sangre (tal como sangre completa, plasma o suero). El experto en la materia puede seleccionar y usar una muestra apropiada.

En el procedimiento de la presente invención, un aumento en la concentración de sCD14-ST en una muestra se usa como índice de CID. Por ejemplo, como se muestra en los ejemplos descritos a continuación, el valor de sCD14-ST aumenta significativamente en un paciente con CID. Más particularmente, como se muestra en los ejemplos 5 y 8, el valor de corte (valor umbral) de sCD14-ST exhibe un valor alto, tal como 1100 pg/ml, y esto puede usarse para juzgar CID con alta sensibilidad y especificidad. Tal como se ha descrito anteriormente, en el procedimiento de la presente invención, cuando el valor de sCD14-ST muestra un valor alto, se puede juzgar que se produce CID. Por el contrario, cuando el valor de sCD14-ST muestra un valor bajo, se puede juzgar que no se produce CID. Por ejemplo, cuando la concentración de sCD14-ST en una muestra es más alta que un valor cuantil (por ejemplo, mediana) de personas sanas o pacientes sin CID, se puede juzgar que se produce CID. Adicionalmente, el juicio puede llevarse a cabo mediante técnicas estadísticas como una regresión de Cox o una regresión logística. Como criterio de juicio, se puede usar un "valor umbral" determinado de antemano.

En el procedimiento de la presente invención, aunque se espera que el valor umbral para la concentración de sCD14-ST para detectar CID varíe de acuerdo con diversas condiciones, tal como el sexo o la edad, el valor umbral para el juicio se puede determinar para los expertos en la materia seleccionando adecuadamente una población adecuada que corresponda a los sujetos y procesando estadísticamente los datos adquiridos de la población. En cuanto a la población, se puede seleccionar un grupo de personas sanas, un grupo no CID, grupos CID de diferentes tipos patológicos, o similares. En el ejemplo 5 descrito a continuación, se ha determinado un valor de corte óptimo de 1100 pg/ml conforme al análisis ROC del grupo no CID y el grupo CID. En el procedimiento de la presente invención, es posible detectar automáticamente CID, sin requerir el juicio de un médico, determinando el valor umbral para el juicio, y comparando la concentración medida de sCD14-ST en una muestra con el valor umbral para dicho juicio.

Es preferente que el valor de corte para detectar CID se establezca adecuadamente en función de la distribución de un grupo CID y un grupo no CID. Más particularmente, el valor de corte para detectar CID es de 150 a 10000 pg/ml, preferentemente de 250 a 5000 pg/ml y, más preferentemente, de 500 a 2300 pg/ml. El experto en la materia puede establecer apropiadamente el valor de corte único en este intervalo sin prueba y error indebidos.

En el procedimiento de la presente invención, un aumento o disminución en el valor de sCD14-ST y el valor del marcador relacionado con la coagulación en una muestra se usa como índice de CID infecciosa. Por ejemplo, como se muestra en los ejemplos 11 y 14 descritos a continuación, cuando se produce CID infecciosa, los valores de sCD14-ST, dímero D, productos de degradación de fibrina/fibrinógeno (FDP), tiempo de protrombina (PT (s)), INR, lactato, complejo trombina-antitrombina (TAT), complejo inhibidor de  $\alpha$ 2-plasmina/plasmina (PIC), trombomodulina (TM) y el complejo activador del plasminógeno tisular (tPA)/inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1) (PAI-1 total)



aumentan, pero los valores de los recuentos de plaquetas (Plt), PT (%), tiempo de tromboplastina parcial activada (APTT), fibrinógeno (FIB), antitrombina III (ATIII) (%) y proteína C (PC) (%) disminuyen. En particular, la combinación de sCD14-ST con el marcador relacionado con la coagulación es preferente como índice y, más preferentemente, se puede usar sCD14-ST combinándolo con al menos uno seleccionado de dímero D, FDP, TAT, recuentos de plaquetas y PC. Adicionalmente, se puede usar una pluralidad de marcadores de sepsis o marcadores relacionados con la coagulación como una combinación de los mismos.

Por ejemplo, cuando sCD14-ST muestra un valor alto y el dímero D, FDP o TAT muestran un valor alto, o los recuentos de plaquetas o PC muestran un valor bajo, se puede juzgar que se produce CID infecciosa. Cuando sCD14-ST muestra un valor bajo, o el dímero D, FDP o TAT muestran un valor bajo o los recuentos de plaquetas o PC muestran un valor alto, se puede juzgar que no se produce CID infecciosa. Se puede mostrar un valor tan alto o tan bajo comparando cada valor con un valor cuantil (por ejemplo, mediana) de personas sanas, pacientes infecciosos sin CID, o similares. La comparación puede llevarse a cabo mediante técnicas estadísticas como una regresión de Cox o una regresión logística. Como criterio de juicio, se puede usar un "valor umbral" determinado de antemano.

En el procedimiento de la presente invención, aunque se espera que el valor umbral para la concentración de sCD14-ST y el valor medido de un marcador relacionado con la coagulación para detectar CID infecciosa varíe de acuerdo con diversas condiciones, tal como el sexo o la edad, el valor umbral para el juicio se puede determinar para los expertos en la materia seleccionando adecuadamente una población adecuada que corresponda a los sujetos y procesando estadísticamente los datos adquiridos de la población. En cuanto a la población, se puede seleccionar un grupo de personas sanas un grupo CID, un grupo no CID, un grupo sin infección, un grupo de infección, un grupo SIRS un grupo de sepsis un grupo sepsis severo, un grupo de shock séptico, grupos sépticos de diferente nivel de gravedad patológica, grupos sépticos de diferentes tipos patológicos, un grupo CID infecciosa, un grupo infeccioso sin CID, o similar. Con respecto al valor de sCD14-ST, como se muestra en el Ejemplo 13 descrito a continuación, se ha determinado un valor de corte óptimo de 900 a 1000 pg/ml. Como se muestra en el Ejemplo 15, con respecto al valor del dímero D, el valor de FDP, el valor de TAT y los recuento de plaquetas, se han determinado los valores de corte óptimos de 6,18 µg/ml o 10 µg/ml, 25 µg/ml o 35 µg/ml, 10 ng/ml o 26 ng/ml y  $12 \times 10^4$  células/µl, respectivamente. Como se muestra en el Ejemplo 20, con respecto al valor de la PC, se ha determinado un valor de corte óptimo del 45 % o 55 %. En el procedimiento de la presente invención, es posible detectar automáticamente la CID infecciosa, sin requerir el juicio de un médico, determinando el valor umbral para el juicio, y comparando la concentración medida de sCD14-ST y el valor medido de un marcador relacionado con la coagulación en una muestra con el valor umbral para el juicio.

Es preferente que el valor de corte para detectar CID infecciosa se establezca adecuadamente en función de la distribución de un grupo CID infeccioso y un grupo no CID infeccioso. Por ejemplo, el valor de corte de sCD14-ST es de 150 a 10000 pg/ml, preferentemente de 250 a 5000 pg/ml y, más preferentemente, de 500 a 2300 pg/ml. El experto en la materia puede establecer apropiadamente el valor de corte único en este intervalo sin prueba y error indebidos.

En el procedimiento de la presente invención, el momento de la obtención de la muestra es, preferentemente, en una etapa en la que se ha levantado sospecha de CID o CID infecciosa, o una etapa después del tratamiento. Un cambio en el estado clínico se puede captar de manera adecuada mediante la recolección de muestras a lo largo del tiempo y la realización de la medición.

Se puede usar un kit para detectar CID 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 la cantidad de sCD14-ST en una muestra y CID; y
- (c) un manual de instrucciones.

Se puede usar un kit para detectar CID infecciosa para llevar a cabo el procedimiento de la presente invención e incluye:

- (a) un anticuerpo específico para sCD14-ST;
- (b) un reactivo para medir un marcador relacionado con la coagulación,
- (c) datos estándar que muestran una correlación entre los valores medidos de sCD14-ST y el marcador relacionado con la coagulación en una muestra y CID infecciosa, y
- (d) un manual de instrucciones.

El anticuerpo usado en el kit puede ser un anticuerpo monoclonal o un anticuerpo policlonal. Adicionalmente, en el kit se puede usar un fragmento de anticuerpo que retiene una actividad de unión específica a sCD14-ST, por ejemplo, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> o Fv).

Adicionalmente, el anticuerpo puede usarse, tal como está, en el kit, o puede usarse en el kit en una forma adecuada basada en la técnica inmunológica que se va a emplear, por ejemplo, inmovilizándolo en un vehículo de látex cuando se emplea un inmunoensayo de aglutinación de látex, inmovilizándolo en partículas magnéticas cuando se emplea un procedimiento de medición altamente sensible que utiliza partículas magnéticas, o similares, inmovilizándolo en un sustrato cuando se emplea un procedimiento que usa un sustrato, tal como una inmunocromatografía, o marcándolo con sustancias de marcaje (por ejemplo, enzimas, sustancias fluorescentes, sustancias quimioluminiscentes, isótopos

radiactivos, biotina o avidina), si es necesario.

El reactivo para medir un marcador relacionado con la coagulación, que se puede usar en el kit, puede proporcionarse combinando adecuadamente reactivos conocidos entre sí.

5 Los datos estándar incluidos en el kit para detectar CID no están particularmente limitados, siempre que muestren una correlación entre la cantidad de sCD14-ST en una muestra y la CID, y los ejemplos de los mismos incluyen un valor umbral para el juicio y datos originales o datos procesados estadísticamente para calcular el valor umbral para el juicio. Los datos estándar incluidos en el kit para detectar CID infecciosa no están particularmente limitados, siempre que muestren una correlación entre los valores medidos de sCD14-ST y el marcador relacionado con la coagulación en una muestra y la CID infecciosa, y los ejemplos de los mismos incluyen un valor umbral para el juicio y datos originales o datos procesados estadísticamente para calcular el valor umbral para el juicio. Los datos estándar pueden describirse en el manual de instrucciones o pueden adjuntarse por separado como una hoja de datos. Adicionalmente, la forma del documento adjunto incluye papel, medios electrónicos, tal como CD-ROM, y aquellos descargados de páginas de inicio o similares.

15 El manual de instrucciones incluido en el kit para detectar CID no está particularmente limitado, siempre que se refiera al menos a la relación entre la cantidad de sCD14-ST en una muestra y la CID. Además de la referencia anterior, el manual de instrucciones puede incluir, por ejemplo, una explicación sobre el procedimiento para llevar a cabo una medición inmunológica utilizando el kit, una explicación sobre el procedimiento para detectar CID en función de los valores medidos obtenidos, precauciones con respecto al almacenamiento y manejo del kit *per se*, o similares. El manual de instrucciones incluido en el kit para detectar CID infecciosas no está particularmente limitado, siempre que se refiera al menos a la relación entre los valores medidos de sCD14-ST y un marcador relacionado con la coagulación en una muestra y CID infecciosa. Además de la referencia anterior, el manual de instrucciones puede incluir, por ejemplo, una explicación sobre el procedimiento para llevar a cabo una medición inmunológica utilizando el kit, una explicación sobre el procedimiento para detectar la CID infecciosa de acuerdo con los valores medidos obtenidos, precauciones con respecto al almacenamiento y manejo del kit *per se*, o similares.

25 **Ejemplos**

A continuación se ilustrará la presente invención adicionalmente mediante, aunque sin limitaciones a los mismos, los siguientes Ejemplos.

<< Sujetos a evaluar 1 >>

30 Los sujetos a evaluar en los Ejemplos 1 a 15, El ejemplo comparativo 1 y el ejemplo de referencia 1 fueron los siguientes.

Se evaluó a los pacientes de urgencias registrados durante un cierto período de tiempo en una sola instalación para la práctica clínica. Este estudio fue aprobado por el comité de ética. Los pacientes registrados en este estudio fueron varones y mujeres de al menos 18 años de edad que ingresaron en un hospital de urgencias y cumplieron al menos un elemento entre los siguientes cuatro elementos:

- 35
- 1) Temperatura corporal > 38 °C o <36 °C;
  - 2) Frecuencia cardíaca > 90 por minuto;
  - 3) Frecuencia respiratoria >20 por minuto o PaCO<sub>2</sub> >32 Torr; y
  - 4) Recuento de glóbulos blancos > 12000 o <4000/mm<sup>3</sup>, o leucocitos inmaduros > 10 %.

40 Los casos registrados en este estudio fueron 49 casos y se clasificaron en un grupo de pacientes con CID y un grupo de pacientes sin CID, conforme a cada criterio de diagnóstico para CID, como se describe en los Ejemplos siguientes.

Adicionalmente, por separado, la presencia o ausencia de enfermedades subyacentes se clasificó de la siguiente manera. El síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) sin infección fue de 9 casos, la sepsis fue de 6 casos, la sepsis severa fue de 12 casos, el shock séptico fue de 10 casos, las enfermedades no infecciosas (un estado sin infección ni SIRS) fueron 4 casos y las enfermedades infecciosas (un estado de infección sin SIRS) fueron 8 casos.

45 El juicio de CID en cada paciente se realizó sobre la base de tres criterios de diagnóstico para CID, es decir, los criterios de diagnóstico de CID del JAAM, los criterios de diagnóstico de CID del Ministerio de Salud y Bienestar de Japón, y los criterios de diagnóstico de CID franca del ISTH. La definición de cada criterio de diagnóstico se explicará a continuación.

Tabla 1

Criterios de diagnóstico de CID del JAAM				
Puntuación	SIRS	Plaquetas (mm <sup>3</sup> )	Relación PT	FDP (µg/ml)
0	0-2	120.000 ≤	<1,2	<10
1	≥3 artículos, positivo	80.000 ≤ o <120.000 o disminución en un ≥30 % en 24 h.	1,2 ≤	10 ≤ o <25

2	-	-	-	-
3		<80.000 o disminución en un $\geq 50\%$ en 24 h.		$25 \leq$
$\geq$ se juzgan 4 puntos como CID,				
<p>Notas:</p> <p>1) La disminución en el recuento de plaquetas se puede determinar dentro de las 24 horas anteriores o posteriores al cálculo de la puntuación.</p> <p>2) La relación del tiempo de protrombina (PT) (PT segundos, de la muestra/valor control normal) cuando ISI=1,0, es igual a INR. En cada instalación, se puede utilizar la disminución del valor de la actividad o la extensión de los números de segundos correspondientes a la relación PT 1,2.</p> <p>3) En lugar de productos de degradación de fibrina/fibrinógeno (FDP), puede usarse el dímero D. De acuerdo con un kit de medición utilizado en cada instalación, se utiliza una tabla de conversión en el anexo.</p>				

Tabla 2

Criterios de diagnóstico de CID del Ministerio de Salud y Bienestar de Japón		
	Tumor de órganos hematopoyéticos (+)	Tumor de órganos hematopoyéticos (-)
Enfermedad subyacente Síntoma clínico	Enfermedad subyacente: 1 punto (presencia) Síntoma de órgano: 1 punto (presencia)	Enfermedad subyacente: 1 punto (presencia) Síntoma de sangrado: 1 punto (presencia) Síntoma de órgano: 1 punto (presencia)
Plaquetas ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )		80-120: 1 punto 50-80: 2 puntos 50>: 3 puntos
Suero FDP ( $\mu\text{g/ml}$ )		10-20: 1 punto 20-40: 2 puntos 40<: 3 puntos
Fibrinógeno (FIB)		100-150 mg/dl: 1 punto 100 mg/dl>: 2 puntos
PT		Relación PT 1,25-1,67: 1 punto 1,67<: 2 puntos
DIC	$\geq 4$ puntos	$\geq 7$ puntos

Tabla 3

Criterios diagnósticos de CID franca del ISTH	
Enfermedad subyacente Síntoma clínico	Artículo esencial Actualmente ignorado
Plaquetas ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	50-100: 1 punto 50>: 2 puntos
Producto relacionado con la fibrina	FDP, dímero D, SF: Aumento moderado: 2 puntos Aumento fuerte: 3 puntos
Fibrinógeno (FIB)	100 mg/dl>: 1 punto
PT	PT s: 3-6 segundos de prolongación: 1 punto $\geq 6$ segundos de prolongación: 2 puntos
DIC	$\geq 5$ puntos

La presencia o ausencia de enfermedades subyacentes se clasificó en función de lo siguiente:

La enfermedad "SIRS" significa un estado en el que un paciente satisface dos o más elementos de los siguientes cuatro elementos [Chest 1992; 101 (6):1644-1655]:

- 5
- 1) Temperatura corporal  $> 38\text{ }^\circ\text{C}$  o  $< 36\text{ }^\circ\text{C}$ ;
  - 2) Frecuencia cardíaca  $> 90$  por minuto;
  - 3) Frecuencia respiratoria  $> 20$  por minuto o  $\text{PaCO}_2 > 32$  Torr; y
  - 4) Recuento de glóbulos blancos  $> 12000$  o  $< 4000/\text{mm}^3$ , o leucocitos inmaduros  $> 10\%$ .
- 10 "Infección" significa un fenómeno caracterizado por la invasión de tejidos normales por microorganismos, o la respuesta inflamatoria a la presencia de los microorganismos (Chest 1992; 101 (6): 1644-1655). Los patógenos que causan infecciones incluyen bacterias, hongos, parásitos y virus. Bacteriemia, sepsis, sepsis severa y shock séptico

se incluyen en las "infecciones".

La enfermedad "sepsis" significa SIRS con infección. El diagnóstico de infección necesita hallazgos de inflamación, síntomas de órganos y la identificación de una bacteria patógena, y un diagnóstico es confirmado por un médico. Para la identificación de una bacteria patógena, es preferente obtener de forma aséptica, sangre, líquido espinal, ascitis torácica, o similares, y cuando el esputo, orina, piel, o similar se usan como material, es importante prestar atención a las bacterias autóctonas. En el caso de que no sea posible la identificación de una bacteria patógena, el diagnóstico de sepsis puede llevarse a cabo mediante el juicio integral de un médico.

La enfermedad "sepsis severa" significa un estado en el que un paciente que sufre sepsis se complica con disfunción orgánica/insuficiencia circulatoria (acidosis láctica, oliguria, alteración aguda de la conciencia, o similar) o hipotensión (presión arterial sistólica: <90 mmHg, o disminución de la presión arterial de 40 mmHg o más de la presión arterial sistólica normal).

La enfermedad "shock séptico" significa un estado donde la hipotensión (presión arterial sistólica: <90 mmHg, o disminución de la presión arterial de 40 mmHg o más de la presión arterial sistólica normal) persiste incluso después de un reemplazo apropiado de líquidos en sepsis severa. Incluso si la presión arterial se mantiene con un medicamento vasoactivo, la disfunción orgánica/insuficiencia circulatoria (acidosis láctica, oliguria, perturbación aguda de la conciencia o similar) persisten.

Como muestras utilizadas para la medición de sCD14-ST, se obtuvo sangre completa con EDTA de pacientes después del ingreso por un procedimiento convencional, y se midió el nivel de sCD14-ST. De forma similar, se obtuvo plasma EDTA para las mediciones de procalcitonina (PCT), interleucina-6 (IL-6) y proteína C reactiva (PCR); y se obtuvo plasma citrado para las mediciones de dímero D, productos de degradación de fibrina/fibrinógeno (FDP), tiempo de protrombina (PT), fibrinógeno (FIB), tiempo de tromboplastina parcial activada (APTT), antitrombina III (ATIII), complejo trombina-antitrombina (TAT), complejo inhibidor de  $\alpha$ 2-plasmina/plasmina (PIC), proteína C (PC) y complejo activador del plasminógeno tisular (tPA)/inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1) (PAI-1 total). Se obtuvieron sangre con EDTA, un sobrenadante desproteínizado y un suero para las mediciones de recuentos de plaquetas (Plt), lactato (Lact) y trombomodulina (TM), respectivamente. La expresión "después de la admisión" significa dentro de las 3 horas posteriores a la admisión.

#### <<Ejemplo 1: Medición del marcador de sepsis >>

La medición de sCD14-ST se llevó a cabo modificando el procedimiento descrito en el Ejemplo 7-(1) de la patente japonesa N.º 4040666. Más particularmente, se utilizaron un anticuerpo policlonal (anticuerpo S68) marcado con fosfatasa alcalina (ALP) y un anticuerpo monoclonal (anticuerpo F1031-8-3) inmovilizado en partículas magnéticas (fabricado por JSR), y la medición se realizó utilizando un inmunoensayo enzimático quimioluminiscente automatizado analizador (PATHFAST; fabricado por LSI Medience Corporation). El anticuerpo policlonal (anticuerpo S68) marcado con fosfatasa alcalina (ALP) se preparó preparando una fracción Fab del anticuerpo policlonal (anticuerpo S68) y uniéndolo con ALP mediante un procedimiento de maleimida. Se usó CPD-star (fabricado por Applied Biosystems) como sustrato luminiscente.

La medición se llevó a cabo del siguiente modo. Se hizo reaccionar una muestra con el anticuerpo inmovilizado sobre 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 se recogió mediante un cuerpo magnético para retirar el anticuerpo marcado con ALP no unido de la mezcla de reacción. El sustrato luminiscente se añadió para detectar la cantidad de luminiscencia como la cantidad de sCD14-ST.

La medición de procalcitonina (PCT) se llevó a cabo utilizando ECLusys BRAHMS PCT (Roche Diagnostics).

La interleucina-6 (IL-6) se midió usando Immulyze IL-6 (Siemens Healthcare Diagnostics, Inc.).

La proteína C reactiva (PCR) se midió utilizando CRP-látex X2 "Seiken" (Denka Seiken Co., Ltd.). Se usó Hitachi 7170S (Hitachi High-Technologies Corporation) como aparato de medición.

#### <<Ejemplo 2: Evaluación del rendimiento diagnóstico de cada marcador para CID en función de los criterios de diagnóstico de CID del JAAM >>

Los 49 casos que se habían registrado en este estudio clínico se clasificaron en un grupo CID (23 casos) y un grupo no CID (26 casos), en función de los criterios de diagnóstico de CID del JAAM y cada utilidad de sCD14-ST, procalcitonina (PCT), proteína C reactiva (PCR), interleucina-6 (IL-6), dímero D y los productos de degradación de fibrina/fibrinógeno (FDP) para la detección de CID se compararon entre sí mediante análisis ROC. La medición de sCD14-ST se realizó de acuerdo con el Ejemplo 1. La medición de PCT se llevó a cabo utilizando ECLusys BRAHMS PCT (Roche Diagnostics). La interleucina-6 (IL-6) se midió usando Immulyze IL-6 (Siemens Healthcare Diagnostics, Inc.). La PCR se midió usando CRP-látex X2 "Seiken" (Denka Seiken Co., Ltd.). Se usó Hitachi 7170S (Hitachi High-Technologies Corporation) como aparato de medición. El dímero D se midió usando el dímero D de Nanopia (Sekisui Medical Co., Ltd.). Se utilizó Coapresta 2000 (Sekisui Medical Co., Ltd.) como aparato de medición. La FDP se midió usando Nanopia p-FDP (Sekisui Medical Co., Ltd.). Se utilizó Coapresta 2000 (Sekisui Medical Co., Ltd.) como aparato

de medición. En las Figuras 1 y 2, el eje horizontal es la "especificidad 1" y el eje vertical es la "sensibilidad".

Las AUC calculadas fueron 0,834 (sCD14-ST), 0,791 (PCT), 0,734 (IL-6), 0,567 (CRP), 0,824 (dímero D) y 0,810 (FDP) y la AUC de sCD14-ST fue la más alta. A partir de este resultado, se confirmó que sCD14-ST era más útil que los marcadores convencionales, tal como el dímero D, FDP, y similares.

5 <<Ejemplo 3: Evaluación del rendimiento diagnóstico de cada marcador para CID según los criterios de diagnóstico de CID del Ministerio de Salud y Bienestar de Japón >>

10 Los mismos 49 casos que en el Ejemplo 2 se clasificaron en un grupo CID (13 casos) y un grupo no CID (36 casos), de acuerdo con los criterios de diagnóstico de CID del Ministerio de Salud y Bienestar de Japón CID del Ministerio de Salud y Bienestar de Japón, y cada utilidad de sCD14 -ST, procalcitonina (PCT), proteína C reactiva (PCR), interleucina-6 (IL-6), dímero D y los productos de degradación de fibrina/fibrinógeno (FDP) para la detección de CID se compararon entre sí mediante análisis ROC. Las medidas de sCD14-ST, PCT, CRP, IL-6, dímero D y FDP se llevaron a cabo por los mismos procedimientos que los descritos en el Ejemplo 2. En las Figuras 3 y 4, el eje horizontal es la "especificidad 1" y el eje vertical es la "sensibilidad".

15 Las AUC calculadas fueron 0,842 (sCD14-ST), 0,739 (PCT), 0,697 (IL-6), 0,634 (CRP), 0,741 (dímero D) y 0,731 (FDP) y la AUC de sCD14-ST fue la más alta. De este resultado se confirmó que sCD14-ST es más útil que los marcadores convencionales, tal como el dímero D, FDP, y similares.

<<Ejemplo 4: Evaluación del rendimiento diagnóstico de cada marcador para CID en función de los criterios de diagnóstico de CID franca del ISTH >>

20 Los mismos 49 casos que en el Ejemplo 2 se clasificaron en un grupo CID (15 casos) y un grupo no CID (34 casos), conforme a los criterios de diagnóstico de CID franca del ISTH y cada utilidad de sCD14-ST, procalcitonina (PCT), proteína C reactiva (PCR), interleucina-6 (IL-6), dímero D y los productos de degradación de fibrina/fibrinógeno (FDP) para la detección de CID se compararon entre sí mediante análisis ROC. Los resultados se muestran en las Figuras 5 y 6. Las medidas de sCD14-ST, PCT, CRP, IL-6, dímero D y FDP se llevaron a cabo por los mismos procedimientos que los descritos en el Ejemplo 2. En las Figuras 5 y 6, el eje horizontal es la "especificidad 1" y el eje vertical es la "sensibilidad".

25 Las AUC calculadas fueron 0,853 (sCD14-ST), 0,694 (PCT), 0,665 (IL-6), 0,605 (CRP), 0,807 (dímero D) y 0,805 (FDP) y la AUC de sCD14-ST fue la más alta. De este resultado se confirmó que sCD14-ST es más útil que los marcadores convencionales, tal como el dímero D, FDP, y similares.

<<Ejemplo 5: Evaluación del valor de corte de sCD14-ST en el diagnóstico de CID >>

30 De acuerdo con los resultados del análisis ROC llevado a cabo en los Ejemplos 2 y 3, la sensibilidad clínica y la especificidad para sCD14-ST se muestran en las Figuras 7 y 8, respectivamente. De la figura 7, cuando el valor de sCD14-ST era 1033 pg/ml, la sensibilidad clínica fue del 78,3 % y la especificidad del 76,9 %, y se consideró el valor de corte óptimo. De la figura 8, cuando el valor de sCD14-ST era 1170 pg/ml, la sensibilidad clínica fue del 76,9 % y la especificidad del 75,0 %, y se consideró el valor de corte óptimo. A partir de estos resultados, se considera que el

35 valor de corte óptimo en el procedimiento de detección de CID usando sCD14-ST fue de 1100 pg/ml.

<<Ejemplo 6: Evaluación del valor de corte del dímero D en el diagnóstico de CID >>

40 De acuerdo con los resultados del análisis ROC llevado a cabo en los Ejemplos 2 y 3, la sensibilidad clínica y la especificidad para el dímero D se muestran en las Figuras 9 y 10, respectivamente. De la figura 9, cuando el valor del dímero D era 10,1 µg/ml, la sensibilidad clínica fue del 78,3 % y la especificidad del 84,6 %, y se consideró el valor de corte óptimo. De la figura 10, cuando el valor del dímero D era 11,3 µg/ml, la sensibilidad clínica fue del 69,2 % y la especificidad del 69,4 %, y se consideró el valor de corte óptimo. A partir de estos resultados, se consideró que el valor de corte óptimo en el procedimiento de detección de CID usando dímero D era 11 µg/ml.

<<Ejemplo 7: Evaluación del valor de corte de FDP en el diagnóstico de CID >>

45 De acuerdo con los resultados del análisis ROC llevado a cabo en los Ejemplos 2 y 3, la sensibilidad clínica y la especificidad para FDP se muestran en las Figuras 11 y 12, respectivamente. De la figura 11, cuando el valor de FDP fue de 20 µg/ml, la sensibilidad clínica fue del 73,9 % y la especificidad del 73,1 %, y se consideró el valor de corte óptimo. De la figura 12, cuando el valor de FDP fue de 25 µg/ml, la sensibilidad clínica fue del 69,2 % y la especificidad del 72,2 %, y se consideró el valor de corte óptimo. A partir de estos resultados se consideró que el valor de corte óptimo en el procedimiento de detección de CID usando FDP fue de 23 µg/ml.

50 <<Ejemplo 8: Sensibilidad clínica y especificidad de cada marcador en el diagnóstico de CID >>

Los valores de corte para sCD14-ST, el dímero D y los productos de degradación de fibrina/fibrinógeno (FDP) evaluados en los ejemplos 5 a 7 se usaron para resumir su sensibilidad clínica, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo, y el resultado se muestra en la Tabla 4. De este resultado se confirmó que, incluso si se usa un cualquier de los criterios de diagnóstico de CID del JAAM, los criterios diagnósticos de CID del Ministerio de

Salud y Bienestar de Japón y los criterios de diagnóstico de CID franca del ISTH, sCD14-ST fue equivalente o superior a los marcadores convencionales, tal como dímero D o FDP, y fue útil porque, en particular, la sensibilidad y el valor predictivo negativo fueron altos.

Tabla 4

Criterios de diagnóstico de CID	Marcador	Valor de corte	Sensibilidad]	Especificidad	Valor predictivo positivo	Valor predictivo negativo
Criterios de diagnóstico de CID del JAAM	sCD14-ST	1100pg/ml	82,6 %	76,9 %	76,0 %	83,3 %
	Dímero D	11 µg/ml	69,6 %	84,6 %	80,0 %	75,9 %
	FDP	23 µg/ml	69,6 %	80,8 %	76,2 %	75,0 %
Criterios de diagnóstico de JMHW CID	sCD14-ST	1100pg/ml	76,9 %	66,7 %	45,5 %	88,9 %
	Dímero D	11 mg/ml	69,2 %	69,4 %	45,0 %	86,2 %
	FDP	23 mg/ml	69,2 %	66,7 %	42,9 %	85,7 %
Criterios diagnósticos de CID franca del ISTH	sCD14-ST	1100pg/ml	80,0 %	70,6 %	54,5 %	88,9 %
	Dímero D	11 mg/ml	73,3 %	73,5 %	55,0 %	86,2 %
	FDP	23 mg/ml	73,3 %	70,6 %	52,4 %	85,7 %

JMHW: Ministerio de Salud y Bienestar de Japón

5 <<Ejemplo 9: Utilidad para el diagnóstico de CID en el grupo no infectado >>

Entre los 49 casos del Ejemplo 2, 13 casos no infectados (SIRS y enfermedades no infecciosas) se clasificaron en un grupo CID (4 casos) y un grupo no CID (9 casos), según los criterios de diagnóstico de CID del JAAM, y cada utilidad de sCD14-ST, procalcitonina (PCT), proteína C reactiva (PCR), interleucina-6 (IL-6), dímero D y los productos de degradación de fibrina/fibrinógeno (FDP) para la detección de CID se compararon entre sí mediante análisis ROC. Los resultados se muestran en las Figuras 13 y 14. En las Figuras 13 y 14, el eje horizontal es la "especificidad 1" y el eje vertical es la "sensibilidad".

Las AUC calculadas fueron 0,806 (sCD14-ST), 0,778 (PCT), 0,639 (IL-6), 0,583 (CRP), 0,764 (dímero D) y 0,792 (FDP) y la AUC de sCD14-ST fue la más alta. De este resultado se confirmó que sCD14-ST es más útil que los marcadores convencionales, tal como el dímero D, FDP, y similares, independientemente de la presencia o ausencia de infección. Con respecto a un valor de corte de sCD14-ST, cuando el valor de sCD14-ST fue de 600 pg/ml, la sensibilidad clínica fue del 75,0 % y la especificidad del 100 %, y se consideró el valor de corte óptimo.

<<Ejemplo 10: Utilidad de cada marcador como índice para llevar a cabo la terapia anticoagulante para pacientes con CID >>

Entre los 49 casos del ejemplo 2, se utilizó un grupo de CID (23 casos) clasificado según los criterios de diagnóstico de CID del JAAM para comparar las tasas de implementación de la terapia anticoagulante entre sí en los casos en que cada marcador era inferior a su valor de corte o era igual o superior a su valor de corte y los resultados se muestran en la Tabla 5. A partir de estos resultados, con respecto a sCD14-ST, la tasa de implementación de la terapia anticoagulante fue mayor en el grupo de casos en el que el valor de sCD14-ST fue igual o mayor que su valor de corte, en comparación con otro grupo de casos en el que el valor sCD14-ST fue menor que su valor de corte. Por el contrario, con respecto al dímero D o FDP, la tasa de implementación de la terapia anticoagulante fue menor en el grupo de casos en el que cada valor fue igual o mayor que su valor de corte, en comparación con otro grupo de casos en el que cada valor era inferior a su valor de corte. Por lo tanto, se sugirió que sCD14-ST era un marcador útil que los marcadores de CID convencionales, tal como dímero D y FDP, como índice de si se debe llevar a cabo o no un tratamiento anticoagulante.

Tabla 5

Marcador	sGD14-ST	Dímero D	FDP
Valor de corte	1100pg/ml	11 µg/ml	23 µg/ml

(continuación)

Marcador		sGD14-ST	Dímero D	FDP
Casos donde se realizó terapia anticoagulante	Menor que el valor de corte	28,6 % (2/7)	57,1 % (4/7)	57,1 % (4/7)
	Igual o superior al valor de corte	50,0 % (8/16)	37,5 % (6/16)	37,5 % (6/16)

**<<Ejemplo 11: Distribución del valor medido de los marcadores de sepsis para cada puntuación de CID en el grupo infectado >>**

Entre los 49 casos registrados en este estudio, con respecto a 33 casos infectados (sepsis, sepsis severa, shock séptico y enfermedades infecciosas), la puntuación de CID se calculó conforme a los criterios de diagnóstico de CID del JAAM, y cada distribución de valores medidos de sCD14-ST, procalcitonina (PCT), proteína C reactiva (PCR) e interleucina-6 (IL-6) en cada puntuación de CID se compararon entre sí. La medición de sCD14-ST se realizó de acuerdo con el Ejemplo 1.

Como resultado de un análisis estadístico de grupos múltiples mediante la prueba de Kruskal-Wallis, como se muestra en la Tabla 6, el valor p de sCD14-ST fue 0,0214, el valor p de PCT fue 0,0436, el valor p de IL-6 fue 0,0729 y el valor p de CRP fue 0,3994 y, por lo tanto, hubo diferencias significativas entre sCD14-ST y cada uno de PCT, IL-6 y CRP. Se consideró que sCD14-ST era un marcador que reflejaba más estrechamente la puntuación de CID infecciosa. Las figuras 15 a 18 muestran las medianas y el número de casos de cada marcador en cada puntuación de CID.

Tabla 6

	Marcador de sepsis	Diferencia significativa (valor p)
(A)	sGD14-ST	0,0214
(B)	PCT	0,0436
(C)	IL-6	0,0729
(D)	CRP	0,3994

Con respecto a sCD14-ST y PCT en los que el análisis estadístico de grupos múltiples confirmó una diferencia significativa, el mismo grupo de pacientes se clasificó en un grupo infeccioso no CID (puntuación de CID: inferior a 4 puntos; n = 15) y un grupo CID infeccioso (puntuación de CID: 4 puntos o más; n = 18) y los valores medidos de sCD14-ST y PCT en cada grupo se usaron para llevar a cabo análisis estadísticos de dos grupos mediante la prueba U de Mann-Whitney. Como resultado, el valor p de sCD14-ST fue 0,0075 y el valor p de PCT fue 0,0329, y, por lo tanto, se demostró que sCD14-ST era más útil para detectar la CID infecciosa.

Dado que el valor de sCD14-ST se elevó de acuerdo con el aumento de la puntuación de CID, se sugirió que el grado de CID puede reconocerse a partir del valor de sCD14-ST.

**<<Ejemplo 12: Evaluación de sCD14-ST para el rendimiento de detección de infección y valor de corte >>**

Los 49 casos registrados en este estudio se clasificaron en 13 casos no infectados (SIRS y enfermedades no infecciosas) y 36 casos infectados (sepsis, sepsis severa, shock séptico y enfermedades infecciosas) y la utilidad de sCD14-ST para la detección de infecciones se evaluó mediante análisis ROC. En la Figura 19, el eje horizontal es la "especificidad 1" y el eje vertical es la "sensibilidad".

La AUC de sCD14-ST fue de 0,833 y se confirmó su utilidad. El valor de sCD14-ST en el que la sensibilidad clínica y la especificidad se volvieron máximas fue de 647 pg/ml, y la sensibilidad clínica y la especificidad fueron del 83,3 % y 76,9 %, respectivamente. A partir de estos resultados se consideró que el valor de corte óptimo de sCD14-ST en la detección de infecciones era de 600 a 700 pg/ml.

**<<Ejemplo 13: Evaluación de sCD14-ST para el rendimiento de detección de CID y el valor de corte en el grupo infectado >>**

Entre los 49 casos registrados en este estudio, 36 casos infectados (sepsis, sepsis severa, shock séptico y enfermedades infecciosas) se clasificaron en un grupo CID (19 casos) y un grupo no CID (17 casos), de acuerdo con los criterios de diagnóstico de CID del JAAM, y la utilidad de sCD14-ST para la detección de CID infecciosa se evaluó mediante análisis ROC. En la Figura 20, el eje horizontal es la "especificidad 1" y el eje vertical es la "sensibilidad".

La AUC de sCD14-ST fue de 0,811 y se confirmó su utilidad. El valor de sCD14-ST en el que la sensibilidad clínica y la especificidad se volvieron máximas fue de 929 pg/ml, y la sensibilidad clínica y la especificidad fueron del 94,7 % y 64,7 %, respectivamente. A partir de estos resultados, se consideró que el valor de corte óptimo de sCD14-ST en la detección de CID infecciosa era de 900 a 1000 pg/ml.

**<<Ejemplo 14: Distribución del valor medido de los marcadores relacionados con la coagulación para cada puntuación de CID en el grupo infectado >>**

Entre los 49 casos registrados en este estudio, con respecto a 26 casos infectados (sepsis, sepsis severa, shock

séptico y enfermedades infecciosas), cada distribución de valor medido del dímero D, productos de degradación de fibrina/fibrinógeno (FDP), plaquetas (Plt), tiempo de protrombina (PT), valor INR, tiempo de tromboplastina parcial activada (APTT), fibrinógeno (FIB), antitrombina III (ATIII), lactato (lact), complejo trombina-antitrombina (TAT), complejo inhibidor de  $\alpha$ 2-plasmina/plasmina (PIC), proteína C (PC), trombomodulina (TM) y complejo de activador del plasminógeno tisular (tPA)/inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1) (PAI-1 total) en cada puntuación de CID se comparó entre sí.

El dímero D se midió usando el dímero D de Nanopia (Sekisui Medical Co., Ltd.). La FDP se midió usando Nanopia p-FDP (Sekisui Medical Co., Ltd.). Las plaquetas se midieron usando Cell pack II (Sysmex Corporation). El PT se midió usando Coagpia PT-S (Sekisui Medical Co., Ltd.). El APTT se midió usando Coagpia APTT-S (Sekisui Medical Co., Ltd.). El fibrinógeno se midió usando Coagpia Fbg (Sekisui Medical Co., Ltd.). La antitrombina III se midió usando STACIA CLEIA TAT (LSI Medience Corporation). El lactato se midió usando el Determinador LA (Kyowa Medex Co., Ltd.). El TAT se midió usando STACIA CLEIA TAT (LSI Medience Corporation). El PIC se midió usando LPIA-ACE PPI II (LSI Medience Corporation). La proteína C se midió usando LPIA-ACE PC II (LSI Medience Corporation). La trombomodulina se midió usando STACIA CLEIA TM (LSI Medience Corporation). El PAI-1 total se midió usando la prueba LPIA tPAI (LSI Medience Corporation).

Los resultados del análisis estadístico de grupos múltiples mediante la prueba de Kruskal-Wallis se muestran en la Tabla 7. Se consideró que el dímero D, la FDP, las plaquetas y el TAT eran marcadores que reflejan la puntuación de CID infecciosa. Las figuras 21 a 35 muestran las medianas y el número de casos de cada marcador en cada puntuación de CID.

Tabla 7

	Marcador relacionado con la coagulación	Diferencia significativa (valor p)
(A)	Dímero D	0,0247
(B)	FDP	0,0365
(C)	Plaquetas	0,0443
(D)	PT (segundos)	0,3213
(E)	PT (%)	0,1325
(F)	Valor INR	0,1150
(G)	APTT	0,6533
(H)	Fibrinógeno	0,1239
(I)	Antitrombina III	0,3493
(J)	Lactato	0,0629
(K)	TAT	0,0027
(L)	PIC	0,0585
(M)	Proteína C	0,0904
(N)	Trombomodulina	0,2304
(O)	PAI-1 total	0,1141

Con respecto al dímero D, la FDP, las plaquetas y el TAT en los que se confirmó una diferencia significativa mediante el análisis estadístico de grupos múltiples, el mismo grupo de pacientes se clasificó en un grupo infeccioso no CID (puntuación de CID: inferior a 4 puntos; n = 14) y un grupo CID infeccioso (puntuación de CID: 4 puntos o más; n = 12), y los valores medidos del dímero D, la FDP, las plaquetas y el TAT en cada grupo se usaron para llevar a cabo el análisis estadístico de dos grupos mediante la prueba U de Mann-Whitney. Como resultado, el valor p del dímero D fue 0,0017, el valor p de FDP fue 0,0037, el valor p de plaquetas fue 0,0464, y el valor p de TAT fue 0,0002 y, por lo tanto, se demostró que el dímero D, la FDP, las plaquetas y el TAT eran útiles en la detección de la CID infecciosa.

**<<Ejemplo 15: Evaluación de la combinación de sCD14-ST con marcadores relacionados con la coagulación para el rendimiento de detección de CID infecciosa >>**

Entre los 49 casos registrados en este estudio, con respecto a 44 casos en los que todos los valores medidos para marcadores de sepsis [sCD14-ST, procalcitonina (PCT), interleucina-6 (IL-6) y proteína C reactiva (PCR)] y marcadores relacionados con la coagulación [dímero D, productos de degradación de fibrina/fibrinógeno (FDP), plaquetas (Plt), tiempo de protrombina (PT), valor INR, tiempo de tromboplastina parcial activada (APTT), fibrinógeno (FIB), antitrombina III (ATIII), lactato (lact), complejo trombina-antitrombina (TAT), complejo inhibidor de  $\alpha$ 2-plasmina/plasmina (PIC), proteína C (PC), trombomodulina (TM) y complejo activador del plasminógeno tisular (tPA)/inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1) (Total PAI-1)] se confirmaron, cada combinación de sCD14-ST con dímero D (tablas 8-10), de sCD14-ST con FDP (tablas 11-13), de sCD14-ST con plaquetas (tablas 14-15) y de sCD14-ST con TAT (Tablas 16-18) se utilizó para evaluar el rendimiento de detección de CID infecciosa. El valor de corte de sCD14-ST se estableció de acuerdo con los valores obtenidos en el Ejemplo 12 o 13. Como el valor de corte del dímero D, se usaron 6,18  $\mu$ g/ml, que se había usado ampliamente, convencionalmente, o 10  $\mu$ g/ml, que se calculó y estableció de manera similar a la del Ejemplo 13. Como el valor de corte de FDP, se usaron 25  $\mu$ g/ml, que se había usado ampliamente, convencionalmente, o 35  $\mu$ g/ml, que se calculó y estableció de manera similar a la del Ejemplo



13. Como el valor de corte de plaquetas, se usaron  $12 \times 10^4$  células/ $\mu$ l, que se había usado ampliamente, de manera convencional. Como el valor de corte de TAT, se usaron 10 ng/ml, que se había usado ampliamente, convencionalmente, o 26 ng/ml, que se calculó y estableció de manera similar a la del Ejemplo 13. Para evaluación, se calcularon la sensibilidad clínica, la especificidad, el valor predictivo negativo y el valor predictivo positivo en cada condición.

5

(A) Dímero D

Tabla 8

Valor de corte que se ha utilizado convencionalmente de forma generalizada: 6,18 $\mu$ g/ml						
sCD14-ST	<600		600-900		$\geq 900$	
Dímero D	<6,18	$\geq 6,18$	<6,118	$\geq 6,18$	<6,18	$\geq 6,18$
Casos	9	7	4	2	5	17
Porcentaje (casos)						
Presencia o ausencia de infección	44 % (4/9)	29 % (2/7)	100 % (4/4)	50 % (1/2)	80 % (4/5)	94 % (16/17)
CID del JAAM	0 % (0/9)	14 % (1/7)	0 % (0/4)	50 % (1/2)	60 % (3/5)	82 % (14/17)
CID del JAAM (infeccioso)	0 % (0/9)	0 % (0/7)	0 % (0/4)	0 % (0/2)	40 % (2/5)	76 % (13/17)
Mortalidad a los 28 días	11 % (1/9)	0 % (0/7)	25 % (1/4)	0 % (0/2)	40 % (2/5)	18 % (3/17)
Presencia o ausencia de implementación de terapia anticoagulante	11 % (1/9)	0 % (0/7)	25 % (1/4)	0 % (0/2)	40 % (2/5)	35 % (6/17)

Tabla 9

Valor de corte obtenido de manera similar a la del Ejemplo 13: 10 $\mu$ g/ml						
sCD14-ST	<600		600-900		$\geq 900$	
Dímero D	<10	$\geq 10$	<10	$\geq 10$	<10	$\geq 10$
Casos	12	4	4	2	8	14
Porcentaje (casos)						
Presencia o ausencia de infección	60 % (6/12)	0 % (0/4)	100 % (4/4)	50 % (1/2)	88 % (7/8)	93 % (13/14)
CID del JAAM	0 % (0/12)	25 % (1/4)	0 % (0/4)	50 % (1/2)	38 % (3/8)	100 % (14/14)
CID del JAAM (infeccioso)	0 % (0/12)	0 % (0/4)	0 % (0/4)	0 % (0/2)	25 % (2/8)	93 % (13/14)
Mortalidad a los 28 días	10 % (1/12)	0 % (0/4)	25 % (1/4)	0 % (0/2)	25 % (2/8)	21 % (3/14)
Presencia o ausencia de implementación de terapia anticoagulante	10 % (1/12)	0 % (0/4)	25 % (1/4)	0 % (0/2)	38 % (3/8)	36 % (5/14)

Tabla 10

Sensibilidad clínica, especificidad, valor predictivo negativo y valor predictivo positivo en cada procedimiento de detección												
Condición	Procedimiento de detección				Casos				Sensibilidad	Especificidad	Valor predictivo negativo	Positivo predictivo valor
	Procedimiento	SCD14-ST (pg/ml)	Dímero D (µg/ml)	CID infecciosa (positiva)		CID infecciosa (negativa)						
				Prueba positiva	Prueba negativa	Prueba positiva	Prueba negativa					
1	Solo	600 ≤	-	15	0	13	16	100,0 %	55,2 %	100,0 %	53,6 %	
2	Solo	900 ≤	-	15	0	7	22	100,0 %	75,9 %	100,0 %	68,2 %	
3	Solo	-	6,18 ≤	13	2	13	16	86,7 %	55,2 %	88,9 %	50,0 %	
4	Solo	-	10 ≤	13	2	7	22	86,7 %	75,9 %	91,7 %	65,0 %	
5	Comb.	6002 ≤	6,18 ≤	13	2	6	23	86,7 %	79,3 %	92,0 %	68,4 %	
6	Comb.	900 ≤	6,18 ≤	13	2	4	25	86,7 %	86,2 %	92,6 %	76,5 %	
7	Comb.	600 ≤	10 ≤	13	2	3	26	86,7 %	89,7 %	92,9 %	81,3 %	
8	Comb.	900 ≤	10 ≤	13	2	1	28	86,7 %	96,6 %	93,3 %	92,9 %	
Comb. : Combinación												

(B) Productos de degradación de fibrina/fibrinógeno (FDP)

Tabla 11

Valor de corte que se ha utilizado convencionalmente de forma generalizada: 25 µg/ml						
sCD14-ST	<600		600-900		≥ 900	
FDP	<25		≥25	≥ 25	<25	≥ 25
Casos	14	2	4	2	9	13
Porcentaje (casos)						
Presencia o ausencia de infección	43 % (6/14)	0 % (0/2)	100 % (4/4)	50 % (1/2)	78 % (7/9)	100 % (13/13)
CID del JAAM	0 % (0/14)	50 % (1/2)	0 % (0/4)	50 % (1/2)	56 % (5/9)	92 % (12/13)
CID del JAAM (infecciosa)	0 % (0/14)	0 % (0/2)	0 % (0/4)	0 % (0/2)	33 % (3/9)	92 % (12/13)
Mortalidad a los 28 días	7 % (1/14)	0 % (0/2)	25 % (1/4)	0 % (0/2)	33 % (3/9)	15 % (2/13)
Presencia o ausencia de implementación de terapia anticoagulante	7 % (1/14)	0 % (0/2)	25 % (1/4)	0 % (0/2)	44 % (4/9)	31 % (4/13)

Tabla 12

Valor de corte obtenido de manera similar a la del Ejemplo 13: 35 µg/ml						
sCD14-ST	<600		600-900		≥ 900	
FDP	<35	≥ 35	<35	≥ 35	<35	≥ 35
Casos	14	2	4	2	10	12
Porcentaje (casos)						
Presencia o ausencia de infección	43 % (6/14)	0 % (0/2)	100 % (4/4)	50 % (1/2)	80 % (8/10)	100 % (12/12)
CID del JAAM	0 % (0/14)	50 % (1/2)	0 % (0/4)	50 % (1/2)	50 % (5/10)	100 % (12/12)
CID del JAAM (infeccioso)	0 % (0/14)	0 % (0/2)	0 % (0/4)	0 % (0/2)	30 % (3/10)	100 % (12/12)
Mortalidad a los 28 días	7 % (1/14)	0 % (0/2)	25 % (1/4)	0 % (0/2)	30 % (3/10)	17 % (2/12)
Presencia o ausencia de implementación de terapia anticoagulante	7 % (1/14)	0 % (0/2)	25 % (1/4)	0 % (0/2)	40 % (4/10)	33 % (4/12)

Tabla 13

Sensibilidad clínica, especificidad, valor predictivo negativo y valor predictivo positivo en cada procedimiento de detección													
Condición	Procedimiento de detección			Casos						Sensibilidad	Especificidad	Valor predictivo negativo	Positivo valor predictivo
	Procedimiento	sCD14-ST (pg/ml)	FDP (µg/ml)	CID infecciosa (positiva)		CID infecciosa (negativa)		Prueba positiva	Prueba negativa				
				Prueba positiva	Prueba negativa	Prueba positiva	Prueba negativa						
1	Solo	600 ≤	-	15	0	13	16			100,0 %	55,2 %	100,0 %	53,6 %
2	Solo	900 ≤	-	15	0	7	22			100,0 %	75,9 %	1000 %	68,2 %
9	Solo	-	25 ≤	12	3	4	25			80,0 %	82,8 %	88,9 %	70,6 %
10	Solo	-	35 ≤	12	3	5	24			80,0 %	86,2 %	89,3 %	75,0 %
11	Comb.	600 ≤	25 ≤	12	3	3	26			80,0 %	89,7 %	89,7 %	80,0 %
12	Comb.	900 ≤	25 ≤	12	3	1	28			80,0 %	96,6 %	90,3 %	92,3 %
13	Comb.	600 ≤	35 ≤	12	3	2	27			80,0 %	93,1 %	90,0 %	85,7 %
14	Comb.	900 ≤	35 ≤	12	3	0	29			80,0 %	100,0 %	90,6 %	100,0 %
Comb. : Combinación													

(C) Plaquetas (Plt)

Tabla 14

Valor de corte que se ha utilizado convencionalmente de forma generalizada: $12 \times 10^4$ células/ $\mu$ l						
sCD14-ST	<600		600-900		$\geq 900$	
Plt	<12	$\geq 12$	<12	$\geq 12$	<12	$\geq 12$
Casos	1	15	0	6	11	11
Porcentaje (casos)						
Presencia o ausencia de infección	100 % (1/1)	33 % (5/15)	0 % (0/0)	83 % (5/6)	82 % (9/11)	100 % (11/11)
CID del JAAM	0 % (0/1)	7 % (1/15)	0 % (0/0)	17 % (1/6)	100 % (11/11)	55 % (6/11)
CID del JAAM (infeccioso)	0 % (0/1)	0 % (0/15)	0 % (0/0)	0 % (0/6)	82 % (9/11)	55 % (6/11)
Mortalidad a los 28 días	0 % (0/1)	7 % (1/15)	0 % (0/0)	17 % (1/6)	45 % (5/11)	0 % (0/11)
Presencia o ausencia de implementación de terapia anticoagulante	0 % (0/1)	7 % (1/15)	0 % (0/0)	17 % (1/6)	45 % (5/11)	27 % (3/11)

Tabla 15

Sensibilidad clínica, especificidad, valor predictivo negativo y valor predictivo positivo en cada procedimiento de detección											
Condición	Procedimiento de detección			Casos				Sensibilidad	Especificidad	Valor predictivo negativo	Valor predictivo positivo
	Procedimiento	sCD14-ST (pg/ml)	Pozo (x 10 <sup>4</sup> /µl)	CID infecciosa (positiva)		CID infecciosa (negativa)					
				Prueba positiva	Prueba negativa	Prueba positiva	Prueba negativa				
1	Solo	600 ≤	-	15	0	13	16	100,0 %	55,2 %	100,0 %	53,6 %
2	Solo	900 ≤	-	15	0	7	22	100,0 %	75,9 %	100,0 %	68,2 %
15	Solo	-	<12	9	6	3	26	60,0 %	89,7 %	81,3 %	75,0 %
16	Comb.	600 ≤	<12	9	6	2	27	60,0 %	93,1 %	81,8 %	81,8 %
17	Comb.	900 ≤	<12	9	6	2	27	60,0 %	93,1 %	81,8 %	81,8 %
Comb.: Combinación											

(D) Complejo trombina-antitrombina (TAT)

Tabla 16

Valor de corte que se ha utilizado convencionalmente de forma generalizada: 10 ng/ml						
sCD14-ST	<600		600-900		≥900	
TAT	<10	≥10	<10	≥10	<10	≥10
Casos	4	12	4	2	5	17
Porcentaje (casos)						
Presencia o ausencia de infección	50 % (2/4)	33 % (4/12)	100 % (4/4)	50 % (1/2)	80 % (4/5)	94 % (16/17)
CID del JAAM	0 % (0/4)	8 % (1/12)	0 % (0/4)	50 % (1/2)	40 % (2/5)	88 % (15/17)
CID del JAAM (infeccioso)	0 % (0/4)	0 % (0/12)	0 % (0/4)	0 % (0/2)	20 % (1/5)	82 % (14/17)
Mortalidad a los 28 días	25 % (1/4)	0 % (0/12)	25 % (1/4)	0 % (0/2)	0 % (0/5)	29 % (5/17)
Presencia o ausencia de implementación de terapia anticoagulante	0 % (0/4)	8 % (1/12)	25 % (1/4)	0 % (0/2)	40 % (2/5)	35 % (6/17)

Tabla 17

Valor de corte obtenido de manera similar a la del Ejemplo 13: 26 ng/ml						
sCD14-ST	<600		600-900		≥900	
TAT	<26	≥26	<26	≥26	<26	≥26
Casos	11	5	4	2	10	12
Porcentaje (casos)						
Presencia o ausencia de infección	45 % (5/11)	20 % (1/5)	100 % (4/4)	50 % (1/2)	90 % (9/10)	92 % (11/12)
CID del JAAM	0 % (0/11)	20 % (1/5)	0 % (0/4)	50 % (1/2)	50 % (5/10)	100 % (12/12)
CID del JAAM (infeccioso)	0 % (0/11)	0 % (0/5)	0 % (0/4)	0 % (0/2)	40 % (4/10)	92 % (11/12)
Mortalidad a los 28 días	9 % (1/11)	0 % (0/5)	25 % (1/4)	0 % (0/2)	0 % (0/10)	42 % (5/12)
Presencia o ausencia de implementación de terapia anticoagulante	9 % (1/11)	0 % (0/5)	25 % (1/4)	0 % (0/2)	0 % (0/10)	33 % (4/12)

Tabla 18

Sensibilidad clínica, especificidad, valor predictivo negativo y valor predictivo positivo en cada procedimiento de detección														
Condición	Procedimiento de detección				Casos								Valor predictivo negativo	Valor predictivo positivo
	Procedimiento	sCD14-ST (pg/ml)	TAT (ng/ml)	CID infecciosa (positiva)	CID infecciosa (positiva)		CID infecciosa (negativa)		Sensibilidad	Especificidad	Sensibilidad	Especificidad		
					Prueba positiva	Prueba negativa	Prueba positiva	Prueba negativa						
1	Solo	600 ≤	-	15	0	13	16	100,0 %	55,2 %	100,0 %	100,0 %	53,6 %		
2	Solo	900 ≥	-	15	0	7	22	100,0 %	75,9 %	100,0 %	100,0 %	68,2 %		
18	Solo	-	10 ≤	14	1	17	12	93,3 %	41,4 %	93,3 %	92,3 %	45,2 %		
19	Solo	-	26 ≤	11	4	8	21	73,3 %	72,4 %	73,3 %	84,0 %	57,9 %		
20	Comb.	600 ≤	10 ≤	14	1	5	24	93,3 %	82,8 %	93,3 %	96,0 %	73,7 %		
21	Comb.	900 ≤	10 ≤	14	1	3	26	93,3 %	89,7 %	93,3 %	96,3 %	82,4 %		
22	Comb.	600 ≤	26 ≤	11	4	3	26	73,3 %	89,7 %	73,3 %	86,7 %	78,6 %		
23	Comb.	900 ≤	26 ≤	11	4	1	28	73,3 %	96,6 %	73,3 %	87,5 %	91,7 %		
Comb. : Combinación														



5 Como resultado, con respecto a cada uno de los procedimientos de detección que usan sCD14-ST solo o un marcador relacionado con la coagulación (dímero D, FDP, plaquetas o TAT) solo, la sensibilidad clínica fue alta, pero la especificidad era baja. Por otro lado, cuando sCD14-ST se combinó con un marcador relacionado con la coagulación, la sensibilidad clínica no cambió, pero se evaluó la especificidad. A partir de estos resultados, se confirmó que la sensibilidad clínica y la especificidad se convirtieron en 80% o más mediante el uso de cualquiera de las combinaciones de sCD14-ST con dímero D, de sCD14-ST con FDP y de sCD14-ST con TAT, para la detección infecciosa de CID, y que estas combinaciones eran índices con alta sensibilidad clínica y especificidad que no podían lograrse mediante índices convencionales, y que eran muy útiles.

10 <<Ejemplo comparativo 1: Evaluación de la combinación de PCT con TAT para el rendimiento de detección de CID infecciosa >>

15 Con respecto a los mismos 44 casos que los del Ejemplo 15, se usó la combinación de procalcitonina (PCT) con complejo de trombina-antitrombina (TAT) para evaluar el rendimiento de detección de CID infecciosa (Tablas 19-20). Como el valor de corte de PCT, 0,5 ng/ml y 2,0 ng/ml, que se había usado ampliamente, de manera convencional, se usaron. Como valor de corte de TAT, se usó 10 ng/ml, que se había usado ampliamente, de manera convencional. Para evaluación, se calcularon la sensibilidad clínica, la especificidad, el valor predictivo negativo y el valor predictivo positivo en cada condición.

Tabla 19

PCT	<0,5		0,5-2,0		≥2,0	
	<10	≥10	<10	≥10	<10	≥10
TAT						
Casos	5	10	1	8	7	13
Porcentaje (casos)						
Presencia o ausencia de infección	60 % (3/5)	40 % (4/10)	100 % (1/1)	50 % (4/8)	86 % (6/7)	100 % (13/13)
CID del JAAM	0 % (0/5)	30 % (3/10)	0 % (0/1)	50 % (4/8)	29 % (2/7)	77 % (10/13)
CID del JAAM (infeccioso)	0 % (0/5)	20 % (2/10)	0 % (0/1)	25 % (2/8)	14 % (1/7)	77 % (10/13)
Mortalidad a los 28 días	20 % (1/5)	10 % (1/10)	0 % (0/1)	0 % (0/8)	14 % (1/7)	31 % (4/13)
Presencia o ausencia de implementación de terapia anticoagulante	20 % (1/5)	10 % (1/10)	0 % (0/1)	13 % (1/8)	29 % (2/7)	46 % (6/13)

Tabla 20

Sensibilidad clínica, especificidad, valor predictivo negativo y valor predictivo positivo en cada procedimiento de detección												
Condición	Procedimiento de detección				Casos				Sensibilidad	Especificidad	Valor predictivo negativo	Valor predictivo positivo
	Procedimiento	PCT (ng/ml)	TAT (ng/ml)	CID infecciosa (positiva)		CID infecciosa (negativa)						
				Prueba positiva	Prueba negativa	Prueba positiva	Prueba negativa					
24	Solo	0,5 $\leq$	-	13	2	16	13	86,7 %	44,8 %	86,7 %	44,8 %	
25	Solo	2,0 $\leq$	-	11	4	9	20	73,3 %	69,0 %	83,3 %	55,0 %	
18	Solo	-	10 $\leq$	14	1	17	12	93,3 %	41,4 %	92,3 %	45,2 %	
27	Comb.	0,5 $\leq$	10 $\leq$	12	3	9	20	80,0 %	69,0 %	87,0 %	57,1 %	
28	Comb.	2,0 $\leq$	10 $\leq$	10	5	3	26	66,7 %	89,7 %	83,9 %	76,9 %	
Comb.: Combinación												

Como resultado, no hubo condiciones en las que tanto la sensibilidad clínica como la especificidad cumplieran con el 80% o más en el procedimiento de detección de CID infecciosa utilizando la combinación de PCT con TAT, y su rendimiento fue inferior al de la combinación de sCD14-ST con TAT en el ejemplo 15. Se demostró que sCD14-ST era útil para detectar CID infecciosa, en comparación con PCT, que se conocía como marcador de sepsis convencional.

5 << Sujetos a evaluar 2 >>

Los sujetos a analizar en los ejemplos 16 a 20 fueron los siguientes:

Con respecto a 87 casos que se habían registrado en una sola instalación para la práctica clínica, sobre la base de criterios similares a los descritos en "Sujetos a evaluar 1", se realizó la evaluación. Entre estos casos, se determinaron los nombres de las enfermedades en 84 casos. Más particularmente, el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) sin infección fue de 19 casos, la sepsis fue de 8 casos, la sepsis severa fue de 14 casos, el shock séptico fue de 21 casos, las enfermedades no infecciosas (un estado sin infección ni SIRS) fueron 12 casos y las enfermedades infecciosas (un estado de infección sin SIRS) fueron 10 casos.

#### <<Ejemplo 16: Análisis de regresión logística múltiple de marcadores de sepsis en CID >>

15 Con respecto a los 84 casos en que se determinaron los nombres de las enfermedades, se realizó un análisis de regresión logística múltiple. Para este análisis, la variable objetivo fue el criterio de diagnóstico de CID del JAAM (un grupo no CID o un grupo CID); las variables explicativas fueron sCD14-ST, procalcitonina (PCT), interleucina-6 (IL-6) y proteína C reactiva (PCR); y una variable continua fue cambiada por una unidad para la razón de probabilidad unitaria. Como resultado de la prueba de razón de probabilidades para el efecto, dado que la razón de posibilidades era 1,001572, y el IC del 95 % era 1,000865-1,002446,  $p < 0,0001$ , sCD14-ST fue de lo más útil.

20 <<Ejemplo 17: Análisis de regresión logística múltiple de marcadores relacionados con la coagulación en CID >>

Con respecto a los 84 casos en que se determinaron los nombres de las enfermedades, se realizó un análisis de regresión logística múltiple (procedimiento por pasos). Para este análisis, la variable objetivo fue el criterio de diagnóstico de CID del JAAM (un grupo no CID o un grupo CID); las variables explicativas fueron antitrombina III (ATIII), proteína C (PC) y trombomodulina (TM); y una variable continua fue cambiada por una unidad para la razón de probabilidad unitaria. Como resultado de la prueba de razón de probabilidades para el efecto, dado que la razón de posibilidades era 0,944377, y el IC del 95 % era 0,918842-0,965239,  $p < 0,0001$ , La proteína C fue más útil.

#### <<Ejemplo 18: Análisis ROC y evaluación del valor de corte de sCD14-ST y PC para presencia o ausencia de sepsis >>

30 Entre los 84 casos en que se habían determinado los nombres de enfermedades, con respecto a 80 casos en los que se confirmaron todos los valores medidos para sCD14-ST y proteína C (PC) (grupo de sepsis: 40 casos y grupo sin sepsis: 40 casos), se realizó el análisis ROC. El AUC de sCD14-ST fue de 0,925 ( $p < 0,0001$ ), y la AUC de PC fue de 0,833 ( $p < 0,0001$ ). El valor de corte de sCD14-ST fue de 647 pg/ml (sensibilidad: 93,0 %, especificidad: 75,6 %), y el valor de corte de PC fue 47 % (sensibilidad: 77,5 %, especificidad: 80,0 %). A partir de estos resultados se consideró que los valores de corte óptimos fueron 650 pg/ml (sCD14-ST) y 45 % (PC).

#### <<Ejemplo 19: Análisis ROC y evaluación del valor de corte de sCD14-ST y PC para presencia o ausencia de CID >>

40 Entre los 84 casos en que se habían determinado los nombres de enfermedades, con respecto a 81 casos en los que se confirmaron todos los valores medidos para sCD14-ST y proteína C (PC) (grupo CID: 36 casos y grupo no CID: 45 casos), se realizó el análisis ROC. Las AUC de sCD14-ST y PC fueron 0,836 ( $p < 0,0001$ ) y 0,891 ( $p < 0,0001$ ), respectivamente. Los valores de corte de sCD14-ST y PC fueron 899 pg/ml (sensibilidad: 81,6 %, especificidad: 80,9 %) y 55 % (sensibilidad: 89,2 %, especificidad: 75,6 %), respectivamente. A partir de estos resultados, se consideró que los valores de corte óptimos de sCD14-ST y PC fueron 900 pg/ml y 55 %, respectivamente.

45 <<Ejemplo 20: Evaluación de la combinación de sCD14-ST con PC para el rendimiento de detección de CID infecciosa >>

Entre los 84 casos en que se habían determinado los nombres de enfermedades, con respecto a 81 casos en los que se confirmaron todos los valores medidos para sCD14-ST y proteína C (PC), se usó la combinación de sCD14-ST con PC (Tablas 21-22) para evaluar el rendimiento de detección de CID infecciosa de manera similar a la del Ejemplo 15. Los valores de corte se establecieron a partir de los valores obtenidos en el Ejemplo 18 o 19. Para evaluación, se calcularon la sensibilidad clínica, la especificidad, el valor predictivo negativo y el valor predictivo positivo en cada condición.

Tabla 21

sC014-ST	<650			650-900			≥900		
	<45	45-55	≥55	<45	45-55	≥55	<45	45-55	≥55
PC									
Casos	2	3	30	7	0	2	28	3	6
Porcentaje (casos)									
Presencia o ausencia de infección	0 % (0/2)	33 % (1/3)	27 % (8/30)	71 % (5/7)	0 % (0/0)	50 % (1/2)	96 % (27/28)	67 % (2/3)	83 % (5/6)
CID del JAAM	50 % (1/2)	67 % (2/3)	3 % (1/30)	29 % (2/7)	0 % (0/0)	0 % (0/2)	86 % (24/28)	67 % (2/3)	50 % (3/6)
CID del JAAM (infeccioso)	0 % (0/2)	0 % (0/3)	0 % (0/30)	0 % (0/7)	0 % (0/0)	0 % (0/2)	82 % (23/28)	33 % (1/3)	33 % (2/6)
Mortalidad a los 28 días	0 % (0/2)	33 % (1/3)	7 % (2/30)	29 % (2/7)	0 % (0/0)	0 % (0/2)	29 % (8/28)	0 % (0/3)	17 % (1/6)

Tabla 22

Sensibilidad clínica, especificidad, valor predictivo negativo y valor predictivo positivo en cada procedimiento de detección											
Condición	Procedimiento de detección			Casos				Sensibilidad	Especificidad	Valor predictivo negativo	Valor predictivo positivo
	Procedimiento	Detalles	CID infecciosa (positiva)		CID infecciosa (negativa)						
			Prueba positiva	Prueba negativa	Prueba positiva	Prueba negativa					
29	Solo	sCD14-ST ≥ 650 pg/ml	26	0	20	35	100,0 %	63,6 %	100,0 %	56,5 %	
30	Solo	sCD 14-ST > 900 pg/ml	26	0	11	44	100,0 %	80,0 %	100,0 %	70,3 %	
31	Solo	PC < 55 %	24	2	19	36	92,3 %	65,5 %	94,7 %	55,8 %	
32	Solo	PC < 45 %	23	3	21	34	88,5 %	61,8 %	91,9 %	52,3 %	
33	Comb.	Π)	26	0	20	35	100,0 %	63,6 %	100,0 %	56,5 %	
34	Comb.	sCD14-ST ≥ 900 pg/ml y PC < 45 %	23	3	5	50	88,5 %	90,9 %	94,3 %	82,1 %	

(\*1): (i) Cuando sCD14-ST < 650 pg/ml, PC < 45 %; (ii) cuando sCD14-ST 650-900 pg/ml, PC < 55 %; o (iii) sCD14-ST ≥ 900 pg/ml Comb. : Combinación

5 Similar a los resultados en el Ejemplo 15, con respecto a cada procedimiento de detección usando sCD14-ST o PC solo, la sensibilidad clínica fue alta, pero la especificidad era baja. Por otro lado, cuando se combinó sCD14-ST con PC, se evaluó la especificidad. Se confirmó que la sensibilidad clínica y la especificidad se convirtieron en 80% o más mediante el uso de la combinación de sCD14-ST con PC para la detección de CID infecciosa, y que esta combinación era un índice con alta sensibilidad y especificidad clínica que no podía lograrse mediante índices convencionales y fue muy útil.

#### << Ejemplo de referencia 1: Utilidad para el diagnóstico de CID en el grupo no infectado >>

10 El grupo no infectado del Ejemplo 12, es decir, los 13 casos no infectados (SIRS y enfermedades no infecciosas), se clasificaron en un grupo CID (4 casos) y un grupo no CID (9 casos) de acuerdo con los criterios de diagnóstico de CID del JAAM, y la utilidad de sCD14-ST, procalcitonina (PCT), proteína C reactiva (PCR), interleucina-6 (IL-6), dímero D y los productos de degradación de fibrina/fibrinógeno (FDP) para la detección de CID se compararon entre sí mediante análisis ROC.

15 La medición de PCT se llevó a cabo utilizando ECLusys BRAHMS PCT (Roche Diagnostics). La IL-6 se midió usando Immulyze IL-6 (Siemens Healthcare Diagnostics, Inc.). La PCR se midió usando CRP-látex X2 "Seiken" (Denka Seiken Co., Ltd.). Se usó Hitachi 7170S (Hitachi High-Technologies Corporation) como aparato de medición. El dímero D se midió usando el dímero D de Nanopia (Sekisui Medical Co., Ltd.). Se utilizó Coapresta 2000 (Sekisui Medical Co., Ltd.) como aparato de medición. La FDP se midió usando Nanopia p-FDP (Sekisui Medical Co., Ltd.). Se utilizó Coapresta 2000 (Sekisui Medical Co., Ltd.) como aparato de medición.

20 Los resultados se muestran en las Figuras 36 y 37. En las Figuras 36 y 37, el eje horizontal es la "especificidad 1" y el eje vertical es la "sensibilidad".

Las AUC calculadas fueron 0,806 (sCD14-ST), 0,778 (PCT), 0,639 (IL-6), 0,583 (CRP), 0,764 (dímero D) y 0,792 (FDP) y la AUC de sCD14-ST fue la más alta. A partir de este resultado, se confirmó que sCD14-ST era más útil que los marcadores convencionales, tal como el dímero D, FDP, y similares. Cuando el valor de sCD14-ST fue de 600 pg/ml, la sensibilidad clínica fue del 75,0 % y la especificidad del 100 %, y se consideró el valor de corte óptimo.

#### 25 **Aplicabilidad industrial**

La presente invención puede emplearse para detectar la coagulación intravascular diseminada (CID) y para comprender su estado clínico. De acuerdo con la presente invención, un paciente que padece CID puede especificarse a partir de pacientes con sospecha de tener CID, y el estado del paciente con CID puede monitorizarse realizando la medición a lo largo del tiempo, y es útil determinar un curso de tratamiento apropiado.

30 Adicionalmente, la presente invención puede emplearse para detectar la coagulación intravascular diseminada infecciosa (CID infecciosa) y para comprender su estado clínico. De acuerdo con la presente invención, un paciente que padece CID infecciosa puede especificarse a partir de pacientes sospechosos de tener CID infecciosa, y el estado del paciente con CID infecciosa puede monitorizarse realizando la medición a lo largo del tiempo, y es útil determinar un curso de tratamiento apropiado.

#### 35 LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Mitsubishi Chemical Medience Corporation Universidad de Fukuoka

<120> Procedimiento de detección de coagulación intravascular diseminada (CID)

<130> MCM-916

<150> JP 2012-106216

40 <151> 07/05/2012

<150> JP 2012-106217

<151> 07/05/2012

<160>2

<170> PatentIn versión 3.5

45 <210> 1

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1



**REIVINDICACIONES**

1. Un procedimiento *in vitro* de detección de coagulación intravascular diseminada, que comprende medir sCD14-ST en una muestra.
- 5 2. El procedimiento de detección de coagulación intravascular diseminada de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende las etapas de:
  - medir sCD14-ST en una muestra de un paciente sospechoso de tener coagulación intravascular diseminada, o un paciente que sufre de coagulación intravascular diseminada, y
  - juzgar que el paciente sufre de coagulación intravascular diseminada cuando un valor de sCD14-ST es mayor que el de un paciente de coagulación intravascular no diseminada.
- 10 3. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2, en el que el valor de sCD14-ST se compara en la etapa de enjuiciamiento con un umbral previamente determinado.
4. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que sCD14-ST se mide mediante un inmunoensayo.
- 15 5. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende medir un marcador relacionado con la coagulación en una muestra además de sCD14-ST, en el que la coagulación intravascular diseminada es la coagulación intravascular diseminada infecciosa.
- 20 6. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 5, que comprende las etapas de:
  - medir sCD14-ST y un marcador relacionado con la coagulación en una muestra de un paciente sospechoso de tener coagulación intravascular diseminada infecciosa, o un paciente que sufre coagulación intravascular diseminada infecciosa, y
  - juzgar que el paciente sufre de coagulación intravascular diseminada infecciosa cuando un valor de sCD14-ST y un valor de marcador relacionado con la coagulación se cambian en comparación con los de un paciente de coagulación intravascular diseminada no infecciosa.
- 25 7. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 6, en el que el valor de sCD14-ST y el valor del marcador relacionado con la coagulación se comparan en la etapa de enjuiciamiento con los umbrales previamente determinados, respectivamente.
8. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, en el que el marcador relacionado con la coagulación es al menos uno seleccionado del grupo que consiste en dímero D, FDP, complejo trombina-antitrombina III, recuentos de plaquetas y proteína C.
- 30 9. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, en el que sCD14-ST se mide mediante un inmunoensayo.
10. Uso de un kit de detección de la coagulación intravascular diseminada por el procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende:
  - 35 (a) un anticuerpo específico para sCD14-ST,
  - (b) datos estándar que muestran una correlación entre la cantidad de sCD14-ST en una muestra y coagulación intravascular diseminada, y
  - (c) un manual de instrucciones.
11. Uso de un kit de detección de coagulación intravascular diseminada mediante el procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 5 a 9, que comprende:
  - 40 (a) un anticuerpo específico para sCD14-ST,
  - (b) un reactivo para medir un marcador relacionado con la coagulación,
  - (c) datos estándar que muestran una correlación entre los valores medidos de sCD14-ST y el marcador relacionado con la coagulación en una muestra y coagulación intravascular diseminada infecciosa, y
  - (d) un manual de instrucciones.
- 45 12. El uso del kit de acuerdo con la reivindicación 11, en el que el marcador relacionado con la coagulación es al menos uno seleccionado del grupo que consiste en dímero D, FDP, complejo trombina-antitrombina III, recuentos de plaquetas y proteína C.



Figura 1

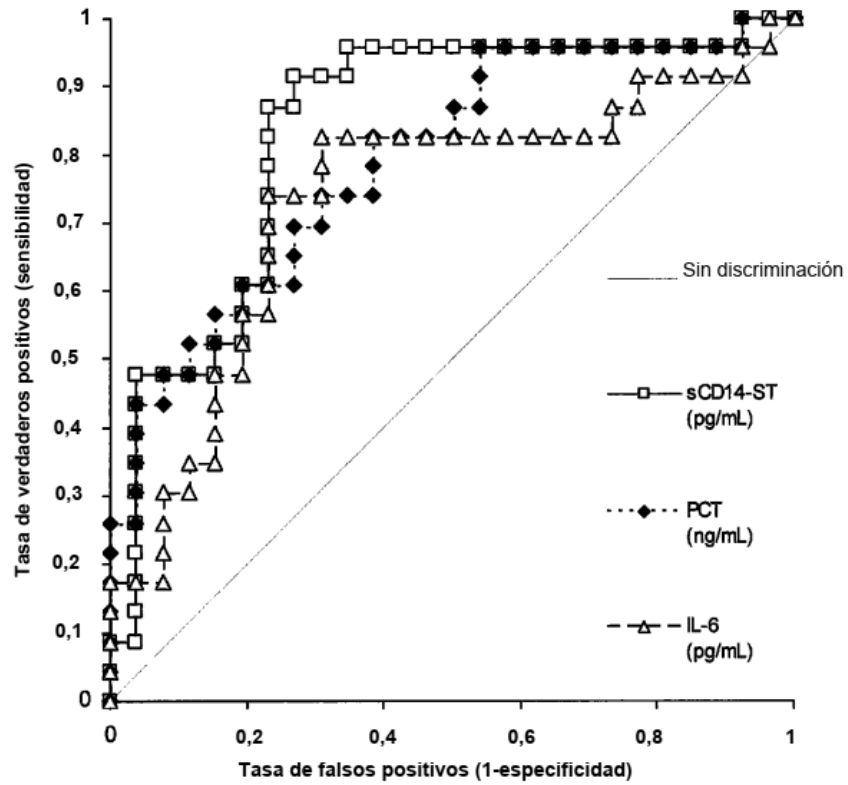


Figura 2

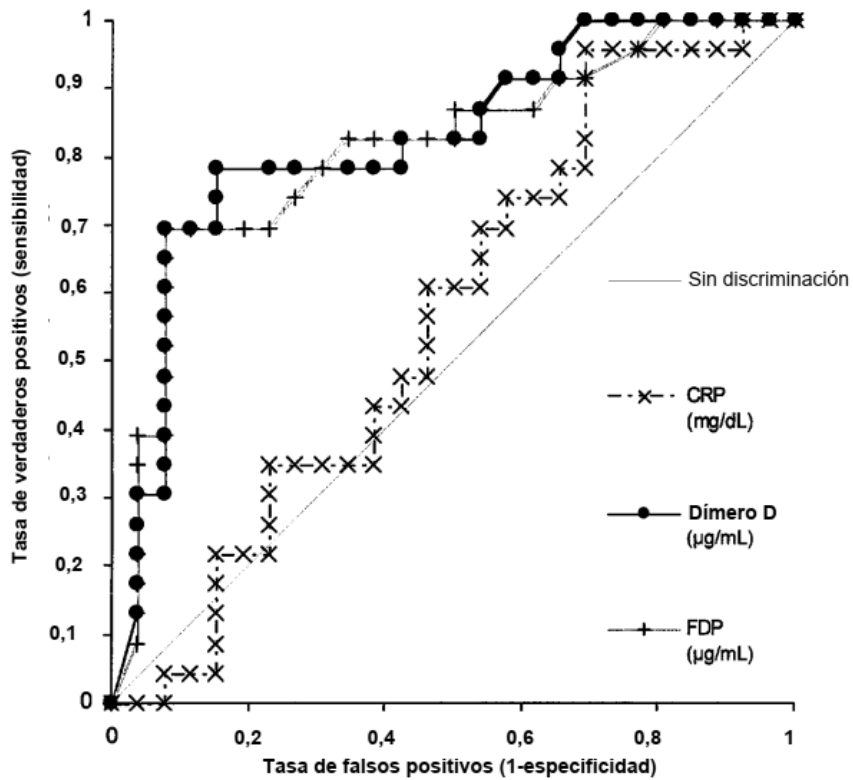


Figura 3

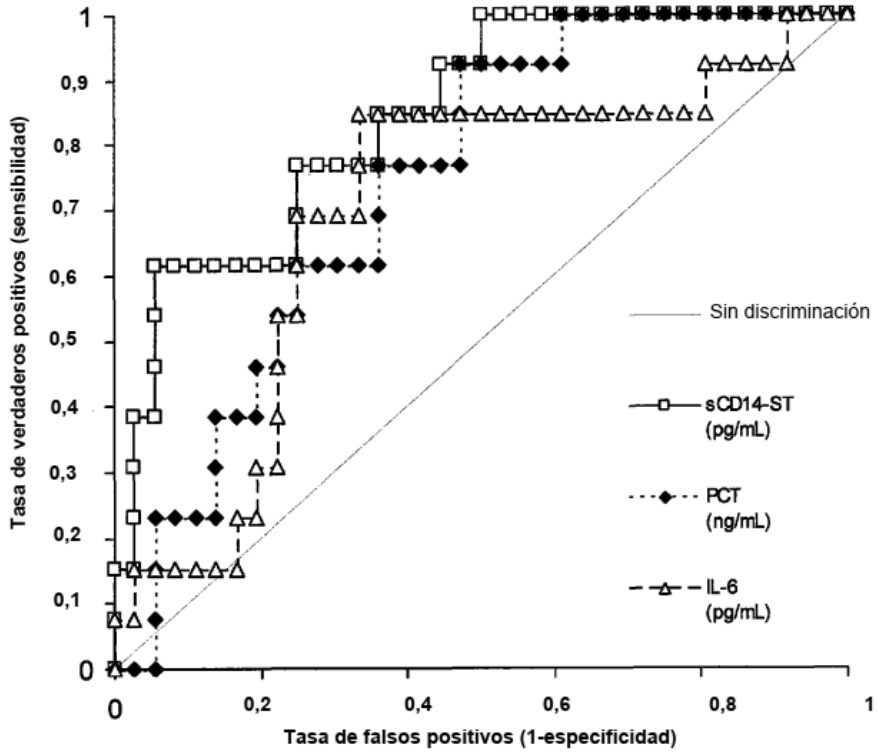


Figura 4

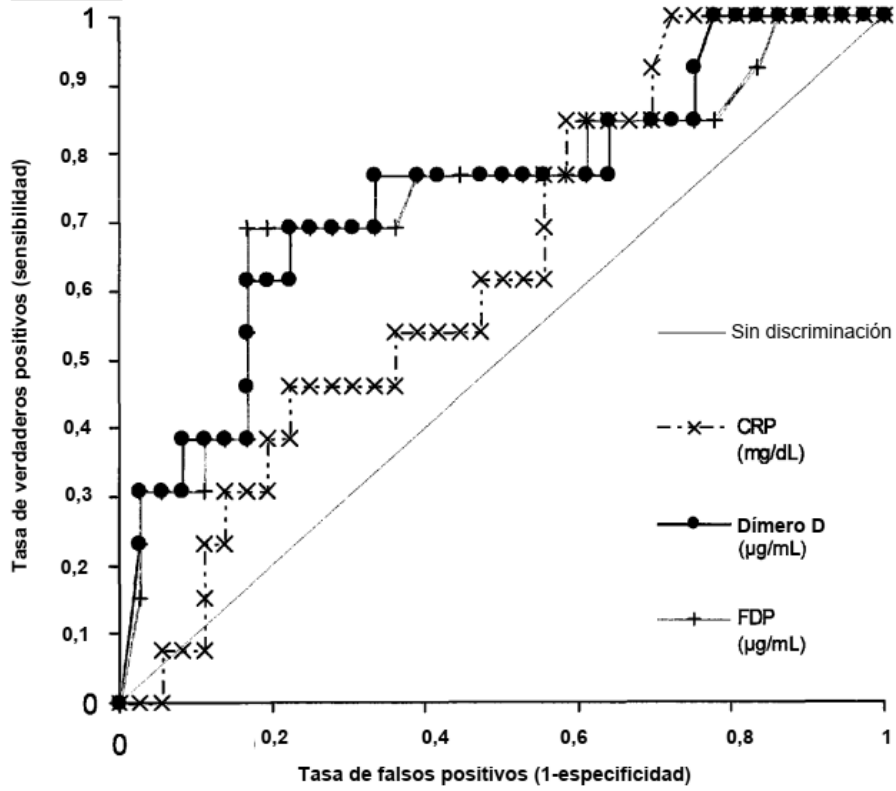


Figura 5

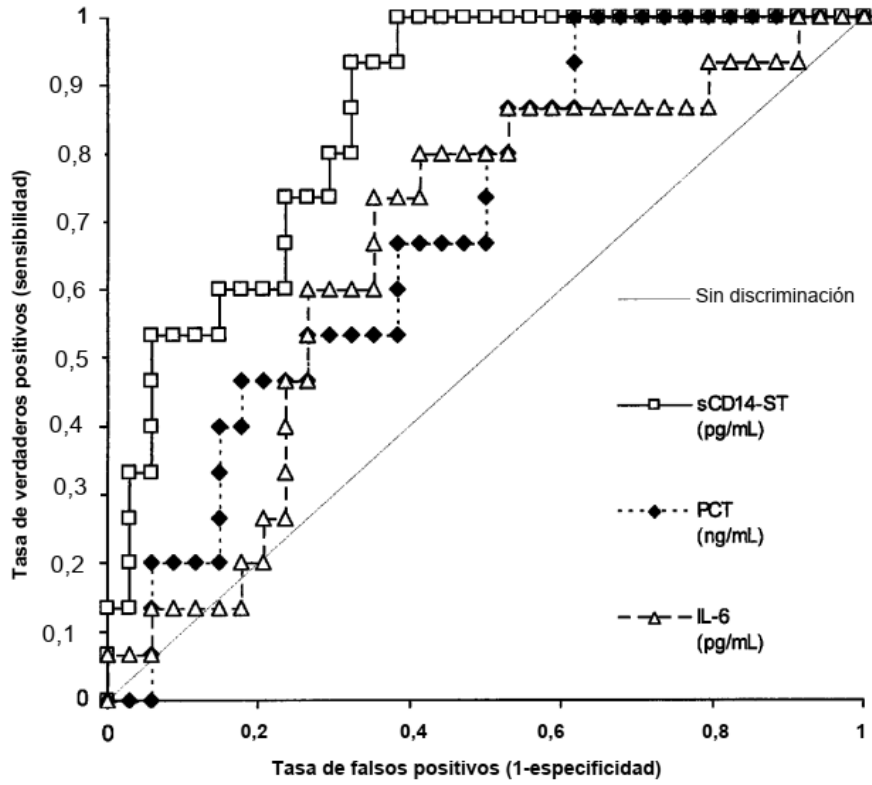


Figura 6

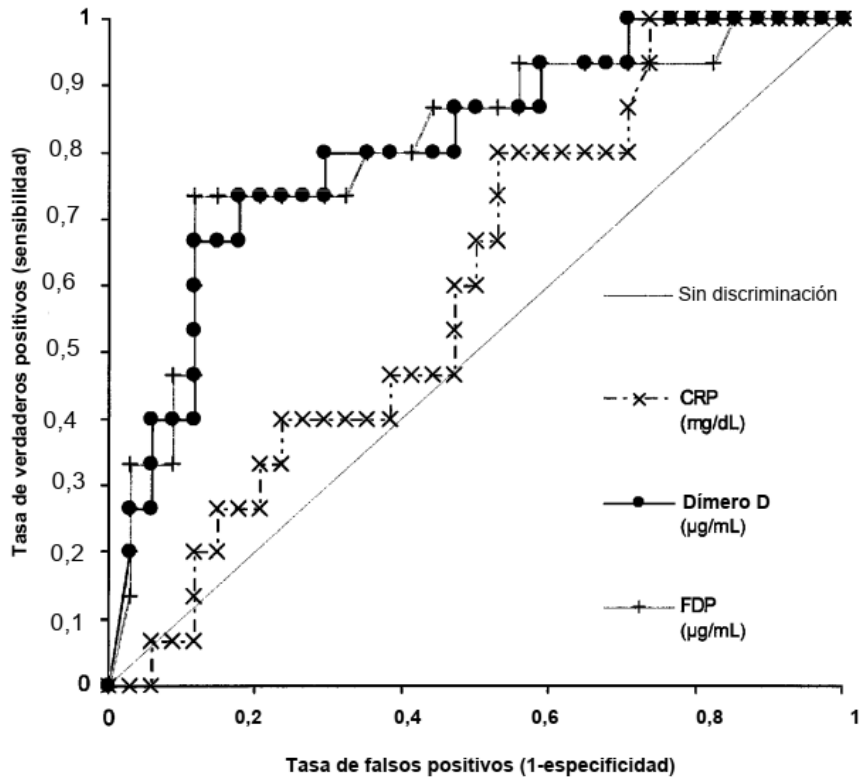


Figura 7

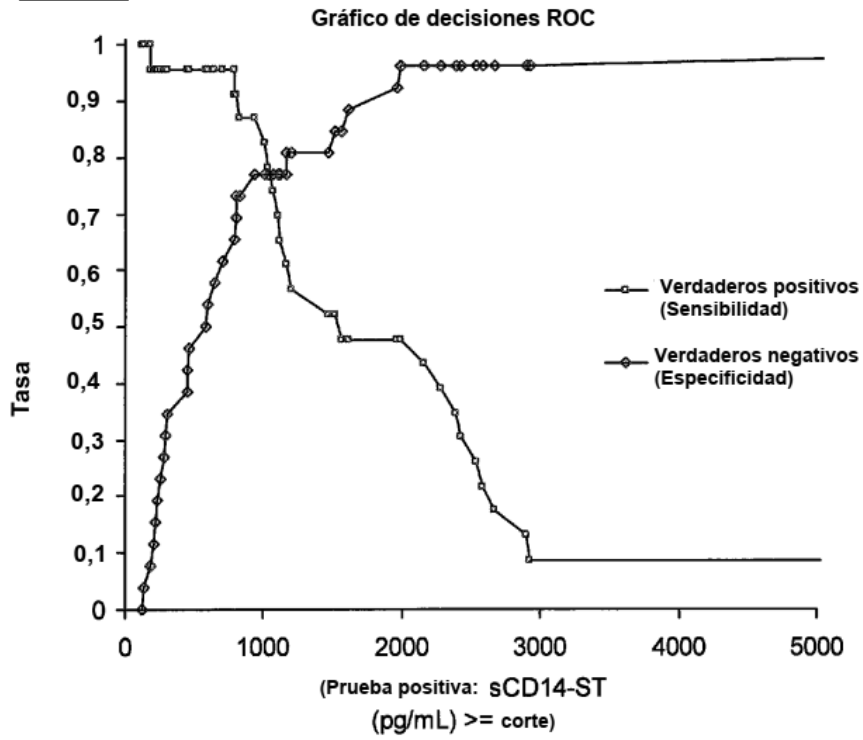


Figura 8

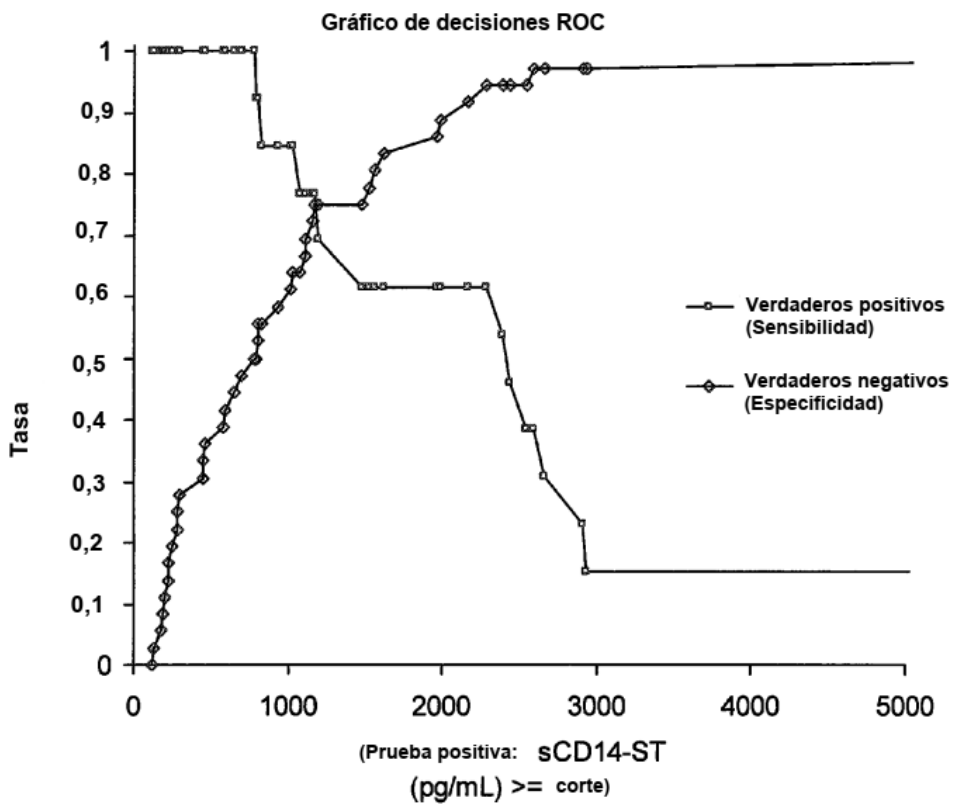


Figura 9

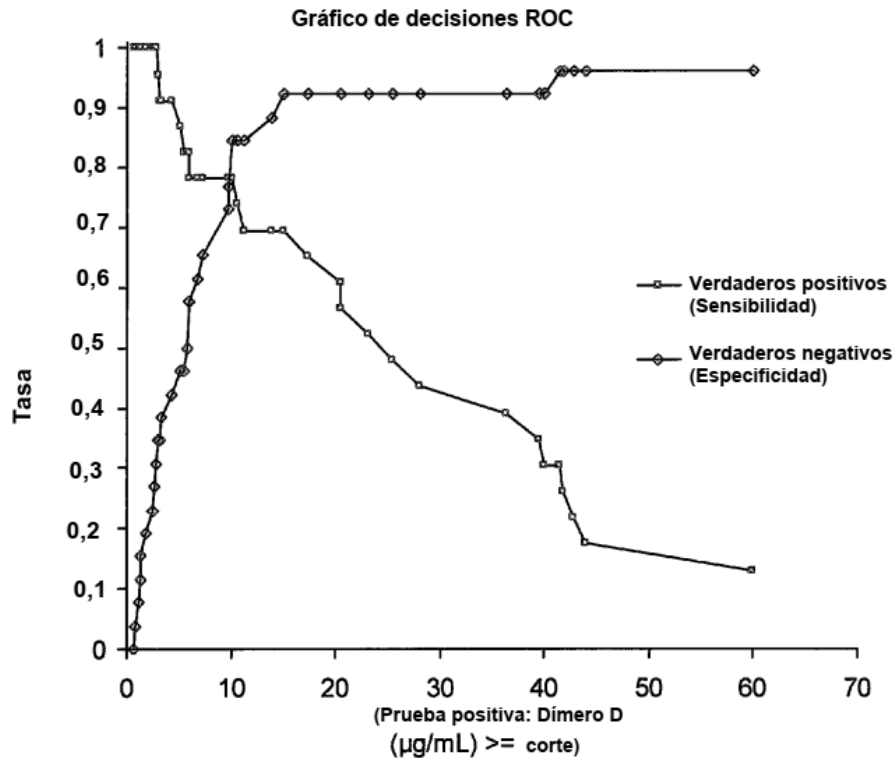


Figura 10

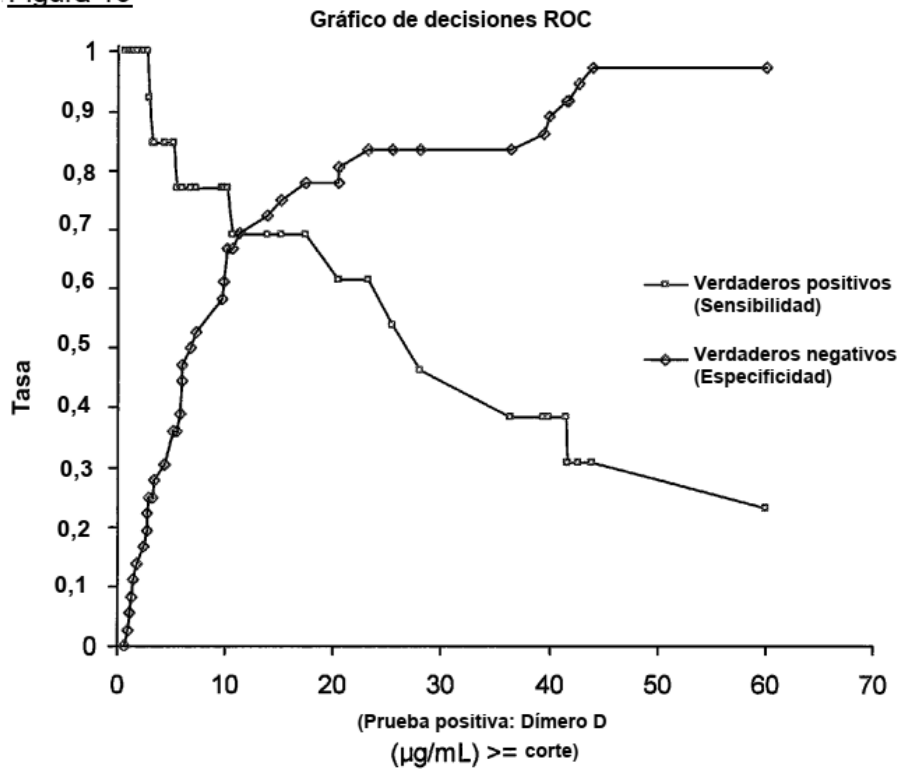


Figura 11

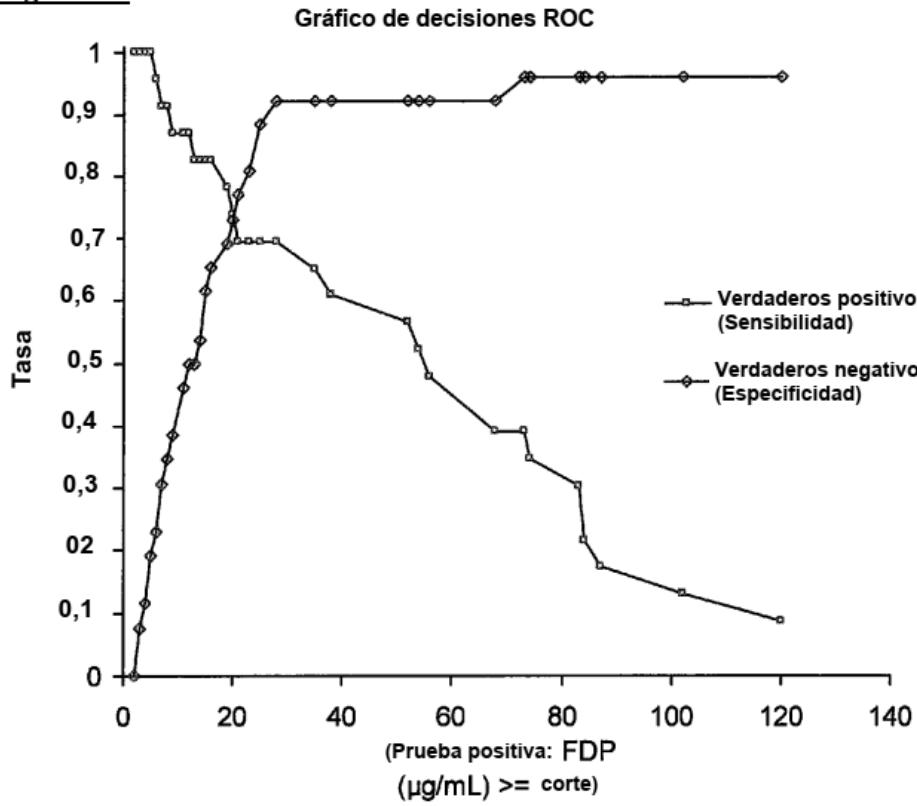


Figura 12

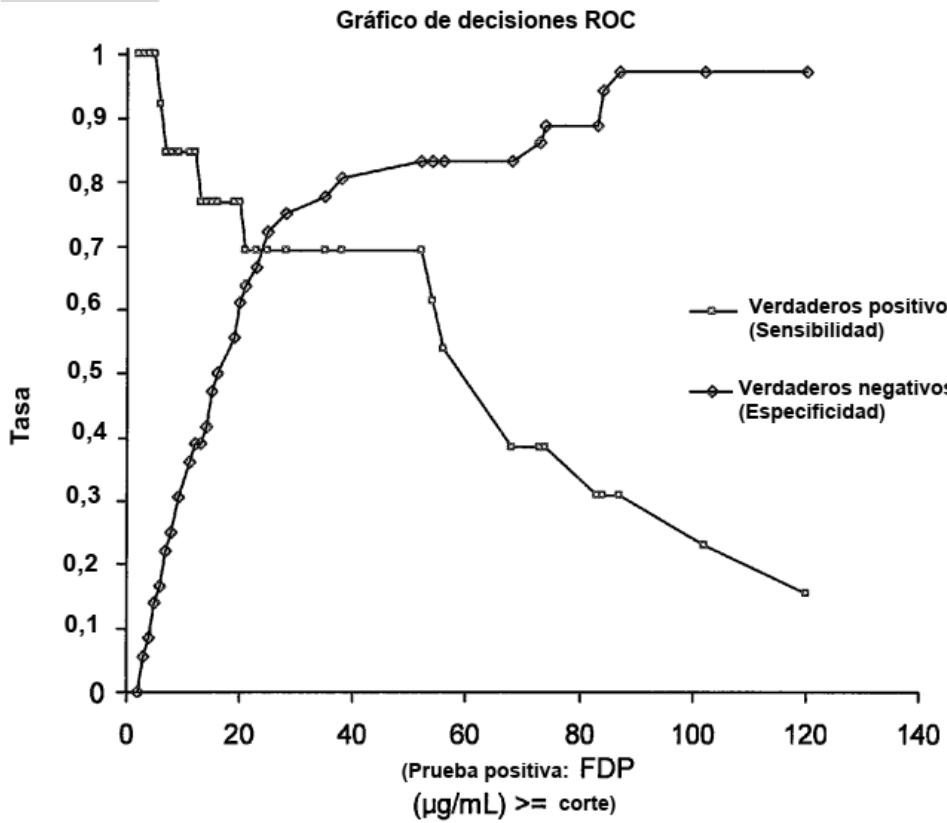


Figura 13

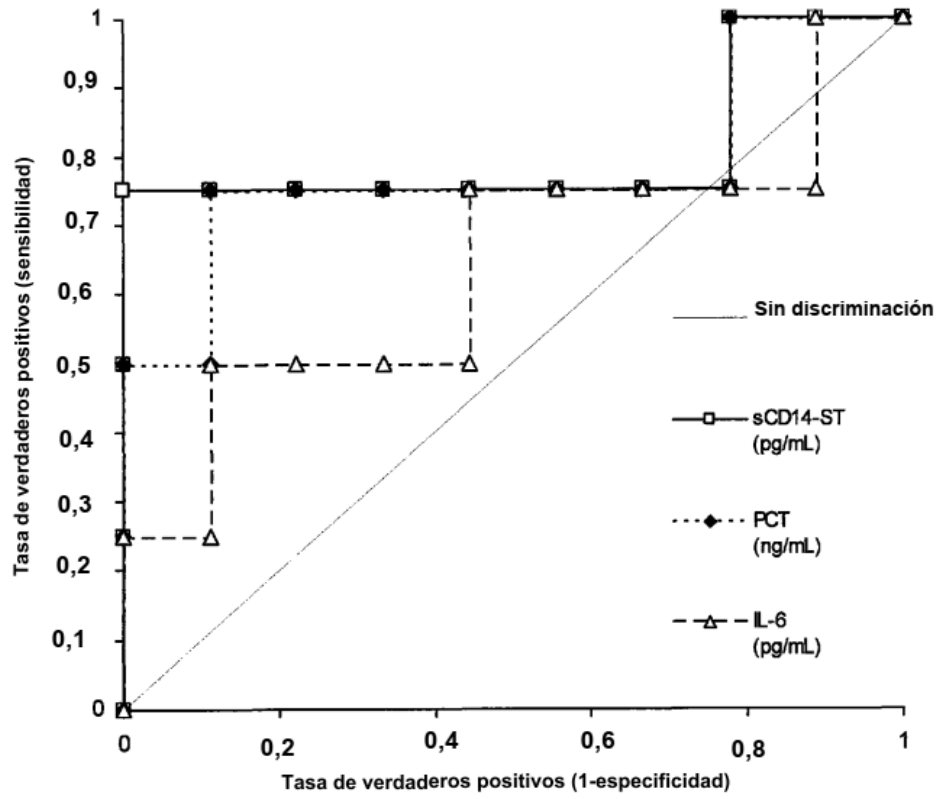


Figura 14

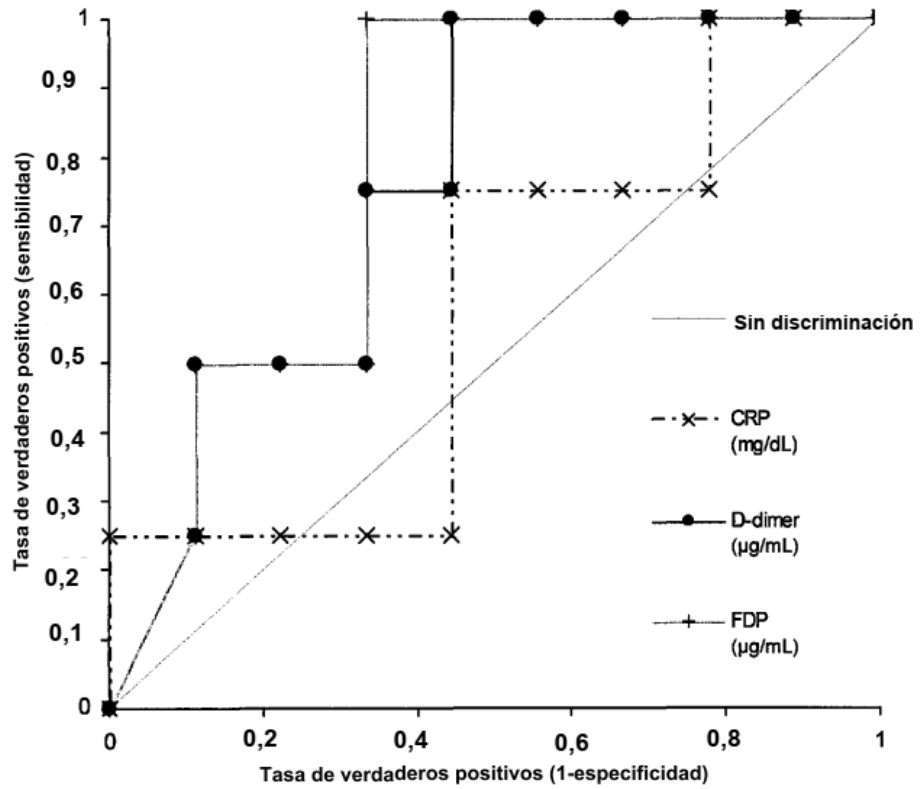


Figura 15

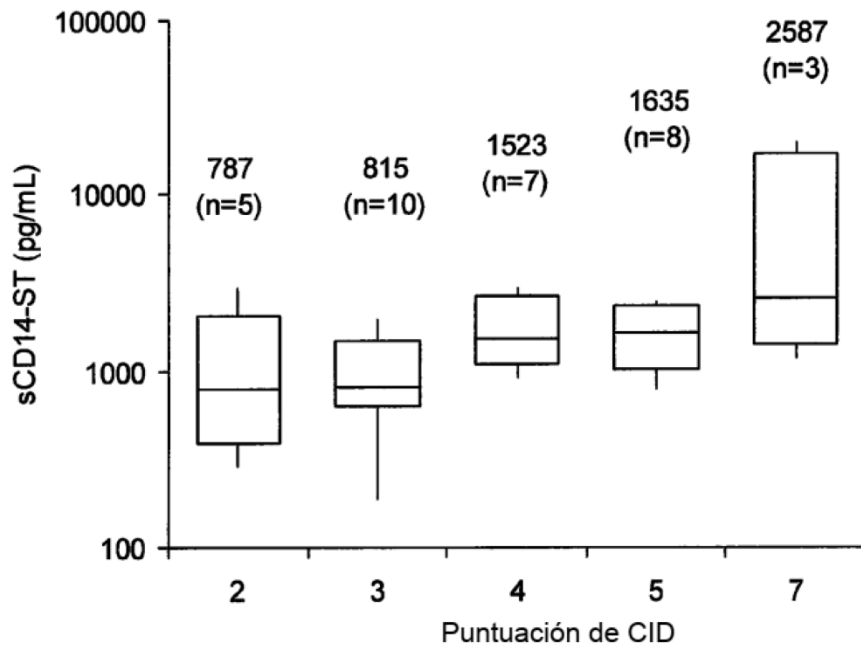


Figura 16

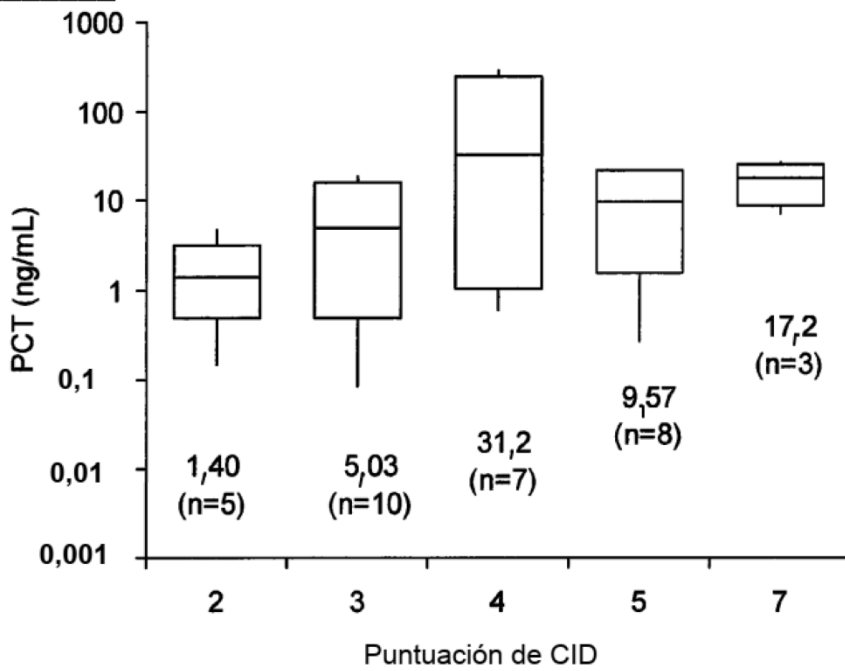




Figura 17

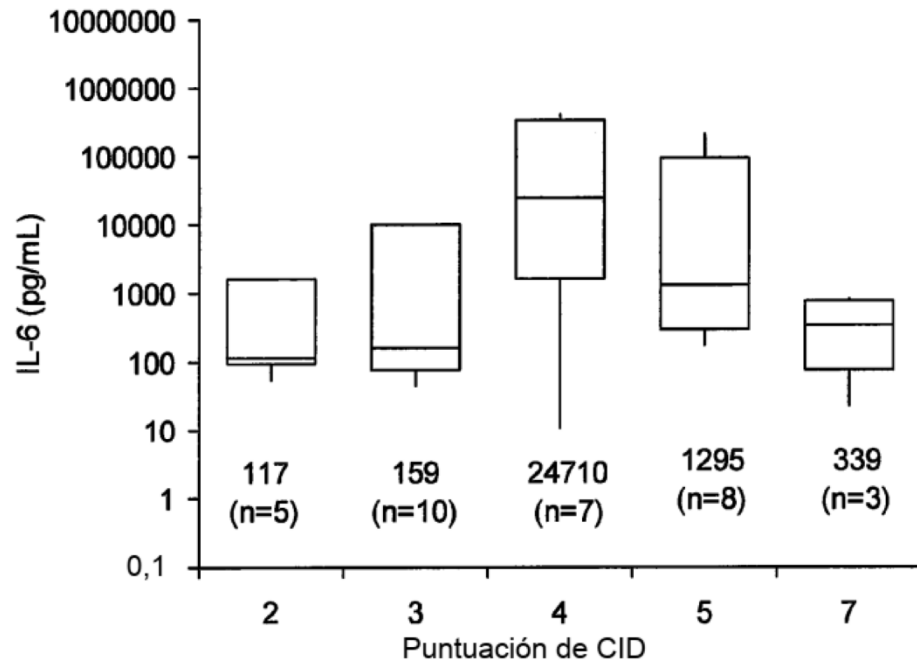


Figura 18

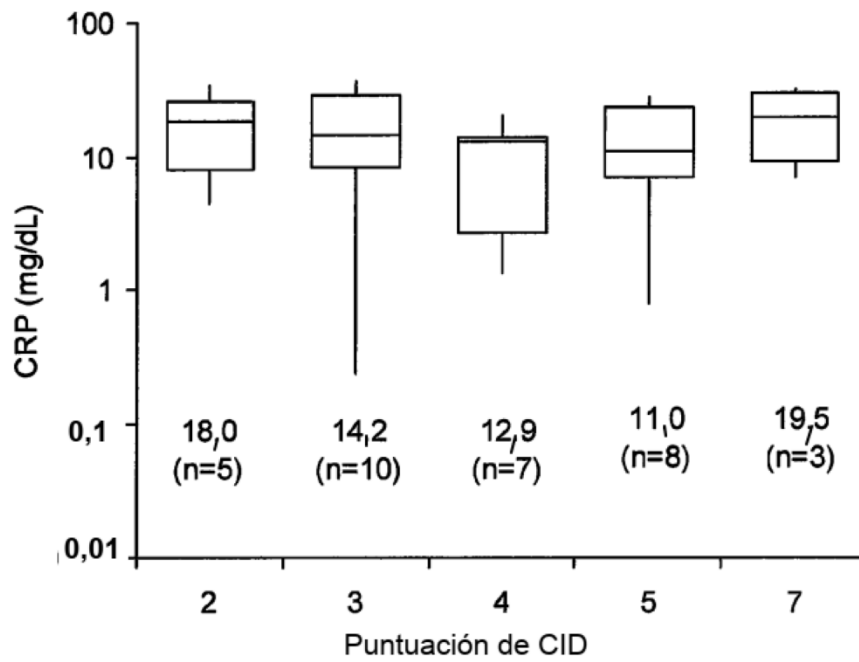


Figura 19

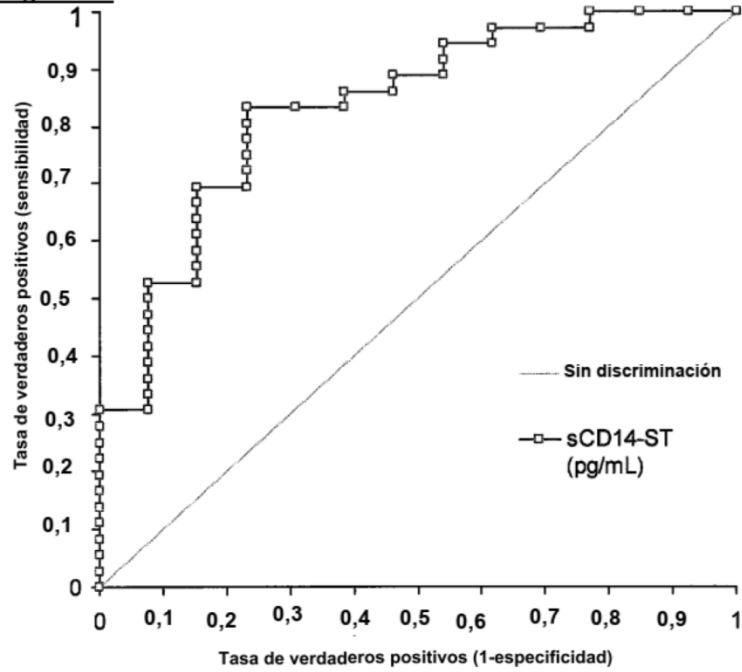


Figura 20

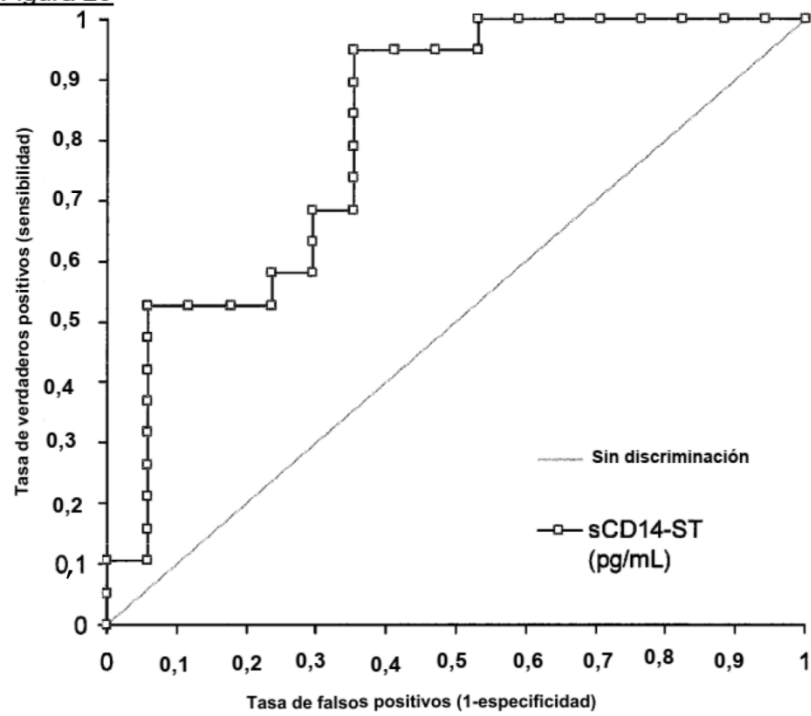


Figura 21

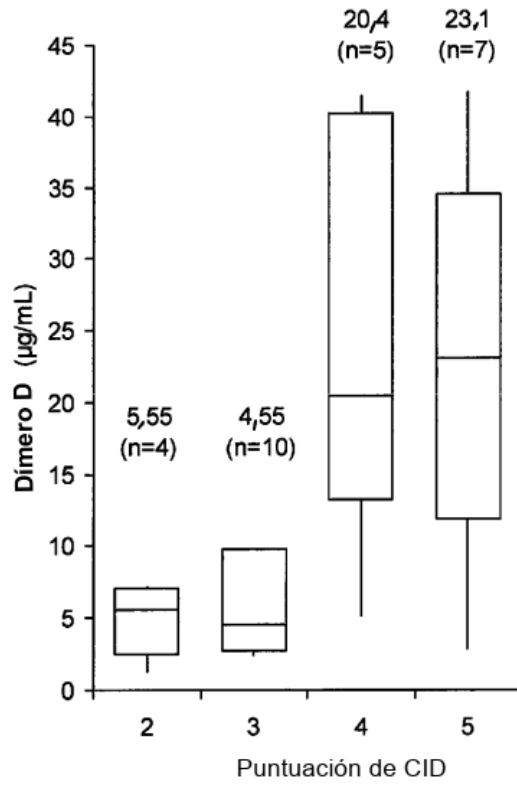


Figura 22

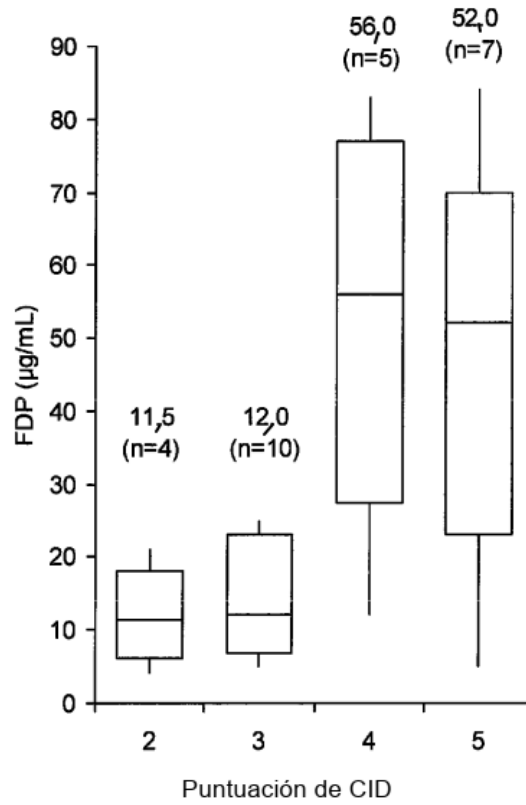


Figura 23

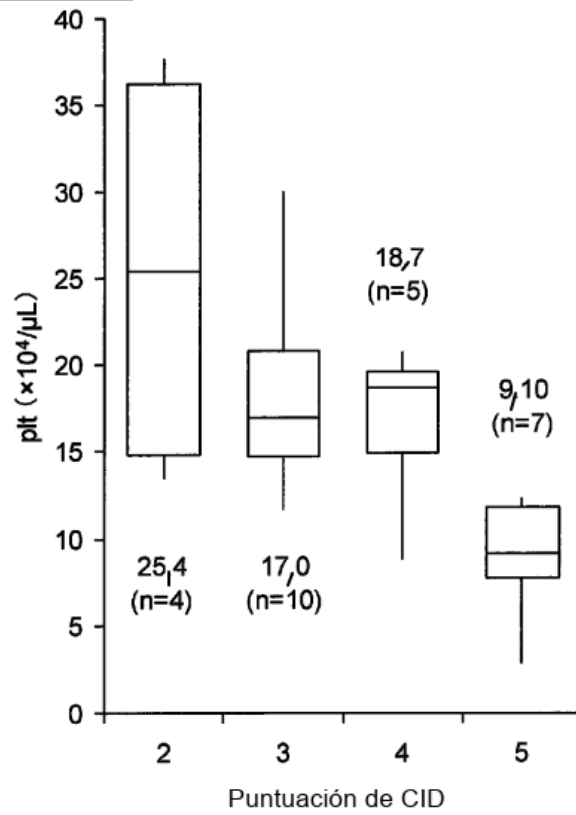
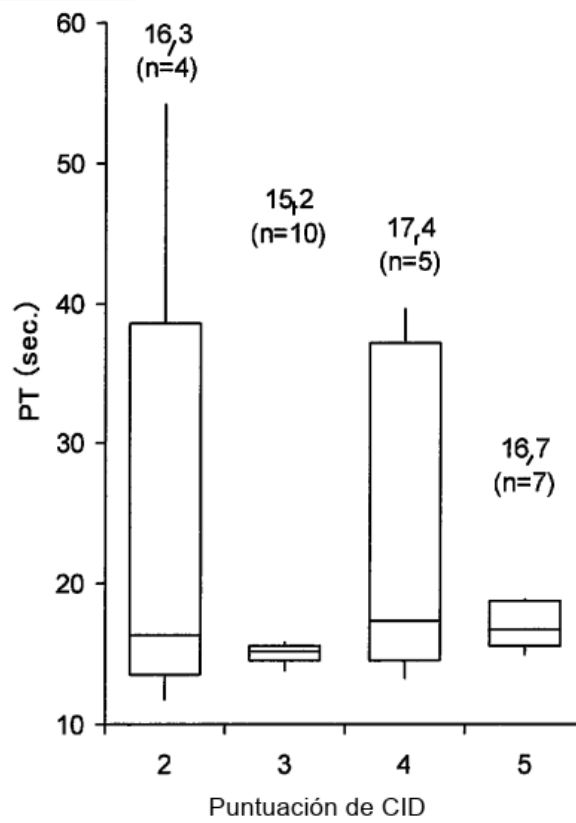
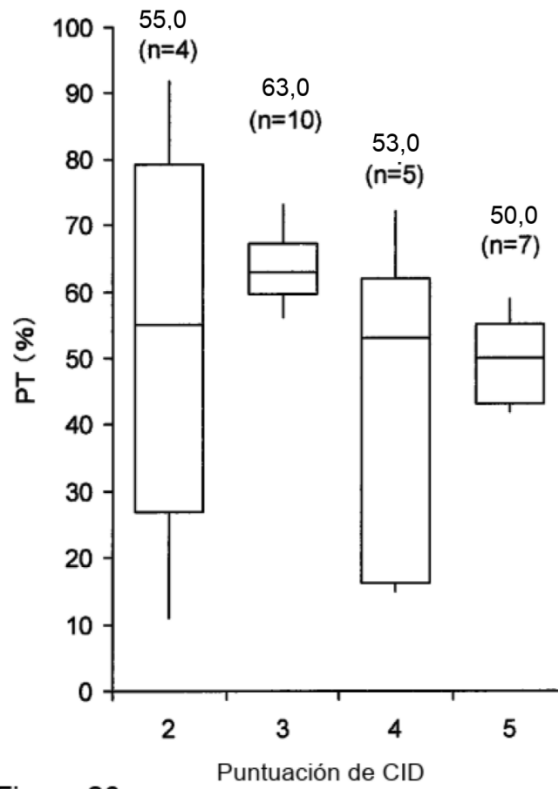


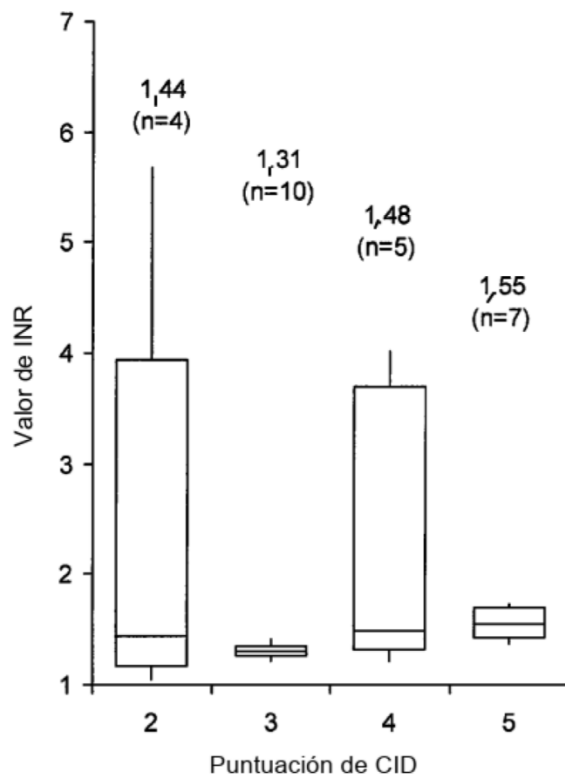
Figura 24



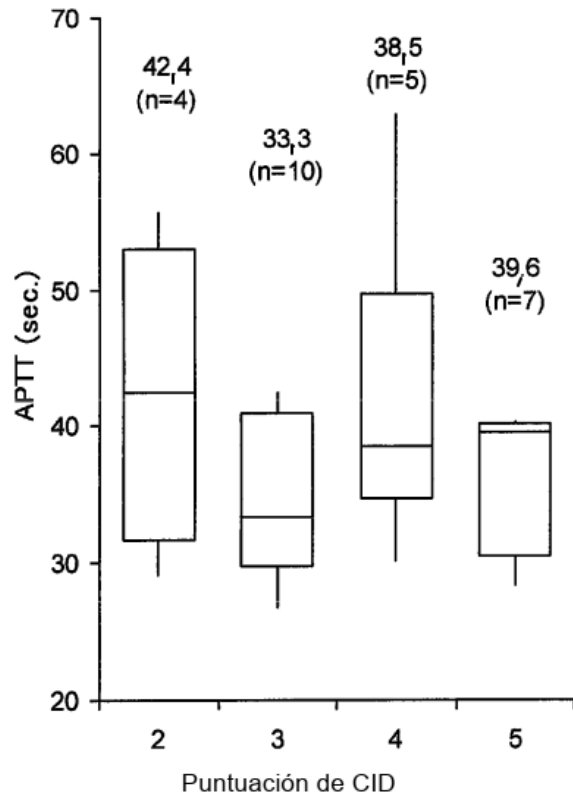
**Figura 25**



**Figura 26**



**Figura 27**



**Figura 28**

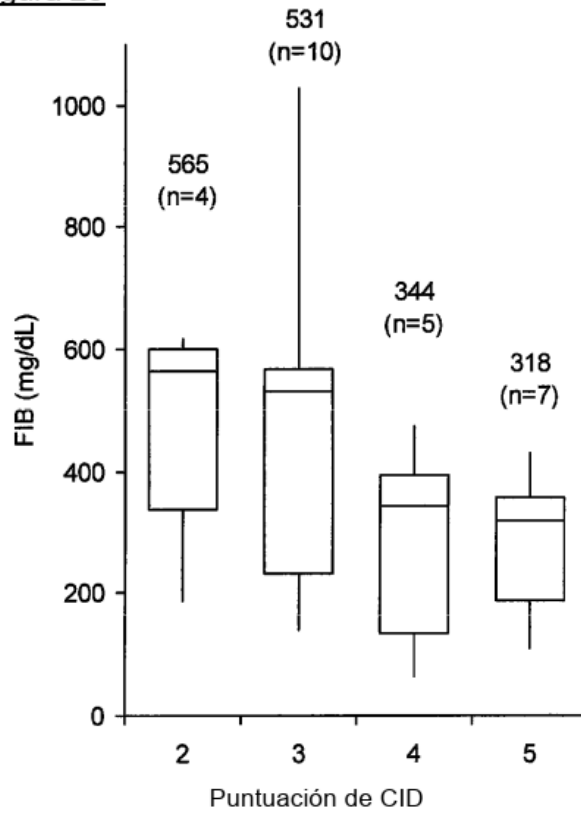


Figura 29

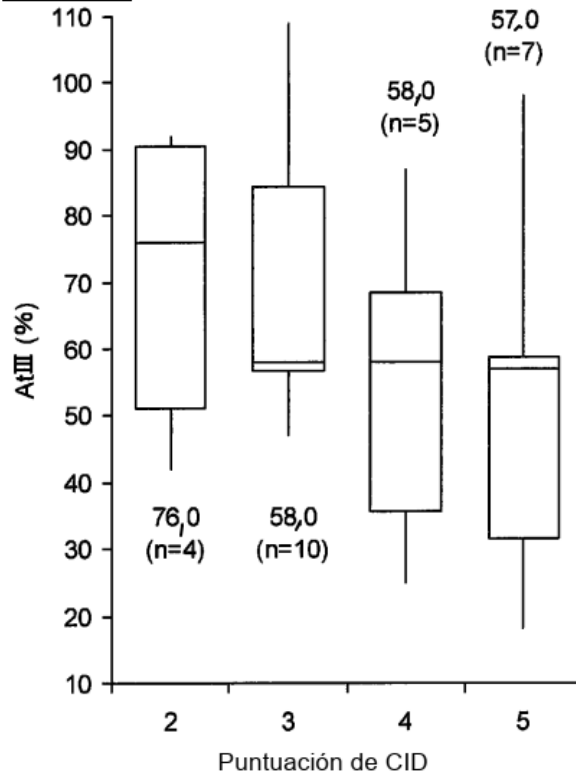
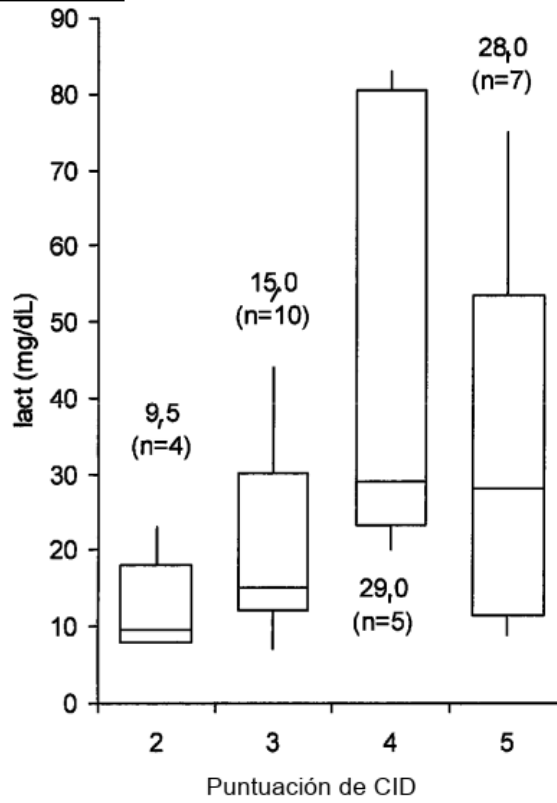
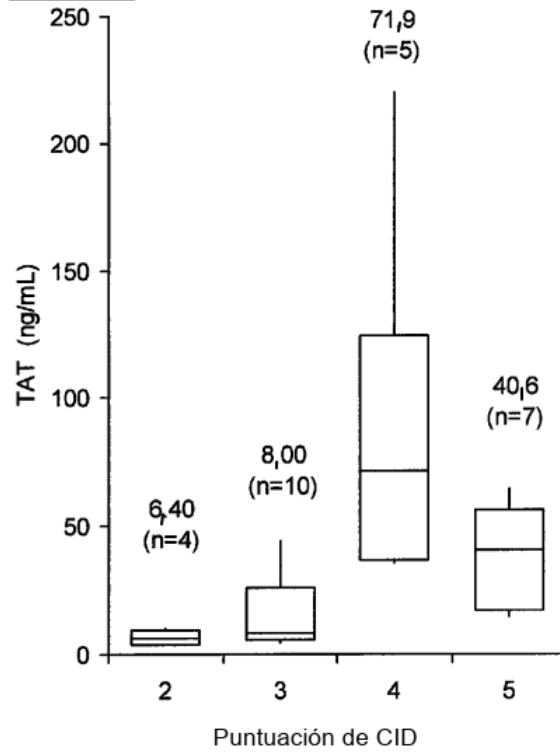


Figura 30



**Figura 31**



**Figura 32**

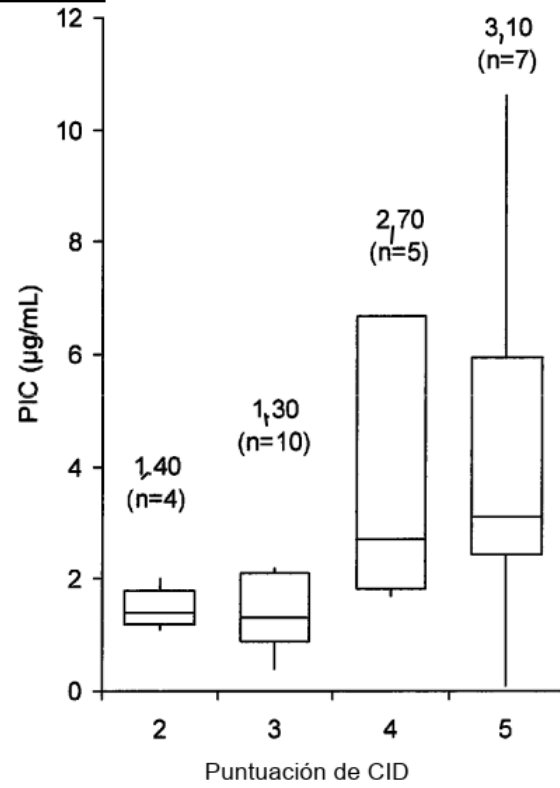




Figura 33

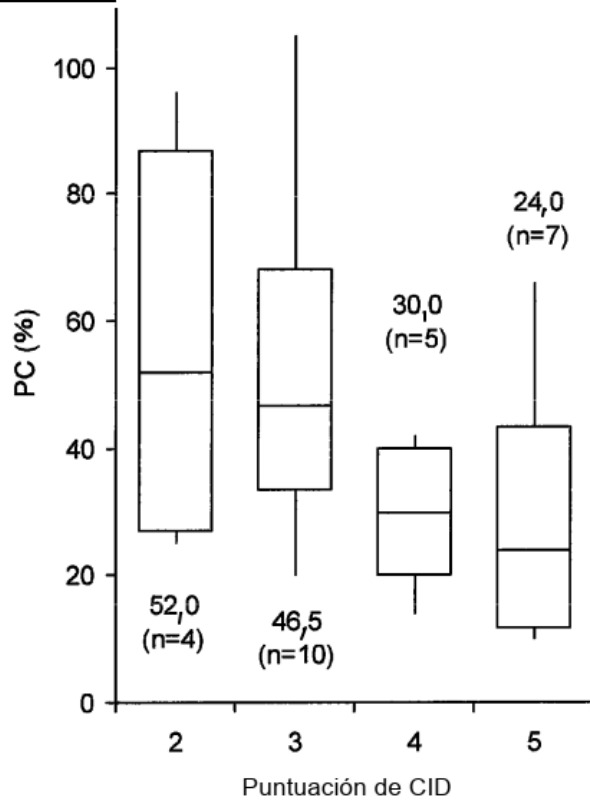


Figura 34

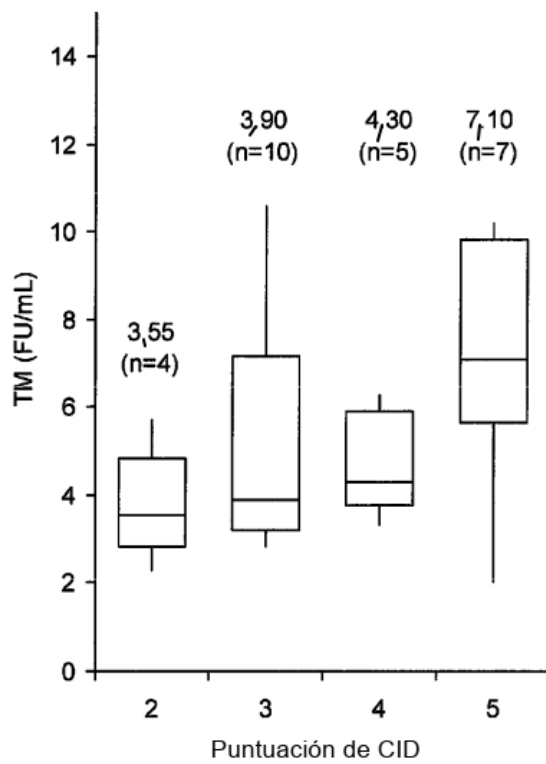


Figura 35

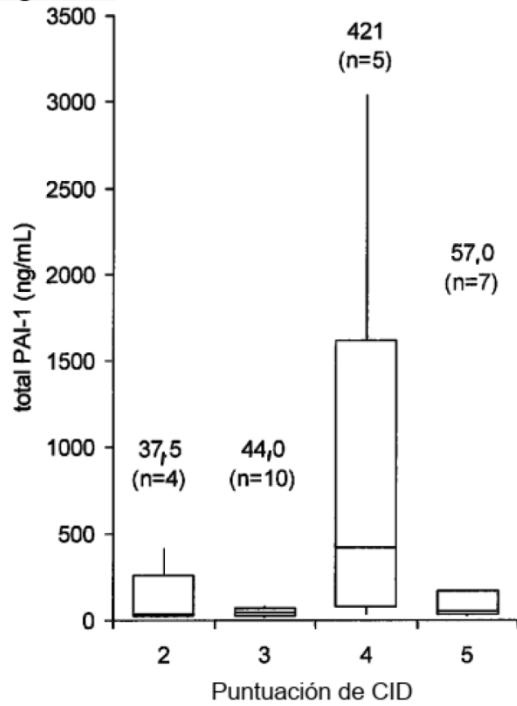


Figura 36

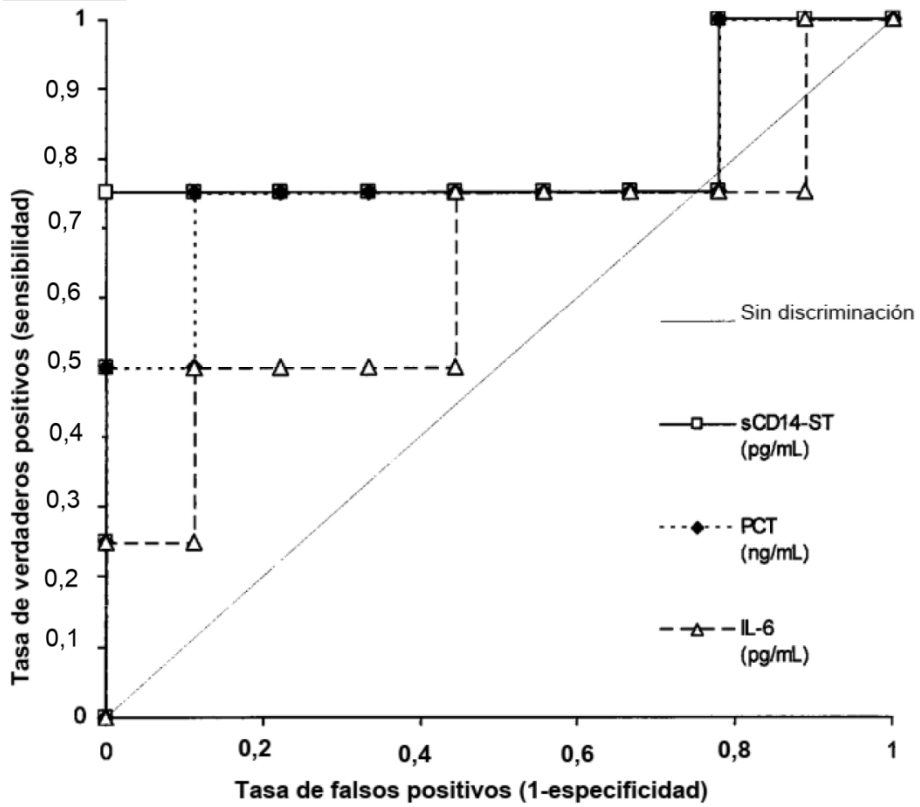


Figura 37

